

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan analisis data maka dapat disimpulkan :

1. Pemberian diet tinggi fruktosa rendah magnesium meningkatkan jumlah makrofag.
2. Pemberian diet tinggi fruktosa rendah magnesium meningkatkan kadar TNF- α .

5.2 Saran

Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Pemeriksaan jumlah makrofag dengan metode lain yang lebih spesifik sehingga memberikan hasil yang lebih baik, misalnya Automated Hematology Analyzer.
2. Pemberian premix yang lebih variasi misalnya dengan dicampurkan pada pakan.

DAFTAR PUSTAKA

Abbas, A.K., A.H.Lichtman, S.Pillai, 2007, **Cellular and Molecular Immunology**, ed.6, Elsevier, 5, 8, 35.

Anonim, 2013, Supurasi, <http://www.klinikindonesia.com/kamus-kedokteran/supurasi.php>, diakses tanggal 14 September 2013.

Apriria, E.P., 2008, **Profil Trigliserida Dan Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diberi Pakan Mengandung Gulai Daging Domba**, Skripsi Sarjana, Institut Pertanian, Bogor, 10-11.

Arifin, Z., 2008, Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro Dalam Sistem Biologi dan Metode Analisisnya, **Jurnal Litbang Pertanian**, vol.27, no.3, 99 – 100.

Astuti, K., M.Dewi, 2011, **Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Ekspresi Insulin dan Insulitis Pankreas Tikus Sprague Dawley yang Diinduksikan Streptozotocin**, Karya Tulis Ilmiah, Master Tesis Universitas Diponegoro, Semarang.

Baratawidjaja, K.G dan I.Rengganis, 2010, **Imunologi Dasar**, ed.9, Balai Penerbit FKUI, Jakarta, 63-64, 69-70, 226-228, 259-265, 273-279.

Biolegend, 2012, **Legend Max Rat TNF – α Elisa Kit**, USA.

Brooks, G., F.Janet, S.Butel, Morse, S.A., 2001, **Mikrobiologi Kedokteran**, Salemba Madika, Jakarta, 317 – 320.

Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, **Prosedur Tetap Pembedahan Hewan Uji**.

Cole, C., J.Gazewood, 2007, **Diagnosis and Treatment of Impetigo**, vol.75, no.6, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, Virginia.

Depkes RI, 1989, Periksa eritrosit, <http://digilib.unimus.ac.id/files/disk1/125/jtptunimus-gdl-mubarakahg-6246-3-babii.pdf>, diakses September 2013.

Erinda, R., 2009, **Efek Minyak Atsiri dari Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Kadar Albumin Plasma Pada Tikus yang Diberi Diet Kuning Telur**, Karya Tulis Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, 34 – 35.

Faroka, D., S.Rahayu, M.Rifa'I, 2013, Profil Gr-1 dan CD34 Mencit yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus* Pacsa Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*), **J.Exp. Life Sci.** Vol. 3, No. 1, Progam Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang, 14.

Forbes, B.A., D.F.Sahm, A.S.Weissfeld., 2007, **Diagnostik Microbiology**, ed.12, Mosby Elsevier, 254 – 257.

Garbutt, A.C., A.Mandal, J.Scanlon, 2011, Fruktosa Tidak Meningkatkan Asupan Makanan Atau Berat Badan, <http://www.news-medical.net/article/Information.aspx> , diakses Desember 2013.

Gibson, R.S., 2005, Assessment of Calcium, Phosphorus, and Magnesium Status, in : **Principles Of Nutritional Assessment**, ed.2, Oxford University Press, London, 661-665.

Gusviani, W., A.Gana., Sukrasno, 2002, **Kandungan Kuersitrin pada Beberapa Jenis Benalu**, Farmasi ITB, Skipsi.

Harahap, S.,H.D., Jatmiko, M.S., Harahap, 2012, Pengaruh Simvastatin Terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag Pada Mencit Balb/C Yang Diberi Lipopolisakarida, **Jurnal Anestesiologi Indonesia** Vol. IV, No. 2, Bagian Anestesiologi RSUD Mataram, Lombok dan Bagian Anestesiologi dan Terapi Intensif FK Undip/ RSUP Dr. Kariadi, Lombok, Semarang, 98.

