

**PENGARUH *INULIN-MEDIUM CHAIN*
TRIGLYCERIDES TERHADAP RASIO LIMFOSIT-T
CD3CD4 DAN CD3CD8 PADA LIMPA MENCIT SWISS
WEBSTER METODE *FLUORESCENCE-ACTIVATED*
*CELL SORTING (FACS)***



SINDI SISKA PALPIALY

2443019312

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

**PENGARUH *INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES*
TERHADAP RASIO LIMFOSIT-T CD3CD4 DAN CD3CD8 PADA
LIMPA MENCIT SWISS WEBSTER METODE *FLUORESCENCE-
ACTIVATED CELL SORTING (FACS)***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

OLEH:

SINDI SISKA PALPIALY

2443019312

Telah disetujui pada tanggal 14 Januari 2023 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



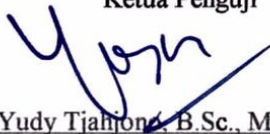
apt. Caroline, S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0444

Pembimbing II,



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

Mengetahui,
Ketua Penguji



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

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Pengaruh *Inulin-Medium Chain Triglycerides* terhadap Rasio Limfosit-T CD3CD4 dan CD3CD8 pada Limpa Mencit Swiss Webster Metode *Fluorescence Activated Cell Sorting* (FACS)** untuk dipublikasi 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, 10 Januari 2023



Sindi Siska Palpialy

2443019312

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 10 Januari 2023



Sindi Siska Palpialy

2443019312

ABSTRAK

PENGARUH *INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES* TERHADAP RASIO LIMFOSIT-T CD3CD4 DAN CD3CD8 PADA LIMPA MENCIT SWISS WEBSTER METODE *FLUORESCENCE- ACTIVATED CELL SORTING (FACS)*

SINDI SISKA PALPIALY
2443019312

Kondisi obesitas sebagai akumulasi lemak tubuh abnormal dapat menimbulkan resiko bagi kesehatan sehingga mempengaruhi sistem imunitas tubuh. Pada kondisi obesitas, perubahan imun terjadi secara lokal dan sistemik diakibatkan karena stres metabolik. Salah satu faktor resiko yang dominan dalam peningkatan kondisi obesitas adalah rendahnya konsumsi serat pangan. Inulin termasuk dalam serat pangan larut air yang memiliki efek positif dalam mempengaruhi sistem imun melalui mekanisme modulasi bakteri baik pada usus. Menariknya, tidak hanya serat pangan yang memiliki efek positif tersebut namun terdapat juga *Medium Chain Triglycerides* (MCT) yang berpotensi menurunkan berat badan sehingga dapat mencegah berbagai masalah terkait kesehatan. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh kombinasi suplementasi serat pangan inulin-MCT (IF), terhadap rasio sel limfosit-t CD3CD4 dan CD3CD8 pada limpa mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak-sukrosa. Total 20 ekor mencit dibagi menjadi empat kelompok (n=5) diantaranya IM, kontrol positif acarbose 1000 ppm (AC), dan kontrol negatif (CO) dalam kondisi obesitas dengan diberi pakan tinggi lemak-sukrosa selama 4-8 minggu dan satu kelompok sebagai standart (AA) tidak dibuat obesitas dan hanya diberikan pakan standart *Chow-diet*. Suplementasi ini diberikan selama 30 ± 2 hari setelah kondisi mencit obesitas. Deteksi sel limfosit-t dilakukan setelah intervensi dengan menggunakan metode *Fluorescence-activated cell sorting* (FACS) melalui instrumen *flow cytometry*. Hasil penelitian menunjukkan adanya penekanan yang signifikan terhadap sel limfosit-t CD3^{pos}CD4^{pos} dan CD3^{pos}CD8^{pos} ($p > 0,05$) setelah pemberian kombinasi suplementasi inulin-MCT.

