

**PENGARUH PEMBERIAN ANGKAK terhadap HITUNG NEUTROFIL
pada MENCIT Balb/C MODEL SEPSIS**

SKRIPSI
Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



BERTY
G0007044

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2010

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul : Pengaruh Pemberian Angkak terhadap Hitung Neutrofil pada Mencit Balb/C Model Sepsis

Berty, NIM : G0007044, Tahun : 2010

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan Dewan Penguji Skripsi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
Pada Hari Kamis ,Tanggal 10 Juni 2010

Pembimbing Utama

Nama : Martini, Dra., MSi.

NIP : 19571113 198601 2 001

Pembimbing Pendamping

Nama : Ipop Syarifah, Dra., MSi.

NIP : 19560328 198503 2 001

Penguji Utama

Nama : Sri Hartati H, Dra., APh, SU
NIP : 19490709 197903 2 001

Anggota Penguji

Nama : Sarsono, Drs., MSi.

NIP : 19581127 198601 1 001

Surakarta, 10 Juni 2010

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Sri Wahjono, dr., M.Kes.DAFK
NIP. 19450824 197310 1 001

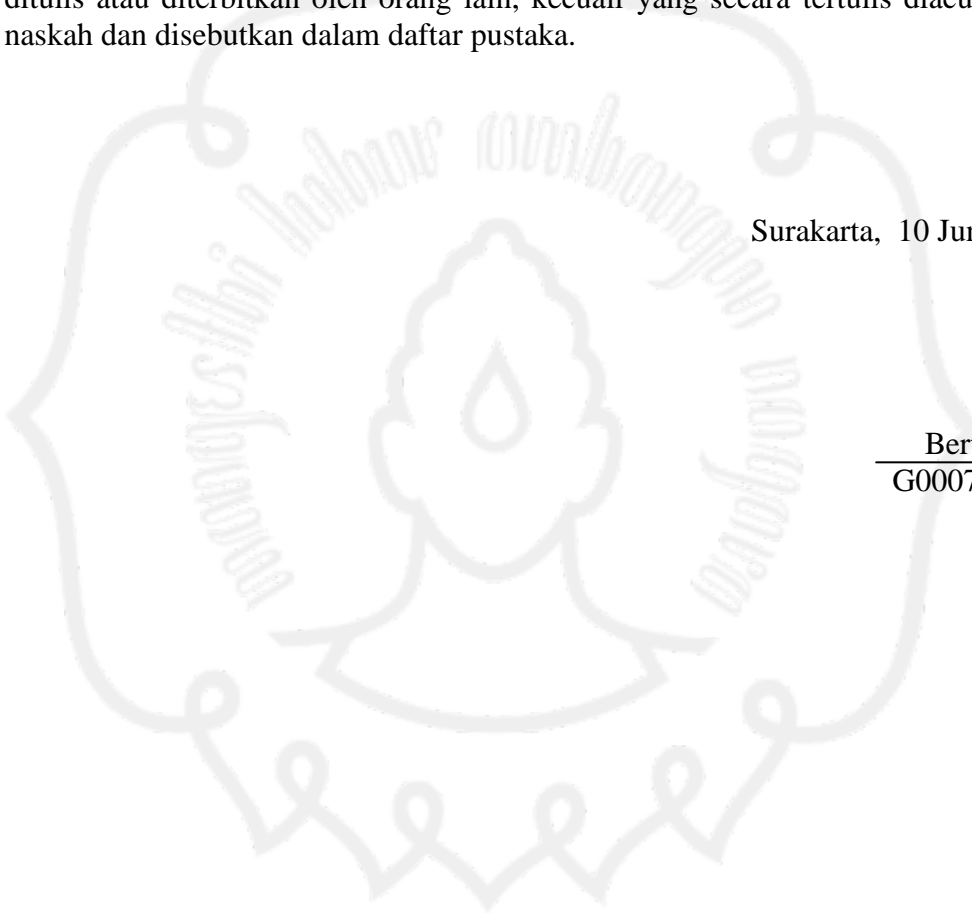
Prof. Dr. H.AA Subijanto, dr, MS
NIP. 19481107 197310 1 003

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 10 Juni 2010

Berty
G0007044



ABSTRAK

Berty, G0007044, 2010. Pengaruh Pemberian Angkak terhadap Hitung Neutrofil pada Mencit Balb/C Model Sepsis, Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Sepsis menyebabkan peningkatan mediator inflamasi dan radikal bebas yang mengganggu apoptosis neutrofil. Angkak mengandung antibakterial, antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mengurangi inflamasi dan memperbaiki kemampuan apoptosis neutrofil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian angkak terhadap hitung neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis.

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*. Subjek penelitian berupa 24 ekor mencit Balb/C jantan dengan berat badan \pm 25-30 gram dan berumur 3-4 bulan. Mencit Balb/C dibagi dalam 3 kelompok, masing-masing terdiri dari 8 ekor mencit. Kelompok K sebagai kontrol, kelompok K1 sebagai kelompok model sepsis yang diinjeksi *cecal inoculum* 0,15 ml/mencit/hari, dan kelompok K2 sebagai kelompok model sepsis yang diberi 4,68 mg/mencit/hari angkak dalam 0,2 ml aquades peroral. Pada hari keenam semua mencit dikorbankan dan diambil darahnya kemudian dibuat preparat apusan darah tepi dengan pengecatan Giemsa untuk dilakukan hitung neutrofil. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena syarat uji *One Way ANOVA* tidak terpenuhi, kemudian dilanjutkan *Post Hoc Test* menggunakan uji *Mann Whitney*. Perbedaan signifikan bila $p < 0,05$.

Hasil penelitian memperlihatkan nilai rerata kelompok K 59,875 %, K1 84,25 %, dan K2 63,25 %. Terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok perlakuan dan antar kelompok perlakuan.

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian angkak dosis 4,68 mg/mencit dapat menurunkan hitung neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis.

Kata kunci : Angkak, neutrofil, sepsis

ABSTRACT

Berty, G0007044, 2010. The Influence of Angkak toward Neutrophils Count in Balb/C Mice Within Sepsis Mode. Faculty of Medicine. Sebelas Maret University, Surakarta.

Background. Sepsis causes the increation of inflammation mediator and free radical which disturbe neutrophils apoptosis. Angkak contents of antibacterial, antioxidant, and antiinflammation which can reduce inflammation and recover neutrophils apoptosis ability.

Objective. This research was purposed to know the influence of Angkak toward Neutrophils Count in Balb/C mice Within Sepsis Mode.

Materials and Methods. This research was laboratoric experimentally with post test only control group design. The research subjects were 24 male Balb/C mice with weights \pm 25-30 grams and in the ages of 3-4 months. Balb/C mice were devided into three groups which each of the groups consisted of eight mice. Group K as the control, group K1 as the sepsis group which was injected with 0,15 ml/mouse/day of cecal inoculum, and group K2 as the sepsis group which was given 4,68 mg/mouse/day of angkak in 0,2 ml of aquades peroral. In the sixth day, all of the mice were sacrificed and their blood was token in order to be used for peripher blood smear and the neutrophils count was done. The data which was token, was analyzed statictically by using Kruskal Wallis Test because the rule of One Way ANOVA is not fulfilled and was continued by Post Hoc Test by using Mann Whitney Test. The significant differential if $p < 0,05$.

Results. The result of research showed mean value of group K 59,875%, K1 84,25%, and K2 63,25%. There were significant differential in all of the group dan between them.

Conclusion. From the result of this research, it could be concluded that the given of 4,68 mg/mouse of angkak could decrease neutrophils count in Balb/C mice within sepsis Mode.

Keyword : Angkak, neutrophil, sepsis

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul Pengaruh Pemberian Angkak terhadap Hitung Neutrofil pada Mencit Balb/C Model Sepsis. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat kelulusan sarjana kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. AA Subijanto, dr., MS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
2. Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
3. Dra. Martini, MSi selaku pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktu, memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi kepada penulis
4. Dra. Ipop Syarifah, MSi selaku pembimbing pendamping yang telah berkenan meluangkan waktu, memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi kepada penulis
5. Dra. Sri Hartati H, Apth., SU selaku penguji utama yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta nasehat untuk menyempurnakan kekurangan dalam penulisan skripsi ini
6. Drs. Sarsono, MSi selaku anggota penguji yang telah menyediakan waktu dan memberikan saran serta nasehat untuk memperbaiki kekurangan dalam penulisan skripsi ini.
7. dr. Diding Heri Prasetyo, MSi selaku pembimbing ahli yang telah berkenan meluangkan waktu dan memberikan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
8. Laboratorium Kimia, Laboratorium Histologi, dan Laboratorium Patologi Klinik atas kerjasama selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang turut membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada khususnya dan pembaca sekalian pada umumnya.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II LANDASAN TEORI	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Sepsis	5
2. Hewan uji model sepsis	8
3. Neutrofil pada sepsis	10
4. Angkak	11
B. Kerangka Pemikiran	16
1. Kerangka berpikir konseptual	16
2. Kerangka berpikir teoritis	17
C. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN	19
A. Jenis Penelitian	19

B. Lokasi Penelitian	19
C. Subjek Penelitian	19
D. Teknik Sampling	20
E. Variabel Penelitian	20
F. Skala Variabel	20
G. Definisi Operasional	20
H. Rancangan Penelitian	23
I. Instrument Penelitian	23
J. Cara Kerja	24
K. Teknik Analisis Data	27
BAB IV HASIL PENELITIAN	28
A. Data Hasil Penelitian	28
B. Analisis Hasil	30
BAB V PEMBAHASAN	32
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	35
A. Simpulan	35
B. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Neutrofil	11
Gambar 2.2. Struktur Molekul Asam Dimerumak	13
Gambar 2.3. Struktur Molekul Tannin	13
Gambar 2.4. Struktur Molekul Fenol	13
Gambar 2.5. Skema Kerangka Berpikir	16
Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian	23
Gambar 3.2. Skema Pembuatan Mencit Model Sepsis	25
Gambar 3.3. Skema Cara Kerja	26
Gambar 4.1. Morfologi Neutrofil Kelompok Kontrol	29
Gambar 4.2. Morfologi Neutrofil Kelompok Sepsis	29
Gambar 4.3. Morfologi Neutrofil Kelompok Sepsis + Angkak	30



