

**PENGARUH ASAM 2-(3-
(KLOROMETIL)BENZOILOKSI)BENZOAT
TERHADAP RASIO SEL LIMFOSIT-T CD3CD4CD25
DAN CD3CD8CD25 PADA LIMPMA MENCIT SWISS
WEBSTER METODE FLUORESCENCE-ACTIVATED
CELL SORTING (FACS)**



I MADE ANDIKA BARA KUSUMA

2443019281

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
2023**

**PENGARUH ASAM 2-(3-
(KLOROMETIL)BENZOILOKSI)BENZOAT TERHADAP RASIO
SEL LIMFOSIT-T CD3CD4CD25 DAN CD3CD8CD25 PADA LIMPA
MENCIT SWISS WEBSTER METODE *FLUORESCENCE-
ACTIVATED CELL SORTING (FACS)***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata I
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

I MADE ANDIKA BARA KUSUMA

2443019281

Telah disetujui pada tanggal 14 Januari 2023 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



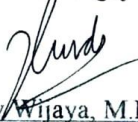
apt. Caroline, S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0444

Pembimbing II,



Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc.Biol.
NIK. 241.15.0835

Mengetahui,
Ketua Penguji



(dr. Hendy Wijaya, M.Biomed.)
NIK. 241.17.0973

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Pengaruh Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat Terhadap Rasio Sel Limfosit-T CD3CD4CD25 dan CD3CD8CD25 pada Limpa Mencit Swiss Webster Metode *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 14 Januari 2023



I Made Andika Bara Kusuma
2443019281

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 14 Januari 2023



I Made Andika Bara Kusuma
2443019281

ABSTRAK

PENGARUH ASAM 2-(3-(KLOROMETIL)BENZOILOKSI)BENZOAT TERHADAP RASIO SEL LIMFOSIT-T CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} DAN CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} PADA LIMPA MENCIT SWISS WEBSTER METODE *FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING* (FACS)

I MADE ANDIKA BARA KUSUMA
2443019281

Inflamasi merupakan mekanisme alamiah tubuh dalam mempertahankan homeostasisnya. Pada kondisi inflamasi, sistem kekebalan tubuh juga berperan aktif, salah satunya sel limfosit-T. Pemberian senyawa asam asetilsalisilat (AAS) dengan dosis 60 mg/kgBB diketahui dapat meningkatkan populasi dari sel limfosit-T CD4^{pos}CD25^{pos}. Pada pemberian lipopolisakarida (LPS) dengan dosis 1 mg/kgBB diketahui juga dapat meningkatkan populasi dari sel limfosit-T CD4^{pos}CD25^{pos} pada mencit. Namun, efek pemberian AAS pada mencit yang diinduksi inflamasi menggunakan LPS terhadap populasi sel limfosit-T masih belum diketahui. Senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat (3-CH₂Cl) merupakan senyawa turunan asam salisilat yang memiliki efek terapeutik yang sama dengan AAS namun dengan efek samping pada saluran cerna yang lebih minimum. Pada penelitian ini akan dilihat efek pemberian senyawa 3-CH₂Cl dengan dosis 60 mg/kgBB terhadap populasi sel CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dan CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} setelah pemberian LPS dengan dosis 1 mg/kgBB selama dua hari. Populasi dari sel limfosit-T CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dan CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} akan diamati menggunakan *flow cytometry*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian senyawa 3-CH₂Cl mampu meningkatkan jumlah absolut dan persentase dari sel limfosit-T CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dan CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dibandingkan dengan kontrol positif dan juga negatif. Peningkatan dari populasi sel limfosit-T CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dan CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} ini dapat berperan menjadi imunoregulator yang akan mengatur sistem imunitas tubuh selama proses terjadinya inflamasi.

