

**PENGARUH INULIN-MEDIUM CHAIN  
TRIGLYCERIDES TERHADAP RASIO T-LIMFOSIT  
CD3CD4CD25 DAN CD3CD8CD25 PADA LIMPA  
MENCIT SWISS WEBSTER METODE  
FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS)**



**MARIA THERESIA PRIMADEWI BHENDY**

**2443019301**

**PROGRAM STUDI S1**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**

**2023**

**PENGARUH INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES  
TERHADAP RASIO T-LIMFOSIT CD3CD4CD25 DAN  
CD3CD8CD25 PADA LIMPA MENCIT SWISS WEBSTER METODE  
FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS)**

**SKRIPSI**

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

**OLEH:**

**MARIA THERESIA PRIMADEWI BHENDY**

**2443019301**

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

04 JUL 2023

**LEMBAR PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Pengaruh Inulin-Medium Chain Triglycerides Terhadap Rasio T-Limfosit 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, 15 Juni 2023



Maria Theresia Primadewi Bhendy  
2443019301

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



Maria Theresia Primadewi Bhendy  
2443019301

## ABSTRAK

# PENGARUH INULIN-*MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES* TERHADAP RASIO T-LIMFOSIT CD3CD4CD25 DAN CD3CD8CD25 PADA LIMPA MENCIT SWISS WEBSTER METODE *FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS)*

MARIA THERESIA PRIMADEWI BHENDY

2443019301

Obesitas merupakan kondisi kelebihan berat badan (*overweight*) akibat adanya akumulasi lemak secara berlebihan yang menimbulkan risiko bagi kesehatan. Dalam kondisi obesitas, perubahan sistem imun baik secara lokal maupun sistemik. Salah satu strategi untuk menurunkan tingkat obesitas adalah dengan memperbaiki pola asupan makanan dengan cara mengonsumsi serat pangan, yaitu Inulin. Diketahui inulin memiliki efek positif terhadap penurunan berat badan dan memperbaiki sistem imun karena memiliki kemampuan secara selektif dalam merangsang pertumbuhan *bifidobacteria* dan *lactobacilli* dalam usus yang berperan sebagai imunomodulator. Namun, tidak hanya inulin yang dapat memberikan efek dalam menurunkan berat badan tetapi terdapat juga pada *Medium Chain Triglycerides* (MCT). Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek kombinasi suplementasi inulin-MCT (IF) terhadap rasio sel T-limfosit CD3CD4CD25 dan CD3CD8CD25 pada limpa mencit yang diinduksi pakan tinggi lemak sukrosa. Sebanyak 20 ekor mencit dibagi menjadi empat kelompok (n=5), yaitu IF, kontrol negatif (CO), kontrol positif Acarbose 1000 ppm (AC) dalam kondisi obesitas yang diberikan pakan tinggi lemak-sukrosa dan satu kelompok Standard (AA) yang tidak dibuat obesitas tetapi hanya diberikan pakan standard *Chow-diet*. Suplementasi diberikan selama 30±2 hari setelah mencit dalam kondisi obesitas. Deteksi sel T-limfosit CD3CD4CD25 dan CD3CD8CD25 dilakukan dengan metode *Fluorescence-activated cell sorting* (FACS) menggunakan instrumen *flow cytometry*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian suplementasi inulin-MCT tidak meningkatkan rasio sel T-limfosit CD3<sup>pos</sup>CD4<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup> dan CD3<sup>pos</sup>CD8<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup> pada mencit yang mengalami obesitas.