Irawan, M.A., 2007, Cairan Tubuh, Elektrolit dan Mineral, **Journal of Polton Sports Science and Perfoimance Lab**, vol.1, no.1, 3.

Kusmardi, S.Kumala, D.Wulandari, 2006, **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Johar (*Cassia siamea* Lamk) terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag**, Makara Kesehatan, vol.10, no.2, 89-93.

- Malik, R., 2011, **Folikulitis**, Bagian SMF Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah RSU Dr. Pirngadi, Medan.
- Mayes, P., 2013, Intermediary Metabolism of Fructose, **The American Journal of Clinical Nutrition**, USA, 754
- Mustafiah, S.E, D.Fatmawati, I.Yusuf, 2011, **Indeks Daya Fagosit Makrofag Peritoneum Setelah Pemberian Propolis Pada Mencit (*Mus musculus*)**, Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung, vol.3, no.2, Semarang, 122
- National Institutes of Health, 2009, **Dietary Supplement Fact Sheet : Magnesium**, Office of Dietary Supplements.
- Prahastuti, S.2011, Konsumsi Fruktosa Berlebihan Dapat Berdampak Buruk Bagi Kesehatan Manusia, **Jurnal Kesehatan Masyarakat**, vol.10, no.2, Fakultas Kedokteran Universitas Kristan Maranatha, Bandung.
- PT Eka Farma, 2013, Komposisi Mineral Babi, <http://agromaret.com/jual/67569/PT-eka-farma-medan-mineral-10-mineral-untuk-ternak-babi-ayam>, diakses September 2013.
- Pudjaatmaka, A.H., 2002, **Kamus Kimia**, Balai Pustaka, Jakarta, 465
- Rantam, F.A, 2003, **Metode Immunologi**, Airlangga University Press, Surabaya, 69 – 85
- Ratnawati, H., Y.Handoko, L.H.Purba, 2007, Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Merah (*Pandanus Conoideus* Lam.) terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag, **Jurnal Kesehatan Masyarakat**, vol.7, no.1, Fakultas Kedokteran UK. Maranatha, Bandung, 2.
- Rayssiguier, Y., E.Gueux, W.Nowacki, E.Rock, A. Mazur, 2006, High Fructose Consumption Combined With Low Dietary Magnesium Intake May Increase the Incidence of the Metabolic Syndrome by Inducing Inflammation, **Magnesium Research**, vol.19, no.4, 239 – 240.
- Roitt, Brostoff, Male, 1998, **Immunology**, ed.4, Mosby, Barcelona, 1 – 9.
- Sears, B.W., L.Spear, R.Saenz, 2007, **Mikrobiologi dan Immunologi**, terjemahan A. Hareono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 254 – 257.

Subowo, 2009, **Imunobiologi**, ed.2, Sagung Seto, Jakarta, 132-133.

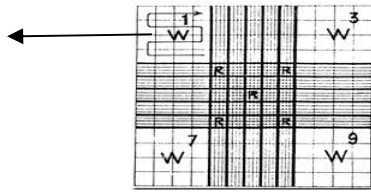
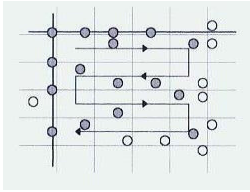
Tisdale, MJ.,1997, Biology of cachexia, **Journal National Cancer Institute**, vol.89, 1763.

Zuraida, R., E.S.Rohaeni, Z.Hikmah, 2006, **Prospek Pengusahaan Ayam Pedaging pada Kota Madya Kalimantan Selatan : Kasus di Desa Palam Kecamatan Cempaka Kota Banjarbaru Kalimantan Selatan**, Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, 843.

