

**PENGARUH POLISAKARIDA KRESTIN DARI EKSTRAK  
*Coriolus versicolor* TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT DAN  
KONSENTRASI INTERLEUKIN-23 PADA *Mus musculus*  
YANG DIPAPAR *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



**RISCA WULANDARI**

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
2016**

**PENGARUH POLISAKARIDA KRESTIN DARI EKSTRAK  
*Coriolus versicolor* TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT DAN  
KONSENTRASI INTERLEUKIN-23 PADA *Mus musculus*  
YANG DIPAPAR *Staphylococcus aureus***


**SKRIPSI**


Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi  
Pada Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

  
**Dr. Sri Puji Astuti W., M.Si.**  
NIP. 19660221 199203 2 001

  
**Prof. Drs. Win Darmanto, M. Si., Ph. D.**  
NIP. 19610616 198701 1 001

**LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI**

Judul : Pengaruh polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap jumlah leukosit dan konsentrasi interleukin-23 pada *Mus musculus* yang dipapar *Staphylococcus aureus*  
Penyusun : Risca Wulandari  
Nomor Induk : 081211431138  
Tanggal Ujian : 29 Juni 2016

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,



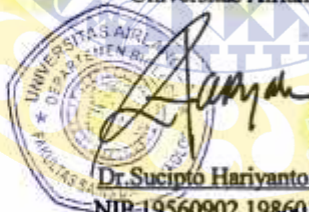
Dr. Sri Puji Astuti W., M.Si.  
NIP.19660221 199203 2 001



Prof. Drs. Win Darmanto, M. Si., Ph. D.  
NIP. 19610616 198701 1 001

Mengetahui:

Ketua Program Studi S-1 Biologi  
Departemen Biologi  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga



Dr. Sucipto Harivanto, DEA.  
NIP:19560902 198601 1 002

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah, Tuhan Yang Maha Esa atas yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul “Pengaruh polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap jumlah leukosit dan konsentrasi interleukin-23 pada *Mus musculus* yang dipapar *Staphylococcus aureus*” dengan lancar. Penyusunan skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan naskah skripsi ini. Oleh karena itu, penyusun mengharapkan saran dan kritik dari para pembaca yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan skripsi ini. Demikian naskah skripsi ini disusun, semoga dapat bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi pengembangan ilmu dan pengetahuan.

Surabaya, Mei 2016

Penyusun

Risca Wulandari

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah banyak memberikan bantuan, bimbingan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini, antara lain :

1. Ibu Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. sebagai pembimbing I yang telah memperkenalkan penulis pada bidang imunobiologi dan memberikan ilmu, bimbingan, dan kesabaran selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Drs. Win Darmanto, M. Si., Ph. D., sebagai pembimbing II yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dorongan dan kesabaran selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Sugiharto, S.Si., M.Si., sebagai Penguji III yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat membangun dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Rosmanida., M. Kes., sebagai penguji IV yang telah memberikan kritik, saran, dan wawasan dalam melengkapi penyusunan skripsi ini.
5. Segenap Bapak dan Ibu dosen staf pengajar Departemen Biologi yang telah mengajarkan banyak ilmu, pengalaman, dan kebaikan.
6. Kedua orang tua tercinta, Bapak Utomo dan Ibu Yanti, terima kasih atas segala doa, perhatian, kasih sayang, dan semangat yang tak putus-putusnya diberikan.
7. Nadyatul Ilma, Dewi Rahmawati, Defi Kartika Sari, Renna Intan, dan Satria Permana Putra sebagai rekan satu tim penelitian, terima kasih atas bantuan tenaga dan kerja samanya selama penelitian hingga skripsi.
8. Manikya Pramudya dan Intan Permata Putri sebagai rekan seperjuangan polisakarida krestin, terima kasih atas waktu diskusinya selama mengerjakan naskah skripsi.

9. Teman-teman seperjuangan skripsi 2016 yang saling menguatkan dan mendukung dari proposal sampai skripsi.
10. Segenap warga Himbio yang selama ini telah banyak memberikan ilmu dan ajaran di luar akademik yang sangat berharga. Bio Life Himbio Jaya!
11. Seluruh karyawan Departemen Biologi, Bapak Sunarto, Bapak Sujoko, Bapak Suwarni, Bapak Eko Suyanto, Bapak Sukadji, Ibu Yatminah.
12. Semua pihak yang telah membantu yang tak bisa disebutkan penulis satu per satu.



**Wulandari, Risca. 2016. Pengaruh Polisakarida Krestin dari Ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap Jumlah Leukosit dan Konsentrasi Interleukin-23 pada *Mus musculus* yang Dipapar *Staphylococcus aureus*. Skripsi ini dibawah bimbingan Dr. Sri Puji Astuti W., M. Si. dan Prof. Drs. Win Darmanto, M. Si., Ph. D. Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.**

---

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu pemberian PSK ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 pada *Mus musculus* yang dipapar *S. aureus*. Penelitian ini menggunakan 36 mencit (*Mus musculus*) betina dewasa berumur 8–10 minggu dan berat 30 – 40 g. Mencit dibagi menjadi enam kelompok yaitu K (control), K+ (kontrol positif), K- (kontrol negatif), P1 yang diberi PSK sebelum dipapar *S. aureus*, P2 yang diberi PSK sesudah dipapar *S. aureus* dan P3 yang diberi PSK sebelum dan sesudah dipapar *S. aureus*. Polisakarida krestin diberikan secara *gavage* dengan dosis 100 mg/kg BB selama tujuh hari dan *S. aureus* dipaparkan dua kali dengan selang waktu dua minggu secara intraperitoneal dengan konsentrasi  $10^8$  sel/mL. Jumlah leukosit dihitung menggunakan *haemocytometer* dan konsentrasi IL-23 diukur menggunakan *Mouse ELISA kit*. Data leukosit yang telah didapatkan dianalisis dengan uji Brown-Forsythe dan Games-Howell, sedangkan data konsentrasi IL-23 dengan uji *One Way ANOVA* dan uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa P1 adalah waktu paling efektif untuk meningkatkan jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23. Jumlah leukosit pada P1 adalah  $10630 \text{ sel/mm}^3$  dan konsentrasi IL-23 pada P1 adalah  $128,07 \text{ pg/ mL}$ . Kesimpulan dari penelitian ini adalah waktu efektif pemberian PSK dari ekstrak *Coriolus versicolor* sebelum paparan *S. aureus* berpengaruh meningkatkan jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 pada *Mus musculus*.

Kata Kunci : Polisakarida krestin, jumlah leukosit, interleukin-23, *S. aureus*



**Wulandari, Risca. 2016. The influence of Polysaccharide Krestin (PSK) from *Coriolus versicolor* Extract on the number of leukocyte and concentration of Interleukin-23 in *Mus musculus* exposed by *Staphylococcus aureus*. This script is guided by Dr. Sri Puji Astuti W., M. Si. and Prof. Drs. Win Darmanto, M. Si., Ph. D. Biology Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.**

---

## ABSTRACT

This research was designed to know the effect of PSK extracted from *Coriolus versicolor* on the number of leukocyte and concentration of Interleukin-23 in *Mus musculus* exposed by *S. aureus*. Thirty six female mice of strain Balb/C age 8–10 weeks old and weight 30–40 g were used a animal model. Mice were divided into six groups; group K (control); group K+ (positive control); group K- (negative control); group P1 which was given PSK before being exposed by *S. aureus*; group P2 which was given PSK after being exposed by *S. aureus*; group P3 which was given PSK before and after being exposed by *S. aureus*. Mice were exposed to *S. aureus* ( $10^8$  sel per mL) twice through intraperitoneal with two weeks gap from the first to the second exposure. 100 mg/kg BB of PSK was given by gavage for seven days. The number of leukocytes was calculated using a haemocytometer and the concentration of IL-23 was measured using ELISA kit Mouse. Number of leucocyte was analyzed statitically using Brown-Forsythe continued with Games-Howell, while IL-23 concentration was analyzed using One-way ANOVA continued with Duncan test ( $\alpha=0.05$ ). The results of this research showed that the P1 was the most effective period to increase the number of leukocytes and the concentration of IL-23. The number of leukocytes in P1 was 10630 cells/mm<sup>3</sup> and the concentration of IL-23 in P1 was 128.07 pg/mL. It can be concluded that the most effective period of PSK adminitration was before exposed by *S. aureus* which could increase the number of leukocyte and concentration of IL-23.

Key words: Polysaccharide Krestin, number of leukocyte, interleukin-23, *S. aureus*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>LEMBAR JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>LEMBAR PEDOMAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	vi
<b>ABSTRAK</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Asumsi Penelitian .....	7
1.4 Hipotesis Penelitian .....	9
1.4.1 Hipotesis kerja .....	9
1.4.2 Hipotesis statistika .....	9
1.5 Tujuan Penelitian .....	10
1.6 Manfaat Penelitian .....	10
1.6.1 Manfaat teoritis .....	10
1.6.2 Manfaat praktis .....	10
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	11
2.1 Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.1.1 Patogenesisitas .....	12
2.1.2 Struktur antigen .....	14
2.1.3 Faktor virulensi .....	15
2.2 Tinjauan Imunitas .....	17
2.2.1 Respon imun .....	17
2.2.2 Tinjauan tentang haematopoiesis .....	21
2.2.3 Leukosit .....	23
2.2.4 Sitokin .....	28
2.2.5 Interleukin-23 .....	29
2.3 Tinjauan <i>Coriolus versicolor</i> .....	30
2.3.1 <i>Coriolus versicolor</i> .....	30
2.3.2 Kandungan polisakarida krestin dalam <i>Coriolus versicolor</i> .....	32
2.3.3 -Glukan .....	33

<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	35
3.1 Tempat dan Waktu penelitian .....	35
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	35
3.2.1 Alat penelitian .....	35
3.2.2 Bahan penelitian .....	36
3.2.3 Hewan coba .....	36
3.3 Rancangan Penelitian .....	37
3.4 Prosedur Peneltian .....	37
3.4.1 Sterilisasai alat .....	37
3.4.2 Penentuan konsentrasi polisakarida krestin .....	38
3.4.3 Pemberian PSK dan paparan <i>S. aureus</i> pada <i>Mus musculus</i> .....	38
3.4.4 Pengambilan darah dan isolasi serum .....	40
3.4.5 Penghitungan jumlah leukosit .....	40
3.4.6 Pengukuran konsentrasi IL-23 .....	41
3.5 Variabel Penelitian .....	43
3.6 Analisis Data .....	43
3.7 Kerangka Operasional Penelitian .....	44
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	45
4.1 Hasil Penelitian .....	45
4.1.1 Pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak <i>Coriolus versicolor</i> terhadap jumlah leukosit .....	45
4.1.2 Pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak <i>Coriolus versicolor</i> terhadap konsentrasi IL-23 .....	48
4.2 Pembahasan .....	51
4.2.1 Pembahasan pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin terhadap jumlah leukosit .....	51
4.2.2 Pembahasan pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin terhadap konsentrasi IL-23 .....	58
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	62
5.1 Kesimpulan .....	62
5.2 Saran .....	62
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	63
<b>LAMPIRAN</b> .....	xv

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor</b>	<b>Judul Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 3.1	Pembagian kelompok dalam penelitian .....	39
Tabel 4.1	Jumlah leukosit pada setiap kelompok perlakuan.....	46
Tabel 4.2	Nilai OD IL-23 pada = 450 hasil uji ELISA.....	48
Tabel 4.3	Data konsentrasi interleukin-23 serum setelah dipapar <i>S.aureus</i> ....	49

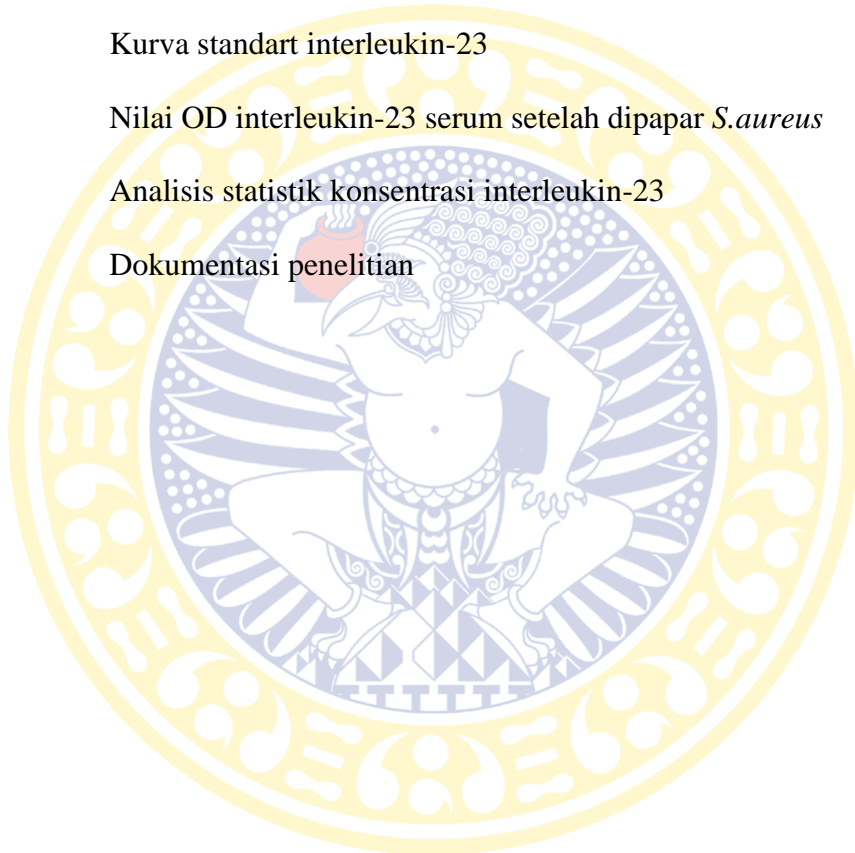


## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Nama Gambar	Halaman
Gambar 2.1	Struktur mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
Gambar 2.2	Perkembangan <i>stem cell</i> pada proses haematopoiesis.....	22
Gambar 2.3	Mekanisme respon sel T akibat infeksi mikroorganisme.....	30
Gambar 2.4	Morfologi tubuh buah <i>Coriolus versicolor</i> .....	31
Gambar 2.5	Struktur kimia 1,3 -glukan .....	34
Gambar 3.1	Kamar hitung Improved Neubaur untuk penghitungan leukosit.	41
Gambar 3.2	Skema kerangka operasional penelitian .....	44
Gambar 4.1	Grafik perbandingan rerata jumlah leukosit pada setiap kelompok perlakuan.....	46
Gambar 4.2	Grafik perbandingan rerata konsentrasi IL-23 pada setiap kelompok perlakuan .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Lampiran
1.	Pembuatan larutan polisakarida krestin
2.	Data jumlah leukosit
3.	Analisis statistik jumlah leukosit
4.	Kurva standart interleukin-23
5.	Nilai OD interleukin-23 serum setelah dipapar <i>S.aureus</i>
6.	Analisis statistik konsentrasi interleukin-23
7.	Dokumentasi penelitian



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan salah satu penyebab utama berbagai infeksi yang terjadi pada fasilitas rumah sakit (nosokomial). Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena adanya resistensi terhadap beberapa agen antimikroba (Grundman *et al.*, 2006 ; Lowy, 1998). *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan resistensi terhadap beberapa obat, termasuk yang mengandung glikopeptida sehingga menyebabkan kesulitan dalam penanganan yang disebabkan oleh bakteri tersebut (Howden *et al.*, 2010; Van Hal *et al.*, 2012). Bakteri ini juga merupakan salah satu bakteri patogen yang paling umum terkait dengan keracunan makanan di seluruh dunia (Hennekinne *et al.*, 2012).

Bakteri *S. aureus* memiliki infeksi spektrum luas antara lain infeksi kulit superfisial sampai parah dan berpotensi fatal, serta penyakit invasif (Chaibenjawan dan Foster, 2011). Kontaminasi langsung dengan *S. aureus* pada luka terbuka (seperti luka pasca bedah), infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka), dan meningitis setelah fraktur tengkorak dapat menjadi penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al.*, 2008).

Menurut Jawetz *et al.* (2008), infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri ini terjadi di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada

vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis, dan infeksi paru-paru.

Infeksi tersebut menyebabkan tubuh merespon dengan mekanisme pertahanan tubuh dalam mengatasi agen yang berbahaya di lingkungannya yang disebut sistem imun. Menurut Munasir (2001), sistem imun merupakan sistem koordinasi respons biologik yang bertujuan melindungi integritas, mencegah invasi organisme, dan zat yang berbahaya di lingkungan yang dapat merusak tubuh.

Ada 4 mekanisme pertahanan tubuh dalam mengatasi agen yang berbahaya di lingkungannya. Pertama, pertahanan fisik dan kimiawi, yaitu kulit, sekresi asam lemak dan asam laktat melalui kelenjar keringat dan sebacea, sekresi lendir, pergerakan silia, sekresi air mata, air liur, urin, asam lambung serta lisosim dalam airmata. Kedua, simbiosis dengan bakteri flora normal yang memproduksi zat yang dapat mencegah invasi mikroorganisme seperti laktobasilus pada epitel organ. Ketiga, *innate immunity*. Keempat, imunitas spesifik yang didapat (*adaptive immunity*) (Munasir, 2001).

*Innate Immunity* merupakan mekanisme pertahanan tubuh non-spesifik yang mencegah masuk dan menyebarnya mikroorganisme dalam tubuh serta mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Contoh dari *innate immunity* adalah sel polimorfonuklear (PMN), makrofag, dan leukosit (Munasir, 2001).

Awal mula leukosit adalah dari sel stem haemopoietik pluripoten. Menurut Baratawidjaja (2006), proses pembentukan darah (haematopoiesis) melibatkan jenis sel yang berbeda, yaitu sel induk pluripoten, sel progenitor, dan sel matang. Sel induk pluripoten yang berarti dapat berkembang menjadi semua jenis sel



darah. Sel induk hematopoietik mengekspresikan molekul protein CD34 untuk perkembangannya. Selama perkembangan embrionik, sel induk hematopoietik ditemukan di hati dan sumsum tulang yang selanjutnya diinduksi untuk berkembang atas pengaruh dari *Colony Stimulating Factor (CSF)*.

Sel induk hematopoietik kemudian berkembang menjadi sel progenitor yang tidak primitif dan selanjutnya berkembang menjadi sel yang khusus. Ada dua jenis sel progenitor yang dapat berkembang menjadi sel progenitor umum, yaitu limfoid dan mieloid, sel tersebut akan menjadi matang dan berdiferensiasi. Sel progenitor limfoid berkembang menjadi sel B dan sel T, sedangkan sel progenitor mieloid berkembang antara lain menjadi sel granulosit, monosit, eritrosit dan trombosit. Berbagai diferensiasi sel tersebut terjadi atas berbagai pengaruh faktor pertumbuhan (Baratawidjaja, 2006). Sel granulosit dan agranulosit (monosit) tersebut termasuk jenis-jenis leukosit.