Kata kunci: Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat, Asam Asetilsalisilat, *Flow Cytometry*, Sel Limfosit-T CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos}, Sel Limfosit-T CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos}

ABSTRACT

THE EFFECT OF 2-(3-(CHLOROMETHYL)BENZOYLOXY)BENZOATE ACID ON THE RATIO OF CD3CD4CD25 AND CD3CD8CD25 T-LYMPHOCYTE CELLS ON THE SPLEEN OF SWISS WEBSTER MICE WITH FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS) METHOD

**I MADE ANDIKA BARA KUSUMA
2443019281**

Inflammation is the body's natural mechanism in maintaining its homeostasis condition. In inflammatory conditions, the immune system also plays an active role. T-lymphocyte cells are one example of the immune system involved. Administration of acetylsalicylic acid (AAS) at a dose of 60 mg/kgBW could increase the population of CD4^{pos}CD25^{pos} T-lymphocyte cells. Lipopolysaccharides (LPS) at a dose of 1 mg/kgBW increase the population of CD4^{pos}CD25^{pos} T-lymphocyte cells in mice. However, the effect of AAS administration inflammatory-induced mice using LPS on the population of T-lymphocyte cells is still unknown. 2-(3-(chloromethyl)benzoyloxy)benzoic acid (3-CH₂Cl) is a salicylic acid derivative with same therapeutic effect with AAS but with minimal side effects on the gastrointestinal tract. In this study, the effect of 3-CH₂Cl at a dose of 60 mg/kgBW will be seen on the cell population of CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} and CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} after LPS administration at a dose of 1 mg/kgBW for two days. Populations of T-lymphocyte cells CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} and CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} was observed using flow cytometry. The results showed that the administration of the 3-CH₂Cl increase the absolute number and percentage of T-lymphocyte cells CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} and CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} compared to positive and negative controls. This increase in the population of CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} and CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} T-lymphocyte cells as an immunoregulator that will regulate the body's immune system during the inflammatory process.

Keyword: 2-(3-(chloromethyl)benzoyloxy)benzoic Acid, Acetylsalicylic Acid, Flow Cytometry, CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} T-lymphocyte, CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} T-lymphocyte

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa, karena atas rahmat dan karunia yang telah diberikan, skripsi dengan judul: **Pengaruh Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat Terhadap Rasio Sel Limfosit-T CD3CD4CD25 dan CD3CD8CD25 pada Limpa Mencit Swiss Webster Metode *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS)** dapat terselesaikan dengan baik. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala Surabaya.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak terlepas dari doa, dukungan, motivasi, serta bantuan dari banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah memberikan berkah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi dengan sebaik-baiknya.
2. Kedua orang tua (I Made Sugiarta dan Ni Putu Nurati) dan saudara (Ni Putu Fujiasri Kusumadewi dan I Nyoman Andika Wijaya Kusuma) serta keluarga besar Kusuma-Candra *Family* yang selalu memberikan dukungan, semangat, motivasi, dan doa serta bantuan moral maupun material selama proses menuntut ilmu di Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. apt. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

4. apt. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D selaku Dekan Fakultas Farmasi dan apt. Diga Albrian Setiadi S.Farm., M.Farm. selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
5. apt. Yufita Ratnasari Willianto, S.Farm., M.Farm-Klin. selaku penasehat akademik yang selalu memberikan nasehat serta motivasi selama perkuliahan hingga skripsi.
6. apt. Caroline, S.Si., M.Si. dan Yudy Tjahjono, B.Sc.Biol., M.Sc.Biol. selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan koreksi selama proses penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
7. dr. Hendy Wijaya, M.Biomed. selaku ketua penguji dan Dr.med.vet. Hevi Wihadmadyatami, drh., M..Sc. selaku anggota penguji yang telah bersedia memberikan masukan serta arahan yang membangun selama proses penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh dosen, staf laboratorium serta tata usaha Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan banyak bantuan selama masa perkuliahan.
9. RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan tempat untuk penulis dalam melaksanakan penelitian.
10. Ibu Nita selaku teknisi pada pemeriksaan *flow cytometry* di RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah meluangkan waktu dan tenaga selama pelaksanaan penelitian.
11. Teman seperjuangan proyek penelitian *flow cytometry* (Nico Jafet, Oryza Chrisantia, Sindi Palpialy, Maria Theresia, Shellin Soehadi, dan Karmila) yang selalu membantu, menemani, dan

memberikan semangat serta menjadi rumah kedua bagi penulis selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.

