

**Efektivitas ekstrak *Spirulina platensis* sebagai antiinflamasi
terhadap kadar TNF- α , jumlah neutrofil, dan makrofag M2:
studi pada tikus wistar yang dilakukan insisi kulit**

*Effectiveness of Spirulina platensis extract as an anti-inflammatory against TNF- α
levels, amount of neutrophil count, and M2 macrophages:
study on wistar rats whose skin is incised*



Tesis

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat sarjana S-2**

Magister Ilmu Biomedik

Riski Dwi Utami

22010117420018

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2019

TESIS

Efektivitas ekstrak *Spirulina platensis* sebagai antiinflamasi terhadap kadar TNF- α , jumlah neutrofil dan makrofag M2: studi pada tikus wistar yang dilakukan insisi kulit

disusun oleh:

Riski Dwi Utami

22010117420018

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 28 Oktober 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.Dr.dr.Tri Nur Kristina,DMM,M.Kes Dr.dr.Renni Yuniati,SpKK,FINS DV,FAADV

NIP 195905271986032001

NIP 197206232009022001

Penguji Ketua

Penguji Anggota

dr.Endang Sri Lestari, Ph.D

NIP 196610161997022001

Dr.dr.RA Kisdjamiatun RMD, M.Sc

NIP 196401301990032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr.dr.Yan Wisnu Prajoko, Sp.B(K)Onk.,M.Kes

NIP 197501242008011006

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong plagiarism sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No.17 tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penelitian yang belum atau tidak dipublikasikan, sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Oktober 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Riski Dwi Utami
Tempat/tanggal lahir : Rengat, 10 Maret 1989
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 016 Buluh Kasap Dumai, Riau : lulus tahun 2000
2. SMPN 1 Dumai, Riau : lulus tahun 2003
3. SMAN 2 Dumai, Riau : lulus tahun 2006
4. Fakultas Kedokteran Universitas Riau : lulus tahun 2012
5. Magister Ilmu Biomedik UNDIP : 2018-sekarang

C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter Umum Praktek Pribadi : 2012-sekarang
2. Tutor di PSPD FKIK Universitas Abdurrah : 2013-sekarang

D. Riwayat Keluarga

Nama Orang tua
Ayah : Sigit Suharto
Ibu : Restuwati
Nama Suami : Okto Traigani O.B.S
Nama Anak : Aisyah Ashidqiyah
Muhammad Alp Arslan Siburian

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kasih sayang yang diberikan sehingga Penulis dapat menyusun tesis dengan judul: "Efektivitas ekstrak *Spirulina platensis* sebagai antiinflamasi terhadap jumlah makrofag, kadar TNF- α , dan jumlah neutrofil : studi pada tikus wistar yang dilakukan insisi kulit" sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Penulis sangat menyadari bahwa tesis ini dapat terselesaikan atas bimbingan dan kerjasama dari berbagai pihak. Berkaitan dengan hal tersebut pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada :

Dekan dan Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, pembimbing, dosen pengajar dan berbagai pihak yang telah berkontribusi dalam penyelesaian tesis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan, sehingga penulis memohon maaf dan mengharapkan saran dari berbagai pihak untuk perbaikan tesis ini. Penulis berharap bahwa tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan menambah kajian ilmu pengetahuan khususnya dibidang Ilmu Biomedik.

Semarang, Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan.....	iii
Riwayat Hidup	iv
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	vi
Daftar Tabel	ix
Daftar Gambar	x
Daftar Lampiran.....	xi
Daftar Singkatan	xii
Abstrak.....	xiii
Bab I Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat	4
1.5 Orisinalitas Penelitian	5
Bab II Tinjauan Pustaka.....	9
2.1 Inflamasi	9
2.1.1 Mekanisme Inflamasi pada Penyembuhan Luka	9
2.1.2 Keterlibatan Mediator Inflamasi	12
2.1.3 <i>Tumor Necrosis Factor α</i> (TNF- α)	14
2.1.4 Fitoterapeutik sebagai Antiinflamasi	16
2.2 <i>Spirulina platensis</i>	18
2.2.1 Morfologi <i>Spirulina platensis</i>	18
2.2.2 Komposisi Kimia <i>Spirulina platensis</i>	20
2.2.3 Efek Antiinflamasi <i>Spirulina platensis</i>	22
2.3 Kerangka Teori.....	23
2.4 Kerangka Konsep	24
2.5 Hipotesis Penelitian.....	24
2.5.1 Hipotesis Mayor	24
2.5.2 Hipotesis Minor.....	24
Bab III METODE PENELITIAN	25
3.1 Rancangan Penelitian	25
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	26
3.3.1 Populasi Penelitian	26
3.3.2 Sampel Penelitian	27
3.4 Variabel Penelitian	28
3.5 Definisi Operasional.....	28
3.6 Analisis Data	29
3.7 Instrumen Penelitian.....	30
3.7.1 Alat Penelitian	30
3.7.2 Bahan Penelitian.....	30
3.8 Prosedur Penelitian.....	31