**Kata kunci:** inulin, *medium chain triglycerides* (MCT), sel T-limfosit CD3<sup>pos</sup>CD4<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup>, sel T-limfosit CD3<sup>pos</sup>CD8<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup>, *flow cytometry*

## ***ABSTRACT***

### **THE EFFECT OF INULIN-MEDIUM CHAIN TRIGLYCERIDES ON THE RATIO OF CD3CD4CD25 AND CD3CD8CD25 T-LYMPHOCYTE CELLS ON THE SPLEEN OF SWISS WEBSTER MICE WITH FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL SORTING (FACS) METHOD**

**MARIA THERESIA PRIMADEWI BHENDY  
2443019301**

Obesity is a condition of being overweight due to excessive accumulation of fat which poses a risk to health. Under conditions of obesity, changes in the immune system both locally and systemically. One strategy to reduce obesity rates is to improve food intake patterns by consuming dietary fiber, namely Inulin. It is known that inulin has a positive effect on weight loss and improves the immune system because it has the ability to selectively stimulate the growth of bifidobacteria and lactobacilli in the intestine which act as immunomodulators. However, it is not only inulin that can have an effect on weight loss but also Medium Chain Triglycerides (MCT). This study aims to examine the effect of combined inulin-MCT (IF) supplementation on the ratio of T-lymphocytes CD3CD4CD25 and CD3CD8CD25 in the spleen of mice induced by a high-fat sucrose diet. A total of 20 mice were divided into four groups ( $n = 5$ ), namely IF, negative control (CO), positive control of Acarbose 1000 ppm (AC) in obese conditions which were given a high-fat-sucrose diet and one standard group (AA) which did not made obese but only given standard Chow-diet feed. Supplementation was given for  $30 \pm 2$  days after the mice were in an obese condition. The detection of CD3CD4CD25 and CD3CD8CD25 T-lymphocytes was carried out using the Fluorescence-activated cell sorting (FACS) method using flow cytometry instruments. The results of this study indicated that inulin-MCT supplementation did not increase the ratio of T-lymphocytes CD3<sup>pos</sup>CD4<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup> and CD3<sup>pos</sup>CD8<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup> in obese mice.

**Keywords:** inulin, medium chain triglycerides (MCT), CD3<sup>pos</sup>CD4<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup> T-lymphocytes, CD3<sup>pos</sup>CD8<sup>pos</sup>CD25<sup>pos</sup> T-lymphocytes, flow cytometry

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga skripsi saya dengan judul **Pengaruh Inulin-Medium Chain Triglycerides Terhadap Rasio T-Limfosit CD3CD4CD25 dan CD3CD8CD25 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 mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan tugas akhirnya dengan baik dan lancar.
2. apt. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D. dan dr. Hendy Wijaya, M.Biomed selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu dan tempat untuk membimbing dan koreksi selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. Yudy Tjahjono, B.Sc.Biol., M.Sc.Biol. selaku ketua penguji dan Dr.med.vet. Hevi Wihadmadyatami, drh., M.Sc. selaku anggota penguji yang telah bersedia memberikan masukan serta arahan selama proses penyusunan skripsi ini.
4. apt. Yufita Ratnasari Wilianto, S.Farm., M.Farm-Klin., selaku penasehat akademik yang selalu memberikan nasehat dan dukungan serta motivasi selama perkuliahan hingga skripsi.

5. apt. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D., selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
6. 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.
7. Seluruh dosen, staf laboratorium, dan tata usaha Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan banyak bantuan selama perkuliahan.
8. RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan tempat bagi penulis untuk melaksanakan penelitian tugas akhir.
9. Ibu Nita selaku teknisi pada pemeriksaan *flow cytometry* di RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah meluangkan waktu dan tenaga selama pelaksanaan penelitian.
10. Papa, mam, dan keluarga terdekat yang sudah memberikan dukungan, motivasi, semangat, doa, serta bantuan baik secara moral maupun material selama proses melanjutkan studi S1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
11. Teman seperjuangan proyek penelitian *flow cytometry* (Nico Jafet, I Made Andika, Oryza Chrisantia, Shellin Soehadi, Sindi Palpialy, dan Karmila) yang selalu membantu, menemani, menghibur, dan memberikan semangat serta masukan selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
12. Teman-teman “Shinchan Lulus S.Farm” (Cindy Angela dan Sari Ningsih) yang selalu memberikan dukungan, hiburan, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi ini.
13. Teman-teman “Kerja kerja kaya” (Fenny Yuwono, Felicia Setiawati, Cathlin Janeta, Maria Anastasia) yang selalu



memberikan dukungan, hiburan, makanan, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi ini.

