

**PENGARUH INULIN-MEDIUM CHAIN
TRIGLYCERIDES TERHADAP KONSENTRASI
SPLENOSIT DAN LIMFOSIT-T CD3 PADA LIMPA
MENCIT SWISS WEBSTER METODE
FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING
(FACS)**



SHELLIN SOEHADI

2443019259

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI**

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2023

**PENGARUH INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES
TERHADAP KONSENTRASI SPLENOSIT DAN LIMFOSIT-T CD3
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

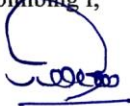
OLEH:

SHELLIN SOEHADI

2443019259

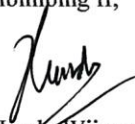
Telah disetujui pada tanggal 15 Juni 2023 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



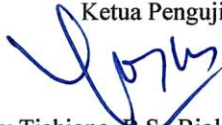
apt. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D
NIK. 241.90.0176

Pembimbing II,



dr. Hendy Wijaya, M.Biomed
NIK. 241.17.0973

Mengetahui,
Ketua Penguji



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

27 JUN 2023

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Pengaruh Inulin-Medium Chain Triglycerides Terhadap Konsentrasi Splenosit dan Limfosit-T CD3 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. 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.

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

Surabaya, 15 Juni 2023



Shellin Soehadi
2443019259

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, 15 Juni 2023



Shellin Soehadi
2443019259

ABSTRAK

PENGARUH *INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES* TERHADAP KONSENTRASI SPLENOSIT DAN LIMFOSIT-T CD3 PADA LIMPA MENCIT SWISS WEBSTER METODE *FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS)*

**SHELLIN SOEHADI
2443019259**

Obesitas merupakan kondisi ketidakseimbangan antara asupan kalori dan pengeluaran energi, yang menyebabkan terjadinya perkembangan jaringan adiposa yang memiliki fungsi sebagai penyangga kelebihan nutrisi. Kelebihan nutrisi dapat menginduksi resistensi insulin. Jika terjadi resistensi insulin maka hal ini dapat menjadi penyebab diabetes tipe 2. Disregulasi sistem imun yang abnormal dan lingkungan inflamasi memainkan peran penting dalam perkembangan diabetes tipe 2, sehingga mudah terinfeksi patogen. Pemberian inulin diketahui dapat melindungi tubuh dari kolonisasi dan infeksi oleh patogen atau non-komensal. Tidak hanya pemberian inulin, pemberian *Medium Chain Triglycerides* (MCT) dapat berpengaruh pada sistem imun karena dapat berperan sebagai anti-inflamasi. Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh kombinasi suplementasi serat pangan inulin-MCT, terhadap kadar sel T limfosit CD3 dan konsentrasi sel limpa mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak-sukrosa. Hewan coba yang digunakan sebanyak 20 ekor mencit. Dibagi menjadi empat kelompok diantaranya kelompok IM, AC, dan CO dalam kondisi obesitas dengan diberi pakan tinggi lemak-sukrosa selama 2 bulan dan satu kelompok sebagai standar (AA) tidak dibuat obesitas dan hanya diberikan pakan *standard Chow-diet*. Suplementasi ini diberikan selama 30 ± 2 hari setelah kondisi mencit obesitas. Deteksi sel T limfosit CD3 dilakukan setelah intervensi dengan menggunakan metode *Fluorescence-activated cell sorting* (FACS) melalui instrumen *flow cytometry*. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan terhadap sel T limfosit CD3pos (*P value* 0,0009) dan konsentrasi splenosit (*P value* 0,0173) setelah pemberian kombinasi suplementasi inulin-MCT.

Kata kunci: insulin, inulin, *medium chain triglycerides* (MCT), limfosit-T CD3, *flow cytometry*

ABSTRACT

THE EFFECT OF INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES ON SPLENOCYTE AND CD3 T-LYMPHOCYTE CONCENTRATIONS IN THE SPLEEN OF SWISS WEBSTER MICE WITH FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING METHOD (FACS)

**SHELLIN SOEHADI
2443019259**

Obesity is a condition of imbalance between calorie intake and energy expenditure, which causes the development of adipose tissue that has a function as a buffer for excess nutrients. Excess nutrients can induce insulin resistance. If insulin resistance occurs then it can cause type 2 diabetes. Abnormal immune system dysregulation and inflammatory environment play an important role on the development of type 2 diabetes, since it is easier to be infected with pathogens. Application of inulin are known to protect the body from colonization and infection by pathogens or non-commensal. Not only inulin application, Medium Chain Triglycerides (MCT) application can affect the immune system because it can act as an anti-inflammatory. Aim of this study is to learn the effect of the combination of inulin-MCT dietary fiber supplementation, on CD3 lymphocyte T cell levels and spleen cell concentrations of mice induced by high-fat-sucrose feed. 20 mice were used as experimental animals. Experimental animals divided into four groups, IM, AC, and CO as groups which in obese conditions by fed high-fat-sucrose food for 2 months and a standard group (AA) that are not obese and fed standard chow-diet food only. This supplementation was given for 30 ± 2 days after the mice are in obese condition. CD lymphocyte T cells were detected after intervention using the Fluorescence-activated cell sorting (FACS) method through flow cytometry instruments. Results show a decrease in CD3pos lymphocyte T cells (P value 0.0009) and splenocyte concentration (P value 0.0173) after combined inulin-MCT supplementation.