3.8.1	Prosedur Subjek Penelitian.....	31
3.8.2	Prosedur Pemeriksaan Kadar TNF- α	32
3.8.3	Prosedur Pemeriksaan Jumlah Neutrofil dan Makrofag.....	32
3.9	Alur Penelitian	33
3.10	Etika Penelitian	33
BAB IV	HASIL PENELITIAN	35
4.1	Perbandingan kadar TNF- α serum antar kelompok perlakuan.....	35
4.2	Perbandingan jumlah neutrofil antar kelompok perlakuan	37
4.2	Perbandingan jumlah makrofag antar kelompok perlakuan	38
BAB V	PEMBAHASAN.....	40
5.1	Kadar TNF- α serum	40
5.2	Jumlah neutrofil.....	42
5.2	Jumlah makrofag	43
BAB VI	SIMPULAN DAN SARAN	46
6.1	Simpulan.....	46
6.2	Saran	46
	Daftar Pustaka.....	48
	Lampiran.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Daftar penelitian yang berhubungan dengan <i>Spirulina platensis</i> , antiinflamasi dan TNF- α	5
Tabel 2. Mediator penting pada reaksi inflamasi	13
Tabel 3. Komposisi kimia <i>Spirulina platensis</i>	21
Tabel 4. Definisi Operasional	28
Tabel 5. Kadar TNF- α serum kelompok perlakuan pada hari ke-7	35
Tabel 6. <i>Post Hoc Test LSD</i> kadar TNF- α serum pada hari ke-7	36
Tabel 7. Kadar TNF- α serum kelompok perlakuan pada hari ke-14	36
Tabel 8. <i>Post Hoc Test Mann Whitney</i> kadar TNF- α serum pada hari ke-14.....	37
Tabel 9. Jumlah neutrofil kelompok perlakuan pada hari ke-14	37
Tabel 10. <i>Post Hoc Test LSD</i> jumlah neutrofil pada hari ke-14.....	38
Tabel 11. Jumlah makrofag kelompok perlakuan pada hari ke-14.....	38
Tabel 12. <i>Post Hoc Test LSD</i> jumlah makrofag pada hari ke-14	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase inflamasi pada penyembuhan luka	10
Gambar 2. Pertumbuhan <i>Spirulina sp.</i>	18
Gambar 3. Morfologi <i>Spirulina platensis</i> secara mikroskopis	19
Gambar 4. Kerangka Teori	23
Gambar 5. Kerangka Konsep	24
Gambar 6. Bagan Rancangan Penelitian	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur insisi hewan coba	52
Lampiran 2. Prosedur persiapan sampel darah	53
Lampiran 3. Prosedur pemeriksaan kadar TNF- α serum dengan ELISA	54
Lampiran 4. Prosedur pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE	58
Lampiran 5. Sertifikat <i>Ethical Clearance</i>	61
Lampiran 6. Analisis SPSS	62

DAFTAR SINGKATAN

COX-2	:	<i>Cyclooxygenase-2</i>
ELISA	:	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GLA	:	<i>Gamma linolenic acid</i>
HDACs	:	<i>Histone deacetylases</i>
HDF	:	<i>Human primary dermal fibroblast cell</i>
HE	:	<i>Haematoxylin Eosin</i>
HIV	:	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
ICAM	:	<i>Intercellular adhesion molecule</i>
IFN	:	<i>Interferon</i>
IL	:	<i>Interleukin</i>
iNOS	:	<i>Inducible nitric oxide synthase</i>
PDGF β	:	<i>Platelet-derived growth factor β</i>
TACE	:	<i>Tumor Necrosis Factor-Alpha Converting Enzyme</i>
TGF β	:	<i>Transforming Growth Factor β</i>
TNF	:	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNFR	:	<i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
VCAM	:	<i>Vascular Adhesion Molecule</i>
VEGF	:	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

ABSTRAK

Efektivitas ekstrak *Spirulina platensis* sebagai antiinflamasi terhadap kadar TNF- α , jumlah neutrofil, dan makrofag M2: studi pada tikus wistar yang dilakukan insisi kulit

Riski Dwi Utami, Tri Nur Kristina, Renni Yuniati

Latar belakang: *Spirulina sp.* memiliki potensi antiinflamasi seperti fikosianin yang memiliki sifat inhibitor selektif enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2). Enzim ini meningkat selama fase inflamasi. Selain itu, fikosianin juga mempengaruhi kadar TNF- α , jumlah neutrofil dan makrofag pada proses inflamasi.