Leukosit mempunyai peranan dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap zat-zat asing. Leukosit dapat melakukan gerakan amuboid dan melalui proses diapedesis yang dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos antara sel-sel endotel dan menembus ke jaringan (Effendi, 2003). Salah satu parameter dalam penelitian ini adalah jumlah leukosit. Peningkatan jumlah leukosit menandakan adanya respon imun dan terjadinya fagositosis. Leukosit yang sudah mengenali molekul asing menginformasikan kepada sel-sel pertahanan tubuh lain atau mengaktifkan respon imun spesifik.

Imunitas spesifik didapat bila mikroorganisme dapat melewati pertahanan non-spesifik, maka tubuh akan membentuk mekanisme pertahanan yang lebih

kompleks dan spesifik. Mekanisme imunitas ini memerlukan pengenalan terhadap antigen lebih dulu. Mekanisme imunitas spesifik ini terdiri dari imunitas humoral yang memproduksi antibodi spesifik oleh sel limfosit B (*T dependent* dan *non-T dependent*) dan imunitas selular dengan *Cell Mediated Immunity* (CMI). Sel limfosit T berperan pada mekanisme imunitas melalui produksi sitokin (Munasir, 2001).

Sitokin merupakan mediator (berupa protein atau glikoprotein dengan berat molekul 8-80 kDa) yang dihasilkan oleh sel dalam reaksi radang atau imunologik yang berfungsi sebagai isyarat antara sel-sel untuk membentuk jaringan komunikasi dalam respons imun. Sitokin bekerja dengan cara berikatan dengan respons spesifik pada membran sel, memulai *cascade* yang menyebabkan induksi, dan peningkatan atau penghambatan berbagai respons imun. Sitokin hampir tidak pernah diproduksi atau bekerja sendirian, tetapi selalu dalam suatu jaringan kerja yang kompleks. Macam-macam sitokin, yaitu interleukin, (IL-1, IL-2, dll), interferon (IFN  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$ ), *Tumor Necrosis Factor* (TNF), *Colony Stimulating Factor* (CSF), *growth factor*, dan *chemokin* (Wahab dan Julia, 2002).

Salah satu jenis interleukin, yaitu interleukin-23 (IL-23). Interleukin-23 merupakan anggota keluarga sitokin IL-12 dan keduanya memiliki kesamaan struktur (Bettelli dan Kuchroo, 2005; Blauvelt, 2007). Menurut D'Elios *et al.* (2011), IL-23 diproduksi oleh sel T *naive* yang teraktivasi dan menstimulasi proliferasi sekelompok sel T yang lain. Pada saat sel Th mengenali antigen yang dipresentasikan oleh APC, sitokin memainkan peran penting untuk memunculkan respon sel T. Dengan adanya IL-23 dan IL-1 sel Th *naive* berdiferensiasi menjadi

sel Th17. Sel Th17 ini mensekresikan serangkaian sitokin proinflamasi yang spesifik, yaitu IL-17, IL-21, dan IL-22.

Senyawa yang memiliki kemampuan dalam meningkatkan respon imun adalah polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* (*C. versicolor*). *Coriolus versicolor* merupakan salah satu jamur yang banyak digunakan dalam pengobatan penyakit. Menurut Chu *et al.* (2002) dan Zhou *et al.* (2007) ekstrak jamur *C. versicolor* mengandung Polisakarida Krestin (PSK) dari strain CM-101 dan mengandung Polisakarida Peptide (PSP) dari strain Cov-1. *Coriolus versicolor* dapat digunakan sebagai antimikrobia, antiviral, dan anti-tumor (Jong and Birmingham, 1993; Ulrike *et al.*, 2005).

Polisakarida krestin merupakan ekstrak jamur *C. versicolor* telah banyak digunakan sebagai obat penyakit berbahaya di Jepang (Ooi dan Liu, 2000). Selain itu, PSK juga merupakan *adjuvant* dalam *treatment* kanker lambung, esofagus, usus besar, payudara dan paru-paru (Fisher dan Yang, 2002). Bahkan dalam penelitian Ho *et al.* (2006) melaporkan bahwa PSK dapat menghambat leukemia, limfoma, dan hepatoma *in vitro*.

Menurut Wahyuningsih (2006), ekstrak jamur *C. versicolor* tersebut dapat meningkatkan jumlah leukosit, makrofag, dan berat limpa setelah induksi bahan toksik. Cui dan Chisti (2003) menyatakan bahwa serbuk PSK mengandung 34-35% karbohidrat (91-93% -glukan).

-Glukan merupakan senyawa aktif dari PSK yang dapat menginduksi makrofag untuk meningkatkan aktivitasnya dalam fagositosis benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Senyawa aktif -glukan berhubungan dengan

reseptor utama sistem imun, yaitu *dectin-1*, *Toll Like Receptor-2/6* (TLR-2/6) dan *Complement Receptor* (CR3). Sel imun target  $\beta$ -glukan meliputi makrofag, neutrofil, monosit, sel NK dan sel dendritik. Sebagai konsekuensinya, respons imun spesifik dan non spesifik dapat dimodulasi  $\beta$ -glukan dan berperan dalam opsonin dan non-opsonin fagositosis (Chi-Fung *et al.*, 2009).

Menurut Ross dan Ross (2004), fragmen  $\beta$ -glukan dari *C. versicolor* di dalam sumsum tulang, diketahui mempunyai kemampuan menstimulasi proliferasi dan diferensiasi hematopoiesis *stem cell* melalui aktivasi sistem komplemen.  $\beta$ -Glukan mengaktifkan sistem komplemen dengan berikatan dengan iC3b yang terdapat pada *stem cell* yang selanjutnya *Complement Receptor type 3* (CR3) dari *stem cell* akan teraktivasi sehingga menginduksi *stem cell* untuk berproliferasi dan berdiferensiasi. CR3 yang merupakan reseptor dari  $\beta$ -glukan juga ditemukan pada makrofag. Ikatan antara  $\beta$ -glukan dengan CR3 menginduksi makrofag untuk mensekresikan sitokin yang mempengaruhi perkembangan *stem cell* leukosit.

Pada penelitian ini pemberian PSK diberikan dengan perbedaan waktu, yaitu sebelum diinfeksi bakteri, sesudah diinfeksi bakteri, sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri. Pemberian PSK sebelum paparan *S. aureus* dapat berfungsi sebagai pencegahan yaitu mendorong pembentukan sel imunokompeten yang semakin menurun pada penderita infeksi oleh *S. aureus* dan diatasi dengan diberikannya PSK sebagai pengobatan (kuratif). Hal ini didukung oleh pernyataan Pietro (2003) bahwa  $\beta$ -glukan lebih efektif untuk pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit yang berhubungan dengan ketahanan sistem imun tubuh. Menurut Li dan Galtin (2006) pada penelitian imunostimulan yang menggunakan

spesimen ikan, lama waktu pemberian sangat penting untuk menghasilkan respon imunitas optimal sebab pemberian imunostimulan yang berkepanjangan dapat menekan resistensi ikan terhadap penyakit dan pertumbuhan.

Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* terhadap jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ada pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* terhadap jumlah leukosit sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus* ?
2. Apakah ada pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* terhadap konsentrasi IL-23 sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus* ?

## 1.3 Asumsi Penelitian

Polisakarida krestin memiliki kemampuan meningkatkan respon imun dengan komponen penyusun utamanya adalah glukana 1-4 dan rantai samping 1-3 serta 1-6. Senyawa aktif  $\alpha$ -glukan berhubungan dengan reseptor utama sistem imun yaitu *dectin-1*, *toll like receptor-2/6* (TLR-2/6) dan *complement receptor* (CR3).

Hubungan tersebut memicu proliferasi leukosit di *bone marrow* dan timus sehingga terjadi peningkatan jumlah leukosit. Leukosit akan mengenali antigen/zat asing kemudian menandai bentuk molekul protein dan molekul lain pada permukaan sel sehingga dapat membedakan antara sel diri sendiri dan sel asing. Peningkatan jumlah leukosit tersebut menandakan bahwa adanya peningkatan imun dan terjadinya fagositosis oleh jenis-jenis leukosit.

Leukosit yang sudah mengenali molekul asing menginformasikan kepada sel-sel pertahanan tubuh lain atau mengaktifkan respon imun spesifik. Sel makrofag yang termasuk jenis leukosit selanjutnya akan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC). Sel ini akan menangkap sejumlah kecil antigen dan diekspresikan ke permukaan sel yang dapat dikenali oleh sel limfosit T (Th atau T helper). Sel Th ini akan teraktivasi dan selanjutnya sel Th ini akan mengaktifasi limfosit lain seperti sel limfosit B atau sel limfosit T sitotoksik. Sel T sitotoksik ini kemudian berproliferasi dan mempunyai fungsi efektor untuk mengeliminasi antigen. Setiap prosesi ini sel limfosit dan sel APC bekerja sama melalui kontak langsung atau melalui sekresi sitokin regulator. Setelah sel Th teraktivasi maka akan mensekresikan IL-23 yang akan menstimulasi proliferasi sekelompok sel T yang baru ditemukan disebut sel Th17. Sel Th17 ini mensekresi serangkaian sitokin proinflamasi yang spesifik, yaitu IL-17, IL-21, dan IL-22.

## 1.4 Hipotesis Penelitian

### 1.4.1 Hipotesis kerja

1. Jika polisakarida krestin (PSK) dari ekstrak *C. versicolor* berpengaruh pada proses hematopoiesis, maka pemberian PSK dengan waktu yang berbeda berpengaruh terhadap jumlah leukosit sebagai respon pada *Mus musculus* yang dipapar *S. aureus*.
2. Jika polisakarida krestin (PSK) dari ekstrak *C. versicolor* berpengaruh pada aktivasi sel T *naive*, maka pemberian PSK dengan waktu yang berbeda berpengaruh terhadap konsentrasi IL-23 sebagai respon pada *Mus musculus* yang dipapar *S. aureus*.

### 1.4.2 Hipotesis statistik

$H_{0(1)}$ : Pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* dengan waktu pemberian yang berbeda tidak berpengaruh terhadap jumlah leukosit sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus*.

$H_{1(1)}$ : Pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* dengan waktu pemberian yang berbeda berpengaruh terhadap jumlah leukosit sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus*.

$H_{0(2)}$ : Pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* dengan waktu pemberian yang berbeda tidak berpengaruh terhadap konsentrasi IL-23 sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus*.

$H_{1(2)}$ : Pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* dengan waktu pemberian yang berbeda berpengaruh terhadap konsentrasi IL-23 sebagai respon pada *Mus musculus* akibat paparan *S. aureus*.

## 1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* terhadap jumlah leukosit sebagai respon pada *Mus musculus* yang dipapar *S. aureus*.
2. Mengetahui pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* terhadap konsentrasi IL-23 sebagai respon pada *Mus musculus* yang dipapar *S. aureus*.

## 1.6 Manfaat Penelitian

### 1.6.1 Manfaat teoritis

Manfaat dari hasil penelitian ini secara teoritis diharapkan dapat memberikan informasi akan kandungan polisakarida krestin dari *C. versicolor* yang berpotensi sebagai imunomodulator untuk infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus*.

### 1.6.2 Manfaat praktis

Manfaat dari hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai upaya untuk mengurangi angka terjadinya infeksi secara umum yang disebabkan infeksi dari *S. aureus*.

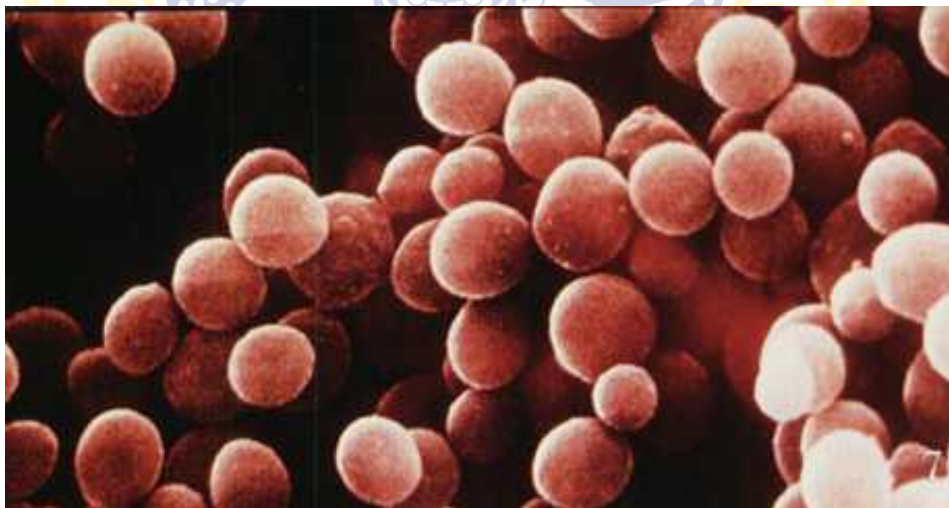


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 2008). Morfologi *S. aureus* dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.



**Gambar 2.1** Struktur mikroskopis *Staphylococcus aureus* menggunakan *Electron micrograph* dari *Visuals Unlimited* (Todar, 2012).

Taksonomi bakteri *S. aureus* sebagai berikut (Prescott *et al.*, 2003) :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacili

Ordo : Bacillales

Family : Staphylococcaeae

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus*

### 2.1.1 Patogenisitas

Bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994).

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama berbagai infeksi yang terjadi pada fasilitas rumah sakit (nosokomial). Hal tersebut disebabkan karena adanya resistensi terhadap beberapa agen antimikroba (Grundman *et al.*, 2006 ; Lowy, 1998). *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan resistensi terhadap beberapa obat, termasuk yang mengandung glikopeptida sehingga menyebabkan kesulitan dalam penanganan yang disebabkan oleh bakteri tersebut (Howden *et al.*, 2010; Van Hal *et al.*, 2012). Bakteri ini juga merupakan salah satu bakteri patogen yang paling umum terkait dengan keracunan makanan

di seluruh dunia (Hennekinne *et al.*, 2012). Bakteri *S. aureus* memiliki infeksi dengan spektrum luas antara lain infeksi kulit superfisial sampai parah dan berpotensi fatal, serta penyakit invasif (Chaibenjawong dan Foster, 2011).

Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis (radang pada kelenjar mammae), meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Ryan *et al.*, 1994; Warsa, 1994).

Kontaminasi langsung *S. aureus* pada luka terbuka (seperti luka pasca bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al.*, 2008).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan salah satu lesi dari *S. aureus*. Infeksi kulit bakteri ini di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Jawetz *et al.*, 2008).

Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus*. Waktu dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/g makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Jawetz *et al.*, 2008).

Sindroma Syok Toksik (SST) pada infeksi *S. aureus* timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. Sindroma Syok Toksik sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz *et al.*, 2008).

### 2.1.2 Struktur antigen

*Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida antigenik dan protein, serta substansi penting lainnya dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit yang terangkai, merupakan eksoskeleton kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dapat dihancurkan oleh asam kuat atau lisozim. Antigen penting dalam patogenesis infeksi karena dapat memicu produksi interleukin-1 (pirogen endogen) dan antigen opsonik oleh monosit, serta dapat menjadi *chemoattractant* untuk leukosit polimorfnuklear

yang memiliki aktivitas mirip endotoksin, dan mengaktifkan komplemen (Jawetz *et al.*, 2008).

Komponen dinding sel pada kebanyakan *S. aureus* adalah protein A. Protein A berikatan dengan bagian Fc dari molekul IgG kecuali IgG3. Bagian Fab dari IgG akan bebas berikatan dengan antigen spesifik. Protein A menjadi reagen yang penting dalam imunologi dan teknologi laboratorium diagnostik (Jawetz *et al.*, 2008).

Beberapa strain *S. aureus* memiliki kapsul yang dapat menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear kecuali terdapat antibodi spesifik. Sebagian besar strain *S. aureus* mempunyai koagulase atau faktor penggumpal. Pada permukaan dinding sel terjadi koagulase dengan fibrinogen secara non-enzimatik sehingga menyebabkan agregasi bakteri (Jawetz *et al.*, 2008).

### **2.1.3 Faktor virulensi**

*Staphylococcus aureus* membuat tiga macam metabolit, yaitu yang bersifat nontoksin, eksotoksin, dan enterotoksin. Metabolit nontoksin antara lain adalah antigen permukaan, koagulase, hialuronidase, fibrinolisin, gelatinosa, protease, lipase, tributirinase, fosfatase, dan katalase (Warsa, 1994).

Menurut Jawetz *et al.* (2008), *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, diantaranya sebagai berikut:

a. Katalase

Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus*.

b. Koagulase

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis.

c. Hemolisin

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis di sekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *S. aureus* terdiri dari  $\alpha$ -hemolisin,  $\beta$ -hemolisin, dan  $\delta$ -hemolisin.  $\alpha$ -Hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis di sekitar koloni *S. aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia.  $\beta$ -Hemolisin adalah toksin yang dihasilkan *Staphylococcus* diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan, delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisis sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba.

d. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Namun, peran leukosidin dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena

*Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis.

e. Toksin eksfoliatif

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepithelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit.

f. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *S. aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh.

g. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein.

## 2.2 Tinjauan Imunitas

### 2.2.1 Respon imun

Sel dan molekul yang bertanggung jawab dalam imunitas adalah sistem imun dan keseluruhan sistem yang mengatur respon terhadap pengenalan substansi asing disebut dengan respon imun (Abbas *et al.*, 2000). Sistem imun merupakan sistem koordinasi respon biologik yang bertujuan melindungi integritas dan identitas individu serta mencegah invasi organisme dan zat yang berbahaya di

lingkungan yang dapat merusak dirinya. Sistem imun mempunyai sedikitnya 3 fungsi utama. Pertama adalah suatu fungsi yang sangat spesifik yaitu kesanggupan untuk mengenal dan membedakan berbagai molekul target sasaran dan juga mempunyai respons yang spesifik. Fungsi kedua adalah kesanggupan membedakan antara antigen diri dan antigen asing. Fungsi ketiga adalah fungsi memori yaitu kesanggupan melalui pengalaman kontak sebelumnya dengan zat asing patogen untuk bereaksi lebih cepat dan lebih kuat daripada kontak pertama (Munasir, 2001).

Ada 4 mekanisme pertahanan tubuh dalam mengatasi agen yang berbahaya di lingkungannya. Pertama, pertahanan fisik dan kimiawi: kulit, sekresi asam lemak dan asam laktat melalui kelenjar keringat dan sebacea, sekresi lendir, pergerakan silia, sekresi air mata, air liur, urin, asam lambung serta lisosim dalam air mata. Kedua, simbiosis dengan bakteri flora normal yang memproduksi zat yang dapat mencegah invasi mikroorganisme seperti laktobasilus pada epitel organ. Ketiga, *innate immunity*. Keempat, *adaptive immunity* (imunitas spesifik yang didapat) (Munasir, 2001).

