



**VIABILITAS MONOSIT YANG DIPAPAR *Streptococcus viridans*
DAN DIINKUBASI DENGAN MINYAK ZAITUN
(*Oleum olivae*)**

SKRIPSI

Oleh

Yasinta Noesa Delita

NIM. 071610101085

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012



**VIABILITAS MONOSIT YANG DIPAPAR *Streptococcus viridans*
DAN DIINKUBASI DENGAN MINYAK ZAITUN
(*Oleum olivae*)**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S 1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Yasinta Noesa Delita

NIM. 071610101085

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tuaku yang tercinta, Papa H. Rosaly Ma'roef, S.T. dan Mama Hj. Dra. Darminingsih, S.T. atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya;
2. Adik kembarku yang tersayang, Fitra Dara Danisa serta Fitri Dara Danisa yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;
3. Dosen-Dosen pembimbing skripsi drg. Budi Yuwono, M.Kes, Dr. drg. Purwanto, M.Kes, dan Dr. drg. I.D.A. Susilawati, M.Kes.
4. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS Al-Insyirah: 5-6)

“Lebih baik terlambat dari pada tidak sama sekali.”

(Anonim)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yasinta Noesa Delita

NIM : 071610101085

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul : *Viabilitas Monosit yang Dipapar Streptococcus viridans dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun (Oleum olivae)* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 31 Januari 2012

Yang menyatakan.

Yasinta Noesa Delita

071610101085

SKRIPSI

**VIABILITAS MONOSIT YANG DIPAPAR *Streptococcus viridans*
DAN DIINKUBASI DENGAN MINYAK ZAITUN
(*Oleum olivae*)**

Oleh

Yasinta Noesa Delita

NIM. 071610101085

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Budi Yuwono, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. drg. Purwanto, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Viabilitas Monosit yang Dipapar Streptococcus viridans dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun (Oleum olivae)* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Selasa, 31 Januari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

drg. Budi Yuwono, M. Kes
NIP 196709141999031002

Anggota I

Anggota II

Dr. drg. Purwanto, M. Kes
NIP 195710241986031002

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes
NIP 196109031986022001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus viridans* dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun (*Oleum olivae*); Yasinta Noesa Delita 071610101085 ; 2012; 56 halaman ; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Streptococcus viridans merupakan bakteri anaerob utama penyebab infeksi odontogen. Infeksi odontogen merupakan infeksi yang terjadi pada jaringan gigi yang awalnya bersumber dari kerusakan jaringan keras gigi atau jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh bakteri. Infeksi odontogen diawali dengan adanya bakteri pada jaringan gigi terutama pada jaringan periapikal. Karena jumlah bakteri yang banyak, maka infeksi ini dapat menyebar melalui pembuluh darah (*hematogenous*). Monosit merupakan salah satu jenis leukosit atau sel darah putih yang berperan dalam fungsi sistem kekebalan tubuh. Fungsi dari monosit yaitu memfagosit dan mencerna bahan asing beserta jaringan yang mati. Viabilitas sel adalah kemampuan untuk bertahan hidup, tumbuh dan berkembang. Oleh karena itu, viabilitas monosit merupakan faktor yang sangat penting dalam proses pertahanan tubuh guna merespon adanya bakteri *S. viridans*.

