

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Berdasarkan analisis data maka dapat disimpulkan :

1. Pemberian pakan diet tinggi karbohidrat selama 3 bulan pada tikus Wistar jantan tidak meningkatkan jumlah neutrofil pada kelompok tikus perlakuan dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol.
2. Pemberian pakan diet tinggi karbohidrat selama 3 bulan pada tikus Wistar jantan meningkatkan kadar IL-6 pada kelompok tikus perlakuan dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol.

#### **5.2. Saran**

Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Mengetahui jenis karbohidrat pada komposisi pakan yang akan meningkatkan jumlah neutrofil dan IL-6.
2. Mengetahui berapa banyak *Staphylococcus aureus* yang harus diinduksikan pada tikus dan berapa lama waktu maksimal agar *Staphylococcus aureus* yang diinjeksikan dapat berfungsi dengan baik sehingga dapat mengaktifkan neutrofil.
3. Memperpanjang waktu pemberian pakan pada tiap kelompok tikus dan cara pemberian pakan yang divariasikan, misalnya dengan cara disondekan.

## DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S, 2000, **Cellular and molecular immunology**, 4th ed, Philidelphia: WB Saunders Company.

Abcam, 2012, **IL-6**, England.

Bays, 2002, Role of the adipocyte, free fatty acids, and ectopic fat in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutic approach, **Journal of Endocrinology & Metabolism**, 89(2), 463-478.

Bellanti, J.A, 1993, **Immunologi III**, Terjemahan dari Immunology III oleh A. Samik Wahab, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Berrgren, J.R., Hulver, M.W., Houmard, J.A, 2005, Fat an endocrine organ : influence of exercise, **Journal of Applied Physiology**, 99, 757-754.

Bonang, G dan Koeswardono, E, 1982, **Mikrobiologi Kedokteran : untuk laboratorium dan klinik**, Salemba Medika. Jakarta, 114-115.

Bratawidjaja, K, 2010, **Imunologi Dasar** ed 9, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Brooks, Geo.F., S, Janet., Morse, S.A, 2001, **Mikrobiologi Kedokteran**, Salemba Medika, Jakarta, 317-319.

Cottam, D. R., Schaefer, P. A., Shaftan, G. W., Velcu, L., & Angus, L. D. G., 2002, Effect of Surgically-Induced Weight Loss on Leukocyte Indicators of Chronic Inflammation in Morbid Obesity. **Obesity Surgery**, 12(3), 335-42. Diunduh dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12082883>

Desruisseaux, M.S., Nagjyodhi., Trujillo., Tanowiz, H and Scherer, P, 2007, Minireview : Adipocyte, Adipose Tissue and Infectious Disease, **American Society of Microbiology**, 75(3), 1066-1078.

Fadhliya, L, 2011, **Viabilitas Neutrofil yang Dipapar *Porphyromonas gingivalis* dan Diinkubasi dengan Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa* Linn)**, Jember : Indonesia.

Gabay, C., 2006, Interleukin-6 and Chronic Inflammation, **Arthritis Research and Therapy**, 8 (Suppl 2), 1–6.

Göran, K.H, 2005, Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *NEJM-The New England Journal of Medicine* [serial on line] 2005 Apr [cited 2009 Jan 14]; 352,1685-1695. Available from URL: <http://content.nejm.org/cgi/content/short/352/16/1685>.

Guyton & Hall, 2008, **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran**, EGC, Jakarta.

Hart, H., Leslie, E., Hart, D, 2003, **Kimia Organik**, Penerbit : Aksara Pratama, Jakarta, 486-488.

Hedrich, B, 1980, **The Laboratory Rat**. Vol. I, Academic Press, Inc., Florida, 8-9.

Irawan, A, 2007, **Karbohidrat**, Polton Sports Science & Performance Lab / [www.pssplab.com](http://www.pssplab.com), 1(3).

Isganaitis, E., Lustig, R.H, 2005, Fast food, central nervous system insulin resistance and obesity, **American Heart Association of Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, 25, 2451.

Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelly, R.O, 1997, Bab 6 : Jaringan Lemak, **Histologi Dasar**, edisi 8, Penerbit buku Kedokteran EGC.

Kantartzis, K, 2006, The relationships of plasma adiponectin with a favorable lipid profile, decreased inflammation, and less ectopic fat accumulation depend on Adiposity, **Clinical Chemistr.**, 52, 1934-1942.