Tujuan: Membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Spirulina platensis* dapat menurunkan kadar TNF- α , jumlah neutrofil dan meningkatkan jumlah makrofag M2 pada tikus wistar yang dilakukan insisi pada kulitnya.

Metode: Penelitian ini menggunakan *randomized post test only control group design*. Tiga puluh dua (32) ekor tikus wistar jantan diinsisi kulitnya dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok yang diberi ekstrak *S.platensis* dosis 500 mg/kgBB/hari (X1) dan dosis 750 mg/kgBB/hari (X2), kelompok kontrol negatif dengan pemberian larutan salin (C1) serta kelompok kontrol positif dengan pemberian natrium diklofenak 20mg/kgBB/hari (C2). Kadar TNF- α serum diperiksa pada hari ke-7 dan 14 dengan metode ELISA, sedangkan jumlah neutrofil dan makrofag M2 dihitung melalui biopsi jaringan dan pewarnaan haematoxylin eosin (HE) pada hari ke-14. Analisis data dilakukan dengan uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test LSD*.

Hasil: Kadar rerata TNF- α serum hari ke-7 kelompok X1, X2, C1, dan C2 adalah 377,83; 232,42; 4634,08; 658,67 pg/ml dengan $p < 0,001$. Kadar rerata TNF- α serum hari ke-14 kelompok X1, X2, C1, dan C2 adalah 394,50; 180,33; 2980,33; 607,42 pg/ml dengan $p < 0,001$. Rerata jumlah neutrofil hari ke-14 kelompok X1, X2, C1 dan C2 adalah 8,00; 6,83; 14,67; 11,17 dengan $p < 0,001$. Rerata jumlah makrofag hari ke-14 kelompok X1, X2, C1 dan C2 adalah 15,50; 19,17; 6,33; 11,17 dengan $p < 0,001$. *Post Hoc Test* kadar TNF- α , jumlah neutrofil, dan makrofag M2 juga menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok.

Simpulan: Pemberian ekstrak *Spirulina platensis* dosis 500mg/kgBB/hari dan 750 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar TNF- α serum dan jumlah neutrofil serta meningkatkan jumlah makrofag secara bermakna.

Kata kunci: *Spirulina platensis*, antiinflamasi, TNF- α , neutrofil, makrofag

ABSTRACT

Effectiveness of *Spirulina platensis* extract as an anti-inflammatory against TNF- α levels, amount of neutrophil count, and M2 macrophages:

Study on wistar rats whose skin is incised

Riski Dwi Utami, Tri Nur Kristina, Renni Yuniati

Background: *Spirulina sp.* has potency of anti-inflammatory such as phycocyanin which has the selective inhibitor properties of the cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme. This enzyme increases during the inflammatory phase. In addition, phycocyanin also affects TNF- α levels, amount of neutrophil and macrophages in the inflammatory process.

Objective: To prove that giving extract of *Spirulina platensis* can reduce of TNF- α levels, amount of neutrophil and increase amount of macrophages in white rats which are incised on their skin.

Method: This study used a randomized post test only control group design. Thirty-two (32) male Wistar rats were incised with skin and splitted into 4 groups, namely the group given *S.platensis* extract at a dose of 500 mg/kgBW/day (X1) and a dose of 750 mg/kgBW/day (X2), the negative control group by giving saline solution (C1) and positive control group by giving 20 mg/kgBW/day of sodium diclofenac (C2). Levels of TNF- α serum were examined on days 7 and 14 by the ELISA method, while amount of neutrophil and macrophage were calculated through tissue biopsy and haematoxylin eosin (HE) staining on the 14th day. Data analysis was performed with one way ANOVA test and continued with Post Hoc Test LSD.

Results: The average level of TNF- α serum in the 7th day of the X1, X2, C1 and C2 groups were 377.83; 232.42; 4634.08; 658.67 pg/ml with $p < 0.001$. The average level of TNF- α serum in the 14th day in groups X1, X2, C1 and C2 were 394.50; 180.33; 2980.33; 607.42 pg/ml with $p < 0.001$. The average amount of neutrophils in the 14th day of X1, X2, C1 and C2 groups was 8.00; 6.83; 14.67; 11.17 (respectively) with $p < 0.001$. The average amount of macrophages in the 14th day of X1, X2, C1 and C2 groups was 15.50; 19.17; 6.33; 11.17 (respectively) with $p < 0.001$. Post Hoc Tests for TNF- α levels, amount of neutrophil, and M2 macrophages also showed significant differences between groups.

Conclusion: The giving of *Spirulina platensis* extract at a dose of 500 mg/ kgBW/ day and 750 mg/ kgBW/ day could reduce serum TNF- α levels, neutrophil counts and increase the number of macrophages, significantly.

Keywords: *Spirulina platensis*, anti-inflammatory, TNF- α , neutrophils, macrophages