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Rerata persentase ($X \pm SD$) neutrofil masing-masing kelompok hewan coba	28
Tabel 4.2. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i>	31
Tabel 4.3. Hasil Uji Mann Whitney antar kelompok	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Analisis Kruskal Wallis dan Mann Whitney

Lampiran 2. Tabel Nilai $Z\alpha$

Lampiran 3. Foto Alat dan Bahan Penelitian

Lampiran 4. Foto Kegiatan Penelitian

Lampiran 5. Surat Ijin Penelitian

Lampiran 6. Ethical Clearance

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sepsis hingga saat ini masih menjadi penyebab kematian dan gangguan fungsi organ yang penting (Remick, 2007) bahkan insidennya terus meningkat (Aryana dan Biran, 2006). Sepsis dan syok sepsis termasuk dalam 10 penyebab kematian tersering di Amerika Serikat. Diperkirakan terdapat 400.000 sampai 500.000 kasus per tahun (Almog *et al.*, 2004). Sepsis terjadi pada 750.000 orang setiap tahun dengan angka kematian lebih dari 210.000 orang (Hotchkiss and Karl, 2003). Dalam suatu penelitian retrospektif dari 3877 pasien di 454 ICU di Jerman didapatkan prevalensi sepsis adalah 12.4% (Toussaint and Gerlach, 2009). Di Eropa didapatkan 2-11% pasien yang dirawat di *Intensive Care Unit* (ICU) menderita *severe sepsis* (Aryana dan Biran, 2006). Prognosis pasien yang menderita *severe sepsis* masih buruk dengan tingkat kematian 38%-59% (Toussaint and Gerlach, 2009). *Severe sepsis* sering ditemukan dengan prevalensi 2.3 kasus per 100 rumah sakit di Amerika Serikat.

Sepsis merupakan respon sistemik *host* terhadap infeksi dimana patogen atau toksin dilepaskan ke dalam sirkulasi darah sehingga terjadi aktivasi proses inflamasi (Chen dan Pohan, 2006). Beberapa penyebab sepsis yang paling sering antara lain perforasi usus ke dalam *cavum abdomen*,

pneumonia, luka operasi, infeksi saluran kemih, meningitis, dan osteomielitis (Hildreth, Lynn, and Glass., 2009). Apabila terjadi infeksi maka tubuh akan melawan dengan mengaktivasi sistem imun alami (nonspesifik).

Neutrofil adalah salah satu komponen sistem imun alami sebagai lini pertahanan pertama (Aryana dan Biran, 2006). Namun, neutrofil pada pasien sepsis mengalami penurunan fungsi fagositosis dan kemampuan untuk membersihkan patogen yang masuk (Remick, 2007). Kegagalan sistem imun mengatasi infeksi dan menimbulkan reaksi imun yang tidak sesuai disebut sebagai sepsis (Aryana dan Biran, 2006).

Sebagai usaha tubuh untuk bereaksi terhadap sepsis maka limfosit T akan mengeluarkan substansi dari Th1 yang berfungsi sebagai imunomodulator, yaitu $IFN\gamma$, IL-2, dan M-CSF (*Macrophage colony stimulating factor*). Limfosit Th2 akan mengekspresikan IL-4, IL-5, IL-6, dan IL-10. $IFN\gamma$ akan merangsang makrofag mengeluarkan IL-1 β dan TNF- α . $IFN\gamma$, IL-1 β , dan TNF- α merupakan sitokin proinflamasi sehingga pada keadaan sepsis terjadi peningkatan kadar IL-1 β dan TNF- α dalam serum penderita (Guntur, 2006). Berbagai mediator proinflamasi tersebut dapat menyebabkan penurunan kemampuan apoptosis neutrofil (Guo *et al.*, 2006). IL-1 β sebagai imunoregulator dapat merangsang ekspresi *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). ICAM-1 menyebabkan neutrofil yang telah tersensitisasi oleh *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) akan mudah mengadakan adhesi. Neutrofil yang beradhesi dengan

endotel akan mengeluarkan lisosim yang menyebabkan dinding endotel lisis, akibatnya endotel terbuka. Neutrofil juga membawa superoksidan yang termasuk dalam radikal bebas sehingga menyebabkan kerusakan sel (Guntur, 2006). Granula *azurophilic* dari neutrofil yang teraktivasi mengeluarkan elastase yaitu *serine protease*. Elastase ini di dalam plasma secara cepat diinhibisi oleh α_1 -antitrypsin untuk membentuk elastase- α_1 -antitrypsin complex (EA). Selain itu granul spesifik dari neutrofil juga mengeluarkan laktoferin (LF) yang dapat memodulasi proses inflamasi. EA dan LF dapat menyebabkan disfungsi organ (Zeerleder *et al.*, 2003).

Angkak merupakan hasil fermentasi beras yang menggunakan kapang *Monascus purpureus*. Berdasarkan resep obat-obatan Cina, angkak menyembuhkan penyakit asma, kelainan urinasi, mengobati infeksi, gangguan pencernaan, dan meningkatkan sirkulasi darah (Permana, Marzuki, dan Tisnadjaja., 2004). Kapang *Monascus* dapat mengubah zat tepung pada beras menjadi berbagai produk metabolit yang berfungsi sebagai antibiotik dan antioksidan (Pattanagul, Pinthong, Phianmongkhol, and Leksawasdi., 2007). Kemampuan antibakterial angkak pertama kali dilaporkan oleh Wang dan Bau. Angkak memiliki komponen antibiotik terhadap *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Pseudomonas* karena angkak mengandung *monascin A* (Wang, Lee, and Pan., 2004). Angkak dapat berfungsi sebagai antioksidan karena memiliki asam dimerumak, tannin dan fenol (Tsai, Ho, and Pan., 2009). Selain itu, angkak juga mengandung statin yang berfungsi sebagai

antiinflamasi. Statin dapat menurunkan jumlah $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ dan IL-6 (Neto *et al.*, 2006).

B. Rumusan Masalah

Adakah pengaruh pemberian angkak terhadap hitung neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis ?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian angkak terhadap hitung neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini dapat digunakan sebagai pengetahuan bahwa angkak berpengaruh terhadap hitung neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis.

2. Manfaat praktis

Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Sepsis

Sepsis merupakan respon sistemik *host* terhadap infeksi dimana patogen atau toksin dilepaskan ke dalam sirkulasi darah sehingga terjadi aktivasi proses inflamasi (Chen dan Pohan, 2006). Sepsis adalah suatu sindrom yang kompleks ditandai dengan hiperinflamasi, kerusakan oksidatif, hiperkoagulasi, hipoperfusi jaringan dan hipoksia, immunosupresi, dan disfungsi multiorgan (Biswal and Remick, 2007). Sepsis adalah SIRS ditambah tempat infeksi yang diketahui yang dibuktikan dengan biakan positif terhadap organisme dari tempat tersebut. SIRS atau *Systemic Inflammatory Response Syndrome* adalah pasien yang memiliki dua atau lebih kriteria sebagai berikut : 1) suhu > 38°C atau < 36°C ; 2) denyut jantung > 90 denyut/menit ; 3) respirasi > 20 kali/menit atau PaCO₂ < 32 mmHg ; 4) hitung leukosit > 12.000/mm³ atau > 10% sel imatur (Guntur, 2006). SIRS dapat berkembang menjadi

severe sepsis dan syok sepsis (Rivers *et al.*, 2001). *Severe sepsis* adalah sepsis yang disertai dengan disfungsi organ. Syok sepsis adalah *severe sepsis* dengan hipotensi meskipun telah dilakukan resusitasi cairan yang adekuat (Russel, 2006).

Sepsis dapat disebabkan oleh penyebaran infeksi dari suatu bagian tubuh tertentu. Beberapa penyebab sepsis yang paling sering antara lain perforasi usus ke dalam *cavum abdomen*, pneumonia, luka operasi, infeksi saluran kemih, meningitis, dan osteomielitis. Ketika tubuh terinfeksi oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan virus maka tubuh akan melawan dengan mengaktifasi sistem imun (Hildreth, Lynn, and Glass., 2009). Agen penginfeksi memiliki komponen antigen yang unik seperti Lipopolisakarida (LPS) yang dimiliki oleh bakteri gram negatif dan peptidoglikan yang dimiliki bakteri gram positif (Toussaint and Gerlach, 2009). Sistem imun alami *host* akan mengenali antigen tersebut dan berikatan dengan antigen tersebut melalui *toll like reseptor* (TLR). TLR2 akan berikatan dengan peptidoglikan bakteri gram positif sedangkan TLR4 akan berikatan dengan LPS bakteri gram negatif. Ikatan antara TLR dengan LPS atau peptidoglikan akan mengaktifasi *nuclear factor κ B* (NF- κ B). NF- κ B yang teraktivasi akan meningkatkan transkripsi dari molekul proinflamasi seperti TNF α dan IL-1 serta sitokin antiinflamasi seperti IL-10 (Russell, 2006). TNF α adalah molekul proinflamasi yang memainkan peranan penting pada

sepsis (Riedemann *et al.*, 2003a). Selanjutnya TNF α akan menyebabkan penarikan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi dengan cara menginduksi sel endothelial untuk mengekspresikan molekul adhesi untuk leukosit, terutama neutrofil (Abbas *et al.*, 2010). IL-6 yang meningkat jumlahnya pada pasien sepsis juga menyebabkan penarikan neutrofil karena IL-6 meningkatkan C5a Reseptor (C5aR) (Riedemann, 2003b). C5a adalah komplemen yang memiliki respon kemotaktik terhadap neutrofil (Riedemann *et al.*, 2003a).

