

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Diet tinggi lemak menurunkan jumlah makrofag dalam cairan peritoneal tikus putih jantan setelah induksi *Staphylococcus aureus* walaupun secara uji statistik didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata di antara perlakuan.
2. Diet tinggi lemak menurunkan kadar TNF- α pada serum darah tikus putih jantan setelah induksi *Staphylococcus aureus* walaupun secara uji statistik didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata di antara perlakuan.

5.2 Saran Penelitian

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pengamatan sitokin lainnya sebagai petanda genetik terhadap pengaruh diet tinggi lemak.

Daftar pustaka

- Abbas, K.A. and Litchman, A.H. 2007. **Cellular and Molecular Immunology** Ed 5th. ELSEVIER. pp 4-12.
- Abcam, No Date. **Direct ELISA protocol**.
- Adityawarman. 2007. **Hubungan Aktivitas Fisik dengan Komposisi Tubuh pada Remaja**. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. SKRIPSI. Hal:4-6.
- Anonim. 1994. **Proses Fagositosis**, <http://www.googleimages/proses-fagositosis/> diakses 24 Juni 2013 pukul 8.44 wib.
- Anonim. 2009. **Module 1 The Laboratory Rat, Handling and Restraint**. McGill.
- Anonim. 2010. **Macam Sel Darah yang Terdapat pada Manusia**. Pusat Teknologi Informasi dan Komunikasi Pendidikan. <http://www.googleimages/sel-darah/> diakses 24 Juni 2013 pukul 8.42 wib.
- Boris, T., Bruce, F. and Barbara, C.F. 2003. **Peritoneal macrophage express both P-selectin and PSGL-1**. The Journal of Cell Biology. Article. Pp 1145-1155.
- Baggott, J. 1997. **The divinylmethane pattern in fatty acids**. Salt Lake City, UT: Knowledge Weavers.
- Baratawidjaja, K.G. 1996. **Imunologi Dasar**. Edisi ke-3. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 9-12, 39-41.
- Baratawidjaja, K.G dan, Iris, R. 2012. **Imunologi Dasar**. Edisi ke-10. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Bellanti, J.A. 1993. **Imunologi**. Edisi ke-3. Terjemahan (Wahab AS, Suropto N), Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal: 28-29.
- Block, M.L, Luigi, Z. and, Jau-Shyong, H. 2007. **Microglia-mediated Neurotoxicity: Uncovering the Molecular Mechanism**. Nature Reviews Neurosciens; vol.8: 57-69.

Brooks, G.F., Janet S.B., dan, Stephen A.M. 2001. **Mikrobiologi Kedokteran**. Salemba Medika: Jakarta. Hal 317-320.

Clark, W.R. 2007. **In Defense of Self (How the Immune System Really Works in Managing Health and Disease)**. New York: Oxford University Press.

Duwi. 2011. **Langkah-langkah Pada Program SPSS**, <http://teori-online.blogspot.com> diakses 19 Februari 2013 pukul 9.35 wib.

Erickson, D.R 1990. **Edible Fats and Oil Processing**. American Oil Chemists Society: USA.

Fatmah. 2006. **Respon Imunitas yang Rendah pada Tubuh Manusia Usia Lanjut**. Makara Kesehatan, vol.10, No.1, Juni hal.47-53.

Galuh, A.S. 2008. **Pengaruh Pemberian Ekstrak *Phyllanthus niruri* L. terhadap Fungsi Fagositosis Makrofag pada Mencit BALB/C yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium***. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Hal 5-7.

Grimble, R.F., Howell W.M., O'Reilly G. 2002. **The ability of fish oil to suppress tumor necrosis factor alpha production by peripheral blood mononuclear cells in healthy men is associated with polymorphisms in genes that influence tumor necrosis factor alpha production**. American Journal of Clinical Nutrition;76:454–459.

Hapsari, A.I. 2009. **Perbandingan Efek Pemberian Sari Kedelai Kuning dan Hitam terhadap Rasio Kolesterol LDL/HDL Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Diet Tinggi Lemak**. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hal:1-3.

Harada, T., Iwabe, T. and, Terawaka, N. 2001. **Role of cytokines in endometriosis**. Fertility and Sterility 76: 1-10.

Hermanto, S. dan, Anna, M. No Date. **Profil dan Karakteristik Lemak Hewani (Ayam, Sapi dan Babi) Hasil Analisa FTIR dan GCMS**. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jurnal. Hal 102-109.

Hughes, D.A., Darlington, L.G. and, Adrienne, B. 2004. **Diet and Human Immune Function**. New Jersey: Humana Press. pp 345-360.

