

**HUBUNGAN PEMBERIAN BERAS ANGKAK MERAH  
(*Monascus purpureus*) TERHADAP HITUNG LIMFOSIT  
PADA MENCIT Balb/C MODEL SEPSIS**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**NUR FARHANA BINTI NIK ABDULLAH  
G 0006508**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2010**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**Skripsi dengan judul : Hubungan Pemberian Beras Angkak Merah  
(*Monascus purpureus*) terhadap Hitung Limfosit pada Mencit  
Balb/C Model Sepsis**

Nur Farhana binti Nik Abdullah, G 0006508, Tahun 2010

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Pada Hari Senin, 19 Juli 2010

**Pembimbing Utama**

Nama : Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si  
NIP : 19680429 199903 1001

.....

**Pembimbing Pendamping**

Nama : Sarsono, Drs, M.Si  
NIP : 19581127 198601 1001

.....

**Penguji Utama**

Nama : RP. Andri Putranto, dr., M.Si  
NIP : 19630525 199603 1001

.....

**Anggota Penguji**

Nama : Sri Hartati H, Dra, Apt SU  
NIP : 19490709 197903 2001

.....

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

**Sri Wahjono, dr., MKes**  
NIP: 19450824 197310 1001

**Prof. DR. AA Subijanto, dr. MS.**  
NIP : 19481107 197310 1003

## **PERNYATAAN**

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

Surakarta, 19 Juli 2010

Nur Farhana binti Nik Abdullah  
G 0006508

## ABSTRAK

**NUR FARHANA BINTI NIK ABDULLAH, 2010.** Hubungan Pemberian Beras Angkak Merah (*Monascus purpurues*) terhadap Hitung Limfosit pada Mencit Balb/C Model Sepsis. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

**Tujuan.** Sepsis merupakan proses infeksi dan inflamasi yang ditandai dengan menurunnya kadar limfosit dalam sirkulasi sistemik sebagai respon terhadap faktor-faktor proinflamasi. Beras angkak merah mengandung *monascidin A* yang berperan sebagai antibakteri dan statin yang berperan sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian beras angkak merah terhadap hitung limfosit pada mencit model sepsis.

**Metode.** Jenis penelitian ini adalah experimental dengan metode *post-test only control group design*. Sampel yang digunakan adalah 27 ekor mencit Balb/C dengan berat badan  $\pm 25-35$  gram dan berumur 4-6 minggu. Teknik sampling yang digunakan adalah random sampling, dengan jumlah sampel 27 ekor dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing terdiri dari 9 ekor. Kelompok K sebagai kelompok kontrol, kelompok K1 sebagai kelompok model sepsis diinjeksi *cecal inoculum* 0,15ml/mencit/hari, dan kelompok K2 sebagai kelompok model sepsis yang diberi 4,68 mg/mencit/hari angkak dalam 0,2ml aquades peroral. Pada hari keenam semua mencit dikorbankan darahnya kemudian dibuat preparat apus darah tepi dengan pengecatan Giemsa untuk dilakukan hitung limfosit. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena syarat uji *Anova* tidak terpenuhi. Kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney Post Hoc Test*. Perbedaan signifikan bila  $p < 0,05$ .

**Hasil.** Penelitian memperlihatkan nilai rata-rata prosentase jumlah sel limfosit kelompok K 38,5%, K1 18,0%, dan K2 66,5%. Terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok perlakuan dan antar kelompok perlakuan.

**Simpulan.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian beras angkak merah dosis 4,68 mg/mencit dapat meningkatkan hitung limfosit pada mencit Balb/C model sepsis. Dapat disimpulkan bahwa ada hubungan pemberian beras angkak merah dengan hitung limfosit pada mencit model sepsis.

---

**Kata kunci :** Beras angkak merah, sepsis, limfosit

## ABSTRACT

**NUR FARHANA BINTI NIK ABDULLAH, 2010.** The Relation of Red Yeast Rice (*Monascus purpurues*) on Lymphocytes Count of Balb/C Sepsis-Induced Mice. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

**Background.** Sepsis which cause by infection and inflammation process can reduce the amount of lymphocyte in a systemic circulation as respond to the pro-inflammation factors. Red yeast rice contains a natural form of *monascidin A* which contain anti-bacteria and statin reacts as anti-inflammation factor.

**Objective.** This research demonstrates the relation of red yeast rice on lymphocyte count of sepsis-induced mice.

**Methods.** This research is experimental laboratory using post test only of control group design. The subjects were 27 Balb/C male mice (weight  $\pm$ 25-35 gram, age 4-6 weeks). This research is using random sampling to divide 27 mice into 3 groups, which each group consist of 9 mice. Group K as a control, group K1 as a treatment group which was injected with 0,15 ml/mice/day of cecal inoculums, and group K2 as a treatment group of sepsis-induced mice which was be given of 4,68 mg per mice everyday of red yeast rice 0,2 ml aquadest orally. In the sixth day, all mice are sacrificed in order to take their blood to be used in peripher blood smear and lymphocyte counts. The data was analyzed statistically by using *Kruskal Wallis Test* because the data was unfulfilling the requirement of *Anova Test*. Then the data was continued by *Mann Whitney Post Hoc Test* and using  $p < 0,05$  as a significance limit.

**Result.** This research showed the percentage of lymphocyte mean value of each group, K 38,5%, K1 18,0%, and K2 66,5%. There were significant differential in all groups and between them.

**Conclusion.** This research showed that the supplement of red yeast rice 4,68 mg/ mice could increase the lymphocytes count in Balb/C sepsis-induced mice. This can be concluded that the red yeast rice can affect the amount of lymphocytes count in sepsis-induced mice.

---

**Keyword:** Red yeast rice, sepsis, lymphocyte

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “**Hubungan Antara Pemberian Beras Angkak Merah (*Monascus purpureus*) Pada Mencit Model Sepsis**”.

Penulis skripsi ini disusun dengan sebagai salah satu syarat kelulusan tingkat sarjana di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Penelitian ini tidaklah dapat terselesaikan tanpa bantuan dari pelbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. A.A. Subijanto, dr. MS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
2. Sri Wahyono, dr., M.Kes, selaku ketua Tim Skripsi dan staf, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
3. Diding Heri Prasetyo, dr. M.Si, selaku pembimbing utama dan Ketua Tim skripsi yang telah banyak meluangkan waktu dan memberikan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
4. Sarsono, Drs. M.Si, selaku pembimbing pendamping atas segala bimbingan dan masukan yang sangat berharga yang telah beliau berikan selama penulisan skripsi.
5. RP. Andri Putranto dr. M.Si, selaku penguji utama yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan-masukan yang bermakna dalam penulisan skripsi ini.
6. Sri Hartati H, Dra. Apt SU, selaku penguji pendamping yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran untuk memperbaiki kekurangan dalam penulisan skripsi ini.
7. Segenap staf laboratorium Histologi dan Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNS atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Untuk emak, Fatimah bt Salam, dan abah, Nik Abdullah bin Mat, keluarga dan teman-teman yang tidak pernah berhenti berdoa dan memberikan dukungan yang tak ternilai harganya.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang turut membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis berharap semoga dapat membalas jasa pihak-pihak tersebut dan Allah SWT berkenan melimpahkan rahmat-Nya sebagai balasan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, maka kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada khususnya dan pembaca sekalian pada umumnya.