Respon inflamasi adalah komponen pokok pada sepsis karena menyebabkan perubahan fisiologis yang dikenal sebagai SIRS. Respon inflamasi yang berhasil akan mengeliminasi mikroorganisme tanpa menyebabkan kerusakan. Sepsis akan terjadi bila respon inflamasi *host* meningkat dan menyimpang. Sepsis berkembang sebagai akibat produksi yang berlebihan dari molekul proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, enzim lisosom, *superoxide*, *vasoactive substances*, seperti *platelet-activating factor* (PAF), *tissue factor* (TF), dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) (Gao, Linhartova, Johnston, and Thickett., 2008).

Sebelumnya, patofisiologi sepsis hanya ditekankan pada respon inflamasi yang berlebihan dan menyebabkan kerusakan organ. Namun, penelitian akhir-akhir ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pokok pada respon inflamasi pasien sepsis dimana terdapat sebagian sel yang distimulasi sedangkan sel yang lain ditekan. Beberapa sel bekerja

berlebihan dan tetap aktif untuk waktu yang lebih lama, misalnya neutrofil. Sedangkan sel yang lain mengalami kerusakan lebih cepat dan akhirnya apoptosis, misalnya limfosit (Remick, 2007). Adapun penyebab kerusakan sel imun tersebut adalah *Reactive oxygen species* (ROS). ROS mempengaruhi patogenesis sepsis melalui dua jalur, yaitu modulasi sistem imun alami dan menyebabkan kerusakan sel dan organ. ROS seperti superoksida dan hidrogen peroksida, dapat meningkatkan aktivasi dari NF- κ B. Kaufmann *et al*, melaporkan adanya disfungsi neutrofil pada pasien *severe sepsis*. Neutrofil pasien sepsis menunjukkan penurunan kemampuan fagositosis dan mengeluarkan banyak ROS karena adanya stimulus dari TNF α dan TPA (Biswal and Remick, 2007). Produksi ROS sebenarnya dibutuhkan untuk mengeradikasi agen penginfeksi, namun jika jumlahnya melebihi kemampuan antioksidan dan tidak dapat dikontrol dapat menyebabkan kerusakan jaringan maupun organ (Victor and Fuente, 2003). ROS menyebabkan kerusakan rantai DNA dan memicu aktivasi *poly(ADP-ribose) polymerase* (PARP). PARP memainkan peranan penting dalam memperbaiki rantai DNA, dan aktivasi PARP menyebabkan kekurangan *nicotinamide adenine dinucleotide* sehingga terjadi kerusakan sel (Biswal and Remick, 2007).

2. Hewan uji model sepsis

a. Metode *cecal ligation puncture* (CLP)

Pada mencit model sepsis dengan metode CLP, mencit dianestesi dengan ketamin dan *xylaxin* yang disuntikkan intraperitoneal (i.p). Kemudian dilakukan insisi *midline abdominal* dan ligasi pada dua pertiga dari *cecum* mencit. Bagian yang diligasi selanjutnya dilubangi menggunakan *21-gauge needle*. Setelah itu, abdomen ditutup kembali (Wrann *et al.*, 2007). Kemudian pada mencit disuntikkan 1 ml larutan salin 0,9% subkutan (Bommhardt *et al.*, 2004).

b. Metode *colon ascendens stent peritonitis* (CASP)

Pada mencit model sepsis dengan metode CASP, mencit dianestesi kemudian dilakukan insisi *midline abdominal* 10 mm pada dinding *abdomen* bagian bawah. Kateter 16 *gauge* yang telah dipersiapkan kemudian ditusukkan melalui dinding *antimesenteric* ke dalam lumen *colon ascenden* dan diikat dengan 2 jahitan. Secara berurutan, jarum di dalam *stent* dikeluarkan dan *stent* dipotong. Untuk memastikan *stent* telah berada dalam lumen, maka feses diperas dari *cecum* ke dalam *stent* dan harus terlihat pada *stent*. Kemudian dilakukan resusitasi cairan menggunakan 0,5 ml larutan *saline* pada *cavum peritoneal* sebelum dinding *abdomen* ditutup kembali (Traeger *et al.*, 2008).

c. Metode lipopolisakarida (LPS)

Mencit model sepsis yang ketiga adalah dengan menggunakan endotoksin atau lipopolisakarida (LPS). LPS adalah komponen pokok dinding sel bakteri gram negatif yang dapat memicu pelepasan mediator inflamasi pada sepsis (Garrido, Figueiredo, and Silva., 2004). LPS disuntikkan 1 mg/Kg i.p (Reddy *et al.*, 2008).

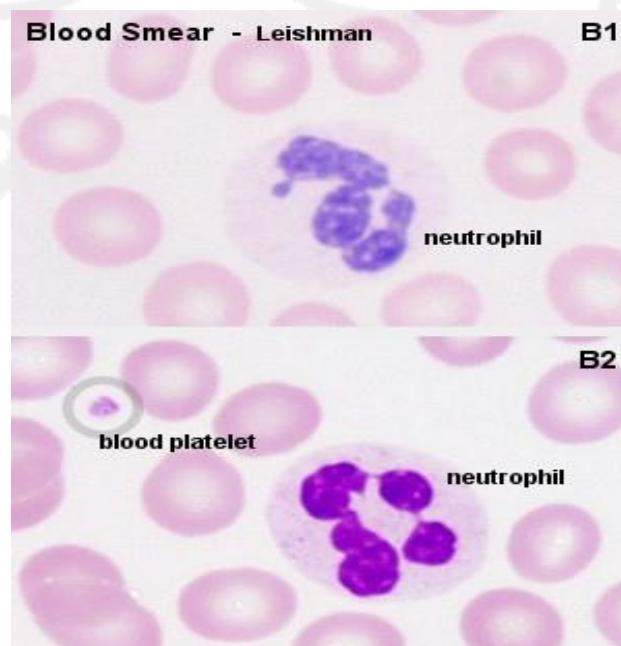
d. Metode *cecal inoculum* (CI)

Mencit model sepsis yang keempat adalah dengan menyuntikkan *cecal inoculum* intraperitoneal kepada mencit. Sebanyak 200 mg *cecal inoculum* dilarutkan dalam 5 ml *dektrose water 5%* (D₅W) yang steril (Chopra and Sharma, 2007).

3. Neutrofil pada sepsis

Neutrofil adalah komponen penting dalam respon imun terhadap infeksi patogen (Reddy *et al.*, 2008). Namun, neutrofil pada pasien sepsis mengalami penurunan fungsi fagositosis dan kemampuan untuk membersihkan patogen yang masuk. Neutrofil dalam sirkulasi normalnya memiliki masa hidup yang singkat sekitar 24 jam. Akan tetapi, pada pasien sepsis terjadi penurunan kemampuan apoptosis neutrofil, menyebabkan perpanjangan masa hidup neutrofil dalam sirkulasi. Hal ini disebabkan perpanjangan aktivasi dari NF- κ B (Remick, 2007). Selain NF- κ B, berbagai mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ , GM-CSF, G-CSF, dan IL-8 menyebabkan penurunan

kemampuan apoptosis neutrofil. Mediator inflamasi lainnya seperti *leukotriene B4* (LTB₄), LPS, dan C5a juga menyebabkan penurunan kemampuan apoptosis neutrofil (Guo *et al.*, 2006). Granula *azurophilic* dari neutrofil yang teraktivasi mengeluarkan elastase yaitu *serine protease*. Elastase ini di dalam plasma secara cepat diinhibisi oleh α_1 -*antitrypsin* untuk membentuk *elastase- α_1 -antitrypsin complex* (EA). Selain itu granul spesifik dari neutrofil juga mengeluarkan laktoferin (LF) yang dapat memodulasi proses inflamasi. Kenaikan jumlah EA dan LF ditemukan pada 65%-85% pasien sepsis. Jumlah EA yang tinggi berkorelasi dengan disfungsi organ, jumlah sitokin yang tinggi dan jumlah produk komplemen yang tinggi. Sindrom disfungsi multiorgan merupakan komplikasi yang sering terjadi pada pasien sepsis (Zeerleder *et al.*, 2003).



Gambar 2.1 Neutrofil

(Slomianka, 2009)

4. Angkak (*Monascus purpureus*)

Angkak atau *Monascus purpureus* adalah beras yang difermentasi dengan kapang *Monascus purpureus* (Lin, Li, and Lai., 2005). Angkak memiliki kemampuan sebagai berikut :

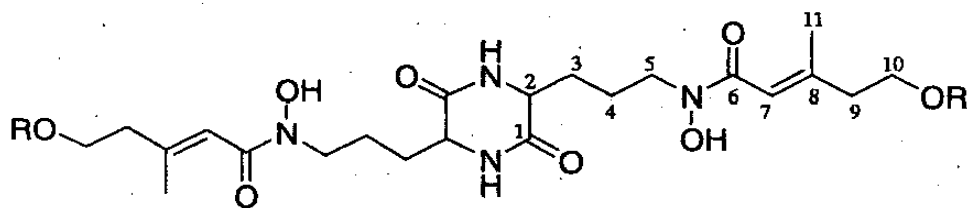
a. Bakteriostatik

Monascin A adalah komponen hasil isolasi dari *Monascus purpureus* yang dapat menghambat bakteri *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Pseudomonas*. Dua pigmen kuning dari *Monascus purpureus* memiliki kemampuan bakteriostatik terhadap *Bacillus subtilis*. Chen (1993) telah melakukan penelitian mengenai efek bakteriostatik terhadap *Staphylococcus aureus*. Kemampuan bakteriostatik terhadap bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif (Erdogrul and Azirak, 2004).