Ibrahim, M.N. 2011. **Hubungan Antara Aterosklerosis Dan Karbohidrat Melalui Trigliserida Tinjauan Biokimia**, <http://Mnuhibrahim.blogspot.com> diakses Oktober 2012 pukul 14.25 wib.

Irwandi, J., Saeed, M.E., Torla, H. and, Zaki, M. 2003. **Determination of Lard in Mixture of Body Fats of Mutton and Cow by Fourier Transform Infrared Spectroscopy**. *Oleo Sciene*, Vol. 52, No.12, 633-638.

Kusmardi., Shirly, K. dan, Dwitia, W. 2006. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Johar (*Cassia siamea* Lamk.) terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag**. *Makara Kesehatan*, vol.10, No.2, Desember hal.89-93.

Kusumaningrum, W. 2008. **Efektivitas Kunyit, Bawang Putih dan Zink Dalam Pakan terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Polimorfonuklear Ayam Broiler**. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Louie, Stan, G. and, W.C. Shen. 2005. **Immunology for Pharmacy Students**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

Lowy, F.D. 2008. **Staphylococcus aureus in Harrison's Principle of Internal Medicine 17th ed.**Section 5. The McGraw-Hill Companies.USA.pp 1023-1026.

Lydyard, P.M., Whelan, A. and, Fanger, M.W. 2004. **Instant Notes Immunology 2nd Ed.** Bios Scientific Publisher, London and New York. pp 36-40.

Megawati, T. 2008. **Perbedaan Kadar Resistin antara Penderita dengan dan Tanpa Penyakit Jantung Koroner**. Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Patologi Klinik Universitas Diponegoro Semarang. Thesis. Hal:xvix-xx, xxiv-xliiii.

Merck, 2009. **You Can Control your Cholesterol: A Guide to Low-Cholesterol living**. Merck&Co. Inc

Monteiro, J. 2012. **Oils Rich in alpha-linolenic acid independently protect against characteristics of fatty liver disease in the delta-6 desaturase null mouse.** The University of Guelph. Thesis. Page 71.

Morrow, J.W., Ohashi, Y., Hall, J., Pribnow, J., Hirose, S., Shirai, T. and, Levy, J.A. 1985. **Dietary Fat and Immune Function I. Antibody Responses, Lymphocyte and Accessory Cell Function in NZB x NZW F1 mice.** Journal of Immunology 135, pp 3857-3863.

Muluc, M. 2012. **Klasifikasi Antigen dan Antibodi Sistem Immunologi.** <http://mobile.dudamobile.com/klasifikasi-antigen/> diakses 8 Mei 2013 pukul 10.15 wib.

Nienaber dan, Puspitasari, N.L. 1996. **Asam Lemak dalam Makanan: Mekanisme Pembentukan dan Metabolisme dalam Tubuh.** Buletin Teknologi dan Industri Pangan, vol.VII, no.2, hal 84-94.

Playfair, J.H.L. and, Chain, B.M. 2001. **Immunology at a Glance 7th Ed.** Blackwell Publishing. UK. pp 18-19.

Rantam, F.A. 2003. Metode Immunologi. Surabaya: Airlangga University Press. Hal 83-84.

Renaldi, O. 2009. **Peran Adiponektin terhadap Kejadian Resistensi Insulin pada Sindrom Metabolik.** Medicinus Medical Review, vol.22, No.1, Ed. Juni-Agustus, 65-70.

Roitt, I. 2003. **Imunologi.** Edisi ke-8. Jakarta: Widya Medika. Hal:2-37.

Setyawan, F.D. 2011. **Perbandingan Zona Hambat Ekstrak daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Staphylococcus aureus* Asal Susu Sapi Perah dari Peternakan Nongkojajar dan Kalikepiting Surabaya.** Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. ARTIKEL ILMIAH. Hal 6-7.

Schmidt, E.B., Varming, K., Moller, J.M., Bulow, P.I., Madsen, P. and, Dyerberg, J. 1996. **No effect of a very low dose of n-3 fatty acids on monocyte function in healthy humans.** Scandinavian Journal of Clinic Laboratory Investigation; pp 56: 87-92.

Siegel, S. and, Castellan, N.J. 1988. **Nonparametric Statistics for The Behavioral Science.** New York: McGraw-Hill, Inc.

Suyatno. No date. **Lemak**. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro Semarang.

Tandra, H. 2007. **Segala Sesuatu yang Harus Anda Ketahui tentang Diabetes**. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Tolan, R.W. 2012. *Staphylococcus aureus* Infection. <http://emedicine.medscape.com/> Update 9 Juli 2012. Diakses tanggal 8 November 2012 pukul 11.56 wib.