Surakarta, Juli 2010

Nur Farhana binti Nik Abdullah

## DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
<b>BAB I    PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II    LANDASAN TEORI</b>	
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Sepsis.....	5
2. Beras angkak merah.....	10
3. Limfosit.....	15
B. Kerangka Pemikiran.....	17
1. Kerangka berpikir konseptual.....	17
2. Kerangka berpikir teoritis.....	18
C. Hipotesis.....	19
<b>BAB III    METODE PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian.....	20

B. Lokasi Penelitian.....	20
C. Subjek Penelitian.....	20
D. Teknik Sampling.....	21
E. Identifikasi Variabel Penelitian.....	21
F. Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	22
G. Induksi Hewan Coba Model Sepsis.....	23
H. Perlakuan Pada Hewan Uji.....	24
I. Rancangan Penelitian.....	24
J. Instrumentasi Penelitian.....	25
K. Cara Kerja.....	26
L. Alur Penelitian.....	27
M. Analisis Data.....	28
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN</b>	
A. Data Hasil Penelitian.....	29
B. Analisis Data.....	31
<b>BAB V PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
<b>BAB VI SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Simpulan.....	36
B. Saran.....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Rata-rata Prosentase Jumlah Sel Limfosit.....	29
<b>Tabel 2.</b> Ringkasan hasil uji <i>Mann Whitney</i> .....	32
<b>Tabel 3.</b> Hasil Uji Normalitas.....	42
<b>Tabel 4.</b> Hasil Uji Statistik <i>Kruskal Wallis</i> kelompok K, K1 dan K2.....	42
<b>Tabel 5.</b> Hasil Uji Statistik <i>Mann Whitney</i> Kelompok K dan K1.....	43
<b>Tabel 6.</b> Hasil Uji Statistik <i>Mann Whitney</i> Kelompok K1 dan K2.....	44
<b>Tabel 7.</b> Hasil Uji Statistik <i>Mann Whitney</i> Kelompok K dan K2.....	44

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Limfosit.....	16
<b>Gambar 2.</b> Morfologi Limfosit Kelompok Kontrol.....	30
<b>Gambar 3.</b> Morfologi Limfosit Kelompok Sepsis.....	30
<b>Gambar 4.</b> Morfolosi Limfosit Kelompok Sepsis yang diberi Angkak....	31

## **DAFTAR LAMPIRAN**

**Lampiran 1.** Jumlah Hitung Limfosit Pada Tiap Kelompok Perlakuan

**Lampiran 2.** Hasil Uji Analisis *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*

**Lampiran 3.** Foto Alat dan Bahan Penelitian

**Lampiran 4.** Foto Kegiatan Penelitian

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Sepsis adalah suatu sindroma klinik yang terjadi karena adanya respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme (Guntur, 2008). Sepsis masih menjadi penyebab utama kematian di sejumlah *Intensive Care Unit (ICU)*. Selama Januari 2006-Disember 2007 di bagian PICU/NICU Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta, terdapat angka kejadian sepsis 33,5% dengan tingkat mortalitas sebesar 50,2% (Pudjiastuti, 2008).

Sepsis merupakan proses infeksi dan inflamasi yang kompleks. Hal tersebut dapat ditandai dengan menurunnya kadar limfosit dalam sirkulasi sistemik sebagai respon terhadap faktor-faktor proinflamasi. Overproduksi sitokin inflamasi akan menyebabkan aktivasi respon sistemik terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus, dan organ lainnya sehingga dapat terjadi apoptosis, nekrosis jaringan, *Multi Organ Dysfunction (MOD)*, syok septik, serta kematian.

Perkembangan terapi sepsis dengan obat-obatan akan berdampak secara mendasar pada morbiditas dan mortalitas sepsis. Konsep modulasi respon inflamasi sistemik menuju sepsis berat menyebabkan banyak obat-obatan antiinflamasi digunakan dalam uji coba klinis. Berdasarkan hasil penelitian tahap *Randomized Control Trials (RCTs)*, berbagai intervensi antilipopolisakarida (anti-endotoksin), anti-CD14, anti-LBP, anti-TNF $\alpha$ , interleukin-1-receptor antagonist, ibuprofen, kortikosteroid dosis tinggi, bradikinin antagonist, platelet-activating factor acetyl hydrolase, elastase

*inhibitor, nitric oxide synthase inhibitor* tidak memperlihatkan perbaikan kelangsungan hidup penderita sepsis (Russel, 2006; Guntur, 2008).

Salah satu upaya yang belakangan banyak diteliti untuk menangani masalah sepsis adalah penggunaan imunonutrisi. Pemberian nutrisi yang tepat sangat penting bagi kelangsungan hidup pada pasien penyakit kritis seperti sepsis (Gluck,2008). Konsep terkini imunonutrisi yang diberikan merupakan hasil kombinasi antara pemenuhan kebutuhan kalori dengan modulasi respon imun. Salah satu produk nutrisi yang banyak digunakan masyarakat untuk mencegah maupun mengobati berbagai macam penyakit ialah beras angkak merah. Beras angkak merah (*Monascus purpureus*) merupakan produk olahan fermentasi kapang *Monascus purpureus* dengan beras yang bermanfaat bagi kesehatan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wong et al. (1977,1981), diketahui bahwa *Monascus purpureus* mengandung *monascidin A* yang memiliki efek antibakteria terhadap sebagian besar *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Pseudomonas*. Penelitian lain membuktikan bahwa fermentasi *Monascus purpureus* mengandung statin yang berguna sebagai zat penurun kolesterol, zat antiinflamasi serta dapat membantu dalam pembentukan tulang (Yano et al,2007; Ogbru, 2009; Ricky & Bakr, 2008). Statin memiliki efek imunomodulasi, sebagaimana zat antiinflamasi yang dapat meningkatkan level limfosit akibat inflamasi. Penelitian terkini menunjukkan bahwa terapi statin berhubungan dengan penghambatan terjadinya *severe sepsis* pada manusia. Namun, sampai saat ini belum ada penelitian yang membuktikan bahwa beras angkak merah dapat digunakan sebagai imunonutrisi dalam penatalaksanaan sepsis.

Untuk membuktikan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui hubungan pemberian angkak merah pada mencit model sepsis terhadap limfosit serum. Pemberian beras angkak merah diharapkan memiliki potensi sebagai imunonutrisi dalam penatalaksanaan sepsis sehingga dapat menekan tingkat morbiditas dan mortalitas penderita sepsis.

## **B. Perumusan Masalah**

Adakah hubungan pemberian beras angkak merah (*Monascus purpureus*) terhadap hitung limfosit pada mencit balb/C model sepsis?

## **C. Tujuan Penelitian**

Mengetahui hubungan pemberian beras angkak merah terhadap hitung limfosit pada mencit balb/C model sepsis.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat Teoritis**

Penelitian ini dapat memberi masukan dalam ilmu pengetahuan tentang pengembangan beras angkak merah sebagai imunonutrisi (terapi *adjuvant*) pada kasus sepsis.

## 2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi langkah awal dalam penelitian tentang memanfaatkan beras angkak merah sebagai terapi *adjuvant* pada kasus sepsis.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Sepsis

###### a. Definisi Sepsis

Sepsis adalah suatu sindroma klinik yang terjadi sebagai manifestasi proses inflamasi imunologi karena adanya respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme. Sepsis merupakan puncak dari interaksi yang kompleks antara mikroorganisme penyebab infeksi, imun tubuh, inflamasi, dan respon koagulasi (Hotchkiss et al, 1999). Sepsis pada luka didefinisikan sebagai suatu kondisi di mana dijumpai bakteri  $10^5$  atau lebih pergram jaringan. Bakteri tersebut menginvasi ke jaringan sekitar secara progresif yang kemudian berkembang menjadi reaksi sistemik (Moenadjat, 2001)

Baik respon imun maupun karakteristik infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme mempunyai pengaruh yang besar dalam menentukan tingkat morbiditas pada sepsis. Sepsis dengan kegagalan fungsi organ primer terjadi ketika respon tubuh terhadap infeksi tidak cukup kuat. Permasalahan sepsis yang paling besar terletak pada karakteristik dari mikroorganisme, seperti beratnya infeksi yang diakibatkannya serta adanya superantigen maupun agen toksik lainnya yang resisten terhadap antibodi maupun fagositosis (Russell, 2006).

Untuk mencegah timbulnya kerancuan, disepakati standarisasi terminologi. Pada bulan Agustus 1991, telah dicapai konsensus yang dihasilkan *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine* beberapa pengertian tersebut di bawah ini:

- 1) Infeksi, respon inflamasi akibat adanya mikroorganisme yang secara normal pada jaringan tersebut seharusnya steril.
- 2) Bakteriemi, adanya bakteri hidup dalam darah
- 3) *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (sindroma reaksi inflamasi sistemik= SIRS), merupakan reaksi inflamasi masif sebagai akibat dilepasnya berbagai mediator secara sistemik yang dapat berkembang menjadi disfungsi organ atau *Multiple Organ Dysfunction* (MOD) dengan tanda klinis:
  - a) Temperatur  $>38,3^{\circ}\text{C}$  atau  $<35,6^{\circ}\text{C}$
  - b) Denyut jantung  $>90$  kali/menit



- c) Frekuensi nafas >20kali/menit atau PaCO<sub>2</sub><32 torr(<4,3 kPa)
  - d) Hitung leukosit >12.000 sel/mm<sup>3</sup> atau <4000sel/mm<sup>3</sup> atau ditemukan >1-% sel imatur.
- 4) Sepsis, SIRS yang disebabkan oleh infeksi
  - 5) Sepsis berat (*severe sepsis*), sepsis disertai disfungsi organ, yaitu kelainan hipotensi (tekanan sistolik <90mmHg atau terjadi penurunan >40mmHg dari keadaan sebelumnya tanpa disertai penyebab dari penurunan tekanan darah yang lain). Hipoperfusi atau kelainan perfusi ini meliputi timbulnya asidosis laktat, oligouria atau perubahan akut status mental.
  - 6) Syok septik, sepsis dengan hipotensi walaupun sudah dilakukan resusitasi cairan yang adekuat tetapi masih didapatkan gangguan perfusi jaringan (Eny, 2004).