b. Antioksidan

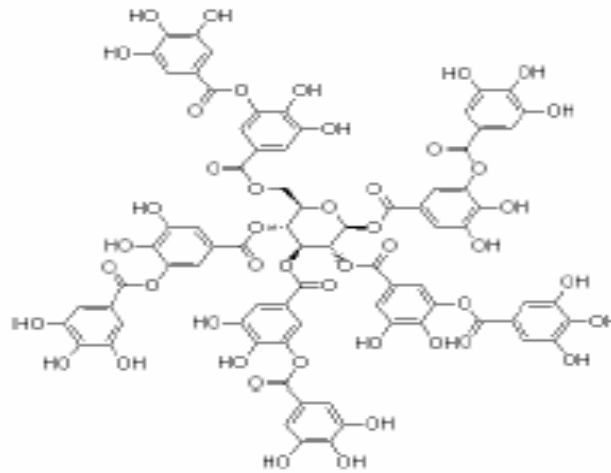
Hasil metabolit sekunder dari fermentasi menggunakan *Monascus* menghasilkan pigmen *azaphilone* yaitu *monascin*, *ankaflavin*, *rubropunctatin*, *monascorburin*, *rubropunctamine* dan *monascorburamine*. Pigmen tersebut dapat bermanfaat sebagai antioksidan karena memiliki asam dimerumak, tannin dan fenol (Tsai, Ho, and Pan., 2009). Asam dimerumak memiliki kemampuan

antioksidan dan *radical scavenging action*. Asam dimerumak memiliki kemampuan *radical scavenging action* terhadap $\cdot\text{OH}$ dan $\text{O}_2\cdot^-$. Asam dimerumak yang terdapat dalam angkak dapat menghambat pelepasan ROS akibat adanya stress oksidatif pada proses inflamasi (Aniya *et al.*, 2000). Antioksidan adalah substansi yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yaitu radikal bebas. Antioksidan berinteraksi dengan radikal bebas dan menstabilkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel (Chairote, Chairote G, and Lumyong., 2009).



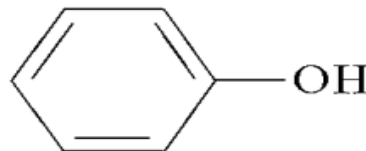
Gambar 2.2. Struktur Molekul asam dimerumak

(Aniya *et al.*, 2000)



Gambar 2.3. Struktur Molekul Tannin

(Zhang, 2009)



Gambar 2.4. Struktur Molekul Fenol

(FAO, 2009)

c. Antiinflamasi

Penelitian menunjukkan bahwa angkak mengandung statin. Statin yang terkandung dalam angkak meliputi lovastatin, mevastatin, simvastatin, dan pravastatin (Ahn, Sethi, and Aggarwal., 2007). Beberapa penelitian telah menunjukkan aktivitas pleiotropik dari statin diantaranya antiinflamasi, antioksidan, menghambat efek imunomodulasi, peningkatan fungsi endotelial, penurunan kemampuan trombosit, dan peningkatan bioavailabilitas dari *Nitric Oxide* (NO) (Neto *et al.*, 2006).

Statin mempengaruhi modulasi inflamasi, melalui leukosit, fungsi *Antigen Presenting Cell*, dan perubahan sel epitelial dan sel endotelial. Statin dapat menurunkan adhesi leukosit pada endotelium pembuluh darah melalui penurunan ekspresi *P-selectin*, CD11b, dan CD18 pada permukaan sel endotel dan melalui penghambatan *lymphocyte function antigen-1* (LFA-1) yang menyebabkan adhesi leukosit pada pembuluh darah. Simvastatin meningkatkan regulasi TLR4 dan TLR2 pada permukaan monosit. Penurunan ekspresi TLR4 dan TLR2 berhubungan erat dengan konsentrasi $\text{TNF-}\alpha$ and *monocyte chemoattractant protein-1*. Molekul adhesi tidak hanya berperan terhadap adhesi leukosit tetapi juga mengaktifasi kaskade yang menyebabkan perpindahan leukosit. Berdasarkan hasil penelitian statin menghambat efek tersebut. Penurunan aktivasi faktor transkripsi proinflamasi pada sel endotel juga mewakili mekanisme utama statin sebagai imunomodulator. Statin menurunkan NF- κ B sehingga statin menghambat efek sitokin seperti $\text{TNF-}\alpha$ terhadap sel endotel (Gao, Linhartova, Johnston, and Thickett., 2008).

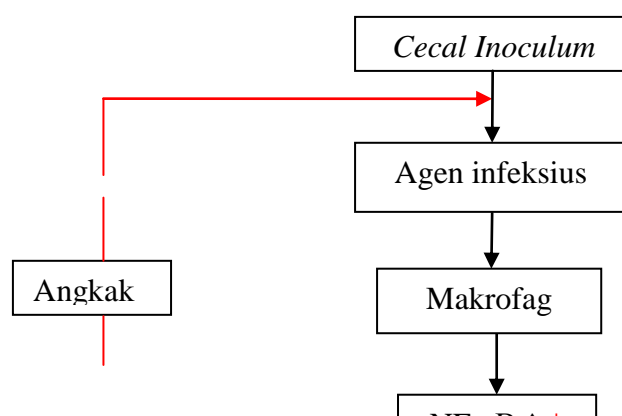
Hasil hitung leukosit pada 24 jam menunjukkan penurunan yang berarti dari sel darah putih dan neutrofil pada tikus model sepsis yang diberi simvastatin dibandingkan dengan tikus model sepsis yang tidak diberi simvastatin. Jumlah $\text{TNF}\alpha$, IL-1b and IL-6 dari kelompok tikus sepsis yang diberi simvastatin menunjukkan penurunan yang berarti

bila dibandingkan dengan kelompok tikus sepsis yang tidak diberi simvastatin (Neto *et al.*, 2006)



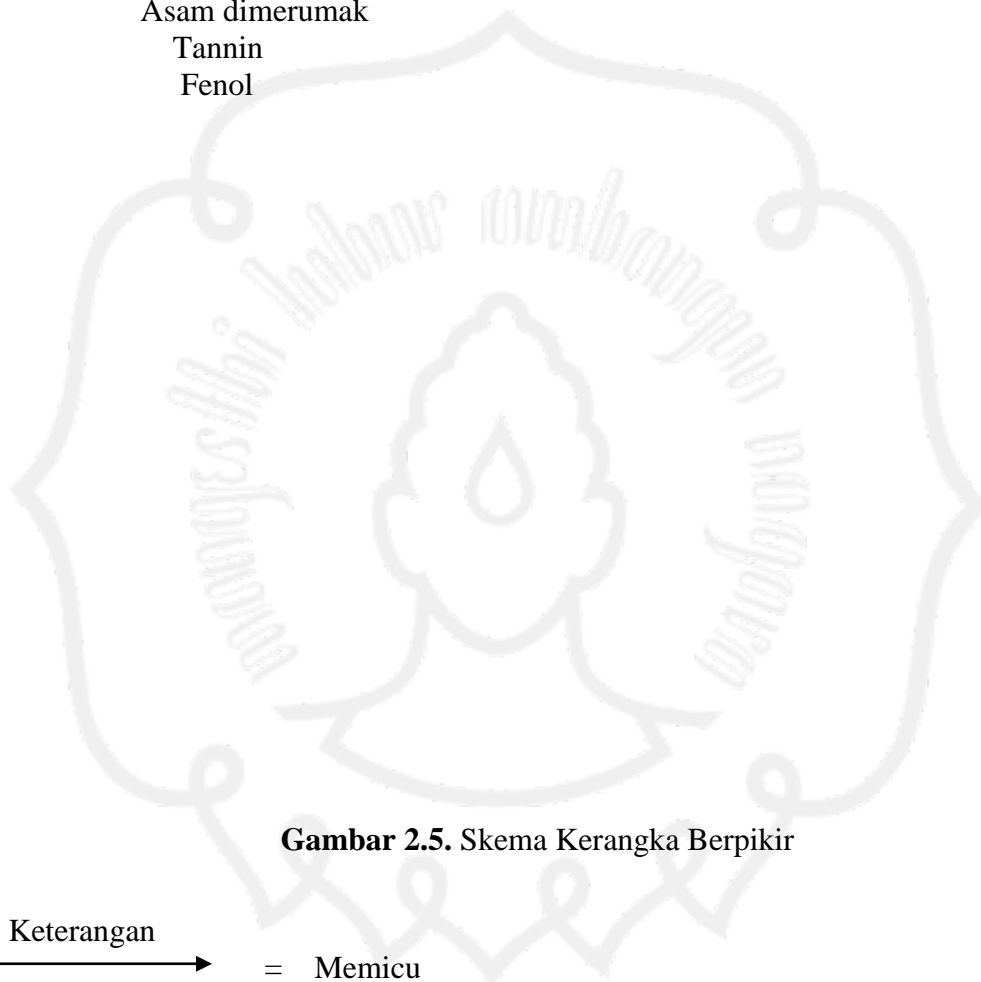
B. Kerangka Pemikiran

1. Kerangka berpikir konseptual



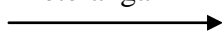
Monascin A

Statin
Asam dimerumak
Tannin
Fenol



Gambar 2.5. Skema Kerangka Berpikir

Keterangan



= Memicu



= Menghambat

NF- κ B : *nuclear factor κ B* ; EA : *elastase- α_1 -antitrypsin complex* ; LF : laktoferin ;
MOF : Multi Organ Failure.