Wasito, H., Priani, S.E. dan, Lukmayani, Y. 2008. **Uji Aktivitas Antibakteri Madu terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***, <http://hendriapt.wordpress.com/2008/11/14/uji-aktivitas-antibakteri-madu-terhadap-bakteri-staphylococcus-aureus/> diakses 10 Agustus 2012 pukul 16.55 wib.

Weir, D.M. 1983. **Immunology. 5th Edition**. Edinburgh: Churchill Livingstone Longman Singapore Published Pte Ltd 10-26, 36-106, 115-122.

Whicher, J.T. and, Evans, S.W. 1990. **Cytokines in disease**. Clinical Chemistry 36:1269-1281.

LAMPIRAN A
HASIL PERHITUNGAN RERATA DAN HASIL UJI *t*-TEST
JUMLAH MAKROFAG

Keterangan	Rerata	Rerata kelompok
Kontrol 3.1	3,6667	3,000 ± 0,903
Kontrol 3.2	3,3333	
Kontrol 3.3	3,3333	
Kontrol 3.4	1,6667	
Perlakuan 3.1	1,5000	2,167 ± 1,340
Perlakuan 3.2	4,1667	
Perlakuan 3.3	1,6667	
Perlakuan 3.4	1,3333	

***t*-Test**

Group Statistics

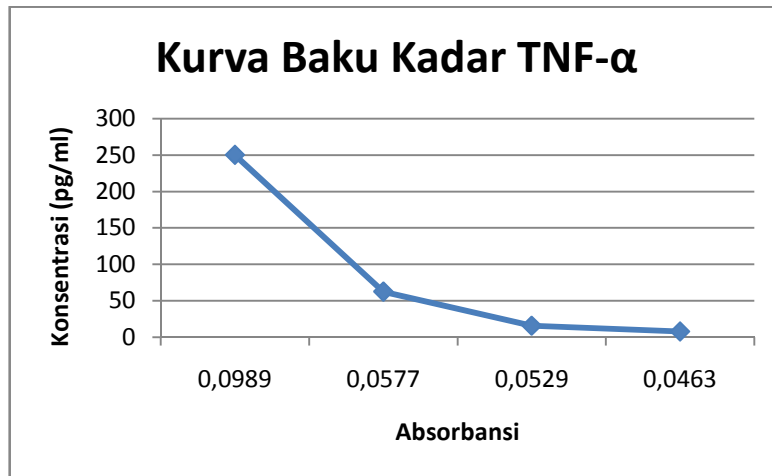
		perlakuan diet lemak	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kontrol diet lemak	kontrol lemak		4	3.00000	.902671	.451335
	perlakuan lemak		4	2.16667	1.340260	.670130

Independent Samples Test

		kontrol diet lemak	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of Variances	F Sig.	.649 .451	
t-test for Equality of Means	t df Sig. (2- tailed) Mean Difference Std. Error Difference 95% Lower Confidenc e Interval of the Differenc e	1.031 6 .342 .833333 .807947 -1.143641 2.810308	1.031 5.257 .347 .833333 .807947 -1.213367 2.880033

LAMPIRAN B
KURVA BAKU DAN PERHITUNGAN RERATA KADAR TNF- α

Konsentrasi (pg/ml)	Absorbansi	
250	0,0989	a = -219,3601
62,5	0,0577	b = 4743,4633
15,625	0,0529	r = 0,99018
7,8125	0,0463	



Perhitungan Rerata Kadar TNF- α

Keterangan	Absorban	Rerata absorban	Kadar sampel (pg/ml)	Rerata kadar (pg/ml)
Kontrol 3.1	0,0478	0,0498	7,377442	16,864 $\pm$ 14,754
Kontrol 3.2	0,0477		6,903096	
Kontrol 3.3	0,0481		8,800481	
Kontrol 3.4	0,0504		19,71045	
Kontrol 3.5	0,0550		41,53038	
Perlakuan 3.1	0,0478	0,04967	7,377442	16,248 $\pm$ 13,522
Perlakuan 3.2	0,04765		6,665923	
Perlakuan 3.3	0,0476		6,42875	
Perlakuan 3.4	0,05145		24,69108	
Perlakuan 3.5	0,05385		36,0754	