Keywords: insulin, inulin, medium chain triglycerides (MCTs), CD3 T-lymphocytes, flow cytometry

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan kasih karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Inulin-Medium Chain Triglycerides Terhadap Konsentrasi Splenosit dan Limfosit-T CD3 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 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. Drs.Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D. selaku pembimbing I yang telah bersedia 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.
3. dr. Hendy Wijaya, M.Biomed. selaku pembimbing II yang telah menuntun, memberikan ilmu, arahan, bimbingan dan pengalaman dalam proses penelitian sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir penulis.

4. Yudy Tjahjono, B.Sc.Biol., M.Sc.Biol. selaku ketua pengujian dan Dr.med.vet. Hevi Wihadmadyatami, drh., M.Sc. selaku anggota pengujian yang telah bersedia memberikan masukan serta arahan yang membangun selama proses penyusunan skripsi ini.
5. 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.
6. apt. Ida Ayu Andri Parwitha, S.Farm., M.Farm. selaku penasihat akademik yang selalu memberikan nasehat serta motivasi selama perkuliahan hingga skripsi.
7. Seluruh dosen, staf laboratorium serta tata usaha Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan banyak bantuan selama masa perkuliahan.
8. RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan tempat untuk penulis dalam melaksanakan penelitian.
9. Kedua orang tua dan adek penulis yang selalu memberikan dukungan, semangat, motivasi, dan doa serta bantuan moral maupun material selama proses menuntut ilmu di Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
10. Teman-teman dari tim penelitian Flow cytometry Nico Jafet, Andika Bara, Oryza Christantia, Maria Theresia, Sindy Palpialy dan Karmila atas kerja sama, pengalaman dan semangat yang telah diberikan kepada penulis sehingga proses penelitian dapat berlangsung dan terselesaikan.
11. Teman seperjuangan skripsi Maria Elika, Sherly Aprilia dan Siti Choirul Annisa yang selalu memberikan dukungan selama proses penyusunan skripsi ini.

12. 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.

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Obesitas	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Faktor resiko	8
2.1.3 Komplikasi	9
2.1.4 Pengaruh obesitas terhadap sistem imun	10
2.2 Trigliserida dan Lipid	11
2.2.1 Definisi trigliserida	11
2.2.2 Lipid	11
2.3 Inulin	12

	Halaman
2.3.1 Definisi	12
2.3.2 Efek inulin pada sistem imun	14
2.4 MCT (<i>Medium Chain Triglycerides</i>)	15
2.4.1 Definisi	15
2.4.2 Efek MCT pada mikrobiota di usus	16
2.4.3 Efek MCT pada sistem imun secara langsung	16
2.5 Sistem Imun	17
2.5.1 Definisi	17
2.5.2 Klasifikasi sistem imun	18
A. Sistem imun bawaan	18
B. Sistem imun adaptif	18
2.5.3 Mikrobiota usus	19
2.5.4 Hubungan antara sistem imun dengan mikrobiota usus	20
2.5.5 Sel T Limfosit	22
A. Definisi	22
B. Peran limfosit T	22
C. Sitokin	23
2.5.6 Sel CD3	24
A. Definisi	24
B. Efek pemberian inulin terhadap populasi sel CD3	24
2.6 Limpa	25
2.7 Analisis Antibodi dengan Alat <i>Flow Cytometry</i>	26
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1. Jenis Penelitian	28
3.2. Bahan, Alat dan Hewan Coba	28
3.2.1. Bahan penelitian	28
3.2.2. Alat penelitian	29

	Halaman
3.2.3. Antibodi PE <i>anti-mouse</i> CD3 <i>antibody</i> [17A2]	31
3.2.4. Hewan coba	31
3.3. Sampel Penelitian	32
3.3.1 Kriteria inklusi	32
3.3.2 Kriteria eksklusi	32
3.3.3 Besar sampel	33
3.4. Metode Penelitian	33
3.5. Variabel Penelitian	35
3.6. Skema Konsep Penelitian	36
3.7. Tahapan Penelitian	37
3.7.1. Sumber pakan hewan uji	37
3.7.2. Perlakuan hewan uji	37
3.7.3. Pembuatan PBS (<i>Phosphate Buffer Saline</i>)	38
3.7.4. Pembuatan buffer A, B dan C	38
3.7.5. Pembuatan buffer ACK	38
3.7.6. Isolasi organ limpa	39
3.7.7. Isolasi sel splenosit	39
3.7.8. Penyiapan sel splenosit	40
3.7.9. Perhitungan konsentrasi sel splenosit dengan mikroskop.....	40
3.7.10. Penggunaan antibodi	40
3.7.11. Prosedur isolasi organ limpa	41
3.7.12. Prosedur isolasi sel splenosit	41
3.7.13. Prosedur <i>flow cytometry</i>	42
3.8. Analisa Data	42
3.8.1 Prosedur gating	42
3.8.2 Analisis statistik	44
3.9. Hipotesis Statistik	44