#### **b. Etiologi Sepsis**

Sepsis sampai syok septik secara klasik telah diakui penyebabnya adalah bakteri gram negatif, tetapi mungkin juga disebabkan oleh mikroorganisme lain, gram positif, jamur, virus bahkan parasit. Timbulnya syok septik dan *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) sangat penting pada bakteriemia gram negatif. Syok terjadi pada 20%-35% penderita bakteriemia gram negative (John, 1994).

Produk yang berperan penting terhadap sepsis adalah lipopolisakarida (LPS). LPS atau endotoksin glikoprotein kompleks merupakan komponen utama membran terluar dari

bakteri gram negatif. Lipopolisakarida merangsang peradangan jaringan, demam dan syok pada penderita yang terinfeksi. Struktur lipid A dan LPS bertanggung jawab terhadap reaksi dalam tubuh penderita. *Staphylococci*, *pneumococci*, *streptococci* dan bakteri gram positif lainnya jarang menyebabkan sepsis, dengan angka kejadian 20%-40% dari keseluruhan kasus. Selain itu jamur oportunistik, virus (dengue dan herpes) atau protozoa (*Falciparum malariae*) dilaporkan dapat menyebabkan sepsis, walaupun jarang (Guntur,2008). Pada sepsis sel-sel imun yang paling terlihat mengalami disregulasi apoptosis adalah limfosit, hilangnya limfosit ini akan menurunkan survival sepsis (Chung *et al.*,2003; Hotchkiss *et al.*, 1999).

Angka mortalitas penderita sepsis dengan endotoksemia (41,17%) lebih tinggi dibandingkan tanpa endotoksemia (12,5%). Walaupun secara statistik tidak ditemukan perbedaan bermakna. Jenis kuman yang sering ditemukan adalah kuman gram negatif (55,26%) diikuti gram positif (39,47%) dan jamur atau sel ragi (5,26%) (Suhendro dkk., 1997).

### c. **Patofisiologi Sepsis**

Patofisiologi sepsis sangat kompleks karena melibatkan interaksi antara proses infeksi kuman patogen, inflamasi dan jalur koagulasi (Kristine *et al.*, 2007) yang dikarakteristikkan sebagai ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi seperti *tumor nekrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6 dan

interferon- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) dengan sitokin antiinflamasi seperti IL-1 reseptor antagonis (IL-1 $\alpha$ ), IL-4 dan IL-10 (Elena *et al.*, 2006). Overproduksi sitokin inflamasi sebagai hasil dari aktivasi nuklear faktor  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) akan menyebabkan aktivasi respon sistemik berupa SIRS terutama pada paru-paru, hati, ginjal usus dan organ lainnya (Arul *et al.*, 2001) yang mempengaruhi permeabilitas vaskuler, fungsi jantung dan menginduksi perubahan metabolik sehingga terjadi apoptosis maupun nekrosis jaringan, *Multiple Organ Failure* (MOF), syok septik serta kematian (Arul, 2001; Elena *et al.*, 2006).

#### **d. Diagnosis Sepsis**

Menurut Doddy dan Eddy (1996), gejala dan tanda klinis pasien sepsis berdasarkan Bone (1993) adalah

- a) Temperatur  $>38,3$  C atau  $<35,6$  C
- b) Denyut jantung  $>90$  kali/menit
- c) Frekuensi nafas  $>20$  kali/menit atau PaCO<sub>2</sub> $<32$ mmHg
- d) Jumlah leukosit  $>12.000$  sel/mm<sup>3</sup> atau  $<4000$  sel/mm<sup>3</sup> atau terdapat netrofil  $>10\%$

## 2. Beras Angkak Merah

### a. Definisi Beras Angkak Merah

Beras angkak merah adalah produk fermentasi *Monascus purpureus* dengan beras yang dalam sejarah farmakologi Cina digunakan sebagai pengobatan yang efektif untuk meningkatkan kinerja pencernaan dan merevitalisasi darah (Heber et al., 1999; Liu et al., 2006). Hasil ekstraksi beras angkak merah dapat berupa kanji, sterol, isoflavon, asam lemak bebas rantai tunggal, dan komposisi yang lainnya (Ma et al, 2000; Patrick dan Uzick, 2001). Hasil pangan olahan beras angkak merah telah banyak dikonsumsi di Asia. Di Indonesia, hasil pangan ini sudah banyak dikonsumsi sebagai menu diet dan makanan pelengkap (Erdogrul dan Azirak,2004).

*Monascus purpureus* adalah spesies kapang merah yang dapat diolah pada substrat pati. Kapang ini hingga sekarang masih digunakan untuk pengolahan hasil pangan seperti pada penternakan unggas, perikanan, dan produksi daging. Kapang merah tersebut juga digunakan sebagai manufaktur arak beras karena memiliki kandungan *alfa-amylase* yang tinggi, yang dapat merubah pati menjadi glukosa (Erdogrul dan Azirak, 2004).

*Monascus purpureus* berasal dari famili Monascaceae dan kelas Ascomyceta yang mempunyai kelebihan untuk memproduksi metabolit dengan pigmentasi kuning, jingga atau merah. Sekurang-kurangnya enam pigmen yang berbeda dapat disintesis oleh *Monascus* melalui poliketida seperti pigmen merah; *Rubropunctamine* dan *Monascorubramine* yang digunakan sebagai pewarna tambahan pada

makanan atau perasa pedas.(Kaur et al, 2009). *Monascus purpureus* juga mengandung substansi yang tergolong poliketida berupa mevilonin (*Lovastatin, Monacolin, dan Mevacor*) biasanya digunakan sebagai pengobatan dalam terapi hiperkolesterolemia karena menghambat aktivitas HMG-CoA reduktase, dan *monacolin K* yang berfungsi sebagai penghambat sintesis kolesterol (MayoClinic.com 2010).

#### **b. Peran Beras Angkak Merah**

Produk fermentasi beras dengan *Monascus* merupakan makanan olahan alami yang menyehatkan (suplemen nutrisi) karena dapat digunakan sebagai obat bermacam penyakit. *Monascus purpureus* memiliki berbagai khasiat sebagai berikut :

##### 1) Peran Bakteriostatik

*Monascus purpureus* berperan sebagai antibakteri karena mengandung monascidin A yang menghambat aktivitas bakteri dari sebagian besar *Bacillus, Streptococcus, dan Pseudomonas* (Wong and Bau, 1977; Wong and Koehler, 1981; Bau 1977). Penelitian lain yang dilakukan Chen (1933) menunjukkan bahwa *Monascus purpureus* memiliki efek inhibisi secara khusus pada *Staphylococcus aureus*. Dua pigmen kuning pada *Monascus purpureus* memiliki sedikit fungsi bakteriostatik melawan *Bacillus subtilis* (Wong and Koehler, 1981). Penelitian lebih lanjut mengenai efek bakteriostatik menunjukkan bahwa bakteri gram positif jauh lebih kuat terhambat dibandingkan dengan bakteri gram negatif (Fink-Gremmels *et al.* 1991).

##### 2) Peran Antiinflamasi

Statin yang terkandung dalam beras angkak merah terbukti dapat berperan sebagai faktor antiinflamasi dengan jalan menghambat produksi sitokin proinflamasi. Diketahui bahwa produksi molekul proinflamasi sebagian besar melalui jalan aktivasi NF- $\kappa$ B atau AP-1. Ternyata ditemukan juga statin menghambat ekspresi TNF- $\alpha$  dan MCP-1 yang diinduksi LPS dan menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B dan AP-1 melalui jalur yang tergantung PPAR $\gamma$  dan PPAR $\alpha$ . Oleh karena itu, statin dapat menghambat respon inflamasi melalui aktivasi PPAR $\gamma$  dan PPAR $\alpha$  (Yano *et al.*, 2007).

### 3) Peran Antitumor

Diketahui juga dari penelitian *in vitro* pada mencit, pigmen oranye (*monascorubrin*) dapat mempengaruhi supresi *tumor promotion* yang diinduksi oleh *12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate* dan dilanjutkan oleh inisiasi dengan *7,12-dimethylbenz[a] anthracene* (Yasukawa *et al.*, 1994). Penelitian *in vitro* lain juga membuktikan bahwa pigmen kuning (*monascin* dan *ankaflavin*) mendukung aktivitas proliferasi sel-sel antitumor dan apoptosis. Selanjutnya, kombinasi tersebut menghasilkan peningkatan reduksi pada pertumbuhan dan metastasis tumor LLC (HO and Pan, 2007).