*Innate Immunity* merupakan mekanisme pertahanan tubuh non-spesifik yang mencegah masuknya dan menyebarnya mikroorganisme dalam tubuh serta mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Ada beberapa komponen *innate immunity*, yaitu:

- a. Pemusnahan bakteri intraselular oleh sel polimorfonuklear (PMN) dan makrofag.
- b. Aktivasi komplemen melalui jalur alternatif.



- c. Degranulasi sel mast yang melepaskan mediator inflamasi.
- d. Protein fase akut: *C-reactive protein* (CRP) yang mengikat mikroorganisme, selanjutnya terjadi aktivasi komplemen melalui jalur klasik yang menyebabkan lisis mikroorganisme.
- e. Produksi interferon alfa (IFN- $\alpha$ ) oleh leukosit dan interferon beta (IFN- $\beta$ ) oleh fibroblast yang mempunyai efek antivirus.
- f. Pemusnahan mikroorganisme ekstraselular oleh sel *Natural Killer* (sel NK) melalui pelepasan granula yang mengandung perforin.
- g. Pelepasan mediator eosinofil seperti *Major Basic Protein* (MBP) dan protein kationik yang dapat merusak membran parasit (Munasir, 2001).

Sistem non-spesifik berperan sebagai sensor, memaparkan antigen dan menstimulasi sistem imun spesifik. Fungsi tersebut sangat tergantung pada peran dari *Pattern Recognition Receptor* (PRR). Salah satu dari bagian PRR yaitu *signaling receptor* (*signaling PRR*) meliputi protein transmembran dan protein sitosolik. *Signaling PRR* trans-membran dikenal dengan *TLR* (*Toll-Like Receptor*) yang terdiri dari komponen ekstraseluler yang kaya leusin (terdiri dari 550 sampai asam amino dan berkapasitas mengikatkan ligan) dan komponen intraseluler (*TIR* (*Toll/IL-IR-like*) dengan panjang sekitar 200 asam amino, berfungsi meneruskan sinyal untuk proses selanjutnya (Akira dan Kaisho, 2001).

Imunitas spesifik didapat bila mikroorganisme dapat melewati pertahanan non-spesifik/*innate immunity*, maka tubuh akan membentuk mekanisme pertahanan yang lebih kompleks dan spesifik. Mekanisme imunitas ini memerlukan pengenalan terhadap antigen lebih dulu (Munasir, 2001).

Imunitas spesifik terdiri dari limfosit dan antibodi yang memiliki memori dalam mengenali mikroba atau substansi asing yang masuk sehingga dapat beradaptasi dan mengembangkan respon terhadapnya. Hal ini berguna apabila tubuh terpapar lagi mikroba atau substansi asing yang pernah dikenali sebelumnya (Abbas *et al.*, 2000).

Mekanisme imunitas spesifik ini yang terdiri dari imunitas humoral yang memproduksi antibodi spesifik oleh sel limfosit B (*T dependent* dan *non-T dependent*) dan *Cell Mediated Immunity* (CMI). Sedangkan, sel limfosit T berperan pada mekanisme imunitas ini melalui produksi sitokin serta jaringan interaksinya dan sel sitotoksik matang di bawah pengaruh interleukin-2 (IL-2) dan interleukin-6 (IL-6) (Munasir, 2001).

Respon imun tubuh dipicu oleh masuknya antigen/mikroorganisme ke tubuh dan dihadapi oleh sel makrofag yang selanjutnya akan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC). Sel ini akan menangkap sejumlah kecil antigen dan diekspresikan ke permukaan sel yang dapat dikenali oleh sel limfosit T penolong (Th atau T helper). Sel Th ini akan teraktivasi dan selanjutnya sel Th ini akan mengaktivasi limfosit lain seperti sel limfosit B atau sel limfosit T sitotoksik. Sel T sitotoksik ini kemudian berpoliferasi dan mempunyai fungsi efektor untuk mengeliminasi antigen. Setiap prosesi ini, sel limfosit dan sel APC bekerja sama melalui kontak langsung atau melalui sekresi sitokin regulator. Sel-sel ini dapat juga berinteraksi secara simultan dengan sel tipe lain atau dengan komponen komplemen, kinin atau sistem fibrinolitik yang menghasilkan aktivasi fagosit, pembekuan darah atau penyembuhan luka. Respon imun dapat bersifat lokal atau

sistemik dan akan berhenti bila antigen sudah berhasil dieliminasi melalui mekanisme kontrol (Munasir, 2001).

### 2.2.2 Tinjauan tentang haematopoiesis

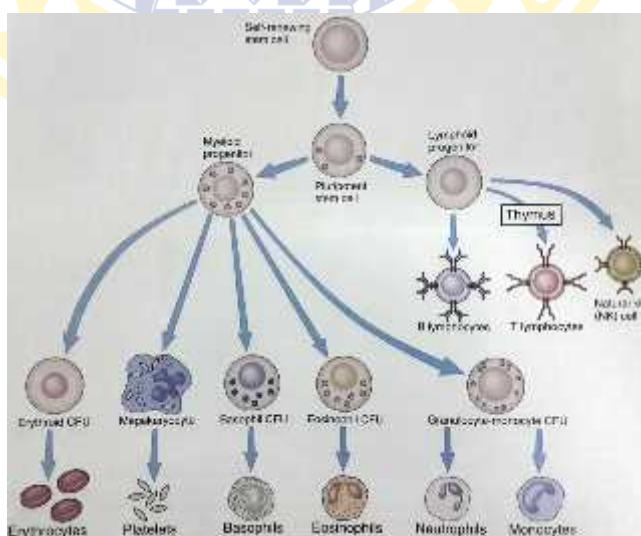
*Bone marrow* adalah tempat generasi sel-sel sirkulasi darah saat dewasa, termasuk limfosit *immature* dan merupakan tempat maturasi sel B. Selama perkembangan fetal, pembentukan dari sel-sel darah disebut haematopoiesis. Pada mulanya terjadi di *blood island* dari *yolk sac* dan mesenkim *para-aortic* kemudian hati dan limpa. Fungsi ini diperankan oleh *bone marrow* secara berturut-turut dan meningkat pada *bone marrow* dari tulang pipih. Jadi, haematopoiesis *puberty* sebagian besar terjadi pada sternum, *vertebrae*, *iliac bones*, dan tulang iga. *Red marrow* yang ditemukan di tulang tersebut terdiri dari kerangka retikular seperti spons yang terletak di antara trabekular tulang. Ruang kosong di antara kerangka retikular tersebut diisi oleh sel-sel lemak, fibroblas stromal, dan prekursor sel-sel darah. Prekursor sel darah ini menjadi *mature* dan keluar melalui jaringan padat melalui sinus vertikal kemudian memasuki sirkulasi. Ketika *bone marrow* terluka atau ada kebutuhan lebih untuk produksi sel darah baru, hati dan limpa bisa berfungsi untuk tempat haematopoiesis ekstramedular (Abbas *et al.*, 2000).

Semua sel darah berasal dari stem sel yang akan berdiferensiasi seperti eritroid, *megakaryotic*, *granulotic*, *monocytic*, dan *lymphotic*. Stem sel ini kekurangan marker diferensiasi sel darah namun mengekspresikan dua protein yang disebut CD34 dan antigen-1 stem sel (*sca-1*). Marker tersebut digunakan untuk identifikasi dan memperbanyak stem sel dari suspensi *bone marrow* atau sel perifer darah yang digunakan pada transplantasi *bone marrow*. Proliferasi dan

maturasi sel induk di *bone marrow* distimulasi oleh sitokin. Sitokin tersebut disebut dengan *Colony-Stimulating Factors* (CSFs) yang pada mulanya diuji dengan kemampuannya untuk menstimuli pertumbuhan dan perkembangan berbagai leukosit dan eritroid dari sel marrow (Abbas *et al.*, 2000).

Haematopoiesis sitokin dihasilkan oleh sel stromal dan makrofag di *bone marrow* yang kondisinya memungkinkan untuk haematopoiesis. Haematopoiesis sitokin juga dihasilkan dari limfosit T yang terstimuli antigen dan makrofag yang teraktivasi sitokin atau mikroba dan memungkinkan terjadinya mekanisme *replenishing* leukosit selama reaksi immune dan inflamasi (Abbas *et al.*, 2000).

Selain itu untuk pembaharuan sel progenitor dan diferensiasi *progeny*, *bone marrow* mengandung jumlah antibodi yang disekresikan sel plasma (berkembang di jaringan perifer alimfoid) sebagai konsekuensi antigen yang menstimuli sel B dan kemudian akan bermigrasi ke *bone marrow*. Maturasi limfosit T tidak terjadi di *bone marrow* tetapi di *thymus* (Abbas *et al.*, 2000). Proses haematopoiesis dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



**Gambar 2.2** Perkembangan *stem cell* pada proses haematopoiesis (Abbas *et al.*, 2000).

### 2.2.3 Leukosit

Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti, disebut juga sel darah putih. Rata-rata jumlah leukosit dalam darah manusia normal adalah 5000-9000 sel/mm<sup>3</sup>, bila jumlahnya lebih dari 12000 sel/mm<sup>3</sup> disebut leukositosis, bila kurang dari 5000 sel/mm<sup>3</sup> disebut leukopenia. Jumlah leukosit per mikroliter darah, pada orang dewasa normal adalah 5000-9000 sel/mm<sup>3</sup>, waktu lahir 15000-25000 sel/mm<sup>3</sup>, dan menjelang hari ke empat turun sampai 12000, pada usia 4 tahun sesuai jumlah normal (Effendi, 2003). Menurut Everds (2007), rerata jumlah leukosit normal pada mencit adalah sekitar 2000-10000 sel/ $\mu$ l.

Leukosit terdiri dari dua golongan utama, yaitu agranular dan granular. Leukosit agranular mempunyai sitoplasma yang tampak homogen, dan intinya berbentuk bulat atau berbentuk ginjal. Leukosit granular mengandung granula spesifik (dalam keadaan hidup berupa tetesan setengah cair) dalam sitoplasmanya dan mempunyai inti yang memperlihatkan banyak variasi dalam bentuknya. Terdapat 2 jenis leukosit agranular, yaitu limfosit yang terdiri dari sel-sel kecil dengan sitoplasma sedikit, dan monosit yang terdiri dari sel-sel yang agak besar dan mengandung sitoplasma lebih banyak. Terdapat 3 jenis leukosit granular yaitu neutrofil, basofil, dan asidofil (eosinofil) (Effendi, 2003).

Leukosit mempunyai peranan dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap benda asing. Leukosit dapat melakukan gerakan amuboid dan melalui proses diapedesis yang dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos antara sel-sel endotel dan menembus ke jaringan (Effendi, 2003).

Leukopoiesis merupakan proses pembentukan sel darah putih. Awal mula leukosit adalah dari sel stem hemopoietik pluripoten. Selanjutnya, membentuk

suatu jalur diferensiasi yang disebut *committed stem cell*. Sebelum berkembang menjadi berbagai macam leukosit yang spesifik dibentuk terlebih dahulu suatu koloni pembentuk, yang disebut CFU-S (unit pembentuk koloni limfa). Kemudian membentuk beberapa koloni yang diantaranya CFU-GM, yang nantinya berdiferensiasi menjadi netrofil, basofil, eosinofil, dan monosit, dan CFU-M yang akan berkembang menjadi megakariosit. Sedangkan limfosit terbentuk bukan dari CFU-S, melainkan dari *Lymphoid Stem Cell (LSC)*. *Lymphoid Stem Cell* ini akan berkembang menjadi Limfosit-T dan Limfosit-B (Guyton dan Hall, 2007).

#### **a. Fagosit mononuklear**

Fagosit mononuklear berasal dari sel progenitor dalam sumsum tulang. Sesudah berproliferasi dan matang, sel tersebut masuk dalam sirkulasi sebagai monosit. Dalam jaringan monosit menjadi makrofag, dapat diaktifkan oleh mikroba dan dapat berdiferensiasi menjadi sel residen khusus dalam berbagai jaringan. Fungsi monosit adalah sebagai antiviral, anti-tumor, fagositosis atau aktivitas bakterisidal, aktivitas vaskulatur sel epitel, aktivitas sistemik sebagai respon terhadap infeksi, produksi komponen komplemen, presentasi limfosit dan aktivitas limfosit, *modeling* dan perbaikan jaringan. Monosit tidak hanya menyerang mikroba, sel kanker dan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell (APC)*, tetapi juga memproduksi sitokin dan mengarahkan pertahanan sebagai respon terhadap infeksi (Baratawidjaja, 2006).

Monosit merupakan sel leukosit yang jumlahnya sebesar 3-8% dari keseluruhan leukosit normal, diameter 9-10  $\mu\text{m}$  tetapi pada sediaan darah kering diameter mencapai 20  $\mu\text{m}$  atau lebih. Inti biasanya eksentris, adanya lekukan yang

dalam berbentuk tapal kuda. Kromatin kurang padat, susunan lebih fibriler, ini merupakan sifat tetap monosit. Sitoplasma relatif banyak jika diwarnai dengan pulasan *wright* berupa biru abu-abu pada sajian kering. Monosit beredar melalui aliran darah selama beberapa hari. Kemudian di dalam jaringan bereaksi dengan limfosit dan memegang peranan penting dalam pengenalan dan interaksi sel-sel imunokompeten dengan antigen (Effendi, 2003).

Limfosit merupakan sel yang sferis, garis tengah 6-8  $\mu\text{m}$  merupakan 20-30% dari seluruh jumlah sel darah putih normal. Inti relatif besar, bulat dengan sedikit cekungan pada satu sisi, kromatin inti padat, anak inti baru terlihat dengan mikroskop elektron. Sitoplasma sedikit sekali, sedikit basofilik, mengandung granula-granula azurofilik. Klasifikasi lainnya dari limfosit terlihat dengan ditemuinya tanda-tanda molekuler khusus pada permukaan membran sel-sel tersebut. Beberapa di antaranya membawa reseptor seperti imunoglobulin yang mengikat antigen spesifik pada membrannya. Limfosit dalam sirkulasi darah normal dapat berukuran 10-12  $\mu\text{m}$  ukuran yang lebih besar disebabkan sitoplasmanya yang lebih banyak. Kadang-kadang disebut dengan limfosit sedang. Sel limfosit besar yang berada dalam kelenjar getah bening dan akan tampak dalam darah dengan keadaan patologis, ukuran diameter sekitar 12-18  $\mu\text{m}$ . Pada sel limfosit besar ini memiliki inti vasikuler dengan anak inti yang jelas (Effendi, 2003).

#### **b. Fagosit polimorfonuklear**

Fagosit polimorfonuklear atau polimorf atau granulosit dibentuk dalam sumsum tulang dengan kecepatan 8 juta/menit dan hidup selama 2-3 hari.

Neutrofil merupakan 60-70% dari seluruh jumlah sel darah putih normal dalam sirkulasi, tetapi ditemukan juga di luar pembuluh darah karena sel neutrofil dapat keluar dari pembuluh darah. Neutrofil biasanya hanya berada dalam sirkulasi kurang dari 48 jam sebelum bermigrasi. Neutrofil mempunyai reseptor untuk IgG dan komplemen (Baratawidjaja, 2006).

Neutrofil berkembang dalam sumsum tulang (*bone marrow*) yang dikeluarkan dalam sirkulasi. Sel neutrofil memiliki diameter sekitar 12-15  $\mu\text{m}$ , memiliki satu inti dengan 2-5 lobus. Sitoplasma banyak diisi oleh granula spesifik sebesar 0,3-1,8  $\mu\text{m}$ . Granul pada neutrofil ada dua, yaitu pertama, *azurophilic* yang mengandung lisosom dan peroksidase. Kedua, granul spesifik lebih kecil mengandung fosfatase alkali dan senyawa bakterisidal yang dinamakan fagositin. Neutrofil jarang mengandung retikulum endoplasma granuler, sedikit mitokondria. Neutrofil merupakan garis depan pertahanan seluler terhadap invasi mikroba, memfagosit partikel kecil dengan aktif. Selama proses fagositosis dibentuk peroksidase. Mieloperoxidase yang terdapat dalam neutrofil berikatan dengan peroksida dan halida, bekerja pada molekul tirosin dinding sel bakteri dan menghancurkannya (Effendi, 2003).

Neutrofil menunjukkan aktivitas fagositik dan sitotik, bermigrasi ke tempat inflamasi dan infeksi atas pengaruh faktor kemotaksis. Peran utamanya adalah sebagai pertahanan awal imunitas nonspesifik terhadap infeksi bakteri (Baratawidjaja, 2006).

Peningkatan jumlah neutrofil imatur atau neutrofil batang mengindikasikan adanya infeksi akut, sedangkan aktivitas hipersegmentasi atau peningkatan jumlah



segmen neutrofil  $\leq 5$  mengindikasikan telah terjadi infeksi kronik, dalam keadaan normal segmen neutrofil jumlahnya kurang dari 5 (Chaves *et al*, 2006).

Eosinofil merupakan 1-4% dari seluruh jumlah sel darah putih normal, mempunyai diameter sekitar 9  $\mu\text{m}$  (sedikit lebih kecil dari neutrofil). Inti biasanya berlobus dua, retikulum endoplasma, mitokondria, dan apparatus golgi kurang berkembang. Eosinofil mempunyai granula ovoid, jika diwarnai dengan eosin yang bersifat asidofilik menghasilkan warna merah keunguan. Granula adalah lisosom yang mengandung asam fosfatase, ribonuklease, tetapi tidak mengandung lisozim. Eosinofil mempunyai gerakan amuboid dan mampu melakukan fagositosis tetapi lebih lambat dan selektif dibanding neutrofil. Eosinofil memfagositosis kompleks antigen dan antibodi, ini merupakan fungsi eosinofil untuk melakukan fagositosis selektif terhadap kompleks antigen dan antibodi. Eosinofil mengandung profibrinolisin, diduga berperan mempertahankan darah dari pembekuan, khususnya bila keadaan cairnya diubah oleh proses-proses patologi. Kortikosteroid akan menimbulkan penurunan jumlah eosinofil darah dengan cepat (Effendi, 2003).

Basofil memiliki jumlah kurang dari 1% dari seluruh sel darah putih, memiliki diameter sekitar 12-15  $\mu\text{m}$ , berinti satu dan berbentuk iregular, umumnya berbentuk S, sitoplasma basofil terisi granul yang lebih besar dan seringkali granul menutupi inti. Granula basofil berbentuk metakromatik dan mensekresi histamin dan heparin dan dalam keadaan tertentu basofil merupakan sel utama pada peradangan yang disebut hipersensitivitas kulit basofil. Sel ini terlibat dalam reaksi alergi jangka panjang misal asma dan alergi kulit (Effendi,

2003). Sel basofil juga dapat berfungsi sebagai fagosit, tetapi yang jelas sel tersebut melepas mediator inflamasi. Sel basofil melepas bahan-bahan yang mempunyai aktivitas biologis, antara lain meningkatkan permeabilitas vaskular, dan mengerutkan otot polos bronkus. Sel basofil yang diaktifkan juga melepas berbagai sitokin (Baratawidjaja, 2006).