Kern, P.A., Gina, B.Di.G., Tong, Lu., Rassouli, N., Ranganathan, G, 2003, **Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance and tumour necrosis factor expression diabetes**, 2779-2785.

Pittas, A.G., Joseph , N.A, Greenberg, A.S, 2004, Adipocytokines and insulin resistance. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2, 447-452.

Popa, C., Netea, M.G., van Riel, P.L., van der Meer, J.W., Stalenhoef, A.F, 2007, The role of TNF-alpha in chronic inflammatory conditions,

intermediary metabolism, and cardiovascular risk, **Journal of Lipid research**, 48, 751-762.

Rantam, F.A, 2003, Metode Immunologi, Airlangga University Press, Surabaya, 82-85.

Robinson, C, 1972, **Normal and Therapeutic Nutrition**, 14<sup>th</sup> ed, Macmillan, New York, pp. 416-425.

Ross and Wilson, 1988, **Anatomy and Physiology in Health and Illness**, 6<sup>th</sup>ed ELBS, Hongkong, pp. 36-37, 64-67.

Ruan, H., Loddish, H.F, 2004, Regulation of insulin sensivity by adipose tissue derived hormones and inflammatory cytokines, **Current opinion on Lipid**, 297-302.

Sloane, E, 2004, **Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula**, EGC, Jakarta, 218-224.

Smith, J.B dan S. Mangkoewidjojo, 1988, **Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis**, Universitas Indonesia, Jakarta, 38, 49-55.

Soobratte, M.A, 2005, Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions, **Mutation Research**, 579, 200–213.

Sunita, 2003, **Prinsip Dasar Ilmu Gizi**, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, W.R., Campell, W.T, 2004, **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**, Wiley Blackwell, Fort Collins, Colarodo, USA.

Wajchenberg, B.L, 2000, Subcutaneous and visceral adipose tissue: Their relation to the metabolic syndrome, **Endocrinology Review**, 21(6), 697-734.

Wasim, H., Al-Daghri, N.M., Chetty, R., Teron, P.G., Bernett, A.H., Kumar, S, 2006, Relationship of serum adiponectin and resistancy to glucose in tolerance and fat topogramphy in South Asia, **Cardiovascular Diabetology**, 5-10.

Waspadji, S, 2003, **Pengkajian Status Gizi Studi Epidemiologi**, FKUI, Jakarta.

Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, A.W, 2003, Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue, **Journal of Clinical Investigation**, 112, 1796-1808.

Zainuddin, M, 2000, **Metodologi Penelitian**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya, 52-54.

## LAMPIRAN A

### CARA PEREMAJAAN *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Bakteri yang digunakan untuk perhitungan jumlah neutrofil dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang diremajakan pada media MSA sebanyak 3 kali untuk memperkuat aktivitas bakterinya, kemudian bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tersebut disuspensikan ke dalam NaCl steril dengan tingkat kekeruhan yang disetarakan dengan Mc Farland I ( $3 \times 10^8$ CFU/ml) dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C sehingga bakteri siap diinjeksikan pada tikus. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang sudah siap diinjeksikan sebanyak 0,3 ml pada bagian peritoneal tikus. Cara meremajakan yaitu kultur murni *Staphylococcus aureus* digoreskan pada media MSA miring, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

## LAMPIRAN B

### CARA PEMBUATAN REAGEN-REAGEN UNTUK PEMERIKSAAN IL -6 (Abcam, England)

- Preparasi kurva standar IL-6 : disiapkan 9 buah tabung dan diberi label masing-masing 4000; 1600; 640; 256; 102,4; 40,96; 16,384; 6,55 dan 0 pg/ml. Lima ratus  $\mu\text{l}$  *buffer* pengencer dimasukkan ke dalam vial IL-6 *Standard Rat* (recombinant) yang selanjutnya akan digunakan sebagai larutan standar. Tiga ratus  $\mu\text{l}$  *buffer* pengencer dimasukkan ke dalam tabung yang berlabel 4000 pg/ml, dicampur dengan baik dan larutan ini ditransfer ke dalam tabung berlabel 1600 pg/ml. Pengenceran selanjutnya diulangi untuk masing-masing tabung berikutnya, sehingga didapatkan kurva standar dengan konsentrasi 4000; 1600; 640; 256; 102,4; 40,96; 16,384; 6,55 dan 0 pg/ml.
- Preparasi larutan B (*buffer*) : larutan dapar pencuci harus diencerkan 5 X dengan menggunakan air destilasi sebelum digunakan.
- Preparasi larutan antibody IL-6 : 2 vial *biotinylated antibody* rat IL-6 dirotasi sebelum digunakan. Seratus  $\mu\text{l}$  diluent B (*buffer*) ditambahkan ke dalam vial untuk preparasi antibodi. Larutan dicampur dengan pipet secara perlahan lalu disimpan pada suhu 4 °C.
- Preparasi HRP-Streptavidin : vial HRP-Streptavidin dirotasi sebelum digunakan. Seratus  $\mu\text{l}$  diluent B (*buffer*) ditambahkan ke dalam vial untuk preparasi HRP-Streptavidin dicampur dengan pipet secara perlahan lalu disimpan pada suhu 4 °C.