### 4) Terapi Hiperkolestolemia dan Hiperlipidemia

Beras angkak merah dapat digunakan dalam terapi penyakit hiperkolesterolemia dan hiperlipidemia (Liu *et al.*, 2006).

Berdasarkan penelitian pada serum hewan coba dan manusia, telah

diketahui bahwa *monacolin K* (disebut juga lovastatin atau mevalonin) pada beras angkak merah dapat menurunkan kadar lipid dengan cara menghambat aktivitas *HMG-CoA reductase* dalam sintesis kolesterol pada hati (Heber *et al.*, 1999; Ogbru, 2009). Produk olahan tersebut juga mengandung serat, magnesium, asam lemak tak jenuh (seperti *niacin*) yang bermanfaat dalam mengurangi kadar kolesterol total, menurunkan kadar LDL, meningkatkan kadar HDL serta menurunkan kadar trigliserida pada serum (Wang *et al.*, 1997; Qin *et al.*, 1998; Heber *et al.*, 1999; Erdogrul and Azirak, 2004). Selain itu, kandungan sterol (*beta sitosterol* dan *campesterol*) pada beras angkak merah mampu menghambat absorpsi kolesterol pada usus halus (Moghadasian *et al.*, 1999)

##### 5) Peran pada pembentukan tulang dan Osteoporosis

Pada perawatan osteoporosis serta perbaikan tulang pada kasus trauma dan pembedahan, obat dan suplemen yang baik amatlah diperlukan bagi penyembuhan tulang yang lebih baik. *Bone morphogenetic protein* (BMP) adalah regulator yang penting pada proses differensiasi osteogenik. (Sakou, 1998). *Bone morphogenetic protein-2* (BMP-2) dapat menyebabkan pembelahan pada sel stem multipotential menjadi sel yang mirip osteoblast

(Wang *et al*, 1993). Secara spesifik, statin adalah satu komposisi yang dapat meningkatkan kerja ekspresi BMP-2 (Mundy *et al*, 1999). Beras angkak merah (*Monascus purpureus*) mengandung statin yang dapat menghambat *hydroxymethylglutaryl coenzyme A*(HMG- CoA) *reductase*. Efek beras angkak merah adalah menghambat HMG-CoA reductase pada jalur mevalonat dan hal ini dapat menyebabkan pertumbuhan sel tulang. (Ricky & Bakr,2008).

### 3. Limfosit

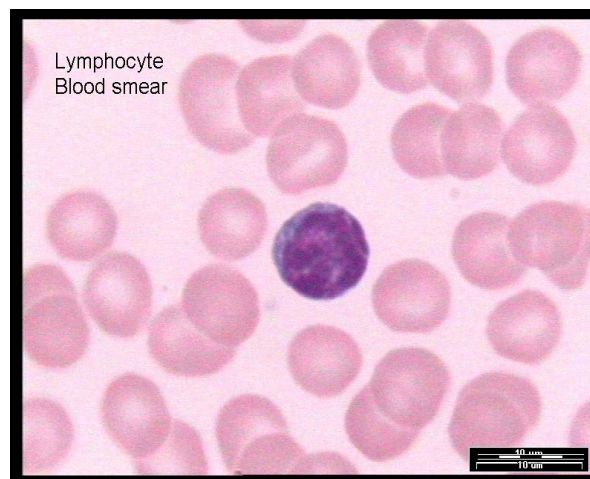
Pada sepsis, sel-sel imun yang paling terlihat mengalami disregulasi apoptosis adalah limfosit, hilangnya limfosit ini akan menurunkan *survival* sepsis (Chung *et al.*, 2003;Hotchkiss *et al.*, 1999).

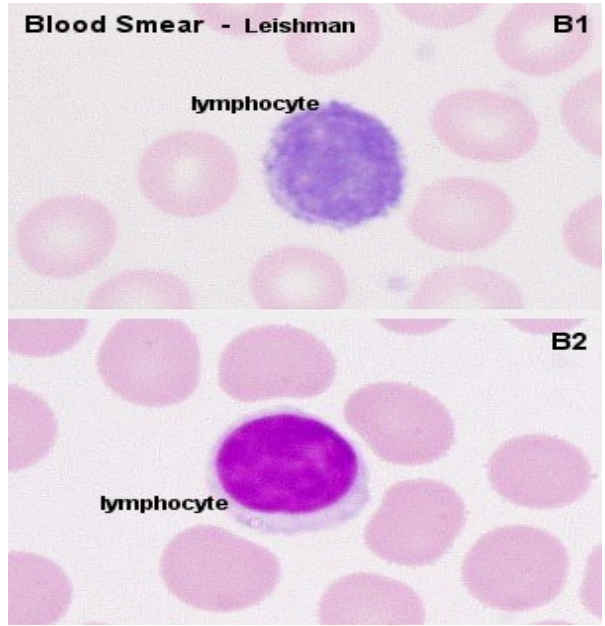
Limfosit terletak secara tersebar dalam nodus limfe, namun dapat juga dijumpai dalam jaringan limfoid klusus, seperti limpa, daerah submukosa dari traktus gastrointestinal, dan sumsum tulang. Jaringan limfoid tersebar secara menguntungkan didalam tubuh guna untuk menahan invasi organisme atau toksin sebelum dapat menyebar lebih luas. Dua macam limfosit yang berturut-turut menimbulkan imunitas



diperantarai sel dan imunitas humoral yaitu limfosit T dan limfosit B. Kedua macam limfosit ini berasal dari sel stem hemopoietik pluripoten yang berdiferensiasi dan membentuk limfosit. Bila antigen spesifik datang berkontak dengan limfosit T dan B di dalam jaringan limfoid, maka limfosit T menjadi teraktivasi membentuk sel T teraktivasi dan limfosit B membentuk antibodi. Sel T teraktivasi dan antibodi ini kemudian bereaksi dengan sangat spesifik terhadap antigen tertentu yang telah mulai perkembangannya.(Guyton & Hall, 1996).

Peningkatan apoptosis limfosit berhubungan dengan peningkatan mortalitas (Hotchkiss *et al.*, 1999). Apoptosis limfosit mungkin berhubungan dengan disfungsi imun sehingga akan terjadi penurunan proliferasi dan kemampuannya dalam melepaskan IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  berpotensi dalam mengaktivasi makrofag dan menginduksi terjadinya respon Th-1 (Docke *et al.* 1997).