#### 2.2.4 Sitokin

Sitokin adalah protein dari sistem kekebalan tubuh yang dapat mempengaruhi perilaku sel dengan interaksi terhadap reseptor sitokin tertentu. Sitokin merupakan protein-protein kecil sebagai mediator dan pengatur imunitas, inflamasi, dan haematopoiesis. Sitokin ini dihasilkan sebagai respons terhadap stimulus sistem imun. Sitokin bekerja dengan mengikat reseptor-reseptor membran spesifik yang kemudian membawa sinyal ke sel melalui *second messenger* (tirosin kinase), untuk mengubah aktivitasnya (ekspresi gen). Respon terhadap sitokin diantaranya meningkatkan atau menurunkan ekspresi protein-protein membran termasuk reseptor sitokin, proliferasi, dan sekresi molekul-molekul efektor. Sitokin bisa beraksi pada sel-sel yang mensekresinya atau aksi autokrin, pada sel-sel terdekat dari sitokin disekresi atau aksi parakrin. Sitokin juga dapat beraksi secara sinergis dua atau lebih sitokin beraksi secara bersama-sama atau secara antagonis (Judarwanto, 2012).

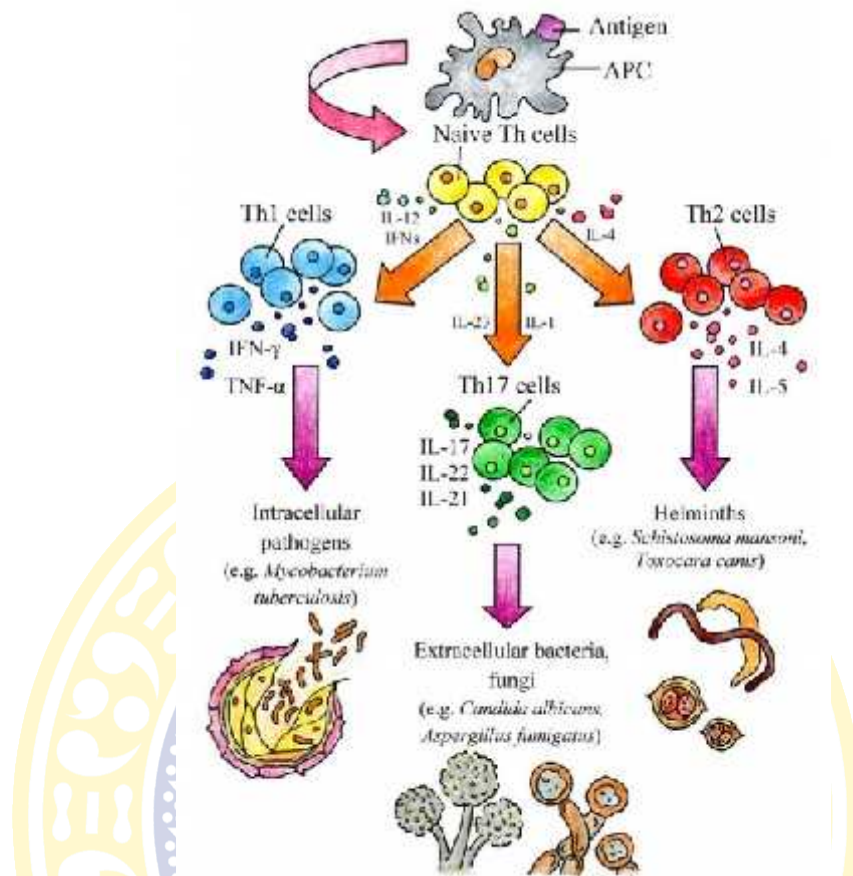
Sitokin juga merupakan mediator (berupa protein atau glikoprotein dengan berat molekul 8-80 kDa) yang dihasilkan oleh sel dalam reaksi radang atau imunologik yang berfungsi sebagai isyarat antara sel-sel untuk membentuk jaringan komunikasi dalam respons imun. Sitokin bekerja dengan cara berikatan

dengan respons spesifik pada membran sel, memulai *cascade* yang menyebabkan induksi, dan peningkatan atau penghambatan berbagai respons imun. Sitokin hampir tidak pernah diproduksi atau bekerja sendirian, tetapi selalu dalam suatu jaringan kerja yang kompleks (Wahab dan Julia, 2002).

### 2.2.5 Interleukin-23

Interleukin-23 merupakan anggota keluarga sitokin interleukin-12 dan keduanya memiliki kesamaan struktur. Interleukin-12 dan IL-23 adalah sitokin heterodimer yang terdiri atas subunit 40 kDa yang sama bagi keduanya, serta subunit 35 kDa (untuk IL-12) dan 19 kDa (untuk IL-23) (Barrie dan Plevy, 2005). Interleukin-12 memicu pertumbuhan dan diferensiasi sel T naif menjadi sel Th1 dan sel T sitotoksik, sedangkan IL-23 menstimulasi proliferasi sekelompok sel T yang baru ditemukan yang disebut sel Th17. Sel Th17 ini berbeda dari sel Th1 dan Th2 karena mensekresi serangkaian sitokin proinflamasi yang spesifik, yaitu IL-17A, IL-17F, IL-26, dan IL-22 (Bettelli dan Kuchroo, 2005; Blauvelt, 2007).

Kadar IL-23 pada orang normal yang diperiksa menggunakan metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan Human IL-23 ELISA kit pada penelitian Arican dkk. (2005) adalah  $24,9 \pm 13,29$  pg/mL (rerata  $\pm$  simpang baku). Berikut aktivitas sel T dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



**Gambar 2.3** Mekanisme respon sel T akibat infeksi mikroorganisme (D'Elios *et al.*, 2011)

## 2.3 Tinjauan *Coriolus versicolor*

### 2.3.1 *Coriolus versicolor*

*Coriolus versicolor* (*C. versicolor*) merupakan jamur berbentuk kipas dengan tepi bergelombang dan zona konsentris yang berwarna-warni. Pada umumnya di temukan sepanjang tahun di kayu-kayu mati, batang pohon dan cabang-cabang pohon. Jamur ini dapat di jumpai di hutan Asia, Eropa dan Amerika utara serta belahan bumi utara (Cui dan Chisti, 2003), terkadang dapat di jumpai pada pohon-pohon konifer (Keizer, 1998).

Permukaan atas dari jamur *C. versicolor* terdapat struktur seperti beludru. Tepi berwarna putih atau kuning. Pada bagian bawah tampak pori-pori yang

berjumlah banyak dan dapat dilihat dengan mata telanjang, sangat tipis, dan memiliki tepi yang bergelombang serta berlobus (Lamaison dan Polese, 2005). Cui dan Chisti (2003) menyatakan bahwa panjang tubuh jamur ini mencapai 10 cm dengan lebar antara 3-5 cm. Sporanya berwarna putih berbentuk bulat dengan ukuran  $4-6 \times 1,5-2,5 \mu\text{m}$ . Banyak nama berbeda yang di gunakan oleh jamur *Coriolus versicolor*, antara lain: yun zi (Cina) dan karatawatake (Jepang). Berikut morfologi jamur *C. versicolor* pada **Gambar 2.4**.



**Gambar 2.4** Morfologi tubuh buah *Coriolus versicolor* (Dokumentasi pribadi).

Menurut Lamaison dan Polese (2005), klasifikasi dari jamur ini adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Basidiomycota
Class	: Homobasidiomycetes
Ordo	: Polyporales
Family	: Coriolaceae
Genus	: <i>Coriolus</i>
Species	: <i>Coriolus versicolor</i>

### 2.3.2 Kandungan polisakarida krestin dalam *Coriolus versicolor*

Polisakarida krestin merupakan ekstrak jamur *C. versicolor* yang telah banyak digunakan sebagai obat penyakit berbahaya di Jepang (Ooi dan Liu, 2000). Selain itu, PSK juga merupakan *adjuvant* dalam *treatment* kanker lambung, esofagus, usus besar, payudara dan paru-paru (Fisher dan Yang, 2002). Bahkan dalam penelitian Ho *et al.* (2006) melaporkan bahwa PSK dapat menghambat leukimia, limfoma, dan hepatoma pada *in vitro*.

Polisakarida krestin memiliki berat molekul rata-rata  $\pm 94$  kDa. Komponen penyusun utamanya adalah glukukan 1-4 dan rantai samping 1-3 serta 1-6 yang terikat pada protein membran melalui rantai O-glikosida atau N-glikosida. Komposisi polisakarida krestin antara lain oksigen 47,5%, karbon 40,5%, hidrogen 6,2%, dan nitrogen 5,2%. Bubuk PSK mengandung 34-35% karbohidrat yang larut dalam air. Karbohidrat tersebut mengandung senyawa  $\alpha$ -glukan sebesar 90-93%, 28-35% protein, 7% uap air, 6-7% abu, dan sisanya adalah gula bebas dan asam amino (Cui dan Chisti, 2003).

Polisakarida krestin memiliki banyak aktivitas kesehatan meliputi, imunopotensi, imunosupresi, meningkatkan nafsu makan dan fungsi hati, menenangkan sistem saraf pusat, dan pemulihan masa sakit (Zhou *et al.*, 2007). Wahyuningsih dkk. (2010), menyatakan bahwa PSK dapat meningkatkan jumlah sel imunokompeten, dapat memulihkan serta menguatkan fungsi respon imun non-spesifik, dan dapat memulihkan serta menguatkan respon spesifik pada hewan coba yang telah terinfeksi bakteri.

Polisakarida krestin ini efektif jika diberikan secara oral, intravena, atau intraperitoneal. Senyawa ini banyak dikonsumsi dalam bentuk kapsul, sirup maupun sebagai tambahan makanan. Efek fisiologis yang ditimbulkan oleh PSK hasil produksi *C. versicolor* antara lain melalui peningkatan respon imun dengan menginduksi produksi IL-6, interferon, IgG, makrofag, dan limfosit T (Cui dan Chisti, 2003).

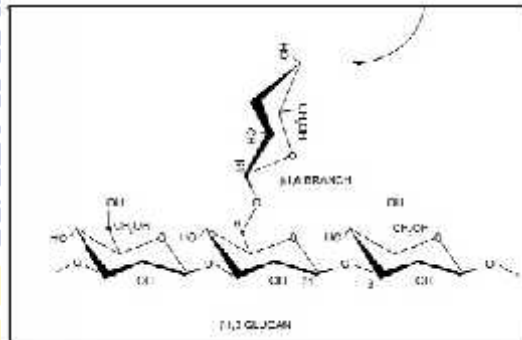
Polisakarida krestin berada dalam bentuk molekul yang stabil dan berukuran besar dalam darah, getah bening dan empedu tikus dalam waktu 4 jam setelah dikonsumsi, sedangkan molekul yang lebih kecil sebagian besar akan didegradasi dalam sistem pencernaan. Molekul stabil yang utuh akan terdeteksi dalam sumsum tulang, limpa, otak, hati, mukosa jaringan, dan pankreas. Sekitar 70% hilang saat melakukan ekspirasi selama 24 jam dan 30% dikeluarkan melalui urin setelah dikonsumsi selama 72 jam. Polisakarida krestin tidak berinteraksi dengan obat lain atau mempengaruhi aktivitas enzim dalam hati. Polisakarida krestin tidak mempunyai efek terhadap efisiensi obat lain ketika dikonsumsi secara bersamaan (Wong *et al.*, 2004).

### 2.3.3 -Glukan

Bahan aktif dari PSK adalah -glukan yang melimpah pada dinding sel jamur. Senyawa aktif -glukan berhubungan dengan reseptor utama sistem imun yaitu *dectin-1*, *toll like receptor-2/6* (TLR-2/6) dan *complement receptor* (CR3). Sel imun target -glukan meliputi makrofag, neutrofil, monosit, sel NK dan sel dendritik. Sebagai konsekuensinya, respons imun spesifik dan non spesifik dapat

dimodulasi -glukan dan berperan dalam opsonin dan non-opsonin fagositosis (Chi-Fung *et al.*, 2009).

Menurut Cui dan Chisti (2003), -glukan yang merupakan senyawa aktif dari PSK yang dapat menginduksi makrofag untuk meningkatkan aktivitasnya dalam fagositosis benda-benda asing yang masuk ke tubuh. Senyawa -glukan dapat meningkatkan aktivitas sel-sel kupfer namun pada dosis yang terlalu tinggi akan menyebabkan sel-sel kupfer mensekresikan sitokrom P-450 oksidase yang berlebihan pula. Menurut Wresdati dkk. (2006), sekresi sitokrom P-450 oksidase yang berlebihan akan menghasilkan radikal bebas yang berlebihan. Struktur kimia -glukan dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



**Gambar 2.5** Struktur kimia 1,3 -glukan (Chan *et al.*, 2009).



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba di rumah hewan percobaan, sedangkan penghitungan jumlah leukosit dan pemeriksaan konsentrasi Interleukin-23 (IL-23) dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan selama empat bulan, yaitu bulan April-Juli 2016.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, spuit tuberkulin 1 mL yang telah diberi timah untuk perlakuan *gavage*, *microtube Eppendorf*, peralatan bedah, *petridish*, meja bedah, spuit 1 mL dengan jarum injeksi 21G untuk injeksi *Staphylococcus aureus* melalui intraperitoneal, spuit 3 mL dengan jarum 24G untuk pengambilan cairan intraperitoneum, spuit 1 mL dengan jarum injeksi ukuran 24G untuk pengambilan sampel darah, ELISA *plate* sumuran 96, ELISA *reader*, mikro pipet, tip (*white, blue, dan yellow tip*), gelas ukur, gelas Beaker, pipet, pengaduk kaca, sentrifuse, spektrofotometer UV-VIS, vortex, *haemocytometer*, mikroskop, dan *hand counter*.

### 3.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang berupa kawat kasa, botol minum, tempat pakan, sekam, polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* yang diperoleh dari Wahyuningsih (2014), larutan Turk, dan bubuk antikoagulan (EDTA), bakteri *Staphylococcus aureus* beserta media pertumbuhan bakteri yaitu *Mc. Concey* dengan konsentrasi bakteri 0,25 Mc Farland yang diperoleh dari BBLK (Balai Besar Laboratorium Kesehatan) Surabaya.

Uji konsentrasi IL-23 menggunakan *Mouse* ELISA kit IL-23 (Koma Biotech Inc.) yang terdiri atas *pre-Coated 96 Well ELISA microplate*, *washing buffer*, *substrate solution E*, *stop solution*, *matrix C lyophilized*, *mouse IL-23 (P19/P40) detection antibody*, *avidin HRP A*, *assay buffer A*. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol, akuades, larutan garam fisiologi NaCl 0,9%, *chloroform* untuk anastesi.

### 3.2.3 Hewan coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) betina dewasa, berumur 8-10 minggu, dan berat badan berkisar 30-40 g yang diperoleh dari pembiakan Pusat Veterinari Farma (Pusvetma) Surabaya dan Laboratorium Farmasi, Universitas Airlangga. Mencit tersebut diaklimasi pada kandang plastik tertutup kawat kasa sebanyak 36 ekor dan dipelihara di dalam rumah hewan Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Mencit dipelihara dengan memberi pakan dan minum yang sama, yaitu *pellet hi-pro-vite medicated 594* dan air penyulingan (*Pure It*) secara *ad libitum*, yaitu

diberikan secara berlebih (selalu tersedia), suhu dalam ruang pemeliharaan hewan coba berkisar 25-29<sup>0</sup>C dengan intensitas penyinaran 12 jam siang dan 12 jam malam.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengelompokan hewan coba dilakukan secara acak tanpa memberikan kriteria khusus pada kelompok tertentu.

Pada penelitian ini hewan coba mencit yang dipelihara berjumlah 36 ekor dengan rincian hewan coba telah dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing berjumlah minimal 4 ekor berdasarkan rumus Federer :

$$\begin{aligned} (t-1)(n-1) &= 15 \\ (6-1)(n-1) &= 15 \\ 5(n-1) &= 15 \\ n-1 &= 15/5 \\ n &= 3 + 1 \\ n &= 4 \end{aligned}$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan (6 perlakuan)

n = jumlah replikasi

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Sterilisasai alat

Langkah pertama dalam sterilisasi alat adalah mencuci alat-alat yang akan digunakan dengan detergen kemudian dibilas dengan air kran dan dikeringkan. Alat-alat yang disterilisasi antara lain gelas ukur, gelas beaker, tabung mikrotube,

konikel, erlenmeyer dengan bagian mulut tabungnya ditutup dengan aluminium foil, cawan petri, scapel, pinset, gunting yang dibungkus dengan kertas payung. Kemudian, alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilkan pada suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan 1,2 atm selama 15-20 menit.

### 3.4.2 Penentuan konsentrasi polisakarida krestin

Penentuan konsentrasi polisakarida krestin dengan menggunakan metode *phenol sulphuric acid assay*. Larutan sampel polisakarida krestin dibuat dari 10 µL stok polisakarida krestin pada 90 µL akuades. Larutan yang telah homogen ditambahkan *Phenol* sebanyak 50 µL dan divortex selama 1 menit. Setelah itu larutan tersebut ditambahkan larutan asam sulfat sebanyak 2 mL dan diinkubasi dalam suhu kamar selama 10 menit. Pengukuran nilai *Optical Density* (OD) dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Nilai OD yang didapatkan disubstitusikan dalam persamaan regresi linier berikut:

$$y = 0,008x + 0,002$$

50

Keterangan: y = konsentrasi PSK (mg/mL)  
x = nilai OD (pg/mL)

Menurut Wahyuningsih dan Darmanto (2010), ekstrak polisakarida krestin yang digunakan dengan dosis sebesar 100 mg/kg BB sesuai pertimbangan dosis yang digunakan dibawah LD<sub>50</sub>.

### 3.4.3 Pemberian PSK dan paparan *Staphylococcus aureus* pada *Mus musculus*

Mencit ditempatkan pada kandang plastik tertutup kawat besi, kondisi ruang/kandang hewan berventilasi dengan sistem penerangan 12 jam terang dan

12 jam gelap. Mencit diaklimasi selama seminggu dan selanjutnya diklompokkan menjadi 6 kelompok pada **Tabel 3.1**.

**Tabel 3.1.** Pembagian kelompok dalam penelitian

Kelompok Perlakuan	Pemberian PSK (hari 1-7)	Paparan bakteri (hari ke 8, 22)	Pemberian PSK (hari ke 23-30)	Keterangan
K	-	-	-	-
K+	+	-	+	-
K-	-	+	-	-
P1	+	+	-	Preventif
P2	-	+	+	Kuratif
P3	+	+	+	Preventif dan kuratif

Keterangan : (+) menunjukkan adanya perlakuan  
 (-) menunjukkan tidak ada perlakuan, hanya diberi akuades

Kelompok perlakuan antara lain, yaitu kelompok kontrol (K), kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), kelompok P1, kelompok P2, dan kelompok P3. Kelompok kontrol (K) adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan polisakarida krestin dan paparan *S. aureus*. Kelompok kontrol positif (K+) adalah kelompok yang diberi perlakuan polisakarida krestin tanpa paparan *S. aureus*. Kelompok kontrol negatif (K-) adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan polisakarida krestin namun dipaparan *S. aureus*. Kelompok P1 adalah kelompok yang diberi polisakarida krestin sebelum paparan *S. aureus* tetapi tidak diberi polisakarida krestin sesudah paparan. Kelompok P2 adalah kelompok yang diberi perlakuan polisakarida krestin setelah paparan *S. aureus*. Kelompok P3 adalah kelompok yang diberi perlakuan polisakarida krestin sebelum dan sesudah paparan *S. aureus*. Pemberian polisakarida krestin pada kelompok dilakukan melalui gavage masing-masing 0,2 mL. Paparan *S. aureus* dilakukan melalui injeksi intraperitoneal 0,2 mL.