Kata kunci: inulin, *medium chain triglycerides* (MCT), obesitas, limfosit, *flow cytometry*

ABSTRACT

EFFECT OF INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES ON THE RASIO OF T-LYMPHOCYTES CD3CD4 AND CD3CD8 IN SWISS WEBSTER MICE METHOD FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS)

**SINDI SISKA PALPIALY
2443019312**

The condition of obesity as an abnormal accumulation of body fat can pose a risk to health so that it affects the body's immune system. In obesity, immune changes occur locally and systemically due to metabolic stress. One of the dominant risk factors in increasing obesity is the low consumption of dietary fiber. Inulin is included in water soluble dietary fiber which has a positive effect on the immune system through the modulation of good bacteria in the gut. Interestingly, it is not only dietary fiber that has this positive effect, but also Medium Chain Triglycerides (MCT) which have the potential to reduce weight so that it can prevent various health related problems. This study was conducted to examine the effect of a combination of inulin-MCT (IF) dietary fiber supplementation on the ratio of CD3CD4 and CD3CD8 T-lymphocytes in mice spleen induced by high diet fat-sucrose. Total of 20 mice were divided into four groups (n = 5) including IF, positive control of acarbose 1000 ppm (AC), and negative control (CO) was made obese by being fed high-fat sucrose food for 4-8 hours weeks and one group as standard (AA) was not obese and was only given a standard Chow-diet. This supplementation was given for 30 ± 2 days after the mice were obese. T-lymphocyte cell detection was carried out after the intervention using the Fluorescence-activated cell sorting (FACS) method through a flow cytometry tool. The results showed that there was significant suppression of CD3^{pos}CD4^{pos} and CD3^{pos}CD8^{pos} t-lymphocyte cells ($p > 0.05$) after administration of a combination of inulin-MCT supplementation.

Keywords: inulin, medium chain triglycerides (MCT), obesity, lymphocyte, flow cytometry

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan kasih karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh *Inulin-Medium Chain Triglycerides* terhadap Rasio Limfosit-T CD3CD4 dan CD3CD8 pada Limpa Mencit Swiss Webster Metode *Fluorescence Activated Cell Sorting* (FACS)”** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Penulis menyadari bahwa penelitian dan penulisan naskah skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan berkontribusi dalam penelitian serta penyusunan naskah skripsi ini kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan berkat dan anugerah yang luar biasa sehingga penulis diberikan kekuatan dan hikmat dalam menempuh pendidikan S1 dan menyelesaikan tugas akhir penulis.
2. apt. Caroline, S.Si., M.Si. selaku pembimbing I yang telah menuntun, memberikan ilmu, arahan, bimbingan dan pengalaman dalam proses penelitian sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir penulis.
3. dr. Hendy Wijaya, M.Biomed. selaku pembimbing II yang telah bekerja ekstra menyempatkan waktu dan tenaga untuk memberikan ilmu, dan membimbing penulis dengan sabar, serta memberikan saran, dan dukungan yang sangat penting untuk menyelesaikan penulisan tugas akhir penulis.

4. Yudy Tjahjono, B.Sc.Biol., M.Sc.Biol. selaku ketua penguji proposal skripsi penulis di Fakultas Farmasi Universitas Surabaya yang telah memberikan kritik, saran dan masukan untuk menunjang penyelesaian naskah dan penelitian.
5. Dr.med.vet. Hevi Wihadmadyatami, drh.,M.sc. selaku dosen penguji proposal skripsi penulis di Fakultas Farmasi Universitas Surabaya yang telah memberikan kritik, saran dan masukan demi kelancaran penyelesaian naskah dan penelitian.
6. apt. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah menyediakan fasilitas dan sarana prasarana untuk menunjang menyelesaikan penelitian.
7. apt. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah bersedia memberikan kritik dan saran, serta motivasi kepada penulis dalam penyelesaian penelitian.
8. apt. Yufita Ratnasari W., S.Farm., M.Farm.Klin. selaku dosen penasehat akademik, yang selalu memberikan arahan, bimbingan, dukungan, dan motivasi selama masa perkuliahan dan dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi.
9. apt. Diga Albrian Setiadi, S.Farm., M.Farm. selaku Ketua Prodi S-1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah menyediakan fasilitas dan sarana prasarana untuk menunjang penyelesaian penelitian.
10. Seluruh dosen pengajar dan pimpinan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan ilmu, arahan, nasihat serta fasilitas pada penulis selama masa studi strata-1