Minyak zaitun (*Oleum olivae*) adalah lemak yang diperoleh dengan pemerasan biji masak tanaman *Olea europaea*. Asam lemak yang terkandung dalam minyak zaitun berperan penting dalam mempertahankan fungsi dan integritas membran sel. Sehingga membran sel monosit akan tetap utuh setelah terpapar bakteri *S. viridans*.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui viabilitas sel monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi dengan minyak zaitun dan menentukan konsentrasi minimal minyak zaitun yang dapat mempengaruhi viabilitas sel monosit yang dipapar oleh *S. viridans*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris in vitro dengan rancangan *the post pest only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pada penelitian ini digunakan sampel isolat monosit yang dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok yang diinkubasi dengan *extra-virgin olive oil*, kelompok yang diinkubasi dengan minyak zaitun konsentrasi 50%, kelompok yang diinkubasi dengan minyak zaitun konsentrasi 25%, dan kelompok kontrol (tidak diinkubasi minyak zaitun). Viabilitas atau kelangsungan hidup monosit diamati dengan pewarnaan *trypan blue* dimana sel monosit yang *viable* (hidup) memiliki membran sel yang tetap utuh dengan sitoplasma tetap bening setelah dipapar bakteri (tidak menyerap pewarnaan *trypan blue*). Analisa data yang digunakan yaitu uji *kolmogorov smirnov* untuk uji normalitas. Kemudian dilanjutkan *Levene test* untuk uji homogenitas. Jika data yang dihasilkan homogen dan normal, maka dilakukan uji statistik parametrik yaitu *one way annova* dan apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji HSD.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa urutan jumlah monosit yang *viable* (hidup), dari yang paling tinggi adalah kelompok yang diinkubasi dengan *extra-virgin olive oil* (50,05%), kelompok yang diinkubasi dengan minyak zaitun konsentrasi 50% (48,26%), kelompok yang diinkubasi dengan minyak zaitun konsentrasi 25% (46,51%), dan kelompok kontrol (45,96%). Analisis data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan viabilitas yang signifikan ($p < 0,05$) pada keempat kelompok penelitian. Namun nilai yang signifikan terhadap kelompok kontrol hanya didapatkan pada kelompok perlakuan yang diberi *Extra-Virgin Olive Oil* dan minyak zaitun konsentrasi 50%.

Kesimpulan hasil penelitian ini, minyak zaitun (*Oleum olivae*) dapat meningkatkan viabilitas sel monosit yang dipapar *S. viridans* dimana konsentrasi minimal minyak zaitun (*Oleum olivae*) yang dapat mempengaruhi viabilitas sel monosit yang dipapar oleh *Streptococcus viridans* adalah 50 %.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan karunia dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus viridans* dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun (*Oleum olivae*) dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes, Sp. Pros. Selaku pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. drg. Budi Yuwono, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
4. Dr. drg. Purwanto, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
5. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes selaku sekretaris penguji, dan sebagai pembimbing teknis penelitian, terima kasih banyak atas ide penelitian ini, bantuan bahan-bahan penelitian, waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini.
6. drg. Dessy Rachmawati, M.Kes selaku dosen pembimbing akademik.
7. drg. Ristya Widi Endah Yani, M.Kes selaku dosen pembimbing akademik.
8. Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Mbak Indri dan Pak Setyo Pinaridi, A.Md., Staf Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember, Mas Bagus, Mbak Azizah, dan staf Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Widi.

9. Orang tuaku yang tercinta, Papa H. Rosaly Ma'roef, S.T. dan Mama Hj. Dra. Darminingsih, S.T. atas semua kasih sayang, dukungan, semangat, pengorbanan, serta doa yang tidak ada hentinya;
10. Adik kembarku yang tersayang, Fitra Dara Danisa serta Fitri Dara Danisa yang selalu memberikan dukungan, semangat, kasih sayang serta doa yang tulus;
11. Ritman Miko Hartanto, S.T. yang selalu memberikan dukungan, perhatian, semangat serta doa selama penyusunan skripsi ini;
12. Sahabatku Indah Pratiwi, yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
13. Keluarga Mastrip 34 A, Cece, Fitri, Mbak Ella, Mbak Tya, Siska, Okky, Ayu, Zora, Revi, terima kasih telah menjadi keluarga baruku selama berada di Jember;
14. Teman-teman seperjuangan penelitian, Ulfa, Ona, Aulia, Nahdiya, Ardi, terima kasih atas kebersamaan dan kerjasamanya;
15. Ninin, Anggi, Rissa, Ane, Seluruh Teman-teman FKG 2007 dan juga semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu;

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan karya penulis selanjutnya.