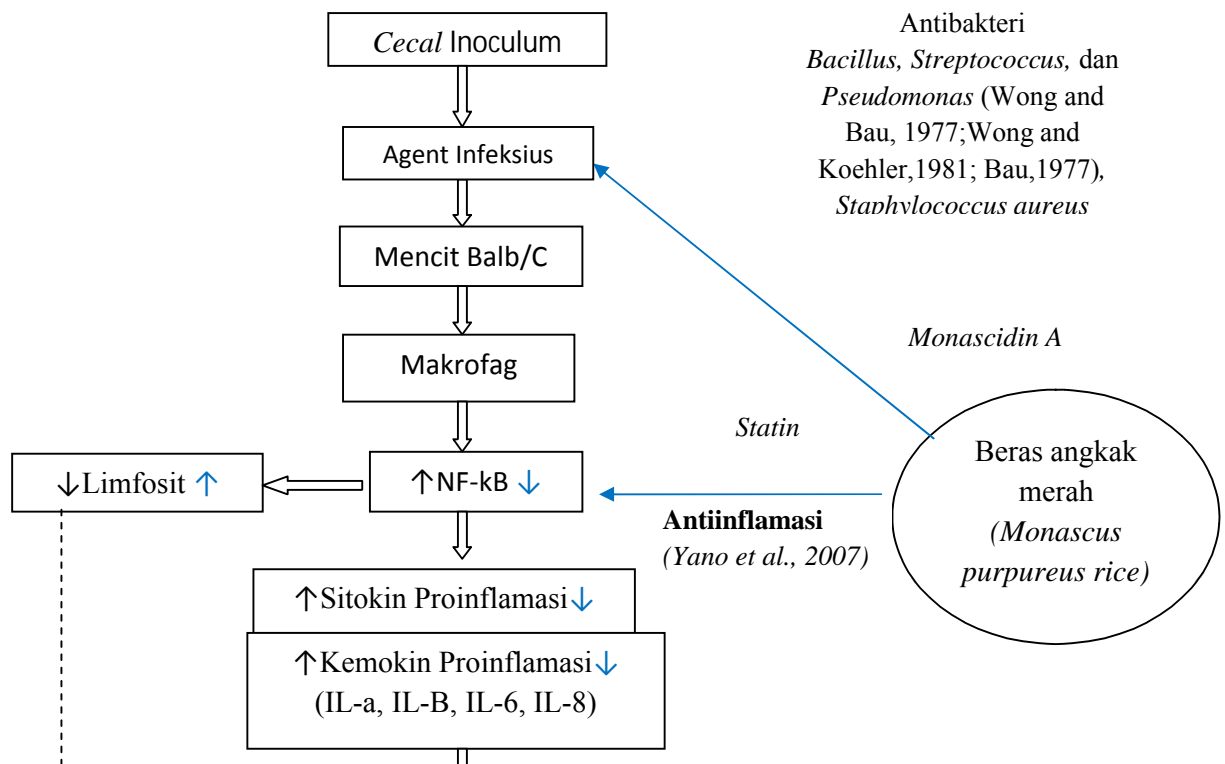




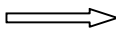


Gambar 1. Limfosit

## B. Kerangka Pemikiran

### 1. Kerangka Berpikir Konseptual



#### Keterangan

-  : Memacu
-  : Menghambat
-  : Biomarker

## 2. Kerangka Berpikir Teoritis

*Cecal inoculum* merupakan hasil isolasi cecal pada mencit yang telah dikorbankan yang dapat digunakan sebagai agen penginduksi model sepsis. *Cecal inoculum* ini memiliki sifat dan karakteristik yang khas, yaitu sebagai *activating agents* yang dapat mengintervensi sel-sel tubuh, termasuk makrofag untuk mengekspresikan respon inflamasi apabila disuntikkan ke dalam tubuh mencit. Di dalam tubuh mencit, *cecal inoculum* ini akan ditangkap oleh suatu binding protein yang terdapat di dalam darah, selanjutnya akan masuk pada sel-sel tubuh mencit, termasuk makrofag. Di dalam makrofag, *cecal inoculum* ini akan merangsang aktivasi NF-kB sebagai modulator inflamasi. Aktivasi NF-kB ini akan mengaktifkan jalur inflamasi melalui ekspresi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8. Inflamasi berlebihan yang timbul sebagai akibat dari pemaparan *cecal inoculum* ini akan menginduksi terjadinya SIRS, yaitu suatu reaksi inflamasi masif yang

dapat berkembang pada terjadinya apoptosis jaringan, *Multiple Organ Dysfunction (MOD)* dan *Multiple Organ Failure (MOF)*.

NF- $\kappa$ B mempunyai tempat ikatan spesifik pada promotor dari berbagai gen, hal tersebut akan meningkatkan sintesis dan sekresi limfosit sebagai respon fisiologis inflamasi. Limfosit akan mengaktifkan komplemen jalur klasik dan ligan opsonisasi untuk fagositosis. Limfosit juga akan menetralkan *pro-inflammatory platelet-activating factor (PAF)*. Dan secara tidak langsung limfosit dapat digunakan sebagai penanda infeksi karena mempunyai peranan penting dalam pertahanan infeksi.

Pada percobaan ini, beras angkak merah (*Monascus purpureus*) memiliki dua fungsi utama, yaitu sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Sebagai antibakteri, beras angkak merah dapat berfungsi sebagai inhibitor karena mengandung *monascin A* yang dapat menghambat aktivitas bakteri dari sebagian besar *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* dan *Staphylococcus aureus*. Statin yang terkandung dalam beras angkak merah terbukti dapat berperan sebagai faktor antiinflamasi dengan jalan menghambat ekspresi TNF $\alpha$  dan MCP-1 yang diinduksi LPS dan menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B.

### **C. Hipotesis**

Ada hubungan pemberian beras angkak merah (*Monascus purpureus*) dengan hitung limfosit pada mencit Balb/C model sepsis.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *post-test only group design*.

#### B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Histologi dan Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, UNS

#### C. Subyek Penelitian

Hewan uji berupa 27 ekor mencit Balb/C jantan, dengan berat badan  $\pm 25-35$  gram, dan berumur 4-6 minggu. Untuk mengambil sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer (Puspitawati dkk, 2008), yaitu:

$$(k-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

k: jumlah kelompok

n: jumlah sampel dalam kelompok

Dalam penelitian ini dibagi 3 kelompok, sehingga berdasarkan rumus Federer didapatkan jumlah subjek masing-masing kelompok sebagai berikut:

$$(k-1)(n-1) \geq 15$$

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

$$2(n-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 9$$

Setiap kelompok minimal 9 ekor pada penelitian ini.

#### **D. Teknik Sampling**

Penelitian ini menggunakan random sederhana sebagai teknik sampling.

#### **E. Identifikasi Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : Beras angkak merah (*Monascus purpureus*)
2. Variabel terikat : Hitung limfosit

#### **F. Definisi Operasional Variabel Penelitian**

##### 1. Beras Angkak Merah

Dosis beras angkak merah yang direkomendasikan adalah 1200-2400 mg per hari (Windley, 2008). Pada penelitian ini akan digunakan nilai tengah dari dosis tersebut, sehingga didapatkan hasil 1800 mg. Dosis obat pada mencit 0,0026 kali dosis manusia.

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

Lambung mencit maksimal hanya memiliki kapasitas 1 ml. Setelah dikurangi dengan makanan dan minum yang diberikan pada mencit maka larutan angkak maksimal yang dapat diberikan pada mencit adalah 0,2 ml. Beras angkak merah ditumbuk halus dan dilarutkan dengan

0,2 ml *dextrose water 5%* (D<sub>5</sub>W) yang mendidih. Larutan diaduk dan disaring. Kemudian diberikan kepada setiap mencit per oral setiap sehari selama 5 hari.

## 2. Hitung Limfosit

Pada hari keenam, mencit dikorbankan untuk diambil darahnya. Serum dikoleksi dari sinus orbitalis untuk dilakukan pengukuran hitung limfosit dengan menggunakan mikroskop cahaya di Laboratorium Patologi Klinik, FK UNS. Cara pembuatan preparat dan hitung limfosit adalah seperti berikut:

- a. Darah dibuat apusan di atas slide kaca dan dikeringkan
- b. Slide ditetesi dengan *Methanol absolut 90%* dan dibiarkan selama 1-2 menit.
- c. Kemudian slide ditetesi dengan pewarna Giemsa dan dibiarkan selama 10-15 menit. Larutan Giemsa dibuat dari Giemsa induk dan buffer dengan perbandingan 1:9. Slide dicuci dan dikeringkan
- d. Limfosit dihitung dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Jumlah limfosit ditentukan dengan menghitung limfosit yang dapat dilihat pada setiap 100 sel leukosit.

## G. Induksi Hewan Coba Model Sepsis

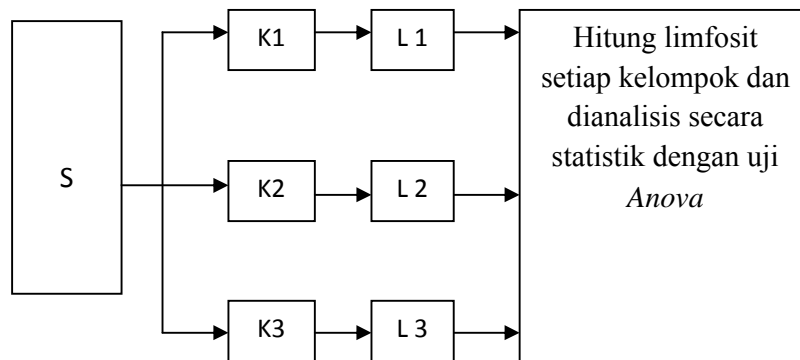
Untuk membuat model sepsis pada hewan coba digunakan injeksi *cecal inoculum* (6 mg/mencit) secara *i.p.* (Brahmbhatt *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2005). *Cecal inoculum* dibuat dengan mensuspensikan 200mg material dari cecal yang masih baru pada 5,0 mL *dextrose water 5%* (D<sub>5</sub>W) steril.

Material cecal diperoleh dari mencit donor yang sehat yang dikorbkan dengan *cervical dislocation*. *Cecal inoculum* dibuat baru setiap hari dan diberikan dalam waktu 2 jam (Ren et al., 2002). Model *cecal inoculum* mampu menggambarkan dengan baik keadaan mirip dengan tanda-tanda *piloerection*, *periocular discharge*, tampak lesu, penurunan nafsu makan dan minum, dan diare (Diding dkk, 2008).