LAMPIRAN A

PROSEDUR PERHITUNGAN JUMLAH MAKROFAG DENGAN HEMOSITOMETER

Cairan peritoneal dihisap melalui pipet pengencer dan aspiratornya sampai batas garis 0,5 kemudian dilanjutkan dengan penambahan larutan pengencer Turk sampai batas garis 11. Campuran di dalam pipet ini kemudian dihomogenkan dengan memutar pipet membentuk angka delapan. Sebelum ditetaskan ke dalam kamar hitung, campuran di ujung pipet dibuang dahulu beberapa tetes menggunakan kertas tisu. Makrofag yang dihitung adalah terdapat pada empat sudut kamar hitung. Perhitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun ke bawah, dan dari kanan ke kiri, lalu turun lagi ke bawah dan mulai lagi dari kiri ke kanan. Semua sel yang menyentuh garis batas sebelah atas dan kiri, dianggap masuk ke dalam ruangan dan dihitung. Sedangkan sel yang menyentuh garis batas sebelah kanan dan bawah dianggap tidak masuk dan tidak dihitung (Depkes RI, 1989). Kamar hitung untuk perhitungan jumlah makrofag adalah yang bertanda W dan dapat dilihat pada gambar berikut ini.



Gambar Kamar Hitung Improved Neubaur (Depkes RI, 1989)

Keterangan :

W : kotak untuk hitung jumlah

leukosit

R : kotak untuk hitung jumlah

eritrosit

○ : tidak dihitung

• : dihitung

Cara menghitung : Jumlah sel x koreksi isi x koreksi pelarut

- Koreksi isi dari 4 bidang adalah 2,5
- Koreksi pelarut adalah 20 (darah dilarutkan dengan perbandingan 1:20)

LAMPIRAN B

PROSEDUR Pengerjaan ELISA

Persiapan reagen dan sampel

1. *Wash buffer* yang tersedia adalah yang 20 X, dibutuhkan *wash buffer* 1 X sehingga dilakukan pengenceran dengan cara, 50 ml dari *wash buffer* 20 X ditambahkan ke dalam air deionisasi 950 ml. Apabila terbentuk kristal pada *wash buffer* 20 X, maka ditempatkan pada suhu ruang kemudian *divortex* sampai larut.
2. Rekonstitusi standar lyophilized Rat TNF- α dilakukan dengan menambahkan *Assay Buffer A* sesuai dengan label yang tertera pada vial untuk membuat 20 ng/ml standar *stock solution*. Larutan dibiarkan pada suhu ruang selama 15 menit kemudian *divortex* agar tercampur sempurna.
3. Rekonstitusi lyophilized Matrix A dilakukan dengan menambahkan 2 ml air deionisasi ke dalam vial dan dibiarkan pada suhu ruang selama 15 menit kemudian *divortex* agar tercampur sempurna.

Prosedur Kerja

1. *Assay buffer A* dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf 1-7, pada tabung 1 sebanyak 487,5 μ l dan pada tabung 2-7 masing-masing 250 μ l. Dipipet 12,5 μ l dari *stock solution* dan dimasukkan ke dalam tabung 1, kemudian dari tabung 1 dipipet 250 μ l dan dimasukkan ke dalam tabung 2, dari tabung 2 dipipet 250 μ l dan dimasukkan ke dalam tabung 3, demikian seterusnya sampai tabung 7, sehingga didapat konsentrasi mulai dari 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml dan 7,8 pg/ml.
2. *Plate* dicuci sebanyak 4 X dengan *wash buffer* 1X masing-masing 300 μ l.

3. *Plate* kolom 1 dan 2, diisi dengan Matrix A masing-masing 50 μ l kemudian ditambahkan 50 μ l *standard dilution* ke dalam *plate* kecuali pada baris terakhir, ditambahkan *assay buffer* sebanyak 50 μ l.
4. *Plate* kolom 3-8, diisi dengan *assay buffer* A masing-masing 50 μ l kemudian ditambahkan 50 μ l plasma sampel ke dalam *plate* kecuali pada baris terakhir.
5. *Plate* ditutup rapat dengan *plate sealer* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam sambil di-*shaking* pada 200 rpm.
6. Isi *plate* dibuang kemudian *plate* dicuci 4 kali dengan *wash buffer* 1X.
7. Larutan Rat TNF- α *detection antibody* ditambahkan 100 μ l pada setiap lubang kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam sambil di-*shaking*.
8. Isi *plate* dibuang kemudian *plate* dicuci 4 kali dengan *wash buffer* 1X
9. Larutan Avidin-HRP D ditambahkan 100 μ l pada setiap lubang kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit sambil di-*shaking*.
10. Isi *plate* dibuang kemudian *plate* dicuci 5 kali dengan *wash buffer* 1X. Pada pencucian terakhir tunggu sekitar 30 detik-1 menit.
11. Substrat *solution F* ditambahkan 100 μ l pada setiap lubang dalam kondisi gelap kemudian diinkubasi selama 15 menit, terjadi perubahan warna menjadi biru.
12. *Stop solution* ditambahkan 100 μ l pada setiap lubang. Terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
13. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 450 nm maksimal dalam waktu 30 menit setelah penambahan *stop solution* (Biolegend, 2013).