LAMPIRAN C
HASIL PERHITUNGAN RERATA DAN HASIL UJI *t*-TEST
KADAR TNF- α

Keterangan	Kadar sampel (pg/ml)	Rata-rata kadar (pg/ml)
Kontrol 3.1	7,377442	16,864 $\pm$ 14,754
Kontrol 3.2	6,903096	
Kontrol 3.3	8,800481	
Kontrol 3.4	19,71045	
Kontrol 3.5	41,53038	
Perlakuan 3.1	7,377442	16,248 $\pm$ 13,522
Perlakuan 3.2	6,665923	
Perlakuan 3.3	6,42875	
Perlakuan 3.4	24,69108	
Perlakuan 3.5	36,0754	

***t*-TEST**

Group Statistics

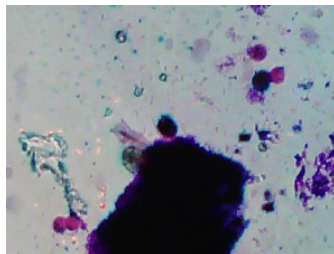
perlakuan diet lemak		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kontrol diet lemak	kontrol lemak	5	16.86437	14.75438 3	6.598361
	perlakuan lemak	5	16.24772	13.52157 6	6.047033

Independent Samples Test

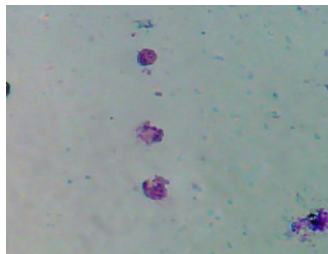
		kontrol diet lemak	
		Equal variances assumed	Equal variances not assumed
Levene's Test for Equality of Variances	F	.005	
	Sig.	.944	
t-test for Equality of Means	t	.069	.069
	df	8	7.940
	Sig. (2-tailed)	.947	.947
	Mean Difference	.616651	.616651
	Std. Error Difference	8.950138	8.950138
	95% Lower	-20.022404	-20.049648
	Confidence Upper	21.255706	21.282950
	Interval of the Difference		

LAMPIRAN D
HASIL PENGAMATAN KELOMPOK KONTROL JUMLAH
MAKROFAG DENGAN MIKROSKOP CAHAYA PERBESARAN
400X

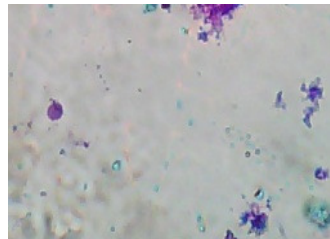
Kelompok Kontrol 3 Bulan
Kontrol 3.1



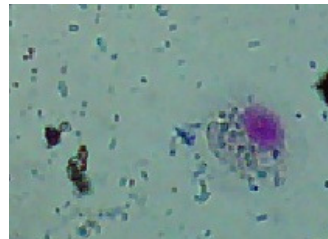
Kontrol 3.2



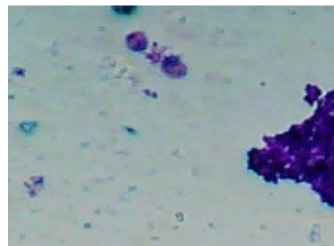
Kontrol 3.3



Kontrol 3.4



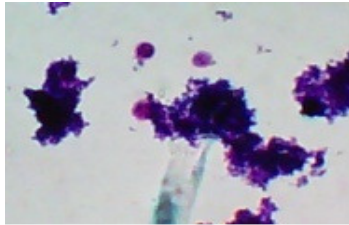
Kontrol 3.5



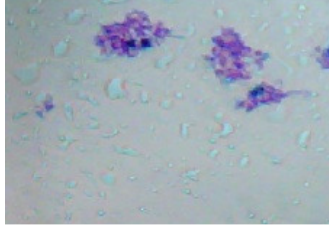
LAMPIRAN E
HASIL PENGAMATAN KELOMPOK PERLAKUAN JUMLAH
MAKROFAG DENGAN MIKROSKOP CAHAYA PERBESARAN
400X