2. Kerangka berpikir teoritis

Adanya *cecal inoculum* yang mengandung agen infeksius akan mengaktifasi NF- κ B. NF- κ B yang teraktivasi akan meningkatkan

transkripsi dari molekul proinflamasi seperti TNF α dan IL-1 serta sitokin antiinflamasi seperti IL-10 (Russell, 2006). Berbagai mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ , GM-CSF, G-CSF, dan IL-8 menyebabkan penurunan kemampuan apoptosis neutrofil. Mediator inflamasi lainnya seperti LTB₄, LPS, dan C5a juga menyebabkan penurunan kemampuan apoptosis neutrofil (Guo *et al.*, 2006). Adapun penyebab kerusakan sel imun tersebut adalah ROS. ROS seperti superoksida dan hidrogen peroksida, dapat meningkatkan aktivasi dari NF- κ B. Neutrofil pasien sepsis menunjukkan penurunan kemampuan fagositosis dan mengeluarkan banyak ROS karena adanya stimulus dari TNF α dan TPA. ROS menyebabkan kerusakan rantai DNA dan memicu aktivasi PARP. PARP memainkan peranan penting dalam memperbaiki rantai DNA, dan aktivasi PARP menyebabkan kekurangan *nicotinamide adenine dinucleotide* sehingga terjadi kerusakan sel (Biswal and Remick, 2007).

Angkak mengandung *monascin A* yang memiliki kemampuan bakteriostatik. *Monascin A* adalah komponen hasil isolasi dari *Monascus purpureus* yang dapat menghambat bakteri *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Pseudomonas* (Erdogrul, and Azirak 2004). Hasil metabolit sekunder dari fermentasi menggunakan *Monascus* menghasilkan pigmen yang dapat bermanfaat sebagai antioksidan karena memiliki asam dimerumak, tannin dan fenol (Tsai, Ho, and Pan., 2009). Antioksidan berinteraksi

dengan radikal bebas dan menstabilkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel (Chairote, Chairote, and Lumyong., 2009). Penelitian menunjukkan bahwa angkak juga mengandung statin (Lin, Li, and Lai., 2005). Statin yang terkandung dalam angkak meliputi lovastatin, mevastatin, simvastatin, dan pravastatin (Ahn, Sethi, and Aggarwal., 2007). Statin menurunkan NF- κ B sehingga statin menghambat efek sitokin seperti TNF- α terhadap sel endotel (Gao, Linhartova, Johnston, and Thickett., 2008). Simvastatin dapat menurunkan jumlah TNF α , IL-1b and IL-6 (Neto *et al.*, 2006). Sehingga simvastatin dapat memperbaiki kemampuan apoptosis neutrofil.

C. Hipotesis

Angkak dapat menurunkan jumlah neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Histologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian berupa 24 ekor mencit Balb/C jantan dengan berat badan \pm 25-30 gram dan berumur 3-4 bulan. Besar sampel atau subjek penelitian ditentukan menggunakan rumus sampel numerik tidak berpasangan (Arief, 2009).

$$n = 2 \left[\frac{Z_{\alpha} \times s}{d} \right]^2$$

dimana,

n = jumlah sampel tiap kelompok

s = simpangan baku tiap kelompok

d = tingkat ketepatan absolut

Z_{α} = kuasa penelitian

s = d

$$n_1 = n_2 = 2 \left[\frac{Z_{\alpha} \times s}{d} \right]^2$$

$$n_1 = n_2 = 2 [Z_{\alpha}]^2$$

$$= 2 [1,96]^2$$

$$= \pm 8$$

D. Teknik Sampling

Untuk pengambilan sampel digunakan teknik *purposive sampling*. Untuk pengelompokan hewan coba digunakan teknik *random sampling*. Mencit diberi nomor 1 hingga 24. Kemudian nomor tersebut dikocok. Pengocokan pertama untuk menentukan mencit yang termasuk dalam kelompok kontrol. Selanjutnya pengocokan kedua untuk menentukan mencit yang masuk dalam kelompok sepsis. Selanjutnya 8 mencit terakhir adalah kelompok mencit yang masuk dalam kelompok sepsis yang diberi angka.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : angka
2. Variabel terikat : hitung neutrofil
3. Variabel perancu :
 - a. Dapat dikendalikan : genetik, berat badan, makanan, umur
 - b. Tidak dapat dikendalikan : variasi kepekaan mencit terhadap suatu zat

F. Skala Variabel

1. Angka : skala nominal
2. Hitung neutrofil : skala numerik

G. Definisi Operasional

1. Angka

Angka yang digunakan diperoleh dari toko obat tradisional China.

Dosis angka yang direkomendasikan adalah 1200-2400 mg per hari

(Windley, 2008). Pada penelitian ini akan digunakan nilai tengah dari dosis tersebut, sehingga didapatkan hasil 1800 mg. Dosis obat pada mencit 0,0026 kali dosis manusia.

$$\begin{aligned}\text{Dosis anak pada mencit} &= 0,0026 \times 1800 \text{ mg} \\ &= 4,68 \text{ mg/mencit}\end{aligned}$$

Lambung mencit maksimal hanya memiliki kapasitas 1 ml. Setelah dikurangi dengan makanan dan minum yang diberikan pada mencit maka larutan anak maksimal yang dapat diberikan pada mencit adalah 0,2 ml. Untuk memperoleh dosis yang tepat yaitu 4,68 mg dalam setiap 0,2 ml larutan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

Misal akan dibuat sebanyak 10 ml, maka

$$\frac{10 \text{ ml}}{0,2 \text{ ml}} \times 4,68 \text{ mg} = 234 \text{ mg}$$

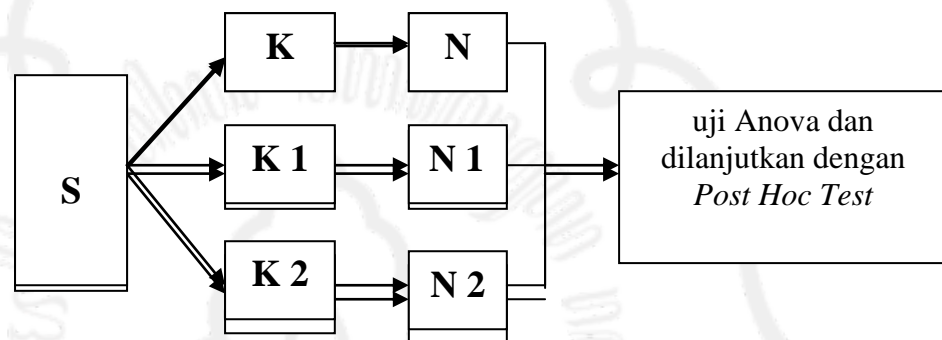
Angkak kemudian ditimbang sebanyak 234 mg dan digerus hingga halus. Angkak yang telah halus diseduh dengan air aquades yang mendidih. Larutan diaduk dan disaring dengan kertas saring. Kemudian diberikan per oral 0,2 ml/hari melalui sonde kepada setiap mencit selama 5 hari.

2. Neutrofil

Darah mencit untuk penghitungan neutrofil diambil dari sinus orbitalis menggunakan kapiler hematokrit. Setelah itu darah dimasukkan

dalam tabung dan dikirim ke Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNS untuk dilakukan hitung neutrofil dengan membuat apusan darah tepi. Pembuatan preparat apus dilakukan pada kaca objek, difiksasi dengan metanol dan dikeringkan di udara. Untuk pewarnaan digunakan larutan Giemsa. Larutan Giemsa dibuat dari Giemsa induk dan buffer dengan perbandingan 1 : 9. Larutan Giemsa dan buffer diteteskan sampai rata menutupi preparat apus dan ditunggu kurang lebih 30 menit. Setelah pewarnaan, preparat apus dicuci dengan menggunakan air sampai bersih dan dikeringkan. Setelah kering preparat dilihat di bawah mikroskop dengan menggunakan minyak emersi untuk memperjelas gambaran neutrofil. Neutrofil dihitung per 100 leukosit sehingga diperoleh jumlah neutrofil dalam persentase. Neutrofil memiliki garis tengah 12-16 mikrometer, bentuk inti selnya bersegmen. Pada neutrofil muda, segmen inti sel berbentuk seperti tapal kuda, berangsur-angsur dengan menuanya usia neutrofil, segmen inti sel menjadi berlobus-lobus dengan kisaran jumlah lobus antara 2 sampai 5 lobus, rata-rata 3 lobus. Antara lobus satu dengan lainnya terhubung oleh filamen halus.

H. Rancangan Penelitian



Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampel

K : Kelompok kontrol

K1 : Kelompok sepsis

K2 : Kelompok sepsis yang diberi antibiotik

N : Hitung neutrofil kelompok kontrol

N1 : Hitung neutrofil kelompok sepsis

N2 : Hitung neutrofil kelompok sepsis yang diberi antibiotik

I. Instrumental Penelitian

1. Alat penelitian
 - a. Kandang hewan percobaan ukuran 23 x 28 x 10 cm
 - b. Timbangan Mettler Toledo
 - c. Spuit injeksi Terumo 1 ml

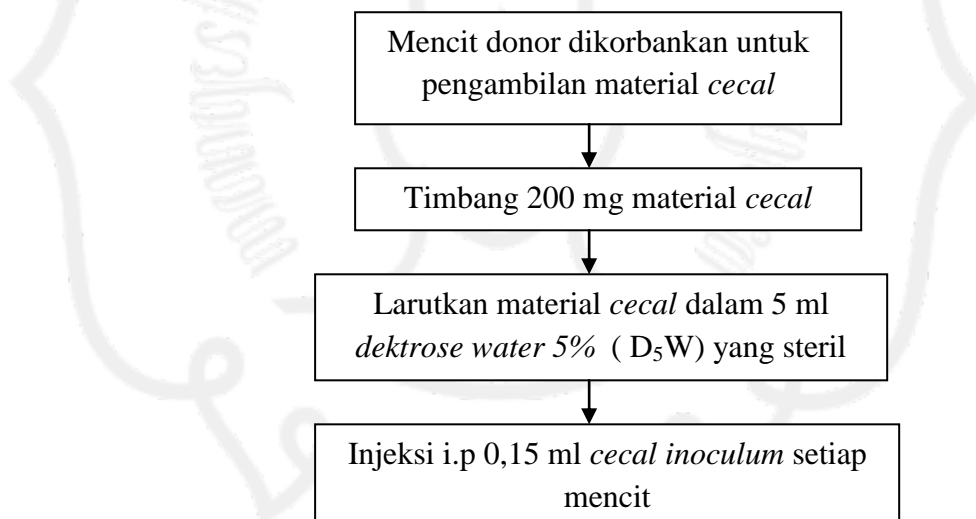
- d. Gelas ukur 50 ml
- e. Beaker glass 100 ml
- f. Pengaduk kaca
- g. Kompor pemanas listrik
- h. Sonde 1 ml
- i. Mikroskop cahaya Olympus CX 21
- j. Object glass
- k. Pipet tetes
- l. Sarung tangan
2. Bahan penelitian
 - a. Angkak
 - b. Aquades
 - c. Kertas saring
 - d. Hewan uji 24 ekor mencit Balb/C
 - e. *Dekstrose water 5% (D5W)*
 - f. Material *cecal* mencit Balb/C
 - g. Makanan hewan uji (pelet)
 - h. Giemsa
 - i. Buffer fosfat pH 7,2