### 3.4.4 Pengambilan darah dan isolasi serum

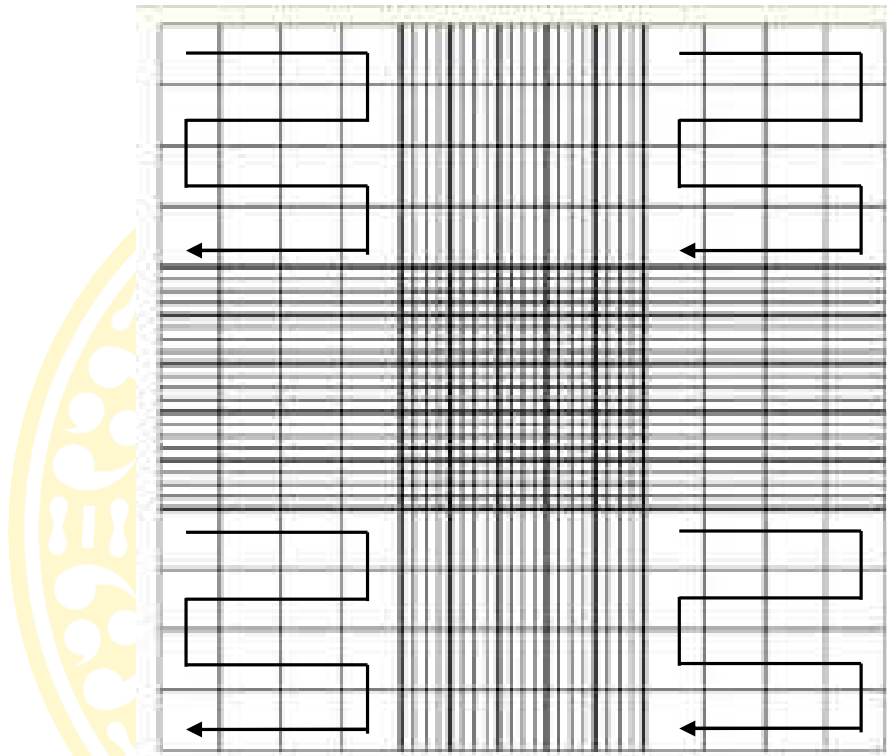
Setelah satu minggu dari pemberian polisakarida krestin, darah jantung dari hewan coba diambil dan dikoleksi sebanyak 1 mL. Darah dimasukkan dalam tabung *Eppendorf*. Darah dibiarkan dalam suhu kamar selama 2 jam. Selanjutnya darah diisolasi serumnya dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10x menit. Selanjutnya dilakukan pengamatan konsentrasi IL-23.

### 3.4.5 Penghitungan jumlah leukosit

Berikut prosedur kerja dalam penghitungan leukosit :

- a. Darah mencit diambil melalui *intracardiac* dan dimasukkan ke dalam *microtube* yang berisi anti koagulan (EDTA).
- b. Sampel darah yang bercampur dengan EDTA tersebut diambil sebanyak 10 $\mu$ L dan ditambahkan larutan Turk 100 $\mu$ L sehingga diperoleh perbandingan pengenceran 1:10.
- c. Darah ditetaskan pada bagian tepi kamar hitung (*haemocytometer*).
- d. Kamar hitung dibiarkan satu menit yang bertujuan untuk melisiskan eritrosit dan memberi kesempatan kepada leukosit untuk menempati kamar hitung.
- e. Penghitungan leukosit dilakukan dengan bantuan mikroskop perbesaran 40x pada empat kotak besar dari kamar hitung.

- f. Jumlah leukosit tiap milimeter kubik ( $\text{mm}^3$ ) adalah jumlah sel terhitung dikalikan dengan faktor. Jumlah bujur sangkar yang dihitung adalah 64, volume setiap bujur sangkar  $1/160 \text{ mm}^3$ , dan darah yang diencerkan adalah 10 kali. Rumus jumlah leukosit tiap bilik, yaitu  $1/64 \times 160 \times 10$ .



**Gambar 3.1** Kamar Hitung Improved Neubaur untuk penghitungan leukosit.

### 3.4.6 Pengukuran konsentrasi IL-23

Pengukuran konsentrasi IL-23 dilakukan dengan menggunakan *Mouse ELISA* kit (Koma Biotech Inc). Berikut prosedur kerja dalam pengukuran konsentrasi IL-23 :

1. Larutan *washing buffer* 200  $\mu\text{L}$  ditambahkan ke dalam setiap *well* sebanyak tiga kali kemudian larutan dibuang.
2. Larutan *assay buffer* A 50  $\mu\text{L}$  ditambahkan ke dalam sampel *well* kemudian 50  $\mu\text{L}$  sampel ditambahkan ke dalam sampel *well*.

3. Matriks C ditambahkan sebanyak 50  $\mu\text{L}$  pada standart *well* dengan konsentrasi IL-23, yaitu 2000 pg/mL, 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL, 31,3 pg/mL, 15,6 pg/mL kemudian ditambahkan standart *diluted* sebanyak 50  $\mu\text{L}$ .
4. *Plate* ditutup dengan *sealer* dan diinkubasi *overnight* pada suhu 4°C.
5. Larutan dalam *well* dibuang dan dicuci sebanyak 3 kali dengan 200  $\mu\text{L}$  *washing buffer* ke setiap *well*.
6. Setiap *well* ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  *mouse IL-23 detection antibody solution* kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dan dilakukan *shaking* selama 10 menit.
7. Larutan dalam *well* dibuang dan dicuci sebanyak 3 kali dengan 200  $\mu\text{L}$  *washing buffer* ke setiap *well*.
8. Setiap *well* ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  *avidin- HRP A solution*. Kemudian diinkubasi selama 1 jam pada temperatur kamar dan dilakukan *shaking*.
9. Larutan dalam *well* dibuang dan dicuci sebanyak 3 kali dengan 200  $\mu\text{L}$  *washing buffer* ke setiap *well*.
10. Setiap *well* ditambahkan *substrate solution* E 100  $\mu\text{L}$  pada kondisi ruang gelap. Kemudian *plate* ditutup dengan *sealer* dan diinkubasi pada suhu kamar dengan kondisi ruang gelap selama  $\pm$  15 menit atau sampai timbulnya perubahan warna.
11. Setiap *well* ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  *stop solution*.
12. Konsentrasi IL-23 diukur menggunakan *microtiter plate reader* pada = 450 nm.



### 3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang akan diamati dalam penelitian ini sebagai berikut :

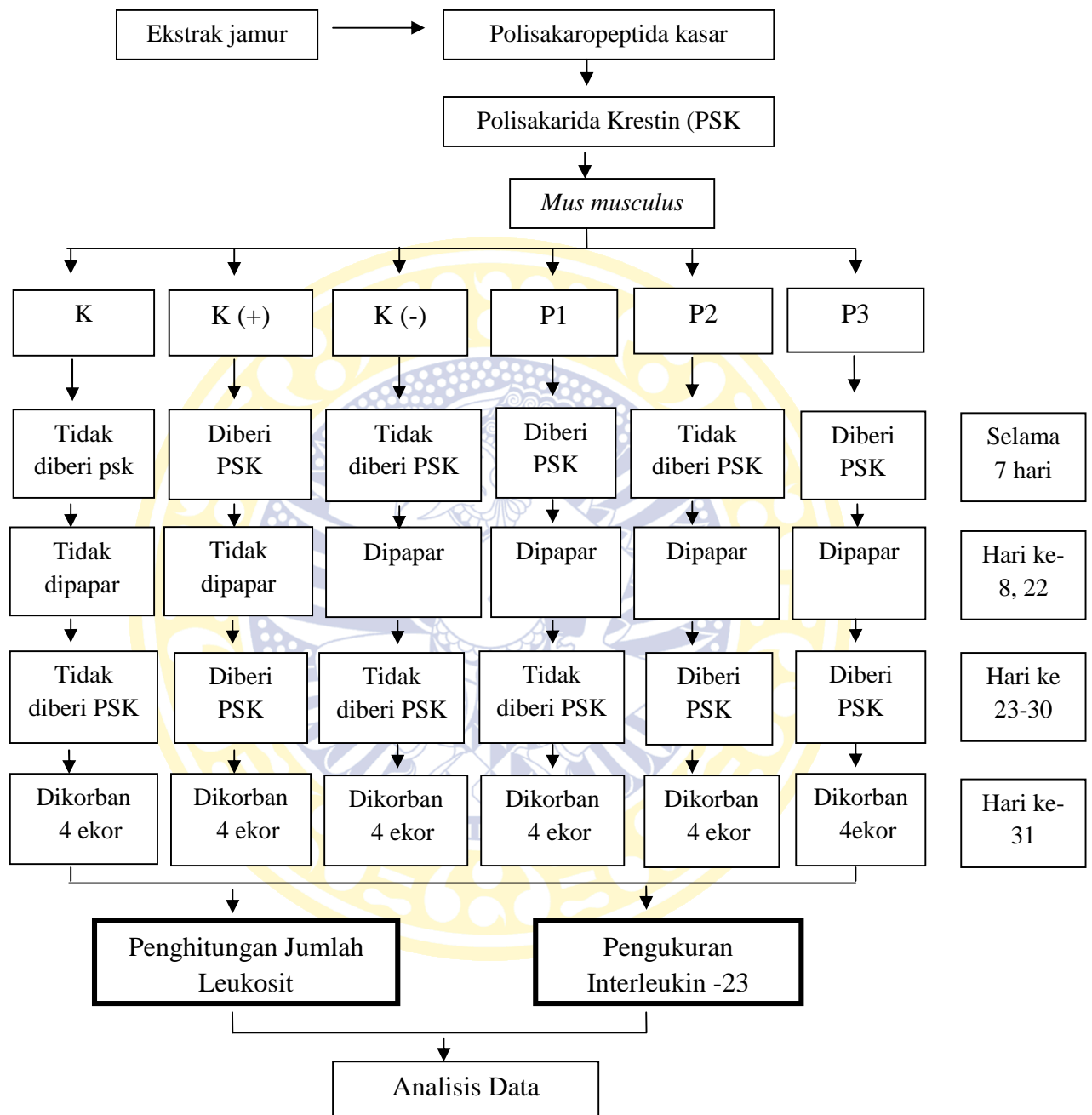
- a. Variabel bebas : waktu pemberian polisakarida krestin.
- b. Variabel terikat : jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23.
- c. Variabel kendali : umur, berat badan, jenis kelamin *Mus musculus*, konsentrasi polisakarida krestin, dan dosis antigen bakteri *S. aureus*.

### 3.6 Analisis Data

Data dianalisis dengan uji statistik menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21.00 for windows*. Distribusi data jumlah leukosit menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov ( $p > 0,05$ ). Data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas variansi (*Levene test*) dengan  $p > 0,05$ . Variansi data leukosit menunjukkan bahwa data tidak homogen sehingga tidak memenuhi syarat untuk uji ANOVA. Data dilanjutkan dengan uji Brown-Forsythe ( $p < 0,05$ ) kemudian data dilakukan uji lanjutan menggunakan Games-Howell untuk mengetahui adanya beda signifikan pada setiap kelompok perlakuan.

Data konsentrasi IL-23 di uji distribusinya juga menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov ( $p > 0,05$ ). Data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas variansi (*Levene test*) dengan  $p > 0,05$ . Variansi data konsentrasi IL-23 menunjukkan bahwa data homogen sehingga memenuhi syarat untuk uji ANOVA ( $p < 0,05$ ). Data kemudian dilakukan analisis uji lanjutan (*Post Hoc*), yaitu uji Duncan dengan  $\alpha = 0,05$ .

### 3.7 Kerangka Operasional Penelitian



**Gambar 3.2** Skema kerangka operasional penelitian

**Keterangan :**

- = Diamati/diukur
- = Tidak diamati/diukur

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *C. versicolor* terhadap jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 pada *Mus musculus* yang dipapar *S. aureus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan data respon imun *Mus musculus* pada enam kelompok perlakuan, yaitu K (kelompok kontrol), K+ (kontrol positif, pemberian polisakarida krestin), K- (kontrol negatif, dipapar *S. aureus*), P1 (pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*), P2 (pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*), P3 (pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*) terhadap indikator jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23. Hasil penghitungan jumlah leukosit dan uji statistik dapat dilihat pada **Lampiran 1**. Penghitungan jumlah leukosit dilakukan menggunakan kamar hitung (*haemocytometer*) dengan bantuan mikroskop. Sedangkan, hasil pengukuran konsentrasi IL-23 dan uji statistik dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Konsentrasi IL-23 ditentukan dengan metode ELISA dengan satuan pg/ml dan data rerata konsentrasi dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

##### 4.1.1 Pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap jumlah leukosit

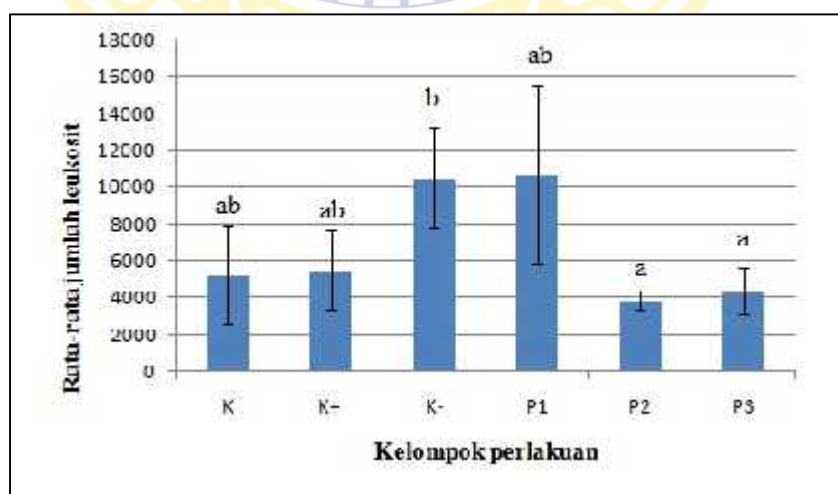
Jumlah leukosit merupakan salah satu parameter dalam penelitian ini. Jumlah leukosit menandakan bahwa adanya respon imun dan terjadinya fagositosis oleh jenis-jenis leukosit. Penghitungan jumlah leukosit dilakukan dengan bantuan mikroskop dan kamar hitung (*haemocytometer*).

Pada **Tabel 4.1** dan **Gambar 4.1** dapat diketahui bahwa data dari kelompok P1 memiliki rerata jumlah leukosit tertinggi, yaitu 10630 sel/mm<sup>3</sup> dan terendah pada kelompok P2, yaitu 3860 sel/mm<sup>3</sup>. Pada kelompok K, K+, K-, dan P3 memiliki rerata konsentrasi IL-23 masing-masing, yaitu 5190 sel/mm<sup>3</sup>, 5470 sel/mm<sup>3</sup>, 10500 sel/mm<sup>3</sup>, dan 4340 sel/mm<sup>3</sup>.

**Tabel 4.1.** Jumlah leukosit pada setiap kelompok perlakuan

No.	Perlakuan	Ulangan					Rata-rata ± SD
		1	2	3	4	5	
1.	K	2750	3550	4200	6100	9350	5190 <sup>ab</sup> ± 2634,24
2.	K+	4900	3050	4150	6700	8550	5470 <sup>ab</sup> ± 2175,03
3.	K-	7000	8100	12900	11650	12850	10500 <sup>b</sup> ± 2766,54
4.	P1	8000	6400	8250	18400	12100	10630 <sup>ab</sup> ± 4822,03
5.	P2	3250	3650	3550	4500	4350	3860 <sup>a</sup> ± 538,98
6.	P3	5100	2600	5700	3550	4750	4340 <sup>a</sup> ± 1249,7

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda signifikan berdasarkan hasil uji Games-Howell ( $p < 0,05$ ). K = kelompok kontrol; K+ = kontrol positif, pemberian polisakarida krestin; K- = kontrol negatif, dipapar *S. aureus*; P1 = pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*; P2 = pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*; P3 = pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*.



**Gambar 4.1** Grafik perbandingan rerata jumlah leukosit pada setiap kelompok perlakuan

Distribusi data jumlah leukosit menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan didapatkan bahwa distribusi data rerata jumlah leukosit yang diperoleh yakni data berdistribusi normal dengan nilai probabilitas sebesar 0,233 ( $p > 0,05$ ). Data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas variansi (*Levene test*) dan didapatkan tingkat signifikansi sebesar 0,011 ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa variansi data yakni tidak homogen sehingga tidak memenuhi syarat untuk uji ANOVA. Uji alternatif pada data yang tidak homogen yakni menggunakan uji Brown-Forsythe yang menunjukkan bahwa ada pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dengan nilai signifikansi sebesar 0,004 ( $p < 0,05$ ). Kemudian data dilakukan uji lanjutan menggunakan Games-Howell untuk mengetahui adanya beda signifikan pada setiap kelompok perlakuan.

Berdasarkan **Tabel 4.1** dan Games-Howell yang dapat diamati pada Lampiran 1 dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak polisakarida krestin dengan dosis 100 mg/Kg/BB selama hari ke 1-7 dan hari ke 23-28 terhadap setiap kelompok perlakuan menunjukkan adanya beda signifikan. Kelompok K dan K+ tidak berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan, yaitu K-, P1, P2, dan P3 dengan masing-masing rerata jumlah sel leukosit 5190 sel/mm<sup>3</sup>, 5470 sel/mm<sup>3</sup>, 10500 sel/mm<sup>3</sup>, 10630 sel/mm<sup>3</sup>, 3860 sel/mm<sup>3</sup> dan 4340 sel/mm<sup>3</sup> meskipun dari data tersebut rerata jumlah leukosit kelompok K- dan P1 lebih tinggi dibanding semua kelompok perlakuan lainnya. Kelompok P1 juga memperlihatkan tidak adanya beda signifikan dengan semua kelompok perlakuan. Sedangkan, adanya beda signifikan dapat terlihat pada kelompok K- terhadap kelompok P2

dan P3 dengan masing-masing rerata jumlah leukosit, yaitu  $10500 \text{ sel/mm}^3$ ,  $3860 \text{ sel/mm}^3$  dan  $4340 \text{ sel/mm}^3$ .