Jember, 31 Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Viabilitas	4
2.2 Monosit	4
2.2.1 Deskripsi	4
2.2.2 Membran Sel	5
2.2.3 Fungsi	7
2.3 Streptococcus viridans	9

2.3.1 Morfologi	9
2.3.2 Taksonomi	10
2.3.3 Habitat	10
2.3.4 Karakteristik	11
2.3.5 Kedudukan Dalam Klasifikasi	11
2.3.6 Patogenesis	11
2.4 Tanaman Zaitun (<i>Olea europea</i>)	13
2.4.1 Taksonomi	13
2.4.2 Definisi	13
2.4.3 Ciri-ciri dan Distribusi	13
2.4.4 Buah Zaitun	14
2.4.5 Minyak Zaitun	15
2.4.6 Jenis Minyak Zaitun	16
2.4.7 Kandungan Minyak Zaitun	16
2.4.8 Manfaat Minyak Zaitun	17
2.5 Kerangka Konseptual	19
2.6 Hipotesis	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian	21
3.2.1 Tempat Penelitian	21
3.2.2 Waktu Penelitian	21
3.3 Variabel Penelitian	21
3.3.1 Variabel Bebas	21
3.3.2 Variabel Terikat	22
3.3.3 Variabel Kendali	22
3.4 Sampel Penelitian	22
3.4.1 Kriteria Sampel	22

3.4.2 Jumlah Sampel	22
3.4.3 Penggolongan Sampel Penelitian	22
3.5 Definisi Operasional	23
3.5.1 Viabilitas Sel Monosit	23
3.5.2 Minyak Zaitun	23
3.5.3 <i>Streptococcus viridans</i>	23
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	24
3.6.1 Alat Penelitian	24
3.6.2 Bahan Penelitian	24
3.7 Prosedur Penelitian	25
3.7.1 Mensterilkan Alat	25
3.7.2 Prosedur Pembuatan Minyak Zaitun	25
3.7.3 Pengambilan Sampel Darah	26
3.7.4 Prosedur Isolasi Sel Monosit.....	26
3.7.5 Prosedur Kultur <i>Streptococcus viridans</i>	26
3.7.6 Prosedur Uji Viabilitas Sel Monosit.....	26
3.7.7 Penghitungan Viabilitas Monosit	27
3.8 Analisis Data	28
3.9 Alur Penelitian	29
BAB.4 HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil.....	30
4.1.1 Hasil Sub Kultur <i>Streptococcus viridans</i>	30
4.1.2 Hasil Isolasi Monosit	30
4.1.3 Hasil Uji Viabilitas	31
4.1.4 Analisa Data.....	34
4.2 Pembahasan	35
BAB. 5 KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40

5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	47

DAFTAR SINGKATAN

BHIB	:	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
DMSO	:	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
HBSS	;	<i>Hank's Balanced Salt Solution</i>
MUFA	:	<i>Monounsaturated fatty acid</i>
PUFA	:	<i>Polyunsaturated fatty acid</i>

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Penghitungan Viabilitas Monosit yang Dipapar <i>S. viridans</i> dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun.....	31
4.2 Uji HSD Viabilitas Monosit yang Dipapar <i>S. viridans</i> dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Monosit.....	5
2.2 Komponen Penyusun Membran Sel	6
2.3 Struktur Fosfolipid.....	7
2.4 Aktivasi monosit terhadap infeksi	8
2.5 Proses Fagositosis	9
2.6 <i>Streptococcus viridans</i>	10
2.7 Pohon Zaitun	14
2.8 Buah Zaitun	15
2.9 Minyak Zaitun.....	15
2.10 Kerangka Konsep Penelitian	19
4.1 Preparat apus <i>S. viridans</i> (pewarnaan Gram) (a) Pembesaran 400x (b) Pembesaran 1000x	30
4.2 (a) Preparat apus monosit (pewarnaan Giemsa) dengan Pembesaran 400x (b) Pembesaran monosit	31
4.3 Diagram Batang Rata-rata Viabilitas Monosit pada tiap-tiap Perlakuan	32
4.4 (a) Kelompok perlakuan I; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x (b) Pembesaran gambar monosit	32
4.5 (a) Kelompok perlakuan II; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x (b) Pembesaran gambar monosit	33

4.6	(a) Kelompok perlakuan III; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x (b) Pembesaran gambar monosit	33
4.7	(a) Kelompok perlakuan IV; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x (b) Pembesaran gambar	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A Perhitungan Jumlah Sampel	47
B Hasil Penelitian	48
C Analisis Data	52
D Alat dan Bahan Penelitian	55