	Halaman
3.9.1 Hipotesa nol	44
3.9.2 Hipotesa alternatif	44
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
4.1 Hasil Penelitian	45
4.1.1 Penurunan persentase sel limfosit-T CD3pos pada limpa mencit obesitas akibat pemberian suplementasi inulin-MCT	45
4.1.2 Penurunan persentase konsentrasi splenosit pada limpa mencit obesitas akibat pemberian suplementasi inulin-MCT	47
4.2 Pembahasan	48
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Bahan penelitian	28
Tabel 3.2. Alat penelitian	29
Tabel 3.3. Antibodi yang digunakan pada penelitian	31
Tabel 3.4. Variabel penelitian	35
Tabel 3.5. Komposisi pakan standar	37
Tabel 3.6. Pakan tinggi lemak	37
Tabel 4.1. Mean presentase sel limfosit-T CD3pos tiap kelompok hewan coba	46
Tabel 4.2. Mean presentase konsentrasi splenosit tiap kelompok hewan coba	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1 Skema alur penelitian	36
Gambar 3.2 Strategi <i>gating</i>	43
Gambar 3.3 Statistik hasil <i>gating</i>	43
Gambar 4.1 Dot plot grafik representatif jumlah ekspresi sel limfosit-T CD3pos terhadap keseluruhan jumlah sel limfosit-T terhadap masing-masing kelompok perlakuan mencit setelah pemberian suplementasi inulin-MCT	45
Gambar 4.2 Diagram data dan analisis statistik persentase sel limfosit-T CD3pos setelah pemberian suplementasi inulin-MCT terhadap kontrol positif. Jumlah replikasi (n) = 5. Analisis statistik menggunakan <i>unpaired sample t Test</i>	46
Gambar 4.3 Diagram data dan analisis statistik persentase konsentrasi splenosit setelah pemberian suplementasi inulin-MCT terhadap kontrol positif. Jumlah replikasi (n) = 5. Analisis statistik menggunakan <i>unpaired sample t Test</i>	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat hewan coba	59
Lampiran 2. Surat keterangan pemeliharaan hewan coba	60
Lampiran 3. Sertifikat keterangan kelaikan etik	61
Lampiran 4. Komposisi makanan <i>chow diet</i>	62
Lampiran 5. Katalog antibodi PE <i>rat anti-mouse</i> CD3	63
Lampiran 6. Protokol penentuan jumlah sampel Gpower	64

DAFTAR SINGKATAN

ASI	: Air Susu Ibu
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
CD3	: <i>Cluster of Differential number 3</i>
CD4	: <i>Cluster of Differential number 4</i>
CD8	: <i>Cluster of Differential number 8</i>
CSF	: <i>Combined Soluble Fiber</i>
CVD	: <i>Cardiovascular Disease</i>
DC	: <i>Dendritic Cell</i>
DN	: <i>Double-Negative</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ER	: <i>Endoplasmic Reticulum</i>
FFA	: <i>Free Fattyacids</i>
FFAR	: <i>Free Fatty Acid Receptor</i>
FITC	: <i>Fluorescein Isothiocyanate</i>
FSC	: <i>Forward Scatter</i>
GFP	: <i>Green Fluorescent Protein</i>
GI	: <i>Gastrointestinal</i>
GPR	: <i>G Protein-coupled Receptors</i>
HMO	: <i>Human Milk Oligosaccharide</i>
IFNG	: <i>Interferon Gamma</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRS	: <i>Insulin Receptor ubstrate</i>
LCT	: <i>Long Chain Triglycerides</i>
LD	: <i>Lipid Droplet</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>

MAMPs	: <i>Microbe- or Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
MCFA	: <i>Medium Chain Fatty Acid</i>
MCT	: <i>Medium Chain Triglycerides</i>
MZ	: <i>Marginal Zone</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NOD	: <i>Nucleotidebinding Oligomerization Domain receptors</i>
PALS	: <i>Periarteriolar lymphoid sheaths</i>
PBMC	: <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
PPAR- γ	: <i>Peroxisome Proliferator Activator Receptor γ</i>
SCFA	: <i>Short Chain Fatty Acids</i>
SLOs	: <i>Secondary Lymphoid Organs</i>
SSC	: <i>Side Scatter</i>
T reg	: <i>T regulator</i>
T2D	: <i>Type 2 Diabetes</i>
TCR	: <i>T-cell receptor</i>
TCR	: <i>T-cell receptor</i>
TG	: <i>Triglycerida</i>
Th cell	: <i>T helper cells</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Receptor 4</i>