11. Seluruh laboran dan staf di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
12. Keluarga terkasih Papa Nejo, Mama Eti, Kakak Risto, Kakak Jorlens, Kakak Revian, Kakak Wendry dan seluruh keluarga besar untuk semua bentuk dukungan, doa dan semangat yang selalu diberikan kepada penulis tanpa pamrih dan tulus ikhlas membantu berupa material, moral, spiritual dan motivasi untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala.
13. Teman-teman dari tim penelitian *Flow cytometry* Nico Jafet, Andika Bara, Oryza Christantia, Maria Theresia, Shellin Soehadi atas kerja sama, pengalaman dan semangat yang telah diberikan kepada penulis sehingga proses penelitian dapat berlangsung dan terselesaikan
14. Teman seperjuangan Cindy Angela, Karmila, Kirana Evyfania, Oei Dea, Melania, Sari Ningsih yang sudah banyak menemani, menghibur, memberi semangat kepada penulis selama masa studi strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala.
15. Kakak kelas Kak Lutfi, Kak Paulina, Kak Steven, Kak Ruliana dan Kak Dessy atas bantuan, informasi, dukungan dan pengalaman yang diberikan kepada saya sehingga dapat menyelesaikan pendidikan strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala.
16. Sahabat tercinta Inri Reyk, Juneth Latubual, Wulan Uniana yang selalu menemani, memberikan doa, semangat dan hiburan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala

17. Teman-teman angkatan 2019 yang sudah menjadi bagian dari perjuangan penulis selama menjalani pendidikan strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala.
18. Pihak-pihak lain yang telah memberikan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam pengerjaan skripsi yang tidak dapat disebutkan satu per satu.
19. Terima kasih untuk diri sendiri yang telah berani memulai dan berjuang menempuh perkuliahan sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. *Congrats Sindi you got it! Proud of my self.*

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan, maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini, penulis berharap kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan. Demikian skripsi ini dipersembahkan bagi almamater Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat serta tambahan ilmu bagi dunia kefarmasian dan kesehatan serta masyarakat luas pada umumnya. Akhir kata, diucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 10 Januari

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Obesitas	6
2.1.1 Pengertian Obesitas.....	6
2.1.2 Epidemiologi Obesitas.....	7
2.1.3 Faktor Resiko Obesitas.....	7
2.2 Sistem Imunitas Tubuh.....	9
2.2.1 Sel Limfosit-T.....	10
2.2.2 Sistem Imunologis pada Kondisi Obesitas.....	13

	Halaman
2.3	Inulin Sebagai Serat Pangan..... 15
2.3.1	Peran Inulin dalam Sistem Imun.....16
2.3.2	Manfaat Inulin.....19
2.4	<i>Medium Chain Tryglicerides</i> (MCT)..... 20
2.4.1	Peran <i>Medium Chain Tryglicerides</i>22
2.5	Deteksi Antibodi 24
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....26
3.1	Jenis Penelitian 26
3.2	Bahan, Alat dan Hewan Coba Penelitian..... 26
3.2.1	Bahan Penelitian.....26
3.2.2	Alat Penelitian.....27
3.2.3	Hewan coba.....29
3.3	Metode Penelitian 31
3.4	Variabel Penelitian 32
3.4.1	Identifikasi Variabel.....32
3.4.2	Klasifikasi Variabel.....32
3.4.3	Hubungan antar Variabel.....32
3.5	Tahapan Penelitian 33
3.5.1	Skema Alur Penelitian.....33
3.6	Prosedur Penelitian 34
3.6.1	Perlakuan Hewan Coba.....34
3.6.2	Penyiapan PBS (<i>Phosphate Buffer Saline</i>).....34
3.6.3	Penyiapan Buffer A, B dan C.....34
3.6.4	Penyiapan Buffer ACK (<i>Ammonium-Chloride-Potassium</i>).34
3.6.5	Euthanasia Mencit.....35
3.6.7	Perhitungan Konsentrasi Sel.....35