## H. Perlakuan pada Hewan Uji

Hewan coba diadaptasikan selama seminggu. Hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok 9 ekor. Kelompok I (n=9) sebagai kontrol, kelompok II (n=9) adalah mencit model sepsis, dan kelompok III (n=9) mencit model sepsis yang diberi model sepsis yang diberi beras angkak merah per oral. Kemudian dievaluasi kondisi fisik secara keseluruhan dengan melakukan pengamatan terhadap mencit setiap hari selama lima hari.

## I. Rancangan penelitian





Keterangan :

S = jumlah sampel

K1 = kelompok kontrol

K2 = kelompok sepsis

K3 = kelompok sepsis + angkak merah

L1 = hitung limfosit kelompok K1

L2 = hitung limfosit kelompok K2

L3 = hitung limfosit kelompok K3

## **J. Instrumentasi Penelitian**

### **1. Alat penelitian**

- a. Timbangan meter Toledo
- b. Spuit 1 ml & 5 ml
- c. Sarung tangan
- d. Termometer
- e. *Beaker glass* 100cc
- f. Pengaduk
- g. Gelas ukur 100cc
- h. Labu takar 100cc
- i. Slide kaca
- j. Mikroskop cahaya

### **2. Bahan penelitian**

- a. Hewan uji (minimal 27 ekor mencit putih jantan)
- b. Beras angkak merah

- c. Aquadest
- d. *Dekstrose water 5% (D<sub>5</sub>W)*
- e. Giemsa
- f. Buffer

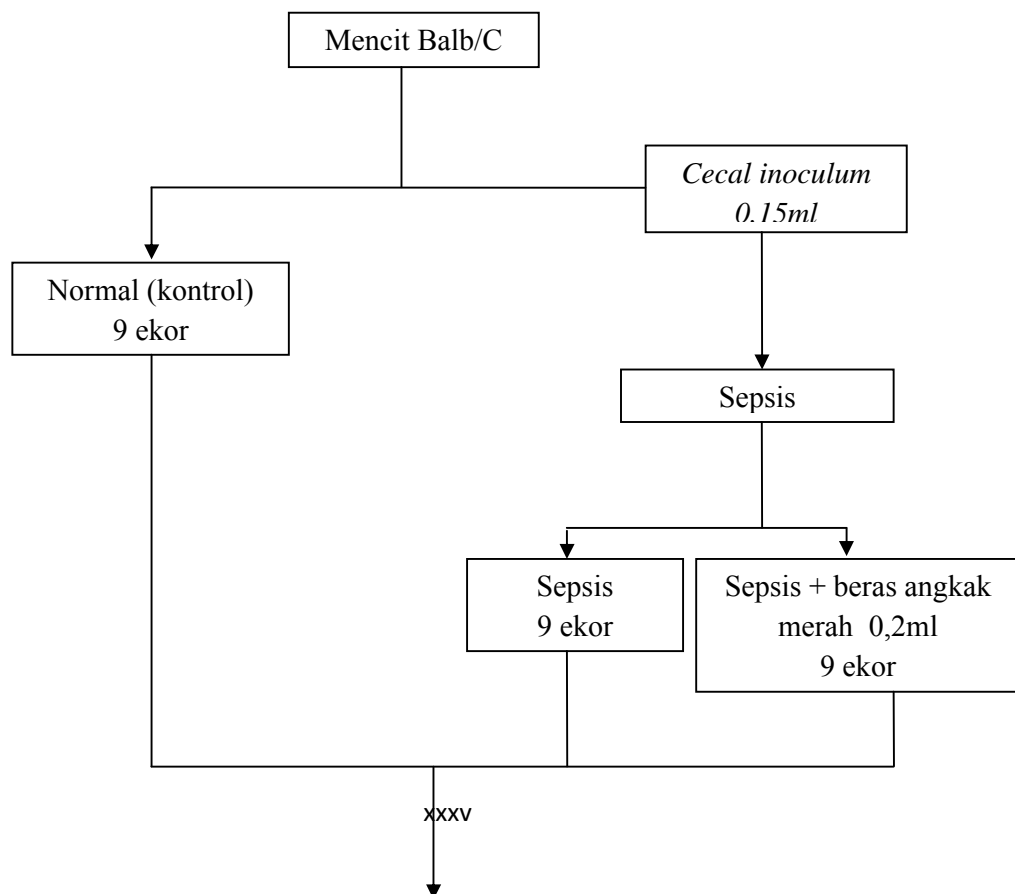
## **K. Cara Kerja**

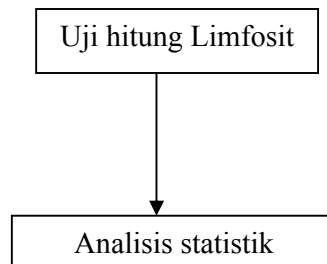
1. Sebelum perlakuan
  - a. Kandang mencit disiapkan. Satu kandang 1 kelompok mencit.
  - b. Mencit diadaptasikan dengan lingkungan selama 7 hari.
  - c. Mencit sebanyak 27 ekor dikelompokkan secara acak menjadi 3 kelompok, masing-masing 9 ekor.
2. Perlakuan
  - a. Kelompok 1 hanya diberi diet standard dan air minum selama penelitian berjalan sebagai kontrol.
  - b. Kelompok 2 diberi diet standard dan diinduksi sepsis.
  - c. Kelompok 3 diberi diet standard, diinduksi sepsis dan diberikan larutan beras angkak merah 0,2ml.

3. Setelah Perlakuan

Pada hari keenam, mencit dikorbankan untuk diambil darahnya. Serum dikoleksi dari sinus orbitalis untuk dilakukan pengukuran hitung limfosit secara dengan menggunakan mikroskop cahaya di Laboratorium Patologi Klinik, FK UNS.

## L. Alur Penelitian





#### **M. Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji *One Way Anova* menggunakan program *SPSS for Windows Release 11.5* dan  $p < 0,05$  dipilih sebagai tingkat minimal signifikansinya. Syarat uji *One Way Anova* adalah skala numerik, distribusi data normal dan homogen. Jika uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan dengan *LSD Pos Hoc Test*. Jika syarat uji *One Way Anova* tidak dapat dipenuhi maka digunakan uji alternatif nonparametrik yaitu *Kruskal Wallis*. Apabila uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan *Pos Hoc Test* menggunakan uji *Mann Whitney*.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

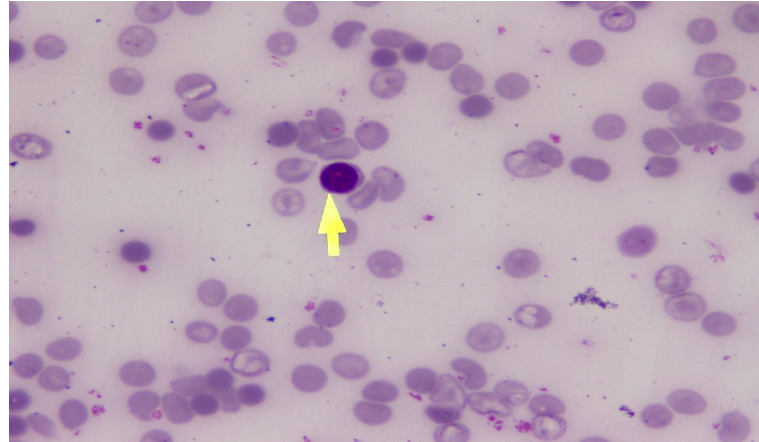
#### A. Data Hasil Penelitian

Hasil penelitian memperlihatkan rata-rata prosentase jumlah hitung limfosit kelompok kontrol adalah 38,5%. Pemberian *cecal inoculum* dosis 0,15 ml/mencit secara intraperitoneal dapat menurunkan rata-rata hitung limfosit menjadi 18,0%, sebaliknya pemberian beras angkak merah mampu meningkatkan rata-rata hitung limfosit menjadi 66,5%. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.1:

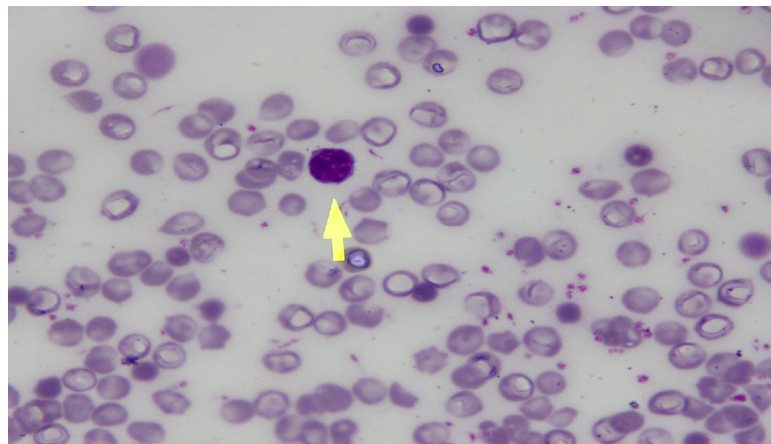
Tabel 4.1 Rata-rata Prosentase Jumlah Sel Limfosit