12. Teman seperjuangan skripsi (Marc Valens, Eunike Adabella, Vonny Mulyadi, Mario Alvino, Agustina Monalisa Betty, Daniel Andrianto, Dwi Putra, Julia Floresta, dan Aurel) yang selalu memberikan dukungan selama proses penyusunan skripsi ini.
13. Teman-teman Stephanie Beatrix Mowarni, S.Farm, Maria Lisawati, dan Jessica Riadi yang selalu memberikan dukungan selama proses penyusunan skripsi ini.
14. Keluarga besar Ormawa Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan dukungan selama proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini.
15. Keluarga besar PC KMHDI Surabaya yang telah memberikan dukungan selama proses perkuliahan di Kota Surabaya ini.
16. Mahasiswa Fakultas Farmasi angkatan 2019 yang telah memberikan dukungan selama proses perkuliahan.
17. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian naskah skripsi ini.

Tidak ada hal lain yang dapat penulis berikan kepada mereka semua selain doa dan juga rasa terima kasih atas bantuan yang telah diberikan selama ini. Semoga seluruh kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan yang berlimpah dari Tuhan Yang Maha Esa.

Melihat adanya keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari adanya kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Penulis sangat terbuka dalam menerima kritik dan saran yang dapat menyempurnakan naskah skripsi ini serta membangun untuk menambah wawasan serta demi pengembangan ilmu pengetahuan yang telah diperoleh selama ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi banyak pihak.

Surabaya, 14 Januari 2023

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------------|
| ABSTRAK | i |
| <i>ABSTRACT</i> | ii |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| DAFTAR SINGKATAN | xvi |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4. Hipotesa Penelitian..... | 4 |
| 1.5. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1. Inflamasi..... | 6 |
| 2.1.1. Mekanisme Terjadinya Inflamasi | 6 |
| 2.1.2. Peran Sistem Imunitas Pada Kondisi Inflamasi | 7 |
| 2.2. Sel T-Limfosit | 9 |
| 2.2.1. Pembentukan dan Aktivasi Sel limfosit-T | 11 |
| 2.2.2. Sel limfosit-T CD3 ^{pos} CD4 ^{pos} CD25 ^{pos} dan CD3 ^{pos} CD8 ^{pos} CD25 ^{pos} | 13 |
| 2.3. OAINS (Obat Anti Inflamasi Non Steroid)..... | 16 |
| 2.3.1. Asam Asetilsalisilat | 16 |

| | Halaman |
|--|----------------|
| 2.3.2. Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat..... | 19 |
| 2.3.3. Celecoxib..... | 24 |
| 2.3. Lipopolisakarida (LPS)..... | 25 |
| 2.4. Deteksi Terhadap CD3, CD4, CD8, dan CD25 dengan metode <i>Flow Cytometry</i> | 28 |
| BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN | 30 |
| 3.1. Jenis Penelitian..... | 30 |
| 3.2. Bahan, Alat dan Hewan Coba..... | 30 |
| 3.2.1. Bahan Penelitian..... | 30 |
| 3.2.2. Alat Penelitian..... | 31 |
| 3.2.3. Hewan Coba..... | 32 |
| 3.3. Metode Penelitian..... | 34 |
| 3.4. Variabel Penelitian..... | 35 |
| 3.5. Skema Konsep Penelitian..... | 36 |
| 3.6. Tahapan Penelitian..... | 37 |
| 3.6.1. Sintesis Senyawa Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat..... | 37 |
| 3.6.2. Uji kemurnian senyawa asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat..... | 37 |
| 3.6.1. Perlakuan Hewan Uji..... | 38 |
| 3.6.2. Prosedur Pembuatan Sediaan..... | 40 |
| 3.6.3. Induksi Inflamasi pada Mencit dengan Lipopolisakarida (LPS)..... | 41 |
| 3.6.4. Perhitungan Dosis Senyawa Uji..... | 41 |
| 3.6.5. Perhitungan Volume Pemberian Suspensi..... | 43 |
| 3.6.6. Pembuatan Larutan untuk Eutanasia..... | 43 |
| 3.6.7. Pembuatan <i>Buffer</i> | 43 |