J. Cara Kerja

1. Adaptasi mencit

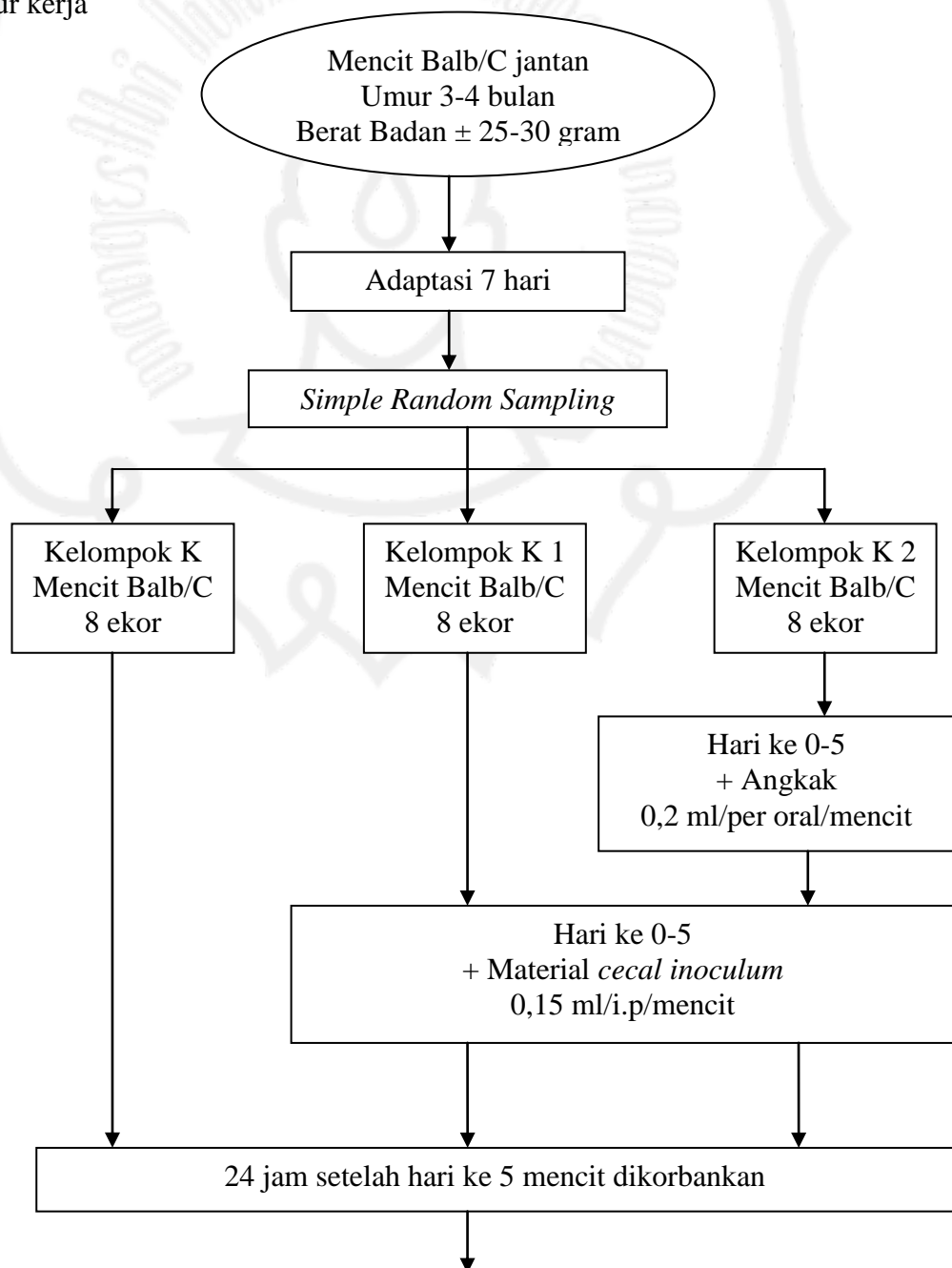
- a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi laboratorium tempat penelitian dilakukan selama kurang lebih 1 minggu.
- b. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 3 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor mencit.

2. Mencit model sepsis



Gambar 3.2. Skema Pembuatan Mencit Model Sepsis

3. Alur kerja





Gambar 3.3. Skema Cara Kerja

K. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* karena skala variabel penelitian adalah skala numerik, data tidak berpasangan dan lebih dari dua kelompok. Adapun syarat uji *One Way ANOVA* adalah skala numerik, sebaran data normal, dan homogen. Jika uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan *LSD Post Hoc Test*. Namun jika syarat uji *One Way ANOVA* tidak dapat dipenuhi maka digunakan uji alternatif nonparametrik *Kruskal Wallis*. Apabila uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* menggunakan uji *Mann Whitney*.



BAB IV

HASIL PENELITIAN

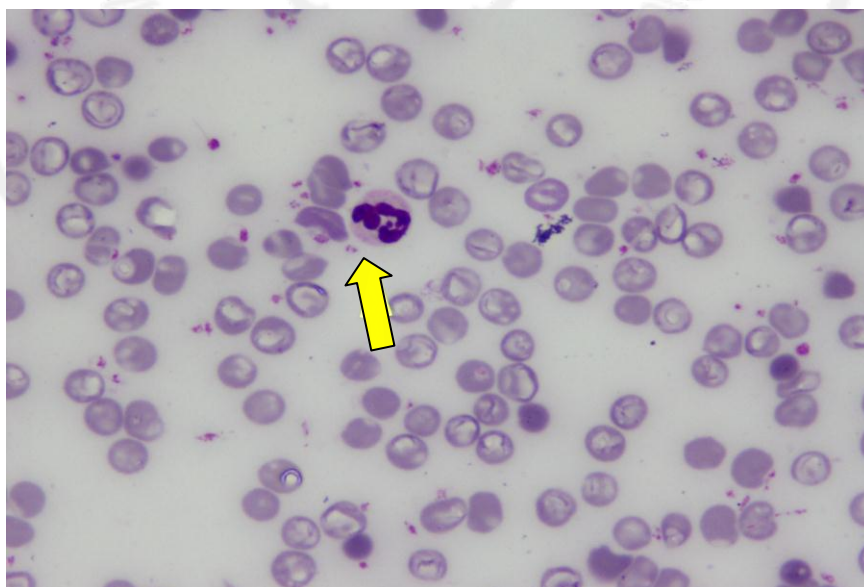
A. Data Hasil Penelitian

Untuk mengetahui hitung neutrofil pada masing-masing kelompok hewan coba maka dibuat preparat apusan darah tepi dengan pengecatan Giemsa. Hasil pemeriksaan neutrofil kelompok kontrol menunjukkan nilai rerata 59,875 %. Pemberian *cecal inoculum* dosis 0,15 ml/mencit secara intraperitoneal pada kelompok sepsis menyebabkan peningkatan hitung neutrofil menjadi 84,25 %. Sedangkan pemberian angkak dosis 4,68 mg/mencit dalam 0,2 ml aquades menyebabkan penurunan hitung neutrofil menjadi 63,25 %. Data selengkapnya disajikan dalam tabel 4.1.

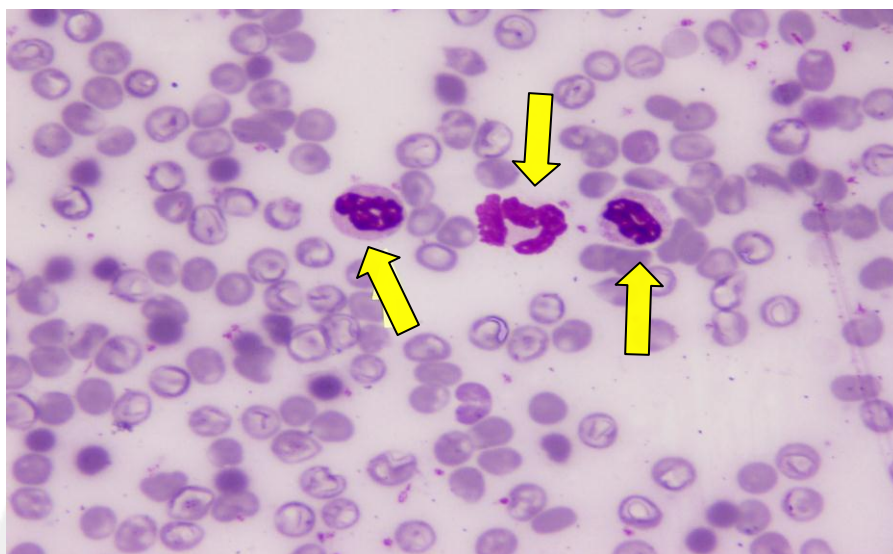
Tabel 4.1. Rerata persentase ($\bar{X} \pm SD$) neutrofil masing-masing kelompok hewan coba