**LAMPIRAN C**  
**RERATA ± SD BERAT BADAN TIKUS PER 2 MINGGU**

Kelompok	Minggu							
	1	3	5	7	9	11	13	15
Kontrol 1	105	151	184	216	252	284	317	332
Kontrol 2	116	131	184	223	256	279	298	317
Kontrol 3	136	173	212	253	284	305	322	336
<b>Rerata ± SD</b>	<b>119± 15,72</b>	<b>152±2 1,01</b>	<b>193±16, 17</b>	<b>231±19, 66</b>	<b>264±17, 44</b>	<b>289±13, 79</b>	<b>312±12, 66</b>	<b>328±10, 02</b>
Perlakuan 1	146	199	237	253	283	290	299	316
Perlakuan 2	133	176	206	227	262	286	326	344
Perlakuan 3	138	185	227	262	300	334	345	360
<b>Rerata ± SD</b>	<b>139± 6,56</b>	<b>187±1 1,59</b>	<b>223±15, 82</b>	<b>247±18, 18</b>	<b>282±19, 03</b>	<b>303±26, 63</b>	<b>323±23, 12</b>	<b>340±22, 27</b>



**LAMPIRAN D**  
**HASIL JUMLAH NEUTROFIL PADA TIAP KELOMPOK TIKUS**

Pengamatan Jumlah Neutrofil					
Kelompok	Lapang Pandang			Jumlah Neutrofil	Rerata ± SD
	1	2	3		
Kontrol 1	6	6	3	15	5 ± 1,73
Kontrol 2	2	3	4	9	3 ± 1
Kontrol 3	5	0	2	7	2 ± 2,52
Perlakuan 1	2	3	5	10	3 ± 1,53
Perlakuan 2	3	3	0	6	2 ± 1,73
Perlakuan 3	1	3	5	9	3 ± 1,75

## LAMPIRAN E

### HASIL PERHITUNGAN ABSORBANSI SAMPEL

<b>Rerata ± SD Absorbansi Sampel</b>			
<b>Kelompok</b>	<b>Abs Sampel</b>		<b>Rerata ± SD</b>
	<b>rep 1</b>	<b>rep 2</b>	
Kontrol 1	0.1945	0.2206	0,03 ± 0,09
Kontrol 2	0.2036	0.2192	0,04 ± 0,08
Kontrol 3	0.4346	0.4672	0,27 ± 0,09
Perlakuan 1	0.3744	0.4163	0,22 ± 0,10
Perlakuan 2	0.5919	0.4532	0,35 ± 0,03
Perlakuan 3	0.4539	0.446	0,27 ± 0,06

## LAMPIRAN F

### HASIL PERHITUNGAN KADAR IL-6

1. Regresi Linear dari Konsentrasi Vs Absorbansi Standar

Konsentrasi (pg/ml)	Abs Std
11520	0,1884
4608	0,09765
1843,2	0,0468
294,75	0,0111

Regresi :

- **a** : 0,015702705
- **b** :  $1,53914 \times 10^{-5}$
- **r** : 0,98684397

2. Kadar IL-6 Untuk Setiap Sampel didapat dengan Menggunakan

Persamaan :

$$y = a + bx$$

Keterangan :  $x$  : Kadar IL-6 yang ingin diketahui

$y$  : Absorbansi Sampel

3. Kadar IL-6 yang didapat :

<b>Kelompok</b>	<b>Kadar IL-6 (pg/ml)</b>
Kontrol 1	993 ± 5494
Kontrol 2	1244 ± 5012
Kontrol 3	16804 ± 5793
<b>Rerata ± SD</b>	<b>6347 ± 394</b>
Perlakuan 1	13195 ± 6220
Perlakuan 2	21459 ± 2076
Perlakuan 3	16742 ± 3932
<b>Rerata ± SD</b>	<b>17132± 2075</b>