14. Keluarga besar Kementerian Sumber Daya Manusia yang telah memberikan dukungan dan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti kegiatan organisasi selama perkuliahan ini.
15. Mahasiswa Fakultas Farmasi angkatan 2019 yang telah memberikan dukungan selama proses perkuliahan.
16. Semua pihak yang tidak terdapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian naskah skripsi ini.
17. Semua mencit-mencit penelitian yang telah berkontribusi dalam membantu penulis menyelesaikan penelitian ini.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah Skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, 5 Juni 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

### Halaman

ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Hipotesis Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Obesitas .....	7
2.1.1. Pengertian.....	7
2.1.2. Epidemiologi obesitas .....	7
2.1.3. Faktor risiko obesitas .....	8
2.1.4. Pengaruh obesitas terhadap Imunitas Tubuh .....	9
2.2. Serat Pangan.....	9
2.2.1. Pengertian.....	9
2.2.2. Klasifikasi Serat Pangan.....	10
2.3. Inulin .....	11
2.3.1. Pengertian.....	11

2.3.2.	Mekanisme kerja Inulin.....	12
2.4.	Medium Chain Triglycerides (MCT).....	14
2.4.1.	Definisi.....	14
2.4.2.	Pengaruh MCT terhadap Imunitas Tubuh .....	15
2.5.	Sel T-limfosit.....	16
2.6.	Deteksi Antibodi CD3, CD4, CD8, dan CD25 menggunakan metode <i>Fluorescence-Activated Cell Sorting</i> (FACS).....	18
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN .....</b>		<b>20</b>
3.1.	Jenis Penelitian .....	20
3.2.	Bahan, Alat Penelitian, dan Hewan Coba.....	20
3.2.1.	Bahan penelitian .....	20
3.2.2.	Alat penelitian .....	21
3.2.3.	Hewan coba .....	23
3.3.	Sampel Penelitian .....	24
3.3.1.	Kriteria Inklusi.....	24
3.3.2.	Kriteria Eksklusi .....	24
3.3.3.	Besar Sampel .....	24
3.4.	Metode Penelitian.....	25
3.5.	Variabel Penelitian .....	26
3.5.1.	Klasifikasi variabel.....	26
3.5.2.	Hubungan antar variabel penelitian .....	27
3.6.	Skema Alur Penelitian .....	28
3.7.	Prosedur penelitian .....	29
3.7.1.	Perlakuan hewan coba .....	29
3.7.2.	Pembuatan PBS ( <i>Phosphate Buffer Saline</i> ).....	29
3.7.3.	Pembuatan Buffer A, B, dan C .....	29
3.7.4.	Pembuatan Buffer ACK.....	29
3.7.5.	Isolasi organ limpa .....	30

3.7.6.	Isolasi sel splenosit .....	30
3.7.7.	Penyiapan sel splenosit.....	31
3.7.8.	Perhitungan Konsentrasi Sel Splenosit dengan Mikroskop .....	31
3.7.9.	Optimasi Antibodi .....	31
3.8.	Analisis Data .....	32
3.8.1.	<i>Flow cytometry</i> .....	32
3.8.2.	Analisis <i>Flow cytometry</i> .....	33
3.8.3.	Strategi <i>gating</i> .....	35
3.8.4.	Analisis statistik.....	36
3.9.	Hipotesis Statistik.....	37
3.9.1.	Hipotesis nol.....	37
3.9.2.	Hipotesis Alternatif .....	37
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....		38
4.1.	Hasil penelitian.....	38
4.1.1.	Penurunan Persentase Sel T-Limfosit CD3 <sup>pos</sup> CD4 <sup>pos</sup> CD25 <sup>pos</sup> Pada Limpa Mencit Swiss Webster Obesitas Setelah Pemberian Suplementasi Serat Pangan .....	38
4.1.2.	Penurunan Persentase Sel Limfosit-T CD3 <sup>pos</sup> CD8 <sup>pos</sup> CD25 <sup>pos</sup> Pada Limpa Mencit Swiss Webster Obesitas Setelah Pemberian Suplementasi Serat Pangan .....	41
4.2.	Pembahasan.....	43
BAB 5 KESIMPULAN .....		48
5.1.	Kesimpulan.....	48
5.2.	Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA .....		49
LAMPIRAN .....		54