Kelompok	[ median(minimum-maximum)]
Kontrol	38,5 (19-50)
Sepsis	18,0 (13-46)
Sepsis+Angkak	66,5 (27-81)

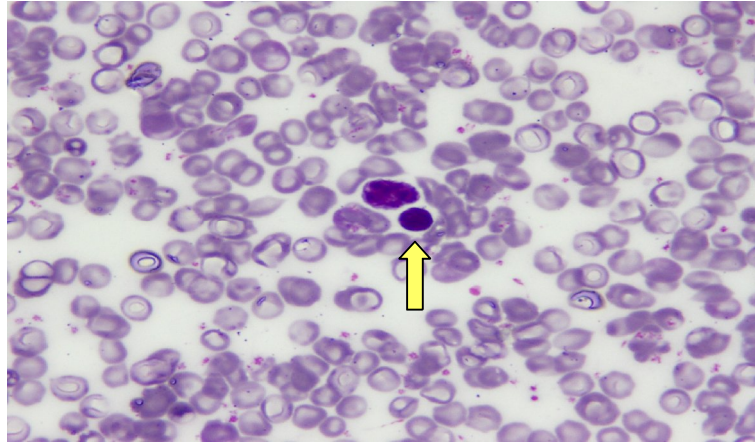
Gambaran morfologi dari limfosit dapat dilihat pada preparat apusan darah tepi sebagai berikut:



**Gambar 2.** Morfologi limfosit kelompok kontrol dengan pengecatan Giemsa dan pembesaran 40x10 menggunakan mikroskop cahaya. Tanda panah kuning menunjukkan limfosit.



**Gambar 3.** Morfologi limfosit kelompok sepsis dengan pengecatan Giemsa dan pembesaran 40x10 menggunakan mikroskop cahaya. Tanda panah kuning menunjukkan limfosit.



**Gambar 4.** Morfologi limfosit kelompok sepsis yang diberi angka dengan pengecatan Giemsa dan pembesaran 40x10 menggunakan mikroskop cahaya. Tanda panah kuning menunjukkan limfosit

## B. Analisa Hasil

Data dari Tabel 4.1 dilakukan uji *Kruskal-Wallis* terhadap masing-masing kelompok. Ini adalah karena hasil data yang diperoleh tidak memenuhi syarat uji *One Way Anova*. Hasil yang diperoleh dari transformasi data juga tetap tidak normal. Dari hasil dari uji *Kruskal-Wallis* diperoleh hasil  $p=0,000$ . Oleh karena nilai  $p < 0,05$ , maka dapat diambil kesimpulan bahwa paling tidak terdapat perbedaan jumlah limfosit antara dua kelompok. Setelah dilakukan uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan uji *Post Hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui letak perbedaan antara ketiga kelompok perlakuan.

Dari hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan sepsis ( $p=0,003$ ) dan antara kelompok sepsis dengan kelompok yang diberi sepsis dan angka ( $p=0,000$ ). Manakala antara kelompok kontrol dan kelompok

Angkak tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,006$ ). Ringkasan hasil uji *Mann Whitney* disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Ringkasan hasil uji *Mann Whitney*

Kelompok	<i>p</i>	Keterangan
Kontrol vs Sepsis	0,003	Signifikan
Sepsis vs Angkak	0,000	Signifikan
Kontrol vs Angkak	0,006	Non Signifikan

## BAB V

### PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa injeksi *cecal inoculum* 0,15ml secara intraperitoneal mampu menginduksi mencit menjadi sepsis. Jumlah limfosit pada kelompok sepsis secara bermakna lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa pada sepsis, sel-sel imun yang paling terlihat mengalami disregulasi apoptosis akibat sepsis adalah limfosit, hilangnya limfosit ini akan menurunkan *survival* sepsis. (Chung *et al.*, 2003; Hotchkiss *et al.*, 1999). Apoptosis limfosit mungkin berhubungan dengan disfungsi imun sehingga akan terjadi penurunan proliferasi dan kemampuannya dalam melepaskan IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$



berpotensi dalam mengaktivasi makrofag dan menginduksi terjadinya respon Th-1 (Docke *et al.*, 1997). Di dalam tubuh mencit, *cecal inoculum* ini akan ditangkap oleh suatu binding protein yang terdapat di dalam darah, selanjutnya akan masuk pada sel-sel tubuh mencit, termasuk makrofag. Di dalam makrofag, *cecal inoculum* ini akan merangsang aktivasi NF- $\kappa$ B sebagai modulator inflamasi. Inflamasi berlebihan yang timbul sebagai akibat dari pemaparan *cecal inoculum* ini akan menginduksi terjadinya SIRS, yaitu suatu reaksi inflamasi masif yang dapat berkembang pada terjadinya apoptosis jaringan, *Multiple Organ Dysfunction (MOD)* dan *Multiple Organ Failure (MOF)*.

Hasil penelitian juga menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok sepsis dan kelompok sepsis yang diberi angkak. Pemberian angkak secara bermakna dapat meningkatkan hitung limfosit pada hewan coba model sepsis. Hal ini menunjukkan bahwa beras angkak merah mampu menurunkan apoptosis limfosit pada mencit model sepsis. Hal ini sesuai dengan teori bahwa beras angkak merah memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan antiinflamasi sehingga dapat memperbaiki kemampuan apoptosis limfosit. Beras angkak merah mengandung monascidin A yang dapat menghambat aktivitas bakteri dari sebagian besar *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Pseudomonas*. (Wong *and* Bau, 1977; Wong *and* Koehler, 1981). Statin yang terkandung dalam beras angkak merah terbukti dapat berperan sebagai faktor antiinflamasi dengan jalan menghambat produksi sitokin proinflamasi. Diketahui bahwa produksi molekul proinflamasi sebagian besar melalui jalan aktivasi NF- $\kappa$ B atau AP-1. Berdasarkan penelitian juga menunjukkan bahwa statin dapat menurunkan Nf- $\kappa$ B, TNF $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6 dan IL-8 sehingga dapat

meningkatkan limfosit dan memperbaiki kemampuan apoptosis pada sepsis (Yano *et al.*,2007).

Hasil uji *Post Hoc* antara kelompok kontrol dan kelompok sepsis yang diberi angkak tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Jumlah limfosit pada kelompok sepsis yang diberi angkak melebihi jumlah limfosit kelompok kontrol. Hal ini juga dapat menjelaskan bahwa terdapat hubungan antara kelompok yang diberikan beras angkak merah dengan hitung limfosit pada mencit model sepsis. Meskipun diketahui *Monascidin A* berpotensi sebagai antimikroba terhadap *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.*, pada kasus-kasus tertentu diketahui dapat menimbulkan inflamasi sehingga sitokin-sitokin proinflamasi menjadi lebih dominan. Pada sebagian kasus, statin yang terdapat dalam beras angkak merah ternyata juga dapat menyebabkan kerusakan hati dan otot rangka dan bersifat toksik pada ginjal (Endogru and Azirak, 2004).Kerusakan jaringan tersebut akan menghasilkan debris yang memicu timbulnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang meningkatkan respons sel makrofag untuk menghasilkan sitokin-sitokin proinflamasi sehingga kondisi SIRS dan inflamasi bertambah parah. Hal tersebut bisa mempengaruhi hitung limfosit dan kualitas dari limfosit tersebut sehingga bisa melebihi hitung limfosit pada kelompok kontrol. Kelemahan dari penelitian ini adalah tidak dilakukan uji kualitas limfosit untuk mengetahui apakah semua limfosit tersebut bisa menghambat proses apoptosis sehingga dapat mengurangi kematian pada kasus sepsis.

## **BAB VI**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

Ada hubungan pemberian beras angkak merah (*Monascus purpureus*) dengan hitung limfosit pada mencit Balb/C model sepsis.