LAMPIRAN C

JUMLAH MAKROFAG PENGAMATAN MIKROSKOP

Kontrol	Jumlah Makrofag	Tinggi Fruktosa Rendah Magnesium (TFRM)	Jumlah Makrofag
Kontrol 1	3150*	TFRM 1	2350
Kontrol 2	600	TFRM 2	1200
Kontrol 3	2900*	TFRM 3	500
Kontrol 4	2800*	TFRM 4	2850*
Kontrol 5	1300	TFRM 5	3300*
Kontrol 6	2350*	TFRM 6	5950*
Kontrol 7	1850	TFRM 7	4300*
Kontrol 8	3000*	TFRM 8	5700*

Keterangan :

- TFRM :Tinggi Fruktosa Rendah Magnesim
- *: Data yang digunakan dalam uji statistik dengan *Independent Samples t-Test* .

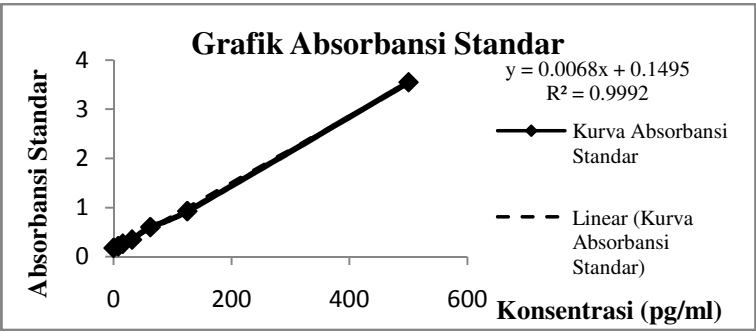
LAMPIRAN D

DATA TNF- α

Data Absorbansi TNF-- α

Absorbansi		Absorbansi		Absorbansi	
Standar		Kontrol		Sampel	
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 1	Replikasi 2
3,977	3,118	0,363	0,426	0,243	0,245
1,499	1,36	0,201	0,221	0,211	0,209
0,826	1,021	0,469	0,500	0,377	0,385
0,553	0,649	0,309	0,321	0,261	0,261
0,311	0,382	0,409	0,376	0,222	0,251
0,246	0,278	0,269	0,212	0,21	0,209
0,207	0,212	0,297	0,280	0,326	0,384
0,167	0,185	0,204	0,194	0,253	0,271

Grafik Absorbansi Standar vs Konsentrasi (pg/ml)



Konsentrasi TNF- α (pg/ml)

No	Konsentrasi Kontrol	Konsentrasi sampel
1	36,20	13,96*
2	9,08*	8,93
3	49,50	34,20*
4	24,45*	16,47*
5	35,90	12,85
6	13,44*	8,86
7	20,53*	30,36*
8	7,31*	16,62*

Keterangan :

*: Data yang digunakan dalam uji statistik dengan *Independent Samples t-Test*.

LAMPIRAN E

DATA BERAT BADAN TIKUS (gram)

	April 2013			Mei 2013			Juni 2013			
	21	28	5	12	19	26	2	9	16	20
Kontrol1	179	231	253	274	304	311	319	341	352	360
kontrol2	206	233	242	233	270	277	284	298	305	310
kontrol3	171	197	189	196	232	241	251	261	266	275
kontrol4	222	254	263	276	294	298	304	316	326	341
kontrol5	217	221	237	256	272	277	283	293	299	313
kontrol6	196	206	218	234	238	242	247	260	276	279
kontrol7	238	238	243	260	282	286	291	302	308	320
kontrol8	222	233	249	260	276	287	299	310	318	324
<i>Rata</i>	206.375	226.62	236.75	248.62	271±,00	277.37	284.75	297.62	306.25	315.25
<i>rata±SD</i>	±23,02	±18,18	±23,30	±26,99	25,00	±24,77	±24,93	±27,17	±27,29	±28,61