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1. Struktur molekul inulin (Tungland, 2000) .....	12
Gambar 3.1. Hubungan antar variabel penelitian .....	27
Gambar 3.2. Skema penelitian .....	28
Gambar 3.3. Strategi <i>gating</i> .....	36

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 3.1. Bahan penelitian .....	20
Tabel 3.1. Lanjutan bahan penelitian .....	21
Tabel 3.2. Alat penelitian.....	21
Tabel 3.2. Lanjutan alat penelitian.....	22
Tabel 3.2. Lanjutan alat penelitian.....	23
Tabel 3.3. Fluorokrom, panjang gelombang, dan detektor yang digunakan pada BD FACS Calibur .....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
LAMPIRAN 1 Surat Keterangan Pemeliharaan Fasilitas Hewan Coba .....	54
LAMPIRAN 2 Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	55
LAMPIRAN 3 Komposisi Pakan Tinggi Lemak.....	56
LAMPIRAN 4 Komposisi Standard ( <i>Chow-diet</i> ).....	57
LAMPIRAN 5 Katalog Antibodi PE Rat <i>Anti-Mouse</i> CD3.....	58
LAMPIRAN 6 Katalog Antibodi PerCP/Cyanine5.5 Rat <i>Anti-Mouse</i> CD4 .....	59
LAMPIRAN 7 Katalog Antibodi PerCP/Cyanine5.5 Rat <i>Anti-Mouse</i> CD8a .....	60
LAMPIRAN 8 Katalog Antibodi FITC Rat <i>Anti-Mouse</i> CD25.....	61
LAMPIRAN 9 Protokol Penentuan Jumlah Sampel <i>GPower</i> .....	62
LAMPIRAN 10 Tabel Data Hasil Penelitian <i>Flow Cytometry</i> .....	63

## DAFTAR SINGKATAN

AAALC	: <i>Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care</i>
ACK Buffer	: <i>Ammonium Chloride Potassium Buffer</i>
ANZFA	: <i>Australia New Zealand Food Authority</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
COVID-19	: <i>Corona Virus Disease 2019</i>
CTLA	: <i>Cytotoxic T Lymphocyte Antigen</i>
CVD	: <i>Cardiovascular Disease</i>
DNase	: <i>Deoxyribonuclease</i>
FACS	: <i>Fluorescence-activated Cell Sorting</i>
FITC	: <i>Fluorescein Isothiocyanate</i>
Foxp3	: <i>Forkhead Box P3</i>
FSC	: <i>Forward Scatter</i>
G score	: <i>Glide Score</i>
GPR	: <i>G Protein-Coupled Receptor</i>
HCNO	: <i>Hydrogenated Coconut Oil</i>
IACUC	: <i>International Animal Care and Use Committee</i>
IFN- $\gamma$	: <i>Interferon Gamma</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IL-2R	: <i>Interleukin-2 Receptor</i>
ILC	: <i>Innate Lymphoid Cells</i>
IMO	: <i>Isomalto-oligosaccharide</i>



LCFA	: <i>Long Chain Fatty Acid</i>
LCT	: <i>Long Chain Triglycerides</i>
LPS	: <i>Lipopolysaccharide</i>
MCFA	: <i>Medium Chain Fatty Acid</i>
MCT	: <i>Medium Chain Triglycerides</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NHANES	: <i>National Health and Nutrition Examination Surveys</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PE	: <i>Phycoerythrin</i>
PerCP	: <i>Peridinin Chlorophyll Protein</i>
PI	: <i>Propidium iodide</i>
RPMI-1640	: <i>Roswell Park Memorial Institute Medium 1640</i>
SCFA	: <i>Short Chain Fatty Acid</i>
SSC	: <i>Side Scatter</i>
TCR	: <i>T Cell Receptor</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
Th	: <i>T-helper</i>
TLR4	: <i>Toll Like Receptor 4</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
Treg	: <i>T regulator</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>