Kelompok Perlakuan 3 Bulan

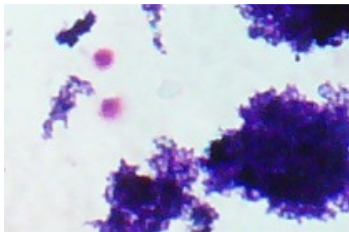
Perlakuan 3.1



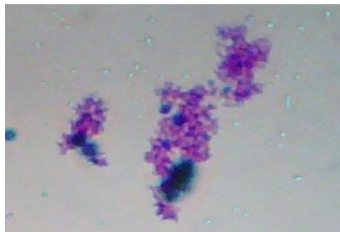
Perlakuan 3.2



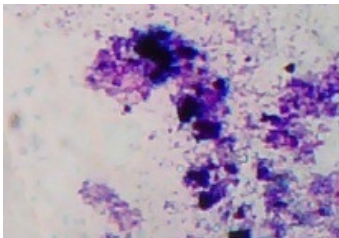
Perlakuan 3.3



Perlakuan 3.4



Perlakuan 3.5



Lampiran F
HASIL UJI ONE WAY ANOVA DAN UJI LSD UNTUK BERAT BADAN TIKUS
ANOVA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
perlakuan 1	7	207.9044	56.05965	21.18856	156.0579	259.7510	130.00	276.67
perlakuan 2	7	205.5714	54.58503	20.63120	155.0887	256.0542	122.38	269.38
perlakuan 3	4	243.8333	15.24261	7.62131	219.5789	268.0876	226.33	262.00
perlakuan 4	4	293.4063	10.61415	5.30707	276.5168	310.2957	280.75	305.25
Total	22	229.2404	54.42215	11.60284	205.1110	253.3698	122.38	305.25

LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) perlakuan diet lemak	(J) perlakuan diet lemak				Lower Bound	Upper Bound
perlakuan 1	perlakuan 2	2.33300	24.48461	.925	-49.1073	53.7733
	perlakuan 3	-35.92882	28.71075	.227	-96.2479	24.3902
	perlakuan 4	-85.50182*	28.71075	.008	-145.8209	-25.1828
perlakuan 2	perlakuan 1	-2.33300	24.48461	.925	-53.7733	49.1073
	perlakuan 3	-38.26182	28.71075	.199	-98.5809	22.0572
	perlakuan 4	-87.83482*	28.71075	.007	-148.1539	-27.5158

perlakuan 3	perlakuan 1	35.92882	28.71075	.227	-24.3902	96.2479
	perlakuan 2	38.26182	28.71075	.199	-22.0572	98.5809
	perlakuan 4	-49.57300	32.39009	.143	-117.6221	18.4761
perlakuan 4	perlakuan 1	85.50182*	28.71075	.008	25.1828	145.8209
	perlakuan 2	87.83482*	28.71075	.007	27.5158	148.1539
	perlakuan 3	49.57300	32.39009	.143	-18.4761	117.6221

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN G

CARA Pengerjaan Kadar TNF- α Dengan Metode ELISA

Sebelum digunakan, semua reagen dilarutkan dalam pengencer masing-masing tanpa terbentuk busa. Lalu menentukan jumlah *strip microwell* yang diperlukan untuk pengujian sampel dan *strip* kosong untuk sampel standar (sampel yang diuji harus rangkap dua). Dimasukkan 100 μ l *diluent* standar pada sumur B1, B2, C1, C2, D1, D2, E1, E2, F1, F2, G1, G2, H1 dan H2. Dipipet 200 μ l standar yang telah dilarutkan dengan *diluent* dan dimasukkan dalam sumur A1 dan A2. Dipipet 100 μ l dari sumur A1 dan A2 lalu dimasukkan pada sumur B1 dan B2. Dicampur dengan cara menaik-turunkan pipet. Dari sumur B1 dan B2 dipipet kembali 100 μ l lalu dimasukkan pada sumur C1 dan C2 dan seterusnya hingga sumur H1 dan H2 (blanko). Pada sumur H1 dan H2 dipipet 100 μ l lalu dibuang agar jumlah standar sama banyak dengan sumur lain. Dimasukkan 100 μ l sampel pada sumur yang kosong (sesuai dengan jumlah sampel).

Dipersiapkan *Biotinylated* anti-rat TNF- α (antibodi sekunder). Ditambahkan pada tiap-tiap sumur sebanyak 50 μ l lalu ditutup dengan penutup pelat dan diinkubasi pada suhu kamar (18-25°C) selama 3 jam pada ELISA *reader*. Penutup pelat dibuka lalu dicuci dengan *Washing Buffer* sebanyak 300 μ l tiap sumur dengan cara menaik-turunkan pipet lalu dibuang. Pencucian ini dilakukan sebanyak 2 kali berturut-turut. Ditambahkan 100 μ l larutan Streptavidin-HRP pada tiap sumur lalu ditutup dengan penutup pelat yang berbeda lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (18-25°C) di ELISA *reader*. Dilakukan pencucian dengan *Washing Buffer* sebanyak 2 kali 300 μ l pada tiap sumur.

Ditambahkan 100µl larutan TMB substrat pada tiap sumur pada keadaan gelap lalu diinkubasi 12-15 menit pada suhu kamar (18-25°C) dengan penutup *aluminium foil*. Ditambahkan *Stop Solution* yaitu H₂SO₄ sebanyak 100µl pada tiap sumur secara cepat. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 450 nm dan 620 nm (Abcam, No Date).