| | Halaman |
|---|----------------|
| 3.6.8. Isolasi Organ Limpa | 45 |
| 3.6.9. Isolasi Sel Splenosit..... | 45 |
| 3.6.10. Staining Antibodi..... | 46 |
| 3.6.11. <i>Flow Cytometry</i> | 47 |
| 3.7. Analisa Data..... | 50 |
| 3.7.1. Strategi Gating..... | 50 |
| 3.7.2. Analisis Statistik | 51 |
| 3.8. Hipotesis Statistik..... | 52 |
| 3.8.1. Hipotesa Nol..... | 52 |
| 3.8.2. Hipotesa Alternatif..... | 52 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 53 |
| 4.1. Hasil Penelitian | 53 |
| 4.1.1. Asam 2-((3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat Meningkatkan Jumlah Absolut Sel Limfosit-T CD3 ^{pos} CD4 ^{pos} CD25 ^{pos} Pada Limpa Mencit Setelah Diinduksi Lipopolisakarida..... | 53 |
| 4.1.2. Asam 2-((3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat Meningkatkan Persentase Sel Limfosit-T CD3 ^{pos} CD4 ^{pos} CD25 ^{pos} Pada Limpa Mencit Setelah Diinduksi Lipopolisakarida..... | 55 |
| 4.1.3. Asam 2-((3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat Meningkatkan Jumlah Absolut Sel Limfosit-T CD3 ^{pos} CD8 ^{pos} CD25 ^{pos} Pada Limpa Mencit Setelah Diinduksi Lipopolisakarida..... | 58 |
| 4.1.4. Asam 2-((3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat Meningkatkan Persentase Sel Limfosit-T CD3 ^{pos} CD8 ^{pos} CD25 ^{pos} Pada Limpa Mencit Setelah Diinduksi Lipopolisakarida..... | 60 |
| 4.2. Pembahasan..... | 62 |
| BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 68 |

| | Halaman |
|-----------------------|----------------|
| 5.1. Kesimpulan | 68 |
| 5.2. Saran | 68 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 69 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|----------------|
| Gambar 2.1. Proses pembentukan sel limfosit-T (Vallejo et al., 2004) . | 12 |
| Gambar 2.2. Klasifikasi sel limfosit-T (Mousset et al., 2019)..... | 13 |
| Gambar 2.3. Regulasi ekspresi reseptor sitokin IL-2 (Abbas et al., 2016) | 15 |
| Gambar 2.4. Struktur asam asetilsalisilat (AAS) | 16 |
| Gambar 2.5. Reaksi pembentukan senyawa asam asetilsalisilat (AAS) | 17 |
| Gambar 2.6. Pengaruh pemberian senyawa AAS terhadap pembentukan sel T regulator CD4 ^{pos} CD25 ^{pos} Foxp3 ^{pos} (Hussain et al., 2012)..... | 19 |
| Gambar 2.7. Struktur Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat | 19 |
| Gambar 2.8. Reaksi pembentukan senyawa Asam 2-(3- (klorometil)benzoiloksi)benzoat (3-CH ₂ Cl) (Caroline et al., 2019)..... | 20 |
| Gambar 2.9. Perbandingan gambaran histologi sel mukosa lambung tikus pada pemberian senyawa AAS dan 3-CH ₂ Cl dengan dosis 50 mg/kgBB (Caroline et al., 2019). | 21 |
| Gambar 2.10. Mekanisme kerja senyawa 3-CH ₂ Cl sebagai antiinflamasi (Tjahjono et al., 2021) | 23 |
| Gambar 2.11. Struktur celecoxib | 24 |
| Gambar 2.12. Struktur lipopolisakarida (Caroff and Novikov, 2020) | 26 |
| Gambar 2.13. Proses terjadinya inflamasi akibat induksi lipopolisakarida (Hamesch et al., 2015) | 27 |
| Gambar 3.1. Kerangka konsep penelitian | 36 |
| Gambar 3.2. Prinsip kerja alat <i>flow cytometry</i> (Picot et al., 2012)..... | 47 |
| Gambar 3.1. Kerangka konsep penelitian | 36 |
| Gambar 3.2. Prinsip kerja alat <i>flow cytometry</i> (Picot et al., 2012)..... | 47 |
| Gambar 3.3. Panjang gelombang fluorokrom pada analisis <i>flow cytometry</i> | 49 |