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus viridans merupakan salah satu anggota flora normal rongga mulut yang bersifat patogen. Dalam bidang kedokteran gigi, bakteri *S. viridans* dikenal sebagai bakteri anaerob utama penyebab infeksi odontogen. Infeksi odontogen merupakan infeksi yang terjadi pada jaringan gigi yang awalnya bersumber dari kerusakan jaringan keras gigi atau jaringan penyangga gigi. Penjalaran infeksi odontogen pada rahang atas dapat membentuk abses palatal, abses submukosa, abses gingiva, *cavernous sinus thrombosis*, abses labial, dan abses fasial. Sedangkan penjalaran infeksi ada rahang bawah dapat membentuk abses sublingual, abses submental, abses submandibular, abses submasseter, dan phlegmon (angina Ludwig's). Pada kasus-kasus infeksi odontogen, sebanyak 65,7% kasus disebabkan oleh bakteri aerob, sedangkan 34,3% kasus disebabkan oleh bakteri anerob. Dari 34,3% kasus infeksi odontogen yang disebabkan oleh bakteri anaerob, 28,99% kasus disebabkan oleh bakteri *S. viridans* (Rahardjo, 2008; Rega, dkk., 2006).

Monosit merupakan salah satu jenis leukosit atau sel darah putih yang berperan dalam fungsi sistem kekebalan tubuh. Monosit bersama netrofil dimobilisasi bersama sebagai bagian respon peradangan dan membentuk garis pertahanan terhadap infeksi bakteri. Fungsi dari monosit yaitu memfagosit dan mencerna bahan asing beserta jaringan yang mati. (Metuk, 2009; Underwood, 2000; Wikipedia, 2010). Pada orang sehat, 7% dari jumlah peredaran leukosit adalah monosit di mana terdapat 300 sel dalam 1 mm³ darah. Monosit tersirkulasi dalam peredaran darah dengan rasio plasma 3-5% selama satu hingga tiga hari, kemudian bermigrasi ke seluruh jaringan tubuh.

Sel monosit yang lisis tidak dapat meningkatkan respon imun tubuh terhadap bakteri *S. viridans* dan menurunkan kerusakan jaringan. Viabilitas sel adalah kemampuan dari suatu sel untuk mempertahankan dirinya dari serangan jejas dan memulihkan kondisinya guna melanjutkan kehidupannya. Oleh karena itu, viabilitas monosit merupakan faktor yang sangat penting dalam proses pertahanan tubuh guna merespon adanya bakteri patogen.

Minyak zaitun (*Oleum olivae*) adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan biji masak tanaman *Olea europaea*. Komponen mayor dari minyak zaitun yaitu asam lemak tak jenuh rantai tunggal (*MUFA*) dan asam lemak tak jenuh ganda (*PUFA*). Asam lemak berperan penting dalam transport dan metabolisme lemak serta dapat mempertahankan fungsi dan integritas membran sel. Sedangkan komponen minor dari minyak zaitun antara lain α - tokoferol (Vitamin E), polifenol, flavonoid, hidrokarbon, dan pigmen berperan sebagai antibakteri dan antioksidan yang menetralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh peroksidasi lipid yang dikandung dalam minyak zaitun. Kandungan polifenol dalam minyak zaitun terdiri dari *oleuropein*, *tyrosol*, dan *hydroxytyrosol*. *Oleuropein* dan *tyrosol* dapat berperan sebagai antioksidan, sedangkan *hydroxytyrosol* berperan dalam melindungi membran sel. *Hydroxytyrosol* memiliki struktur amfifilik yang konsentrasinya sama dengan struktur yang ada pada membran sel. Hal ini menyebabkan *hydroxytyrosol* mudah melintasi membran sel sehingga dapat memberikan perlindungan terhadap membran sel (Remirez, dkk. 2006; Sartika, 2008; FLP Indonesia, 2006; Andreadou, 2006).

Membran sel merupakan salah satu komponen dari sel monosit yang berperan penting dalam penelitian ini. Membran sel merupakan fitur universal yang dimiliki oleh semua jenis sel berupa lapisan antarmuka yang memisahkan sel dengan lingkungan di luar sel terutama untuk melindungi inti sel dan sistem kelangsungan hidup yang bekerja di dalam sel. Membran sel berfungsi sebagai pelindung sel dan pengatur keluar masuknya zat dari dan ke dalam sel. Viabilitas sel sangat dipengaruhi oleh integritas membran sel. Sel-sel hidup memiliki integritas membran sel yang utuh, sedangkan sel-sel mati tidak memiliki integritas membran sel utuh yang

ditandai dengan kemampuan untuk menyerap pewarnaan tertentu (Chusnia, 2010; Arzumanyan, 2002; Wikipedia, 2011; Metuk, 2009).