#### **B. Saran**

1. Dilakukan uji kualitatif limfosit.
2. Dilakukan uji variasi dosis untuk menentukan dosis optimal beras angkak merah.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan parameter petanda-petanda inflamasi ataupun sitokin-sitokin yang berperan pada patofisiologi sepsis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arul MC, Markus HL, Chandan KS, Terrence RB, Sunita SS, Vidya JS et al. 2001. Molecular Signatures of Sepsis Multiorgan Gene Expression Profiles of Systemic Inflammation. *Am J Pathol* October 159(4): 1199-1209
- Brahmbhatt S, Gupta A and Sharma AC. 2005. Bigendothelin-1 (1-21) fragment during Early Sepsis Modulates *tau*, p38-MAPK phosphorylation and Nitric Oxide Synthase Activation. *Molecular and Cellular Biochemistry* 271:225-237
- Chen M and Johns MR. 1993. Effect of pH and Nitrogen source on pigment production by *Monascus purpureus*. *Appl Microbiol Biotechnol* 40(1):132-38
- Chung CS, Song GY, Lomas J, Simms HH, Chaudry IH and Ayala A. 2003. Inhibition of Fas/Fas ligand signalling improves septic survival: differential effects on macrophage apoptotic and functional capacity. *J Leukoc Biol* 74:344-351
- Diding HP dan Subijanto AA. 2008. Efek Probiotik terhadap Hitung Limfosit pada Sepsis. *Jurnal Kedokteran Medicina* 39(2):149-152
- Docke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P et al. 1997. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN- $\gamma$  treatment. *Nat Med* 3, 678-681.
- Doddy and Eddy. 1996. Sepsis: Diagnosis dan Penatalaksanaan. *Majalah Ilmu Penyakit Dalam* 22:163-175
- Elena GR, Alejo C, Gema R, and Mario D. 2006. Cortistatin, a new antiinflammatory peptide with therapeutic effect on lethal endotoxemia. *J Exp Med* March 203(2):563-571
- Eny DW. 2004. *Sepsis di Ruang Rawat Inap Tipe Kelas dan Paviliun Bangsal Penyakit Dalam RSUD Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2002*. Skripsi FK-UNS, Surakarta
- Endogrul O and Azirak S. 2004. Review of the studies on the red yeast rice (*Monascus purpureus*). *Turkish Electronic journal of biotechnology* 2:37-49)
- Fink-Gremmels J, Dresel J and Leistner L. 1991. Einstas von *Monascus* ekstrakten als nitrat-alternative bei fleischerzeugnissen (use of *Monascus* extracts as an alternative to nitrite in meat products). *Fleischwirtschaft* 71:329-331

- Gluck T. 2008. Nutritional Support and Mortality in Patients with Sepsis. *Journal Watch Infectious Disease* June 21, 2008.
- Guntur HA. 2008. *SIRS, SEPSIS dan SYOK SEPTIK (Imunologi, Diagnosis dan Penatalaksanaan)*. Surakarta: Sebelas Maret University Press
- Gupta A, Aberle N, Ren J and Sharma AC. 2005. Endothelin-converting enzyme-1-mediated signalling in adult rat ventricular myocyte contractile function and apopyosis during polymicrobial sepsis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 38:527-37
- Guyton AC and Hall John E. 1996. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*, Jakarta EGC. pp: 555-66.
- Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Alashoff RM and Go VL.1999. Cholesterol-lowering effect of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Chin Nutr* 69(2): 231-6
- Ho BY and Pan TM. 2007. Monascus-fermented rice exerted cytastatic effects on Lewis lung carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. [http://:gral03.aca.ntu.edu.tw/gdoc/D94B47104a.pdf](http://gral03.aca.ntu.edu.tw/gdoc/D94B47104a.pdf) (12 Januari 2009)
- Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP and Matuschak GM., et al. 1999. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock dan multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 27:1230-1251
- John Warren MD. 1994. Sepsis. *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi Edisi Keempat*. Gadjah Mada University Press Yogyakarta Pp:521
- Kaur B, Chakraborty D and Kaur H. 2009. Production and evaluation of physicochemical properties of red pigment from *Monascus purpureus* MTCC 410. *The Internet Journal of Microbiology* 7(1)
- Kristine MJ, Sarah BL, Annacrine LP, Jesper EO and Thomas B. 2007. Common TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PAI-1, uPA, CD14 dan TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC infect Dis.* 7:108
- Liu J, Zhang J, Shi Y, Grimsgaard S, Alraek T and Fonnebo V. 2006. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus*) for primary hyperlipidemia : a meta-analysis of randomized controlled trials. A review of literature. *Chinese medicine journal* 1:4. <http://www.cmjournal.org/content/1/1/4>
- Ma J, Li Y, Ye Q, Li J, Hua Y, Ju D et al. 2000. Constituent of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *J Agric Food Chem* 48(11): 52-205
- MayoClinic.com 2010. Red Yeast Rice (*Monascus purpureus*), diakses 1 Februari 2010 [http://www.mayoclinic.com/health/red-yeast-rice/NS\\_patient-redyeast](http://www.mayoclinic.com/health/red-yeast-rice/NS_patient-redyeast)

- Moenadjat. 2001. Infeksi Antibiotika pada Luka Bakar. *Luka Bakar: Pengetahuan Klinis Praktis Edisi 2. FK-UI* : 42
- Moghadasian MH and Frohlich JJ. 1999. Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis : clinical and experimental evidence. *Am J Med* 107(6):588-94
- Mundy G, Garrett R, and Harris S. 1999. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 286:1946-1949
- Ogbru O. 2009. ed: Marks J. 'Statin', diakses 26 Februari 2009 <http://www.medicinenet.com>
- Patrick L and Uzick M. 2001. Cardiovascular disease : C-reactive protein and the inflammatory disease paradigm: HMG-CoA reduktase inhibitors, alpha-tocopherol, red yeast rice, and olive oil polyphenols. A review of literature. *Altern Med Rev* 6(3):248-71
- Pudjiastuti.2008. Imunoglobulin Intravena pada Anak dan Bayi dengan Sepsis. Kumpulan Makalah. National Symposium: the 2<sup>nd</sup> Indonesian Sepsis Forum. Surakarta, March 7-9 pp:100
- Qin S, Zhang W, Qi P, Zhao M, Dong Z, Li Y et al.1998. Taxonomic Investigation of *Monascus purpureus* 94-25 Strain. *Journal of Culture Collection* 2:1997-1998
- Ren J, Ren BH and Sharma AC. 2002. Sepsis-Induced Depressed Contractile Function of Isolated Ventricular Myocytes Is Due to Altered Calcium Transient Properties. *Shock* 18(3):285-288
- Ria Puspitawati, Harun A. Gunawan, Dewi F. Suniarti dan Aynie Yunita. 2008. Pengaruh Musik Terhadap Penurunan Kadar Mineral Permukaan Email Pada Kondisi Defisiensi Protein. *Makara, Kesehatan* 12(1): 1-7
- Ricky WK Wong and Bakr Rabie.2008. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus* fermented rice) promotes bone formation. *Chinese Medicine Journal* 3:4. <http://www.cmjournal.org/content/3/1/4>
- Russel JA. 2006. Review of Management of Sepsis. *N Engl J Med* 355: 1699-713
- Sakou T. 1998. Bone morphogenetic proteins: From basic studies to clinical approaches. *Bone* 22:591-603
- Suhendro. 1997. *Endotoksemia pada Penderita Sepsis dengan Keganasan. Majalah Ilmu Penyakit Dalam* 22:177-178

- Wang EA, Israel DI and Nelly S. 1993. Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3H10T1/2 and 3T3 cells. *Growth Factors* 9:57-71
- Wang J, Lu Z and Chi J. 1997. Multicentre clinical trial of the serum lipid-lowering effects of a *Monascus purpureus* (red yeast) rice preparation from traditional Chinese medicine. *Current Therapeutic Research* 58(12):964-78
- Windley Steve. 2008. Red yeast rice extract. *Pure Health MD*. <http://www.purehealthmd.com/supplements/herbs/red-yeast-rice/red-yeast-rice-extract.html>
- Wong HC and Bau YS. 1977. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X-ray-induced strains of *Monascus purpureus* Went Plant. *Physiol* 60:578-581
- Wong HC and Koehler PE, 1981. Production and Isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. *J Food Sci* 46:589-592
- Yano M, Matsumura T, Senokuchi T, Ishii N, Murata Y, Taketa K et al. 2007. Statin Activate Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Through Extracellular Signal-Regulated Kinase  $\frac{1}{2}$  and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase-Dependent Cyclooxygenase-2 Expression in Macrophages, *Circ Res* 100:1442-1451
- Yasukawa K, Takahashi M, Natori S, Kawai K, Yamazaki M, Takeuchi M et al. 1994. Azaphilones inhibits tumor promotion by 12-O *tetradecanoylphorbol*-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mice. *Oncology* 51:108-112.