Kontrol	Sepsis	Angkak
59,875 \pm 10,274	84,250 \pm 4,464	63,250 \pm 13,792

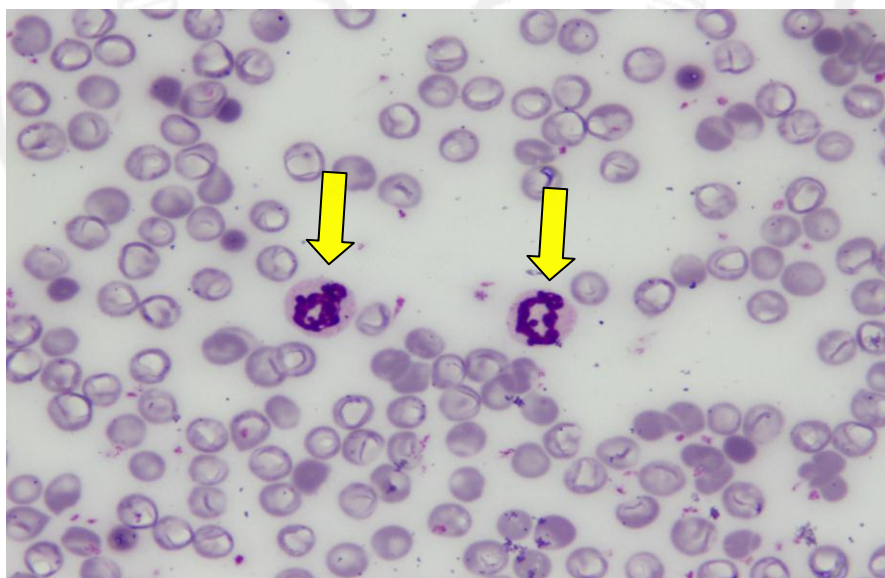
Morfologi dari neutrofil dapat dilihat secara jelas pada preparat apusan darah tepi. Terdapat perbedaan pada masing-masing kelompok, dimana pada kelompok sepsis tampak neutrofil yang tersusun lebih rapat karena jumlah neutrofil yang lebih banyak. Pada kelompok kontrol dan kelompok sepsis yang diberi angkak memiliki gambaran yang hampir sama. Gambaran morfologi pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :



Gambar 4.1. Morfologi neutrofil kelompok kontrol dengan pengecatan Giemsa dan perbesaran 1000 X menggunakan mikroskop cahaya. Tanda panah kuning menunjukkan neutrofil



Gambar 4.2. Morfologi neutrofil kelompok sepsis dengan pengecatan Giemsa dan perbesaran 1000 X menggunakan mikroskop cahaya. Tanda panah kuning menunjukkan neutrofil



Gambar 4.3. Morfologi neutrofil kelompok sepsis + angak dengan pengecatan Giemsa dan perbesaran 1000 X menggunakan mikroskop cahaya. Tanda panah kuning menunjukkan neutrofil

B. Analisis Hasil

Analisis statistik yang digunakan terhadap data di atas adalah *One Way ANOVA*. Syarat dilakukannya uji *One Way ANOVA* adalah data harus homogen dan sebaran datanya normal. Dari hasil uji normalitas (*Shapiro Wilk*) didapatkan $p = 0,037$, hasil ini berarti data tidak tersebar normal. Maka selanjutnya dilakukan uji transformasi data. Dari hasil transformasi data, sebaran data masih tetap tidak normal ($p = 0,016$).

Selanjutnya dilakukan uji nonparametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis*, karena syarat dilakukannya uji *One Way ANOVA* tidak terpenuhi. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan $p = 0,001$. Hasil uji *Kruskal Wallis* disajikan pada tabel 4.2

Tabel 4.2. Hasil Uji *Kuskal Wallis*

	Jumlah Neutrofil
Chi Square	14.744
df	2
Asymp. Sig.	0.001

Hal ini berarti ada perbedaan yang sangat bermakna diantara ketiga variabel tersebut, untuk itu dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui letak perbedaan kemaknaan diantara masing-masing/ antar kelompok

dengan hasil : kelompok sepsis menunjukkan peningkatan hitung neutrofil secara sangat bermakna ($p = 0,000$). Pemberian angkak mampu menurunkan hitung neutrofil secara sangat bermakna ($p = 0,000$) pada hewan coba model sepsis, penurunan ini mendekati hitung neutrofil pada hewan coba yang normal (kontrol). Hasil uji *Mann Whitney* antar kelompok selengkapnya disajikan pada tabel 4.3

Tabel 4.3. Hasil uji Mann Whitney antar kelompok

Kelompok	p	Kesimpulan
Kontrol Vs Sepsis	0,000	Signifikan
Sepsis Vs Angkak	0,000	Signifikan
Angkak Vs Kontrol	0,798	Non signifikan

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa injeksi *cecal inoculum* 0,15 ml secara intraperitoneal mampu menginduksi mencit menjadi sepsis. Jumlah neutrofil pada kelompok sepsis secara bermakna lebih tinggi dibanding kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa pada sepsis terjadi penurunan kemampuan apoptosis. Induksi agen-agen infeksius akan

meningkatkan NF- κ B dan berbagai mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, IFN- γ , GM-CSF, G-CSF, dan IL-8 sehingga menyebabkan penurunan kemampuan apoptosis neutrofil (Guo *et al.*, 2006). Neutrofil pasien sepsis menunjukkan penurunan kemampuan fagositosis dan mengeluarkan banyak ROS karena adanya stimulus dari TNF α dan TPA (Biswal and Remick, 2007). Pada respon inflamasi makrofag juga melepaskan radikal bebas atau ROS misalnya anion superoksida yang dapat menyebabkan kerusakan sel (Victor and Fuente, 2003). Kerusakan ini akan memperparah terjadinya inflamasi sehingga sepsis akan mengarah pada *severe sepsis*, MOF, dan akhirnya akan meningkatkan kematian.

Hasil uji *Post Hoc* juga menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok sepsis dan kelompok sepsis yang diberi angkak. Pemberian angkak secara bermakna mampu menurunkan hitung neutrofil pada hewan model sepsis. Hal ini menunjukkan bahwa angkak mampu meningkatkan apoptosis neutrofil pada mencit model sepsis. Hal ini sesuai dengan teori bahwa angkak memiliki kemampuan bakteristatik (antibakteri), antioksidan dan antiinflamasi sehingga dapat memperbaiki kemampuan apoptosis neutrofil. Angkak mengandung *Monascin A* yang memiliki kemampuan bakteristatik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Dengan demikian angkak dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebagai agen infeksius yang memicu respon inflamasi. Hasil metabolit sekunder dari fermentasi menggunakan *Monascus* menghasilkan pigmen *azaphilone* yaitu *monascin*, *ankaflavin*, *rubropunctatin*, *monascorburin*,

rubropunctamine dan *monascorburamine*. Pigmen tersebut dapat bermanfaat sebagai antioksidan karena memiliki asam dimerumak, tannin dan fenol (Tsai, Ho, and Pan., 2009). Asam dimerumak memiliki kemampuan antioksidan dan *radical scavenging action*. Asam dimerumak yang terdapat dalam angkak dapat menghambat pelepasan ROS akibat adanya stress oksidatif pada proses inflamasi (Aniya *et al.*, 2000). Antioksidan berinteraksi dengan radikal bebas dan menstabilkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan sel (Chairote, Chairote, and Lumyong 2009). Angkak juga memiliki kemampuan antiinflamasi karena mengandung statin. Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa statin dapat menurunkan NF- κ B, TNF α , IL-1 β dan IL-6 sehingga dapat memperbaiki kemampuan apoptosis neutrofil. Dengan demikian angkak dapat menurunkan jumlah neutrofil pada sepsis.

Hasil uji *Post Hoc Test* antara kelompok kontrol dan kelompok sepsis yang diberi angkak tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Jumlah neutrofil pada kelompok sepsis yang diberi angkak mendekati jumlah neutrofil kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa angkak mampu menurunkan jumlah neutrofil hingga mendekati jumlah normal pada kelompok kontrol.

Kelemahan pada penelitian ini :

1. Hitung neutrofil hanya dilakukan secara kuantitatif, faktor-faktor kualitatif tidak diteliti.
2. Mediator-mediator inflamasi atau marker sepsis tidak diteliti