	Halaman
3.6.6	Isolasi Splenosit.....36
3.6.8	Prosedur Optimasi Antibodi.....36
3.7	Analisis Data 37
3.7.1	Analisis Data <i>Flow Cytometry</i>37
3.7.2	Strategi <i>Gating Flow Cytometry</i>40
3.8	Analisis Statistika 41
3.9	Hipotesis Statistika 41
3.9.1	Hipotesis Nol (H_0).....41
3.9.2	Hipotesis Alternatif (H_A).....42
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....43
4.1	Hasil Penelitian 43
4.1.1	Penurunan Persentase Sel Limfosit-T $CD3^{pos}CD4^{pos}$ pada Limpa Mencit Obesitas Akibat Pemberian Suplementasi Serat Pangan.....43
4.1.2	Penurunan Persentase Sel Limfosit-T $CD3^{pos}CD8^{pos}$ pada Limpa Mencit Obesitas Akibat Pemberian Suplementasi Serat Pangan.....45
4.2	Pembahasan..... 47
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....52
5.1	Kesimpulan..... 52
5.2	Saran..... 52
DAFTAR	PUSTAKA.....53
LAMPIRAN59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Faktor Gaya Hidup (<i>Lifestyle</i>).....	9
Gambar 2.2 Pembentukan Sel Limfosit-T.....	11
Gambar 2.3 Identifikasi Fenotipe dari Sel Limfosit-T.....	13
Gambar 2.4 Struktur Molekul Inulin.....	16
Gambar 2.5 Mekanisme Kerja Prebiotik.....	19
Gambar 2.6 Metabolisme MCT pada Saluran Pencernaan.....	22
Gambar 3.1 Hubungan antar Variabel Penelitian.....	32
Gambar 3.2 Skema Alur Penelitian.....	33
Gambar 3.3 Spektrum Emisi dan Eksitasi pada Detektor.....	39
Gambar 3.4 Strategi <i>Gating</i>	41
Gambar 4.1 Representatif Jumlah Ekspresi Sel Limfosit-T CD3 ^{POS} CD4 ^{POS}	43
Gambar 4.2 Diagram Data Persentase Sel Limfosit-T CD3 ^{POS} CD4 ^{POS}	44
Gambar 4.3 Representatif Jumlah Ekspresi Sel Limfosit-T CD3 ^{POS} CD8 ^{POS}	45
Gambar 4.4 Diagram Data Persentase Sel Limfosit-T CD3 ^{POS} CD8 ^{POS}	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Berat Badan Berdasarkan Indeks Massa Tubuh.....	6
Tabel 3.1 Bahan Penelitian.....	26
Tabel 3.2 Alat Penelitian.....	28
Tabel 3.3 Fluorokrom untuk Deteksi Sel.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Keterangan Hewan Coba.....	59
Lampiran 2. Fasilitas Laboratorium Hewan Coba.....	60
Lampiran 3. Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	61
Lampiran 4. Komposisi Pakan Lemak dan Pakan Standart.....	62
Lampiran 5. Katalog Antibodi.....	63
Lampiran 6. Perhitungan Hewan Coba.....	66

DAFTAR SINGKATAN

AAALAC	: <i>Association for Assessment and Accreditation of Laboratory</i>
ACK	: <i>Ammonium Chloride Potassium</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BMI	: <i>Boddy Mass Index</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumine</i>
CCK	: <i>Kolesistokinin</i>
COVID-19	: <i>Corona Virus Disease 2019</i>
DC	: <i>Dendritic Cell</i>
FACS	: <i>Fluorescene-activated Cell Sorting</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
FITC	: <i>Fluorescein Isothiocyanate</i>
FL	: <i>Fluorochrome</i>
Foxp3	: <i>Forkhead Box P3</i>
FSC	: <i>Forward Scatter</i>
GIP	: <i>Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide</i>
GLP-1	: <i>Glucagon Like Peptide-1</i>
GPCR	: <i>G-Protein Coupled Receptor</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IF	: <i>Inulin-MCT</i>
IMT	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
INF- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
IPE	: <i>Inulin Propionate Ester</i>
LCFA	: <i>Long Chain Fatty Acid</i>
LCT	: <i>Long Chain Triglycerides</i>

MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCFA	: <i>Medium Chain Fatty Acid</i>
MCT	: <i>Medium Chain Triglycerides</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PE	: <i>Phycoerythrin</i>
PerCP	: <i>Peridin Chlorophyll Protein</i>
PTM	: <i>Penyakit Tidak Menular</i>
PYY	: <i>Peptide YY</i>
SCFA	: <i>Short Chain Fatty Acid</i>
SKMI	: <i>Survey Konsumsi Makanan Individu</i>
SSC	: <i>Side Scatter</i>
Tc	: <i>T-cytotoxic</i>
TCR	: <i>T Cell Receptor</i>
Tfh	: <i>Follicular helper</i>
TGF-α	: <i>Transforming Growth Factor Alpha</i>
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
Th	: <i>T-helper</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
Treg	: <i>T regulator</i>
Ts	: <i>T-suppressor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>