Berdasarkan uraian diatas, dengan melihat manfaat dan kandungan minyak zaitun, maka ingin dilakukan penelitian mengenai viabilitas monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi dengan minyak zaitun.

1.2 Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Bagaimana viabilitas sel monosit yang dipapar *S. viridans* dengan diinkubasi dengan minyak zaitun?
- b. Berapakah konsentrasi minimal minyak zaitun yang dapat mempengaruhi viabilitas sel monosit yang dipapar oleh *S. viridans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui viabilitas sel monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi dengan minyak zaitun.
- b. Menentukan konsentrasi minimal minyak zaitun yang dapat mempengaruhi viabilitas sel monosit yang dipapar oleh *S. viridans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Memberikan informasi mengenai pengaruh minyak zaitun terhadap viabilitas sel monosit yang dipapar *S. viridans*.
- b. Sebagai dasar dari penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Viabilitas

Viabilitas berasal dari kata *viable* yang artinya hidup. Viabilitas atau *viable* adalah kemampuan dari suatu sel untuk bertahan hidup, tumbuh dan berkembang (Merriam, 2010). Menurut Kamus Kedokteran Dorland (2002), viabilitas adalah kemampuan untuk bertahan hidup. Sedangkan menurut kamus besar bahasa Indonesia, viabilitas adalah kemungkinan untuk dapat hidup.

Viabilitas sel monosit didasarkan pada integritas sel. Sel-sel *viable* memiliki membran sel yang utuh, sedangkan sel-sel mati tidak memiliki integritas membran sel yang utuh sehingga mudah menyerap pewarnaan tertentu seperti *trypan blue*. Sel yang *viable* sitoplasmanya tampak jernih sedangkan sitoplasma dari sel yang mati tampak berwarna biru karena telah menyerap warna (Arzumanyan, 2002; Strober, 1997).

2.2 Monosit

2.2.1 Deskripsi

Monosit merupakan sel darah yang paling besar. Jumlah monosit 3-8% dari leukosit normal darah. Diameter monosit 9-10 μm tetapi pada hapusan darah kering menjadi pipih dan mencapai diameter 20 μm . Inti monosit terletak eksentris dalam sel dan terlihat mempunyai lekukan yang berbentuk tapal kuda. Sitoplasma sering tampak seperti jala-jala atau bervakuola dan mengandung sejumlah granula azurofil (Leeson dkk., 1996).



Gambar 2.1 Monosit (Irawan, 2009)

Monosit ditemui dalam darah, jaringan penyambung, dan rongga-rongga tubuh. Monosit beredar melalui aliran darah, menembus dinding kapiler masuk ke dalam jaringan ikat. Dalam jaringan, monosit bereaksi dengan limfosit dan memegang peranan penting dalam pengenalan dan interaksi sel-sel *immunocompetent* dengan antigen (Effendi, 2003). Monosit berada dalam darah selama 10-20 jam sebelum mengembara melalui membran kapiler ke dalam jaringan. Ketika masuk ke dalam jaringan, sel-sel ini membengkak sampai ukurannya menjadi besar untuk menjadi makrofag jaringan (Guyton, 1995).