	April 2013			Mei 2013			Juni 2013			
	21	28	5	12	19	26	2	9	16	20
TFRM1	236	259	260	289	318	320	322	331	353	360
TFRM2	197	202	211	223	238	237	235	250	263	268
TFRM3	181	189	180	208	255	255	257	267	279	281
TFRM4	195	197	224	238	223	230	236	239	263	263
TFRM5	237	231	263	278	297	305	315	327	336	348
TFRM6	210	223	227	241	242	259	264	278	294	300
TFRM7	227	233	244	260	259	284	294	298	307	310
TFRM8	201	206	237	255	273	282	287	286	311	316
<i>rata-rata±SD</i>	210.50	217.50	230.75	249,00	263.12	271.50	276.25	284.5	300.75	305.75
	±20,72	±23,23	±27,08	±27,09	±31,68	±31,80	±33,52	±33,29	±32,70	±35,35

* Keterangan :

TFRM : Tinggi Fruktosa Rendah Magnesium

LAMPIRAN F

HASIL ANALISA STATISTIK BERAT BADAN TIKUS DENGAN INDEPENDENT SAMPELS t-TEST

Group Statistics

Kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BB	kontrol	8	88.63	17.671	6.248
	TFRM	8	88.25	19.710	6.969

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
							Std. Error Difference		
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference		Lower	Upper
BB Equal variances assumed	.955	.345	.040	14	.969	.375	9.359	-19.699	20.449
Equal variances not assumed			.040	13.836	.969	.375	9.359	-19.721	20.471

LAMPIRAN G

HASIL ANALISA STATISTIK MAKROFAG DENGAN INDEPENDENT SAMPELS t-TEST

Group Statistics

kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
makrofag	kontrol	5	2840.00	302.903	135.462
	TFRM	5	4420.00	1388.614	621.007

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
makrofag Equal variances assumed	10.813	.011	-2.486	8	.038	-1580.000	635.610	-3045.719	-114.281
Equal variances not assumed			-2.486	4.380	.062	-1580.000	635.610	-3285.992	125.992

LAMPIRAN H

HASIL ANALISA STATISTIK TNF- α DENGAN INDEPENDENT SAMPELS t-TEST

Group Statistics

kelompok		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
tnfalpa	kontrol	5	14.9662	7.35804	3.29062
	TFRM	5	22.3256	9.25407	4.13854

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
									95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
tnfalpa Equal variances assumed	1.256	.295	-1.392	8	.201	-7.35947	5.28732	-19.55204	4.83310	
Equal variances not assumed			-1.392	7.613	.203	-7.35947	5.28732	-19.66065	4.94170	

LAMPIRAN I SERTIFIKAT TIKUS

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Heri Soemantoro
NIP : 196302021988031002

Menerangkan bahwa :

Nama : **Agustina Hutriani Pandung**
Pekerjaan : **Mahasiswa**

Telah membeli tikus jantan (*Rattus norvegicus L.*) usia 3 bulan sejumlah 40 ekor dalam keadaan sehat dari Kandang Hewan coba Biokimia Kedokteran FK Unair

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.

Surabaya, 19 April 2013

Koordinator



Heri Soemantoro

LAMPIRAN J
ETHICAL CLEARANCE



KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Animal Care and Use Committee (ACUC)

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
" ETHICAL CLEARANCE "

No : 296-KE

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :

PENELITIAN BERJUDUL : Pengaruh Diet Tinggi Fruktosa Rendah Magnesium
Terhadap Jumlah Makrofag, Netrofil dan Kadar Sitokin
Dalam Darah Tikus Putih

PENELITI UTAMA : Ratna Megawati

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Universitas Katholik Widya Mandala Surabaya

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Surabaya, 29 Mei 2013

Mengetahui,
Dekan FKH-Unair,

Prof. Romziah Sidik, Ph.D.,drh.
NIP. 195312161978062001

Ketua,

Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes.,Drh.
NIP. 196609201992031003