Gambar 3.4. Strategi gating 51

Gambar 4.1. Populasi sel CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol negatif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 53

Gambar 4.2. Populasi sel CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol positif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 54

Gambar 4.3. Representasi persentase CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dibandingkan dengan total populasi sel limfosit-T CD4^{pos} pada tiap kelompoknya..... 55

Gambar 4.4. Persentase sel CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol negatif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 56

Gambar 4.5. Persentase sel CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol positif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 57

Gambar 4.6. Populasi sel CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol negatif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 58

Gambar 4.7. Populasi sel CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol positif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 59

Gambar 4.8. Representasi persentase CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} dibandingkan dengan total populasi sel limfosit-T CD8^{pos} pada tiap kelompoknya..... 60

Gambar 4.9. Persentase sel CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol negatif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); *(0,0099<p<0,001); *** (0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 61

Gambar 4.10. Persentase sel CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} pada setiap populasi dibandingkan dengan kontrol positif. *Independent sample T test*, *(0,05<p<0,01); ***(0,00099<p<0,0001); ****(p<0,0001), n=4 62

Gambar 4.11. Peningkatan populasi sel sel limfosit-T CD3^{pos}CD4^{pos}CD25^{pos} dan CD3^{pos}CD8^{pos}CD25^{pos} pada pemberian 3-CH₂Cl pada mencit yang diinduksi lipopolisakarida 67