BAB VI

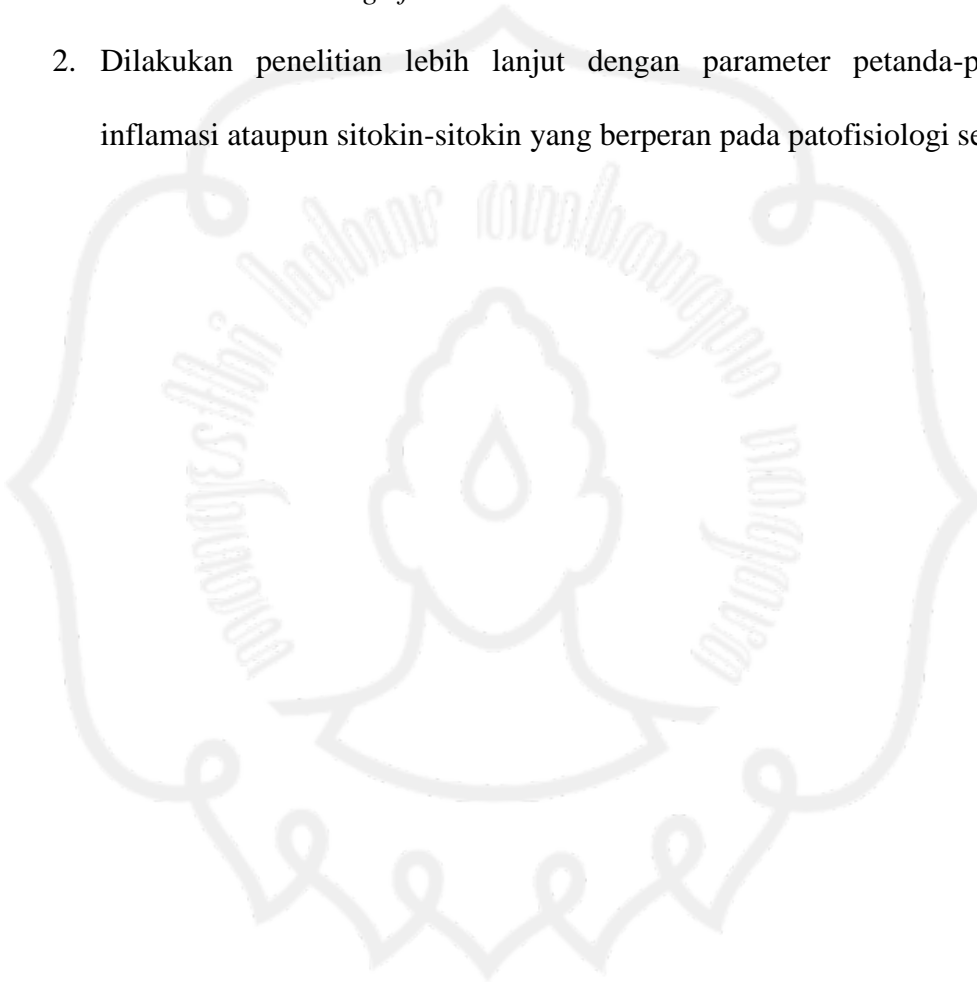
SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian angka dosis 4,68 mg/mencit dapat menurunkan hitung neutrofil pada mencit Balb/C model sepsis.

B. Saran

1. Dilakukan uji kualitatif neutrofil, misalnya uji fagositosis neutrofil dengan teknik *acridine orange fluorescence*.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan parameter petanda-petanda inflamasi ataupun sitokin-sitokin yang berperan pada patofisiologi sepsis.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, and Pillai S. 2010. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th ed. Philadelphia : Elsevier. pp : 273-274, 279
- Ahn KS, Sethi G, and Aggarwal. 2007. Simvastatin Potentiates TNF- α -Induced Apoptosis through the Down-Regulation of NF- κ B-Dependent Antiapoptotic Gene Products: Role of I κ B α Kinase and TGF- β -Activated Kinase-1. *The Journal of Immunology* 178: 2507-2516.

- Almog Y, Shefer A, Novack V, Maimon N, Barski L, Eizinger M, *et al.* 2004. Prior Statin Therapy Is Associated With a Decreased Rate of Severe Sepsis. *AHA* 110:880-885.
- Aniya Y, Ohtani II, Higa T, Miyagi C, Gibo H, Shimabukuro M, *et al.* 2000. Dimerumic acid as an Antioxidant of the Mold, *Monascus Anka*. *Free Radical Biology and Medicine* 28 : 999-1004
- Arief MTQ. 2009. *Pengantar Metodologi Penelitian untuk Ilmu Kedokteran*. Surakarta: LPP UNS Press. hal : 133-134.
- Aryana IS dan Biran SI. 2006. Konsep Baru Kortikosteroid Pada Penanganan Sepsis. *Dexa Media* 19 (4): 177.
- Biswal S and Remick DG. 2007. Sepsis Redox Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Pubmed* 9(11) : 1959-1961.
- Bommhardt U, Chang KC, Swanson PE, Wagner TH, Tinsley KW, Karl IE, *et al.* 2004. Akt Decreases Lymphocyte Apoptosis and Improves Survival in Sepsis. *The Journal of Immunology* 172: 7583-7591.
- Chairote E, Chairote G, and Lumyong S. 2009. Red Yeast Rice Prepared from Thai Glutinous Rice and the Antioxidant Activities. *Chiang Mai J Sci* 36(1) : 42-49.
- Chen K dan Pohan HT. 2006. *Penatalaksanaan Syok Sepsis*. Dalam: Sudoyo A W, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, dan Setiati S. (Eds). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid I. Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal: 187.
- Chopra M and Sharma AC. 2007. Distinct Cardiodynamic and Molecular Characteristics During Early and Late Stages of Sepsis-Induced Myocardial Dysfunction. *Pubmed* 81(4):306-316.
- Erdogrul O and Azirak S. 2004. Review of The Studies on The Red Yeast Rice (*Monascus purpureus*). *Turkish Electronic Jurnal of Biotechnology* 2:37-49.
- FAO. 2009. *Enzymatic*.
<http://www.fao.org/AG/ags/agsi/ENZYMFINAL/Enzymatic%20Browni ng.htm%20> (20 Mei 2010)

- Gao F, Linhartova L, Johnston AMcD, and Thickett DR. 2008. Statins and sepsis. *BJA* 100(3):288-298.
- Garrido AG, Figueiredo LF, and Silva MR. 2004. Experimental models of sepsis and septic shock: an overview. *Acta Cir Bras* 19: 2.
- Guo RF, Sun L, Gao H, Shi KX, Rittirsch D, Sarma VJ, *et al.* 2006. In vivo regulation of neutrophil apoptosis by C5a during sepsis. *Journal of Leukocyte Biology* 80:1575-1583.
- Guntur HA. 2006. *Sepsis*. Dalam: Sudoyo A W., Setiyohadi B., Alwi I., Simadibrata M., dan Setiati S. (Eds). Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III. Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal: 1840.
- Hidreth CJ, Lynm C, and Glass RM. 2009. Sepsis. *JAMA* 301(23):2516
- Hotchkiss RS and Karl I E. 2003. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *NEJM* 348:138-150.
- Lin CC, Li TC, and Lai MM. 2005. Efficacy and Safety of *Monascus purpureus* Went Rice in Subjects With Hyperlipidemia. *European Journal of Endocrinology* 153:679-686.
- Neto JLS, Filho IA, Rego ACM, Dominici VA, Azevedo IM, Egito EST, *et al.* 2006. Effects of Simvastatin in Abdominal Sepsis in Rats. *Acta Cir. Bras* 21:4.
- Pattanagul P, Pinthong R, Phianmongkhol A, and Leksawasdi N. 2007. Review of Angkak Production (*Monascus purpureus*). *Chiang Mai J Sci* 34(3) : 319-328.
- Permana DR, Marzuki S, dan Tisnadjaja D. 2004. Analisis Kualitas Produk Fermentasi Beras (*Red Fermented Rice*) dengan *Monascus purpureus* 3090. *Biodiversitas* 5(1):7-12
- Reddy RC, Narala VR, Keshamouni VG, Milam JE, Newstead MW, and Standiford TJ. 2008. Sepsis-induced inhibition of neutrophil chemotaxis is mediated by activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ . *Journal of The American Society of Hematology* 112:4250-4258.
- Remick DG. 2007. Pathophysiology of sepsis. *Am J Pathol* 170 (5): 1435-1444.

- Riedemann NC, Guo RF, Bernacki KD, Reuben JS, Laudes IJ, Neff TA, *et al.* 2003a. Regulation by C5a of Neutrophil Activation during Sepsis. *ScienceDirect* 19:193-202.
- Riedemann NC, Neff TA, Guo RF, Bernacki KD, Laudes IJ, Sarma VJ, *et al.* 2003b. Protective Effects of IL-6 Blockade in Sepsis Are Linked to Reduced C5a Receptor Expression. *The Journal of Immunology* 170: 503-507.
- Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, *et al.* 2001. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. *NEJM* 345:1368-1377.
- Russell JA. 2006. Management of Sepsis. *NEJM* 355:1699-1713.
- Slomianka L. 2009. Blood. *School of Anatomy and Human Biology-The University of Western Australia.*
- Sugiyono, 2005. *Statistik untuk Penelitian*. Bandung : AlfabetaHal : 287
- Toussaint S and Gerlach H. 2009. Activated Protein C for Sepsis. *NEJM* 361:2646-2652.
- Traeger T, Kessler W, Assfalg V, Cziupka K, Koerner P, Dassow C, *et al.* 2008. Detrimental Role of CC Chemokine Receptor 4 in Murine Polymicrobial Sepsis. *ASM* 76: 5285-5293.
- Tsai RL, Ho BY, and Pan TM. 2009. Red Mold Rice Mitigates Oral Carcinogenesis in 7,12-Dimethyl-1,2-Benz[a]anthracene-induced Oral Carcinogenesis in Hamster. *eCAM* 10: 1093.
- Victor VM and Fuente M. 2003. Changes in the Superoxide Production and Other Macrophage Functions Could Be Related to the Mortality of Mice with Endotoxin-Induced Oxidative Stress. *Physiol Res* 52: 101-110.
- Wang JJ, Lee CL, and Pan TM. 2004. Modified Mutation Method for Screening Low Citrinin-Producing Strains of *Monascus purpureus* on Rice Culture. *J Agric Food Chem* 52: 6977-6982.
- Windley S. 2008. *Red Yeast Rice Extract*.
<http://www.purehealthmd.com/supplements/herbs/red-yeast-rice/red-yeast-rice-extract.html>. (28 Februari 2010)
- Wrann CD, Tabriz NA, Barkhausen T, Klos A, Griensven M, Pape HC, *et al.* 2007. The Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling Pathway Exerts

Protective Effects during Sepsis by Controlling C5a-Mediated Activation of Innate Immune Functions. *The Journal of Immunology* 178: 5940 - 5948.

Zeerleder S, Caliezi C, Mierlo GV, Belmer AE, Sulzer I, Hack CE, *et al.* 2003. Administration of C1 Inhibitor Reduces Neutrophil Activation in Patients with Sepsis. *PubMed* 10(4): 529–535.

Zhang H. 2009. *Tannin Acid*.

<http://yancui.en.chemnet.com/suppliers/product/685164/Tannic-Acid.html>

(20 Mei 2010)