#### 4.1.2 Pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* terhadap konsentrasi IL-23

Konsentrasi IL-23 ditentukan menggunakan metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan *Mouse IL-23 ELISA kit*. Data konsentrasi IL-23 didapatkan dengan cara konversi nilai OD yang dapat dilihat pada **Tabel 4.2**. Nilai OD tersebut hasil uji kit ELISA yang dibaca pada gelombang 450 nm dan diperoleh persamaan  $y = 0,849 x - 2,313$  yang didapat dari kurva standart pada **Lampiran 2** sehingga dapat diketahui konsentrasi IL-23 dalam satuan pg/mL yang dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

Berikut nilai OD IL-23 dan konsentrasi IL-23 pada setiap kelompok perlakuan:

**Tabel 4.2.** nilai OD IL-23 pada  $\lambda = 450$  hasil uji ELISA

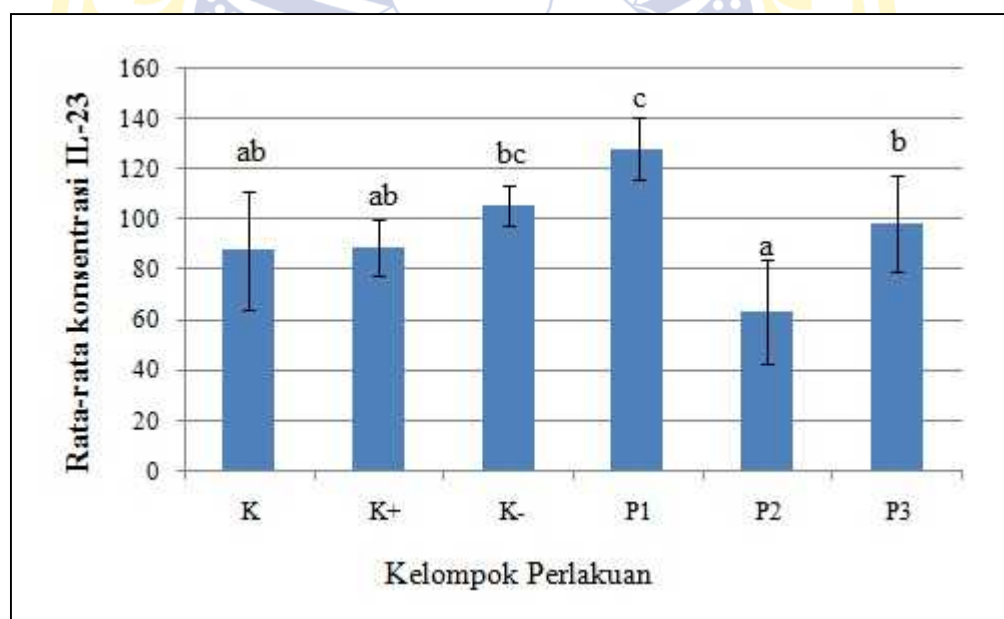
No	Perlakuan	Nilai OD IL-23 pada ulangan ke-...				Rata-rata $\pm$ SD
		1	2	3	4	
1.	K	0,28	0,211	0,16	0,217	$0,217 \pm 0,049$
2.	K+	0,186	0,237	0,219	0,235	$0,219 \pm 0,024$
3.	K-	0,248	0,237	0,254	0,277	$0,254 \pm 0,017$
4.	P1	0,312	0,321	0,265	0,299	$0,299 \pm 0,025$
5.	P2	0,164	0,164	0,22	0,108	$0,164 \pm 0,046$
6.	P3	0,274	0,183	0,239	0,26	$0,239 \pm 0,040$

Keterangan : K = kelompok kontrol, K+ = kontrol positif, pemberian polisakarida krestin, K- = kontrol negatif, dipapar *S. aureus*, P1 = pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*, P2 = pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*, P3 = pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*.

**Tabel 4.3.** Data konsentrasi interleukin-23 serum setelah dipapar *S.aureus*

No.	Perlakuan	Nilai konsentrasi IL-23 (pg/mL) pada ulangan ke-...				Rata-rata $\pm$ SD (pg/mL)
		1	2	3	4	
1.	K	118,36	84,82	61,23	87,67	88,02 <sup>ab</sup> $\pm$ 23,44
2.	K+	73,11	97,26	88,62	96,29	88,82 <sup>ab</sup> $\pm$ 11,16
3.	K-	102,60	97,26	105,53	116,87	105,57 <sup>bc</sup> $\pm$ 8,28
4.	P1	134,45	139,03	110,93	127,88	128,07 <sup>c</sup> $\pm$ 12,31
5.	P2	63,03	63,03	89,09	38,54	63,42 <sup>a</sup> $\pm$ 20,64
6.	P3	115,38	71,72	98,23	108,47	98,45 <sup>b</sup> $\pm$ 19,16

Keterangan : Angka rerata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda signifikan berdasarkan hasil uji Duncan ( $p < 0,05$ ). K = kelompok kontrol; K+ = kontrol positif, pemberian polisakarida krestin; K- = kontrol negatif, dipapar *S. aureus*; P1 = pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*; P2 = pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*; P3 = pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*.

**Gambar 4.2** Grafik perbandingan rerata konsentrasi IL-23 pada setiap kelompok perlakuan

Pada **Tabel 4.3** dan **Gambar 4.2** dapat diketahui bahwa data dari kelompok P1 memiliki rerata konsentrasi IL-23 tertinggi, yaitu 128,07 pg/mL dan terendah pada kelompok P2, yaitu 63,42 pg/mL. Pada kelompok K, K+, K-, dan P3 memiliki rerata konsentrasi IL-23 masing-masing, yaitu 88,02 pg/mL, 88,82 pg/mL, 105,57 pg/mL, dan 98,45 pg/mL.

Distribusi data konsentrasi IL-23 menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan didapatkan bahwa distribusi data rerata konsentrasi IL-23 yang diperoleh yakni data berdistribusi normal dengan nilai probabilitas sebesar 0,976 ( $p > 0,05$ ). Data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas variansi (Levene test) dan didapatkan tingkat signifikansi sebesar 0,786 ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa variansi data yakni homogen sehingga memenuhi syarat untuk uji ANOVA. Pada uji ANOVA menunjukkan bahwa ada pengaruh waktu pemberian polisakarida krestin dengan signifikansi sebesar 0,001 ( $p < 0,05$ ). Data kemudian dilakukan analisis uji lanjutan (*Post Hoc*), yaitu uji Duncan untuk mengetahui beda signifikan pada setiap kelompok perlakuan.

Berdasarkan **Tabel 4.3** dan uji Duncan yang dapat diamati pada Lampiran 2 dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak polisakarida krestin dengan dosis 100 mg/Kg/BB selama hari ke 1-7 dan hari ke 23-28 terhadap setiap kelompok perlakuan menunjukkan adanya beda signifikan. Pada kelompok K (kelompok kontrol) dan K+ (kelompok kontrol positif) berbeda signifikan terhadap kelompok P1 yang merupakan kelompok dengan pemberian polisakarida sebelum paparan *S. aureus* dengan masing-masing konsentrasi, yaitu  $88,02 \pm 23,44$ ,  $88,82 \pm 11,16$  dan  $128,07 \pm 12,3$  pg/mL. Kelompok K- (kelompok kontrol negatif, dipapar *S. aureus*)



berbeda signifikan terhadap kelompok P2 yang merupakan kelompok dengan pemberian polisakarida krestin setelah paparan *S. aureus* dengan masing-masing konsentrasi, yaitu  $105,57 \pm 8,28$  dan  $63,42 \pm 20,64$  pg/mL. Kelompok P1 berbeda signifikan pada semua kelompok perlakuan kecuali kelompok K-, kelompok P2 menunjukkan adanya beda signifikan terhadap kelompok K-, P1, dan P3, dan kelompok P3 menunjukkan beda signifikan terhadap kelompok perlakuan P1 dan P2.

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Pembahasan pengaruh polisakarida krestin terhadap jumlah leukosit

*Staphylococcus aureus* memiliki adanya resistensi terhadap beberapa agen antimikroba (Grundman *et al.*, 2006). *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan resistensi terhadap beberapa obat, termasuk yang mengandung glikopeptida sehingga menyebabkan kesulitan dalam penanganan yang disebabkan oleh bakteri tersebut (Howden *et al.*, 2010; Van Hal *et al.*, 2012). Bakteri *S. aureus* memiliki infeksi dengan spektrum luas antara lain infeksi kulit superfisial sampai parah dan berpotensi fatal, serta penyakit invasif (Chaibenjawong dan Foster, 2011). Menurut Jawetz *et al.* (2008), *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin.

Senyawa yang memiliki kemampuan dalam meningkatkan respon imun dalam mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah polisakarida

krestin dari ekstrak *C. versicolor*. Polisakarida krestin (PSK) merupakan ekstrak dari jamur *C. versicolor* yang memiliki potensi sebagai immunomodulator yang bersifat stimulator sehingga dapat mengaktifkan sel imunokompeten untuk meningkatkan sistem imunitas tubuh (Jang *et al.*, 2009). Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh polisakarida krestin yang diberikan selama satu minggu berturut-turut bergantung pada kelompok perlakuan. Indikator yang digunakan dalam penelitian adalah jumlah leukosit dan konsentrasi interleukin-23 dengan paparan bakteri *S. aureus* pada *Mus musculus* yang diberikan dua kali yaitu pada hari ke-8 dan hari ke-22.

Polisakarida krestin mengandung 34-35% karbohidrat yang mengandung senyawa  $\beta$ -glukan sebesar 90-93% (Cui dan Chisti, 2003).  $\beta$ -Glukan merupakan bahan aktif dari PSK yang melimpah pada dinding sel jamur. Senyawa aktif  $\beta$ -glukan berhubungan dengan reseptor utama sistem imun yaitu *dectin-1*, *toll like receptor-2/6* (TLR-2/6) dan *Complement Receptor* (CR3). Sel imun target  $\beta$ -glukan meliputi makrofag, neutrofil, monosit, sel NK dan sel dendritik. Sebagai konsekuensinya, respons imun spesifik dan non spesifik dapat dimodulasi  $\beta$ -glukan dan berperan dalam opsonin dan non-opsonin fagositosis (Chi-Fung *et al.*, 2009).

Menurut Hong *et al.*, (2004),  $\beta$ -glukan yang dimasukkan ke dalam tubuh melalui oral memiliki resistensi terhadap asam sehingga bila masuk ke dalam lambung strukturnya tidak akan berubah.  $\beta$ -Glukan dalam usus akan melakukan kontak dengan makrofag yang terdapat pada dinding usus dibantu oleh sel M (*microfold*) yaitu sel yang terspesialisasi dan terdapat pada ileum. Sel M akan

mengambil  $\beta$ -glukan melalui pinositosis dan membawanya melalui dinding usus di mana beberapa sel makrofag dan sel imun lainnya menunggu. Kemudian  $\beta$ -glukan yang difagosit oleh makrofag akan didegradasi menjadi fragmen-fragmen, dan diangkut menuju sumsum tulang di mana fragmen-fragmen  $\beta$ -glukan hasil degradasi akan dilepaskan.

Menurut Ross dan Ross (2004) dalam Purnamasari (2010), di dalam sumsum tulang fragmen  $\beta$ -glukan yang berasal dari *C. versicolor* diketahui mempunyai kemampuan memstimulasi proliferasi dan diferensiasi *hemopoietic stem cell* melalui aktivasi sistem komplemen.  $\beta$ -Glukan mengaktifkan sistem komplemen dengan berikatan dengan iC3b yang terdapat pada *stem cell* yang selanjutnya *Complement Receptor type 3* (CR3) dari *stem cell* akan teraktivasi sehingga menginduksi *stem cell* untuk berproliferasi dan berdiferensiasi. CR3 yang merupakan reseptor dari  $\beta$ -glukan juga ditemukan pada makrofag. Ikatan antara  $\beta$ -glukan dengan CR3 menginduksi makrofag untuk mensekresikan sitokin yang mempengaruhi perkembangan *stem cell* leukosit.

$\beta$ -Glukan berikatan dengan makrofag pada reseptor CR3 yang merupakan reseptor gabungan dan mempunyai dua daerah pengikat. Daerah pertama bertanggung jawab untuk mengikat jenis komplemen yang larut dalam air dan dikenal sebagai CR3 (iC3b). C3 akan melekat pada antibodi spesifik yang berikatan dengan patogen yang ditargetkan dan mengopsoninnya. Daerah kedua pada reseptor CR3 mengikat ke karbohidrat pada sel-sel ragi atau jamur yang memungkinkan yang memungkinkan makrofag untuk mengenali jamur ragi sebagai “*nonself*” (Hong *et al.*, 2004).

Sistem imun dalam menanggapi antigen didukung oleh dua komponen utama, yaitu respon selular dan respon humoral. Respon imun selular meliputi mekanisme inflamasi dan fagositosis. Fagositosis merupakan pertahanan pertama dari respon selular yang dilakukan oleh monosit (makrofag) dan granulosit (neutrofil) (Irianto, 2005). Sel yang bekerja dalam proses fagosit tersebut merupakan jenis dari leukosit.

Leukosit mempunyai peranan dalam pertahanan seluler dan humoral organisme terhadap zat-zat asing. Leukosit dapat melakukan gerakan amuboid dan melalui proses diapedesis leukosit dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos antara sel-sel endotel dan menembus kedalam jaringan penyambung. Jumlah leukosit per mikroliter darah, pada orang dewasa normal adalah 4000-11000, waktu lahir 15000-25000, dan menjelang hari ke empat turun sampai 12000, pada usia 4 tahun sesuai jumlah normal. Variasi kuantitatif dalam sel-sel darah putih tergantung pada usia waktu lahir, 4 tahun dan pada usia 14 -15 tahun persentase khas dewasa tercapai (Effendi, 2003). Menurut Everds (2007), rerata jumlah leukosit normal pada mencit adalah sekitar 2000-10000 sel/ $\mu$ l.

Pembentukan sel darah putih disebut leukopoiesis. Proses pembentukan ini terjadi pada *stem cell* (sel induk) hemopoietik pluripoten, berdiferensiasi menjadi mioblas (sel kecil berinti besar, kromatin tersebar, tiga atau lebih nucleolus), sel berkembang membesar memiliki granula azurofilik menjadi promielosit (kromatin didalam inti yang lonjong tampak tersebar dan jelas) lalu promielosit ini membelah menjadi mielosit yang lebih kecil kemudian membentuk suatu jalur diferensiasi yang disebut *committed stem cell*. Sebelum berkembang menjadi

berbagai macam leukosit yang spesifik dibentuk terlebih dahulu suatu koloni pembentuk, yang disebut CFU-S (unit pembentuk koloni limfa) dan sebagian dibentuk pada sumsum tulang. Kemudian membentuk beberapa koloni yang diantaranya CFU-GM, yang nantinya berdiferensiasi menjadi netrofil, basofil, eosinofil, dan monosit, dan CFU-M yang akan berkembang menjadi megakariosit (Guyton dan Hall, 2007).

Berdasarkan analisis hitung jumlah leukosit dari penelitian ini dapat terlihat pada **Tabel 4.1** bahwa rerata jumlah leukosit terbanyak adalah  $10630 \text{ sel/mm}^3$  pada kelompok perlakuan P1, yaitu kelompok dengan pemberian polisakarida krestin sebelum paparan *S. aureus* yang bersifat sebagai tindakan pencegahan (preventif) dengan membantu menginduksi terbentuknya respon imun sehingga dengan adanya paparan bakteri tersebut tubuh penderita tidak mengalami penurunan sistem imun yang terlalu drastis. Hal ini didukung dengan pernyataan Taylor (2002), bahwa *Dectin-1* merupakan reseptor glukana mayor pada leukosit dan berperan dalam pengenalan terhadap partikel  $\beta$ -glukan dan reseptor glukana ini diekspresikan paling tinggi pada permukaan sel-sel myeloid (monosit atau makrofag, dan neutrofil). Selanjutnya,  $\beta$ -glukan menghambat kerja dari enzim caspase-3, sehingga dapat menghambat terjadinya apoptosis karena enzim tersebut merupakan enzim yang berperan dalam proses apoptosis. Di samping itu pula, makrofag membawa  $\beta$ -glukan ke sumsum tulang sehingga membantu sel-sel lain dalam sumsum tulang untuk meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel termasuk di dalamnya adalah sel leukosit.

Pada **Tabel 4.1** dapat terlihat beda spesifik pada kelompok perlakuan K- dengan kelompok perlakuan P2 dan P3. Kelompok perlakuan K- merupakan kelompok dengan paparan *S. aureus* tanpa pemberian polisakarida krestin dengan rerata jumlah leukosit, yaitu  $10500 \text{ sel/mm}^3$ . Hal ini didukung dengan pernyataan oleh Sadikin (2002), bahwa setiap saat tubuh akan selalu kontak dengan benda asing sehingga jumlah leukosit dapat berubah-ubah dari waktu ke waktu, dalam batas-batas yang masih bisa di kontrol oleh tubuh tanpa menimbulkan gangguan fungsi. Bila jumlah keseluruhan leukosit di atas  $10.000/\mu\text{L}$ , hal ini menandakan bahwa tubuh sedang terjadi konflik dengan benda asing dalam jumlah yang lebih besar dari biasanya, yang dapat disebabkan oleh berbagai hal seperti infeksi. Hal ini juga didukung juga oleh pernyataan Kresno (2001) bahwa pada proses fagositosis yang dilakukan oleh sel-sel monosit yang keluar dari sistem pembuluh darah yaitu makrofag yang akan berperan dalam mekanisme penyajian antigen (*Antigen Presenting Cell*) untuk menstimulasi respon sel limfosit. Sel limfosit merupakan inti dari respon imun spesifik yang akan mengenali berbagai antigen. Antigen sendiri merupakan substansi spesifik yang dapat merangsang suatu reaksi kekebalan yang spesifik.

Kelompok K- menunjukkan beda yang signifikan terhadap kelompok P2. Kelompok P2 yang merupakan kelompok dengan pemberian polisakarida krestin setelah paparan *S. aureus* menunjukkan penurunan jumlah leukosit dengan rerata jumlah leukosit, yaitu  $3860 \text{ sel/mm}^3$ . Hal ini dikarenakan dengan adanya infeksi oleh bakteri *S. aureus* memungkinkan terjadinya inflamasi, sehingga sel-sel leukosit banyak yang meninggalkan kapiler darah dengan menerobos antara sel-

sel endotel dan menembus ke dalam jaringan (diapedesis) menuju tempat yang terinfeksi dan dapat menyebabkan jumlah leukosit yang berada di sirkulasi darah menjadi berkurang. Hal ini didukung oleh Effendi (2003), bahwa leukosit dapat melakukan gerakan amuboid dan melakukan proses diapedesis, leukosit dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos antara sel-sel endotel dan menembus ke dalam jaringan.