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|----------------|
| Tabel 2.1. Jenis-jenis sitokin proinflamasi dan antiinflamasi | 9 |
| Tabel 3.1. Bahan penelitian | 30 |
| Tabel 3.1. Lanjutan bahan penelitian | 31 |
| Tabel 3.2. Alat penelitian..... | 31 |
| Tabel 3.2. Lanjutan alat penelitian..... | 32 |
| Tabel 3.3. Variabel penelitian..... | 35 |
| Tabel 3.4. Perlakuan kelompok hewan coba..... | 39 |
| Tabel 3.5. Bahan pembuatan buffer ACK..... | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|----------------|
| Lampiran 1. Surat Keterangan Pemeliharaan Hewan Coba..... | 75 |
| Lampiran 2. Sertifikat Keterangan Kelaikan Etik..... | 76 |
| Lampiran 3. Tabel Konversi Dosis Hewan..... | 77 |
| Lampiran 4. Komposisi Makanan <i>Chow Diet</i> | 78 |
| Lampiran 5. Katalog Antibodi PE <i>Rat Anti-Mouse</i> CD3..... | 79 |
| Lampiran 6. Katalog Antibodi PerCP/Cyanine5.5 <i>Rat Anti-Mouse</i> CD4 .. | 80 |
| Lampiran 7. Katalog Antibodi PerCP/Cyanine5.5 <i>Rat Anti-Mouse</i> CD8a | 81 |
| Lampiran 8. Katalog Antibodi FITC <i>Rat Anti-Mouse</i> CD25..... | 82 |
| Lampiran 9. Protokol Penentuan Jumlah Sampel GPower | 83 |
| Lampiran 10. Tabel Pemantauan Suhu Tubuh Mencit..... | 84 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|----------------------|---|
| 3-CH ₂ Cl | : Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat |
| AAALAC | : <i>Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care</i> |
| AAS | : Asam Asetilsalisilat |
| ACK Buffer | : <i>Ammonium Chloride Potassium Buffer</i> |
| APC | : <i>Allophycocyanin</i> |
| APC | : <i>Antigen Presenting Cell</i> |
| CCL2 | : <i>C-C Chemokine Ligand 2</i> |
| CD | : <i>Cluster of Differentiation</i> |
| CLX | : Celecoxib |
| COVID-19 | : <i>Corona Virus Disease 2019</i> |
| COX | : Siklooksigenase |
| CYP 450 | : Sitokrom 450 |
| DNase | : <i>Deoxyribonuclease</i> |
| FACS | : <i>Fluorescence-activated Cell Sorting</i> |
| FITC | : <i>Fluorescein Isothiocyanate</i> |
| Foxp3 | : Forkhead Box P3 |
| FSC | : <i>Forward Scatter</i> |
| G score | : <i>Glide Score</i> |
| GM-CSF | : <i>Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor</i> |
| GVHD | : <i>Graft Versus Host Disease</i> |
| HIV | : <i>Human Immunodeficiency Virus</i> |

| | |
|------------------|---|
| HMGB1 | : <i>High Mobility Group Box 1</i> |
| HPLC | : <i>High Performance Liquid Chromatography</i> |
| IACUC | : <i>International Animal Care and Use Committee</i> |
| IFN- γ | : <i>Interferon Gamma</i> |
| IL | : <i>Interleukin</i> |
| IL-2R | : <i>Interleukin-2 Receptor</i> |
| iNOS | : <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> |
| IRAKs | : <i>Interleukin-1 Receptor-associated Kinase</i> |
| iTreg | : <i>induced T Regulatoy Cell</i> |
| kDa | : <i>Kilo Dalton</i> |
| KLT | : <i>Kromatografi Lapis Tipis</i> |
| LD ₅₀ | : <i>Lethal Dose 50</i> |
| LPS | : <i>Lipopolisakarida</i> |
| MD2 | : <i>Myeloid Differentiation Factor 2</i> |
| MHC | : <i>Major Histocompatibility Complex</i> |
| MyD88 | : <i>Myeloid Differentiation Primaary Response 88</i> |
| NF κ B | : <i>Nuclear Factor Kappa B</i> |
| NIK | : <i>Nuclear Factor Kappa B-inducing Kinase</i> |
| NOX | : <i>NADPH Oksidase</i> |
| nTreg | : <i>natural T Regulatoy Cell</i> |
| OAINS | : <i>Obat Anti Inflamasi Non Steroid</i> |
| PBMCs | : <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i> |
| PBS | : <i>Phosphate Buffer Saline</i> |

| | |
|---------------|---|
| PE | : <i>Phycoerythrin</i> |
| PerCP | : <i>Peridinin Chlorophyll Protein</i> |
| PUD | : <i>Peptic Ulcer Disease</i> |
| RPMI-1640 | : <i>Roswell Park Memorial Institute Medium 1640</i> |
| SSC | : <i>Side Scatter</i> |
| STAT5 | : <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 5</i> |
| TCGF | : <i>T Cell Growth Factor</i> |
| TCR | : <i>T Cell Receptor</i> |
| TGF- β | : <i>Transforming Growth Factor Beta</i> |
| TLR4 | : <i>Toll Like Receptor 4</i> |
| TNF- α | : <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> |
| Tol-DCs | : <i>Tolerogenic Dendritic Cells</i> |
| TRAFs | : <i>Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factors</i> |