Kelompok K- juga menunjukkan beda yang signifikan terhadap kelompok P3. Kelompok P3 yang merupakan kelompok dengan pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah paparan *S. aureus* juga menunjukkan penurunan jumlah leukosit dibanding dengan kelompok K-. Namun rerata jumlah leukosit pada kelompok P3 lebih tinggi dibanding kelompok P2. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok P3, pemberian PSK dilakukan dua kali, yaitu sebelum paparan bakteri yang dapat meningkatkan jumlah leukosit dan pemberian sesudah paparan bakteri yang menjadi kurang efektif untuk digunakan. Hal ini didukung oleh pernyataan Robison dan Morgan (2001), bahwa penurunan jumlah leukosit dapat disebabkan oleh serangan/invasi bakteri secara masif dan tiba-tiba pada jaringan yang rusak/mengalami trauma sehingga membuat sistem imun bekerja dengan mengerahkan inflamasi dan sitokin pada jaringan yang rusak tersebut, akibatnya jumlah leukosit jenis tertentu seperti neutrofil berkurang dalam sirkulasi darah. Oleh sebab itu, jumlah leukosit kelompok P3 tidak seagung kelompok P1 yang hanya dilakukan pemberian PSK sebelum paparan bakteri *S. aureus*.

Meskipun terjadi penurunan jumlah leukosit pada kedua kelompok, yaitu pada kelompok P2 dan P3 yang berpotensi terjadi penurunan sistem kekebalan

tubuh, penurunan tersebut masih dapat dikategorikan jumlah leukosit normal. Hal ini didukung dengan pernyataan Everds (2007), bahwa rerata jumlah leukosit normal pada mencit adalah sekitar 2000-10000 sel/ $\mu$ l. Pada penelitian ini rerata jumlah leukosit pada kelompok P3, yaitu 4340 sel/ $\text{mm}^3$ .

#### **4.2.2 Pembahasan pengaruh polisakarida krestin terhadap konsentrasi Interleukin-23**

Pada penelitian ini juga menggunakan indikator konsentrasi sitokin untuk mengetahui respon imun terhadap paparan *S. aureus* dan juga pengaruh pemberian PSK. Menurut Karnen (2000), istilah sitokin sebagai pengganti nama sebelumnya yaitu limfokin. Limfokin pertama kali digunakan pada tahun 1960, untuk menyatakan golongan protein yang diproduksi limfosit dan diaktifkan pada respon imun seluler. Kemudian diketahui ternyata limfokin tidak hanya diproduksi oleh limfosit, akan tetapi juga oleh makrofag, granulosit, dan sel endotel. Oleh karena itulah istilah yang lebih tepat adalah sitokin.

Sitokin adalah protein dari sistem kekebalan tubuh yang dapat mempengaruhi perilaku sel dengan interaksi terhadap reseptor sitokin tertentu. Sitokin juga merupakan protein-protein kecil sebagai mediator dan pengatur immunitas, inflamasi, dan hematopoiesis. Sitokin ini dihasilkan sebagai respon terhadap stimulus sistem imun. Sitokin bekerja dengan mengikat reseptor-reseptor membran spesifik yang kemudian membawa sinyal ke sel melalui *second messenger* (tirosin kinase), untuk mengubah aktivitasnya (ekspresi gen) (Judarwanto, 2012).

Sitokin diproduksi secara temporer oleh sel sebagai suatu respon terhadap rangsangan, dan sitokin yang dibentuk segera dikeluarkan, tidak disimpan dalam



sel. Satu jenis sitokin dapat berefek pada beberapa jenis sel (pleiotropik), sedangkan efek yang ditimbulkannya dapat melalui berbagai mekanisme. Efek yang ditimbulkan melalui ikatan antara sitokin dengan reseptor spesifik pada permukaan sel, sering mempengaruhi sintesis dan berpengaruh terhadap sitokin yang lain. Sitokin bekerja sebagai mediator, imunitas non spesifik, dan pada imunitas spesifik (Karnen, 2000).

Jenis sitokin yang digunakan sebagai indikator dalam penelitian ini adalah Interleukin-23 (IL-23). IL-23 merupakan anggota keluarga sitokin IL-12 dan keduanya memiliki kesamaan struktur. IL-23 menstimulasi proliferasi sekelompok sel T yang disebut sel Th17. Sel Th17 ini berbeda dari sel Th1 dan Th2 karena mensekresi serangkaian sitokin proinflamasi yang spesifik, yaitu IL-17A, IL-17F, IL-26, dan IL-22. Sitokin yang dihasilkan oleh sel Th17 ini kemudian berperan penting pada langkah selanjutnya dalam patogenesis psoriasis, termasuk aktivasi dan proliferasi keratinosit dan sel endotel, menimbulkan inflamasi dan neovaskularisasi (Bettelli dan Kuchroo, 2005; Blauvelt, 2007).

Sekresi sitokin tersebut ada hubungannya dengan leukosit yang sudah mengenali molekul asing yang menginformasikan kepada sel-sel pertahanan tubuh lain atau mengaktifkan respon imun spesifik. Sel makrofag yang termasuk jenis leukosit yang keluar dari sirkulasi darah selanjutnya akan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC). Menurut D'Elia *et al.* (2011), pada saat sel Th mengenali antigen yang dipresentasikan oleh APC, sitokin memainkan peran penting untuk memunculkan respon sel T. Adanya IL-23 dan IL-1 sel Th naive berdiferensiasi menjadi sel Th17. Pernyataan tersebut dapat dibuktikan pada

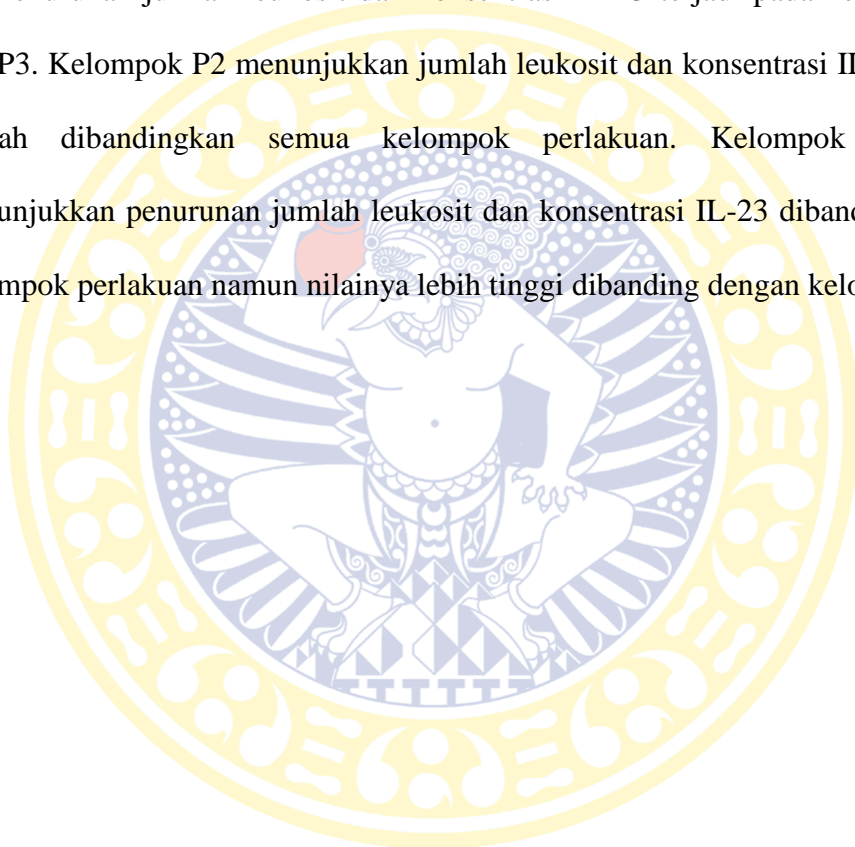
penelitian ini, pada **Tabel 4.3** dan **Gambar 4.2** dapat dilihat bahwa hasil dan analisis konsentrasi IL-23 sesuai dengan rerata jumlah leukosit. Konsentrasi IL-23 tertinggi yakni pada kelompok P1. Hal ini sesuai dengan hasil jumlah leukosit pada kelompok P1 yang mengalami peningkatan dengan rerata jumlah tertinggi dari semua kelompok. Peningkatan jumlah leukosit tersebut memungkinkan peningkatan jumlah sel monosit keluar dari sirkulasi darah menjadi makrofag yang akan berperan sebagai sel penyaji (*Antigen Presenting Cell*, sel APC). Namun kelompok P1 tidak berbeda spesifik pada semua kelompok.

Beda signifikan konsentrasi IL-23 terlihat pada kelompok perlakuan K- dengan kelompok perlakuan P2. Kelompok K- merupakan kelompok kedua dengan konsentrasi IL-23 tertinggi setelah kelompok perlakuan P1 yang diberikan polisakarida krestin sebelum paparan *S. aureus*. Konsentrasi IL-23 pada kelompok perlakuan P2 dan P3 mengalami penurunan dibanding semua kelompok. Hal ini sesuai dengan rerata jumlah leukosit yang juga mengalami penurunan pada kelompok P2 dan P3 sehingga sekresi IL-23 oleh APC juga berkurang. Pada kelompok P3 baik pada jumlah leukosit maupun konsentrasi IL-23 nilainya lebih tinggi dibanding dengan kelompok P2.

Pada kelompok K+ yang merupakan kelompok dengan pemberian polisakarida krestin tanpa paparan *S. aureus* rerata baik jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 mengalami peningkatan dengan nilai yang tidak jauh berbeda pada kelompok K (kontrol) dan tidak berbeda signifikan pada semua kelompok. Hal ini sesuai dengan pernyataan Szeto (2013), bahwa penggunaan ekstrak *C. versicolor* tidak memberikan reaksi serius yang merugikan ataupun efek

samping dari penggunaannya. Selain itu ekstrak dari *C. versicolor* tidak memberikan pengaruh pada sistem imun pada host normal.

Respon tubuh dengan indikator jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 menunjukkan pola hasil yang sama terhadap pemberian polisakarida krestin. Jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 mengalami peningkatan pada kelompok P1. Penurunan jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 terjadi pada kelompok P2 dan P3. Kelompok P2 menunjukkan jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 paling rendah dibandingkan semua kelompok perlakuan. Kelompok P3 juga menunjukkan penurunan jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23 dibanding semua kelompok perlakuan namun nilainya lebih tinggi dibanding dengan kelompok P2.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Waktu pemberian polisakarida krestin ekstrak *Coriolus versicolor* berpengaruh terhadap jumlah leukosit pada *Mus musculus* yang dipapar *Staphylococcus aureus*. Pemberian sebelum dipapar (P1) merupakan waktu yang potensial untuk meningkatkan jumlah leukosit.
2. Waktu pemberian polisakarida krestin ekstrak *Coriolus versicolor* berpengaruh terhadap konsentrasi Interleukin (IL-23) pada *Mus musculus* yang dipapar *Staphylococcus aureus*. Pemberian sebelum dipapar (P1) juga merupakan waktu yang potensial untuk meningkatkan konsentrasi IL-23.

#### 5.2 Saran

Penulis menyarankan pemberian polisakarida krestin dari ekstrak *Coriolus versicolor* dilakukan sebelum dipapar *Staphylococcus aureus* karena dapat meningkatkan jumlah leukosit dan konsentrasi IL-23.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., dan Pober, J.S., 2000, *Cellular and Molecular Immunology Edisi 4*, WB Saunders Co., USA.
- Arican, O., Aral, M., Sasmaz, S., dan Ciragil, P., 2005, Serum Levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in Patients with Active Psoriasis and Correlation with Disease Severity, *Med. Inflamm.*, 5: 273-79.
- Barrie III, A.M. dan Plevy, S. E., 2005, The Interleukin-12 family of cytokines: therapeutic targets for inflammatory disease mediation, *Clin. App. Immunol.*, Rev. 5: 225-40.71.
- Bettelli, E. dan Kuchroo, V. K., 2005. IL-22 and IL-23 induced T helper cell subsets: birds of the same feather flock together, *J. Exp. Med.*, 201(2) :169.
- Blauvelt, A., 2007, New concept in the pathogenesis and treatment of psoriasis: key roles for IL-23, IL-17A and TGF- $\beta$  1, *Exp. Rev. Dermatol.*, 2(1): 69-78.
- Boyer, R. R., 2015, *Common foodborne Pathogen : Staphylococcus aureus. Extension Specialist, Food Science and Technology*, Virginia Tech.
- Bratawidjaja, K. G., 2006, *Imunologi Dasar Edisi 7*, Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Chaibenjawong, P. dan Foster, S.J., 2011, Dessiccation Tolerance in *Staphylococcus aureus*, *Arch. Microbiol.*, 193 (2): 125–135.
- Chaves, F. B. dan Tierno D. Xu., 2006, Neutrophil Volume Distribution A New Automated Hematologic Parameter for Acute Infection, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 130 : 378-380.
- Chi-Fung, C. G., Wing, KC., dan Daniel, M. 2009. The effects of  $\beta$ -Glucan on Human Immune and Cancer Cells. *J. Hematol. Oncol.*, 2: 25.
- Chu KKW, Ho SSS, dan Chow AHL., 2002, *Coriolus versicolor*: A medicinal mushroom with promising immunotherapeutic values, *J. Clin. Pharmacol.*
- Cui, J. dan Chisti, Y., 2003, Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: Physiological Activity, Uses and Production, *Biotechnol. Adv.*, 21: 109-122.
- D'Elios, M. M., Benagiano, M., Bella, C. D., dan Amedei, A., 2011, T-Cell Response To Bacterial Agents, *J. Infect. Dev. Ctries.*, 5 (9): 640-645.
- Effendi Z. 2003. *Peranan Leukosit sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh*. Fakultas Kedokteran : Universitas Sumatera Utara.

- Fisher, M. dan Yang L. X., 2002, Anticancer Effects and Mechanisms of Polysaccharide-K (PSK): Implications of Cancer Immunotherapy. *Publisher MEDLINE*, 1737: 54.
- Grundman H, Aires de Sousa M, Boyce J, dan Tiemersma E., 2006, Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat, *Lancet*, 368: 874–885.
- Guyton A.C. and J.E. Hall. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: EGC.
- Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L., dan Dragacci, S., 2012, *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation, *FEMS Microbiol, Rev.*, 36 (4),815–836.
- Ho, C.Y., Kim, C.F., Lueng, K. N., Fung, K.P., Tse, T.F., Chan, H., and Lau, C.B.S., 2006, *Coriolus versicolor* Extract Induces Apoptosis in Leukimia Cell Trough Mitochondrial Pathway, *Onchology Report*, 16: 609-61.
- Hong, F., Y. Jun, T. B. Jarek, J. Daniel, D. Richard, R. Gary, X.X. Pei, K. Nai, Cheung dan D. R. Gordon, 2004, Mechanism by which orally administered beta-1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models, *J. Immunol*, 173: 797-806.
- Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, dan Grayson ML., 2010, Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications, *Clin. Microbiol. Rev.*, 23: 99–139.
- Irianto, A. 2000. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Jang, S. A., K. Park., J. D. Lim., S. Kang., K. H. Yang., S. Pyo., dan E. H. Sohn., 2009. The Comparative Immunomodulatory Effects Of  $\beta$ -Glucan From Yeast, Bacteria, And Mushroom On The Function On Macrophages, *Journal of food science and nutrition*, 14: 102-108
- Jawetz, E., J. L. Melnick, dan E.A. Adelberg. 2008. *Medical Microbiology*, 23<sup>nd</sup> Ed. The Mc. Graw-Hill Companies, Inc. America
- Jong SC dan Birmingham JM., 1993, Medicinal and therapeutic value of the Shiitak mushroom, *Adv. Appl. Microbial.*, 39: 153-84.
- Judarwanto, Widodo. 2012. Imunologi Dasar: Sitokin dan aspek klinisnya. <http://allergycliniconline.com>. diakses pada tanggal 10 November 2015.

- Karnen, G. B., 2000. *Imunologi Dasar Edisi keempat*. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Keizer, G. J., 1998, *The Complete Encyclopedia of Mushroom*, Rebo Publisher, Lisse, The Netherland.
- Kresno, S. B., 2001. *Immunology: diagnosa dan prosedur laboratorium*. Edisi ketiga. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 8-14.
- Lamaison, Jean-Louis dan Polese, Jean-Marie. 2005. *The Great Encyclopedia of Mushrooms*. English Edition. Koneman. London.
- Li P. dan Galtin III DM. 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future application. *Aquac*. 251: 141-152.
- Lowy, F.D., 1998, *Staphylococcus aureus* infections, *N. Engl. J. Med.*, 339: 520–532.
- Made, J. I., 2006. Interaksi Antara Antimikroba Dengan Sistem Fagosit Neutrofil Dan Monosit/ Makrofag. *DEXA MEDICA*, 2: 19.
- Munasir, Zakiudin. 2001. Respon Imun Terhadap Infeksi Bakteri. *Sari Pediatri*. 2 : 193-197.
- Ooi, V. E. dan Liu F. E., 2000, *Immunomodulator and Anticancer Activity of Polysaccharide – Protein Complexes*, National Library of Medicine, Current Medicinal Chemistry.
- Pietro, P. 2003. Composition for Preventif and/or Treatment of Lipid Metabolism Disorders and Allergic Form. <http://freepatent online.com>. Diakses pada tanggal 24 Mei 2015 pukul 20.55 WIB
- Prescott, L. M, P. H. John and A.K. Donald. 2003. *Microbiology*. Mc. Graw Hill Higher Education. Singapura.
- Purnamasari, Risa. 2010. Biodiaktivitas polisakarida krestin dari jamur *Coriolus versicolor* terhadap hitung jenis leukosit mencit yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. *Skripsi*. Universtias Airlangga. Surabaya.
- Robison, R. D., and Morgan, T. 2001. Acute Leukopenia A Case Study. *J. Lab. Med.* 32(6): 323-326.
- Ross, G. D., dan T. J. D. Ross., 2004. Effect Of Beta Glucan On Stem Cell Requitment And Tissue Repair. <http://www.freepatentsonline.com>. Akses 02-01-10.

- Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F. C. Neidhardt, and C. G. Roy. 1994. *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*. 3rd ed. Connecticut: Appleton & Lange. p.254.
- Sadikin, Mohamad, Haji DSc., 2002. *Biokimia Darah Cetakan I*. Jakarta : Widya Medika.
- Szeto, M., 2013. *Coriolus versicolor* extracts: relevance in cancer. *Management current oncology*. 14-6.
- Taylor, P. R., Brown, G. D., Reid, D. M., Willment, J. A., Pomares, L. M., Gordon, S., Wong Y. C. S., 2002. The  $\alpha$ -Glucan Receptor, Dectin-1, Is Predominantly Expressed On The Surface Of The Monocyte/ Macrophage And Neutrophil Lineages. *J. Immunol*. 169 : 3876-3882.
- Todar, Kenneth. 2012. Online Textbook of Bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net>. Diakses pada tanggal 07 Juni 2016 pukul 21.01 WIB.
- Tzinabos, A. 2000. Polysaccharide Immunomodulators As Therapeutic Agents: Structural Aspect And Biologic Function. *Clinical Microbiology Reviews*, 2000, 13: 523-533.
- Ulrike L, Niedermeyer THJ, dan Jülich WD., 2005, The Pharmacological Potential of Mushrooms, *eCAM*, 2: 285-99.
- Van Hal SJ, Lodise TP, dan Paterson DL., 2012, The Clinical Significance Of Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration In *Staphylococcus Aureus* Infections: A Systematic Review And Meta-Analysis, *Clin. Infect. Dis.*, 54: 755-771.
- Wahab, S. dan Julia, M., 2002, *Sistem Imun Imunisasi dan Penyakit Imun*, Edisi Pertama, Widya Medika, Jakarta.
- Wahyuningsih, S. P. A. dan Darmanto, W., 2010, *Uji Toksisitas Akut Polisakarida Krestin dari Ekstrak dan Miselium Jamur Coriolus versicolor: Upaya Menggali Potensi Bahan Hayati sebagai Imunomodulator Respon Imun Terhadap Mycobacterium tuberculosis*, Laporan Penelitian, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Wahyuningsih, S. P. A., 2006, *Pemanfaatan Ekstrak Jamur Coriolus versicolor sebagai Imunomodulator Respon Imun Non-spesifik pada Tikus Putih Akibat Infeksi M. tuberculosis*, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Penelitian DIPA Universitas Airlangga.
- Warsa, U. C., 1994, *Kokus Positif Gram dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*, Binarupa Aksara, Jakarta.



- Wong, C. K., P. S. Tse., E. L., Wong., P. C. Leung., K. P. Fung., dan C. W. Lam., 2004, Immunomodulatory effects of Yun Zhi and Danshen capsules in healthy subjects-a randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study, *Int. Immunopharmacol.*, 4 : 321-332.
- Wresdati, T., Astawan, M., dan Hastanti, L. Y., 2006, Profil Imunohistokimia Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Hati Tikus dengan Kondisi Hiperkolesterolemia, *J. Hayati*, 85-89..
- Zhou XW, Hua J, Lin J, dan Tang KX., 2007, Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extracts on human liver cancer and breast cancer cell line, *Afr. J. Biotechnol.*, 6: 1740-43.



### Lampiran 1. Pembuatan Larutan Polisakarida Krestin

- ) Konsentrasi polisakarida krestin yang digunakan adalah 100 mg/kg berat badan. Berat badan mencit (*Mus musculus*) sekitar 25 gram. Jadi, kadar polisakarida krestin pada mencit adalah :

$$\text{berat badan mencit} \times \text{konsentrasi PSK} = \frac{25}{1000} \times 100 = 2,5 \text{ mg}$$

- ) Ekstrak polisakarida krestin dari *Coriolus versicolor* dilarutkan dalam aquades. Larutan ini sebagai larutan PSK stok. Kadar PSK stok belum diketahui sehingga perlu diukur menggunakan metode *Phenol-Sulphuric Acid*. Berikut langkah-langkah pengukuran kadar PSK stok :

1. 10  $\mu\text{l}$  larutan PSK stok ditambahkan 90  $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O dan 50  $\mu\text{l}$  fenol dalam tabung reaksi. Larutan tersebut kemudian divortex selama 1 menit
2. Setelah itu, ditambahkan 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan diinkubasi dalam suhu kamar selama 10 menit
3. Campuran larutan tersebut diukur dalam spektrovotometer UV dengan  $\lambda = 490 \text{ nm}$
4. Larutan blanko yang digunakan yaitu 100  $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O ditambahkan 50  $\mu\text{l}$  fenol dan kemudian divortex selama 1 menit. Selanjutnya langkah larutan blanko sama dengan langkah 2 dan 3.

- ) *Optical density* (OD) dari larutan PSK stok adalah = 0,605 . Jadi, kadar larutan PSK stok adalah :

$$y = \frac{(0,008x + 0,002)}{10 \mu\text{l}}$$

$$x = \frac{(y - 0,002)}{0,008}$$

$$x = \frac{(0,605 - 0,002)}{0,008}$$

$$= 7,5375 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{l}}$$

Keterangan :  
X = kadar PSK  
Y = nilai OD

- ) Jadi, pembuatan larutan PSK dengan konsentrasi 2,5 mg/ BB mencit sebagai berikut :

Volume PSK stok

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{konsentrasi PSK dalam mencit}}{\text{konstrasi PSK tok}} \times \text{Volume PSK yang dibuat} \\ &= \frac{2,5}{7,5375} \times 100 \approx 33 \text{ ml} \end{aligned}$$

- ) 100 ml PSK dengan konsentrasi 100 mg/kg BB dibuat dari 33 ml larutan PSK stok ditambah 67 ml H<sub>2</sub>O

## Lampiran 2 : Penghitungan Jumlah Leukosit

### 2.1 Data Jumlah Leukosit

Perlakuan	Ulangan	Bilik I				Bilik II				Jumlah	Leukosit
		1	2	3	4	1	2	3	4		
K	1	28	32	36	28	28	24	28	16	220	2750
	2	48	28	44	28	28	40	44	24	284	3550
	3	52	32	36	36	56	44	48	32	336	4200
	4	108	32	36	56	72	44	68	72	488	6100
	5	84	76	64	80	120	108	88	128	748	9350
K+	1	40	28	52	68	68	52	56	28	392	4900
	2	28	44	16	68	28	16	20	24	244	3050
	3	60	28	16	36	48	44	44	56	332	4150
	4	44	68	100	96	32	80	68	48	536	6700
	5	152	92	84	68	60	76	52	100	684	8550
K-	1	48	56	68	72	96	76	68	76	560	7000
	2	72	76	40	80	68	100	88	124	648	8100
	3	116	148	120	132	156	108	120	132	1032	12900
	4	68	68	84	152	148	156	132	124	932	11650
	5	136	160	120	108	144	108	148	104	1028	12850
P1	1	80	64	76	76	96	72	80	96	640	8000
	2	76	72	80	80	48	76	44	36	512	6400
	3	80	96	80	84	80	100	76	64	660	8250
	4	200	232	132	148	156	168	228	208	1472	18400
	5	156	116	68	104	184	84	144	112	968	12100
P2	1	52	40	36	32	20	20	28	32	260	3250
	2	12	116	24	36	32	36	20	16	292	3650
	3	44	56	16	40	36	20	28	44	284	3550
	4	68	56	16	56	52	28	12	72	360	4500
	5	40	24	40	44	44	44	64	48	348	4350
P3	1	48	52	32	56	56	72	48	44	408	5100
	2	32	32	16	32	20	16	32	28	208	2600
	3	60	56	56	48	64	68	52	52	456	5700
	4	20	48	24	32	36	44	60	20	284	3550
	5	40	56	40	36	76	44	36	52	380	4750

Keterangan :

K : kelompok kontrol

K+ : kontrol positif, pemberian polisakarida krestin

K- : kontrol negatif, dipapar *S. aureus*

P1 : pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*

P2 : pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*

P3 : pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*

## 2.2 Analisis Statistik Jumlah Leukosit

## a. Deskripsi data

**Descriptives**

Jumlah\_Leukosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	5190,00	2634,246	1178,070	1919,15	8460,85	2750	9350
2	5	5470,00	2175,029	972,702	2769,35	8170,65	3050	8550
3	5	10500,00	2766,541	1237,235	7064,89	13935,11	7000	12900
4	5	10630,00	4822,033	2156,479	4642,66	16617,34	6400	18400
5	5	3860,00	538,981	241,039	3190,77	4529,23	3250	4500
6	5	4340,00	1249,700	558,883	2788,29	5891,71	2600	5700
Total	30	6665,00	3779,440	690,028	5253,73	8076,27	2600	18400

## b. Uji normalitas

<b>One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test</b>		
		jumlah_leukosit
N	30	
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6313,33
	Std. Deviation	3888,709
Most Extreme Differences	Absolute	,189
	Positive	,189
	Negative	-,157
Kolmogorov-Smirnov Z	1,036	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,233	
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

## c. Uji homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

Jumlah\_Leukosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,821	5	24	,011

## E. Brown-Forsythe

**Robust Tests of Equality of Means**

Jumlah\_Leukosit

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	6,389	5	11,744	,004

a. Asymptotically F distributed.

## F. Uji Games-Howell

	K	K+	K-	P1	P2	P3
K		TS	TS	TS	TS	TS
K+			TS	TS	TS	TS
K-				TS	S	S
P1					TS	TS
P2						TS
P3						

Keterangan :

TS : tidak signifikan

S : signifikan

K : kelompok kontrol

K+ : kontrol positif, pemberian polisakarida krestin

K- : kontrol negatif, dipapar *S. aureus*P1 : pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*P2 : pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*P3 : pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah\_Leukosit

Games-Howell

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	(K+)	-280,000	1527,743	1,000	-5913,10	5353,10
	(K-)	-5310,000	1708,391	,104	-11555,81	935,81
(K)	(P1)	-5440,000	2457,285	,346	-15115,60	4235,60
	(P2)	1330,000	1202,477	,859	-4142,92	6802,92
	(P3)	850,000	1303,917	,981	-4429,98	6129,98
	(K)	280,000	1527,743	1,000	-5353,10	5913,10
	(K-)	-5030,000	1573,817	,096	-10862,49	802,49
(K+)	(P1)	-5160,000	2365,703	,367	-14834,33	4514,33
	(P2)	1610,000	1002,123	,631	-2874,68	6094,68
	(P3)	1130,000	1121,829	,901	-3243,81	5503,81
	(K)	5310,000	1708,391	,104	-935,81	11555,81
	(K+)	5030,000	1573,817	,096	-802,49	10862,49
(K-)	(P1)	-130,000	2486,192	1,000	-9825,95	9565,95
	(P2)	6640,000*	1260,496	,030	882,66	12397,34
	(P3)	6160,000*	1357,608	,032	609,75	11710,25
	(K)	5440,000	2457,285	,346	-4235,60	15115,60
	(K+)	5160,000	2365,703	,367	-4514,33	14834,33
(P1)	(K-)	130,000	2486,192	1,000	-9565,95	9825,95
	(P2)	6770,000	2169,908	,173	-3387,06	16927,06
	(P3)	6290,000	2227,723	,211	-3632,47	16212,47
	(K)	-1330,000	1202,477	,859	-6802,92	4142,92
	(K+)	-1610,000	1002,123	,631	-6094,68	2874,68
P2	(K-)	-6640,000*	1260,496	,030	-12397,34	-882,66
	(P1)	-6770,000	2169,908	,173	-16927,06	3387,06
	(P3)	-480,000	608,646	,959	-2990,44	2030,44
	(K)	-850,000	1303,917	,981	-6129,98	4429,98
	(K+)	-1130,000	1121,829	,901	-5503,81	3243,81
(P3)	(K-)	-6160,000*	1357,608	,032	-11710,25	-609,75
	(P1)	-6290,000	2227,723	,211	-16212,47	3632,47
	(P2)	480,000	608,646	,959	-2030,44	2990,44

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Lampiran 3 : Konsentrasi Interleukin-23

#### 3.1 Kurva standart Interleukin-23

##### a. Data konsentrasi dan OD interleukin-23 standart

No.	Konsentrasi (pg/ml)	Nilai OD (pg/ml)
1.	2000	4,149
2.	1000	3,470
3.	500	3,407
4.	250	2,442
5.	125	1,386
6.	62,5	0,815
7.	31,3	0,579
8.	15,6	0,410

##### b. Kurva standart Interleukin-23

#### Model Description

Model Name	MOD_2
Dependent Variable	1 OD
Equation	1 Logarithmic
Independent Variable	Konsentrasi
Constant	Included
Variable Whose Values Label Observations in Plots	Unspecified

#### Case Processing Summary

	N
Total Cases	8
Excluded Cases <sup>a</sup>	0
Forecasted Cases	0
Newly Created Cases	0

a. Cases with a missing value in any variable are excluded from the analysis.

### Variable Processing Summary

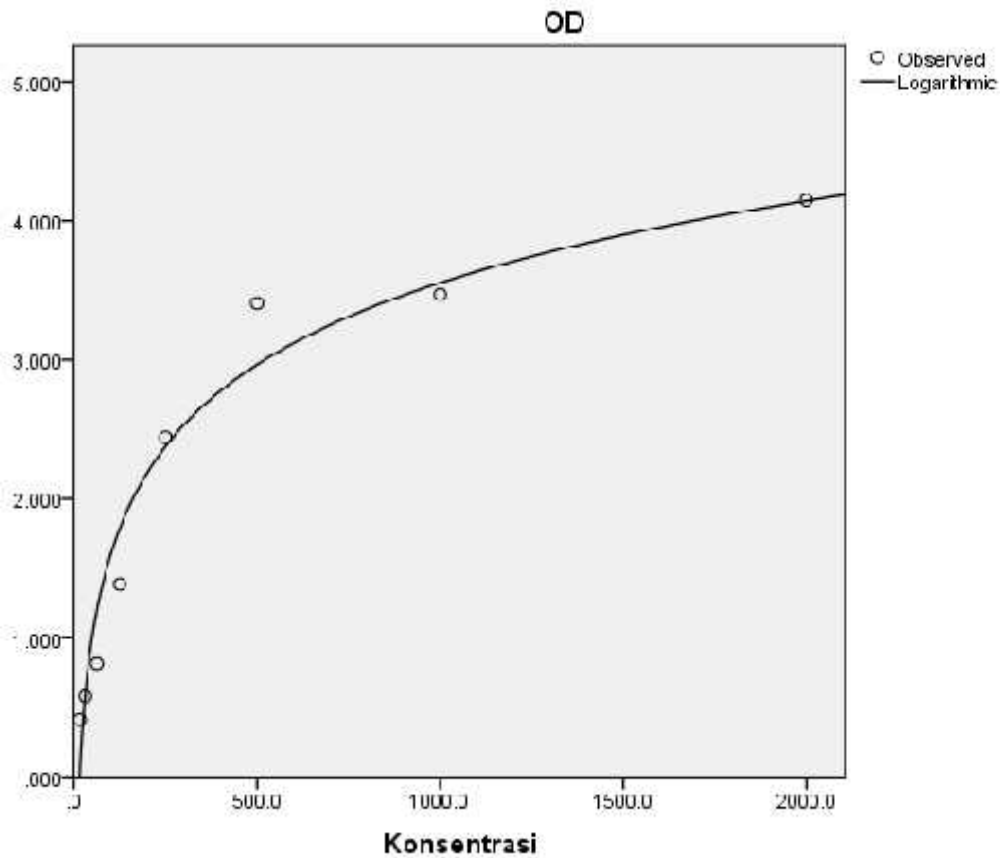
		Variables	
		Dependent	Independent
		OD	Konsentrasi
Number of Positive Values		8	8
Number of Zeros		0	0
Number of Negative Values		0	0
Number of Missing Values	User-Missing	0	0
	System-Missing	0	0

### Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: OD

Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Logarithmic	.956	130.693	1	6	.000	-2.313	.849

The independent variable is Konsentrasi.





3.2 Nilai OD Interleukin-23 serum setelah dipapar *S.aureus*3.2.1 Data OD interleukin-23 serum setelah dipapar *S.aureus*

No	Perlakuan	Nilai OD IL-23 pada ulangan ke-...				Rata-rata $\pm$ SD
		1	2	3	4	
1.	K	0,28	0,211	0,16	0,217	0,217 $\pm$ 0,049
2.	K+	0,186	0,237	0,219	0,235	0,219 $\pm$ 0,024
3.	K-	0,248	0,237	0,254	0,277	0,254 $\pm$ 0,017
4.	P1	0,312	0,321	0,265	0,299	0,299 $\pm$ 0,025
5.	P2	0,164	0,164	0,22	0,108	0,164 $\pm$ 0,046
6.	P3	0,274	0,183	0,239	0,26	0,239 $\pm$ 0,040

Keterangan :

K : kelompok kontrol

K+ : kontrol positif, pemberian polisakarida krestin

K- : kontrol negatif, dipapar *S. aureus*P1 : pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*P2 : pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*P3 : pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*3.2.2 Data konsentrasi interleukin-23 serum setelah dipapar *S.aureus*

No.	Perlakuan	Nilai konsentrasi IL-23 pada ulangan ke-...				Rata-rata $\pm$ SD
		1	2	3	4	
1.	K	118,36	84,82	61,23	87,67	88,02 $\pm$ 23,44
2.	K+	73,11	97,26	88,62	96,29	88,82 $\pm$ 11,16
3.	K-	102,60	97,26	105,53	116,87	105,57 $\pm$ 8,28
4.	P1	134,45	139,03	110,93	127,88	128,07 $\pm$ 12,31
5.	P2	63,03	63,03	89,09	38,54	63,42 $\pm$ 20,64
6.	P3	115,38	71,72	98,23	108,47	98,45 $\pm$ 19,16

Keterangan :

K : kelompok kontrol

K+ : kontrol positif, pemberian polisakarida krestin

K- : kontrol negatif, dipapar *S. aureus*P1 : pemberian polisakarida krestin sebelum dipapar *S. aureus*P2 : pemberian polisakarida krestin setelah dipapar *S. aureus*P3 : pemberian polisakarida krestin sebelum dan setelah dipapar *S. aureus*

## 3.2.3 Analisis statistik konsentrasi interleukin-23

## a. Deskripsi data

**Descriptives**

Konsentrasi\_IL23

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					1	4		
2	4	88,8200	11,16361	5,58181	71,0562	106,5838	73,11	97,26
3	4	105,5650	8,27785	4,13893	92,3931	118,7369	97,26	116,87
4	4	128,0725	12,31045	6,15523	108,4838	147,6612	110,93	139,03
5	4	63,4225	20,64193	10,32096	30,5766	96,2684	38,54	89,09
6	4	98,4500	19,16217	9,58109	67,9587	128,9413	71,72	115,38
Total	24	95,3917	24,90353	5,08341	84,8758	105,9075	38,54	139,03

## b. Uji normalitas

<b>One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test</b>		
		Konsentrasi_IL23
N		24
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	95,3917
	Std. Deviation	24,90353
Most Extreme Differences	Absolute	,098
	Positive	,070
	Negative	-,098
Kolmogorov-Smirnov Z		,479
Asymp. Sig. (2-tailed)		,976
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		

## c. Uji homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

Konsentrasi\_IL23

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,481	5	18	,786

## d. Uji ANOVA

**ANOVA****Konsentrasi\_IL23**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9201,771	5	1840,354	6,543	,001
Within Groups	5062,505	18	281,250		
Total	14264,277	23			

## e. Uji Duncan

**Konsentrasi\_IL23**Duncan<sup>a</sup>

Kel_perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	4	63,4225		
1	4	88,0200	88,0200	
2	4	88,8200	88,8200	
6	4		98,4500	
3	4		105,5650	105,5650
4	4			128,0725
Sig.		,056	,190	,074

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

## Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

No.	Gambar	Keterangan
1.		Pengelompokan hewan coba
2.		Persiapan alat dan bahan pembedahan hewan coba
3.		Pengambilan darah pada intracardiac untuk penghitungan leukosit
4.		Serum darah pada setiap kelompok perlakuan
5.		96 Well ELISA microplate

6.		Pengukuran nilai OD pada ELISA <i>reader</i>
----	---	--