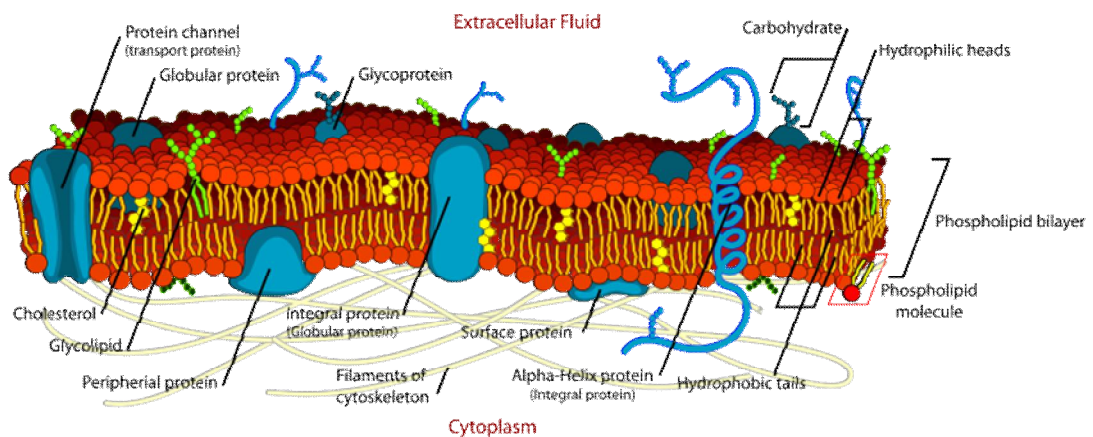
2.2.2 Membran Sel

Membran sel monosit memiliki beberapa fungsi seperti membran sel pada umumnya. Fungsi dari membran sel antara lain sebagai pembatas yang bersifat selektif permeabel, mendukung aktivitas biokimia yang berlangsung di dalam sel, memberikan respons terhadap rangsangan seperti transduksi sinyal, reseptor dan ligand, sebagai komunikasi antara sel dan mengantarai interaksi antar sel dalam organisme multiselular. Selain itu membran sel juga terlibat dalam proses perubahan energi ke bentuk energi lain (Iriawati, 2009).

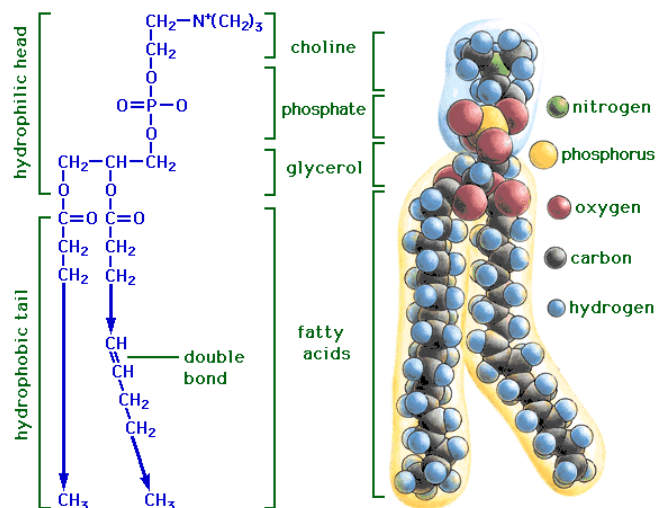
Membran sel monosit tersusun atas lemak seperti membran sel lainnya. Komponen utama dari lipid membran adalah fosfolipid. Fosfolipid merupakan molekul amfipatik yang terdiri dari 2 rantai asam lemak hidrofobik dan

gugus kepala hidrofilik yang mengandung fosfat (Iriawati, 2009; Nuraini, 2009). Lemak yang selalu dijumpai pada membran sel adalah fosfolipid dan kolesterol.

Membran sel terdiri dari dua lapisan fosfolipid dimana terdapat kolesterol dan berbagai protein di dalamnya. Fosfolipid dan kolesterol merupakan struktur membran, sementara protein mempunyai tugas-tugas khusus seperti membantu pengangkutan molekul-molekul yang melewati membran sel. Fosfolipid merupakan lipid yang jumlahnya paling melimpah dalam sebagian besar membran sel. Fosfolipid mengandung asam lemak, alkohol dan juga residu asam fosfat. Asam lemak terdiri atas asam lemak jenuh (SFA) yang memiliki ikatan tunggal pada atom-atom karbon penyusunnya dan asam lemak tidak jenuh (UFA) yang memiliki minimal satu ikatan ganda pada atom-atom karbon penyusunnya. Asam lemak tidak jenuh terdiri dari asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA) yang memiliki satu ikatan ganda pada atom-atom karbon penyusunnya dan asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) yang memiliki lebih dari satu ikatan ganda pada atom-atom karbon penyusunnya (Simmons, 2007; Chusnia, 2010; Murray, dkk., 2003).



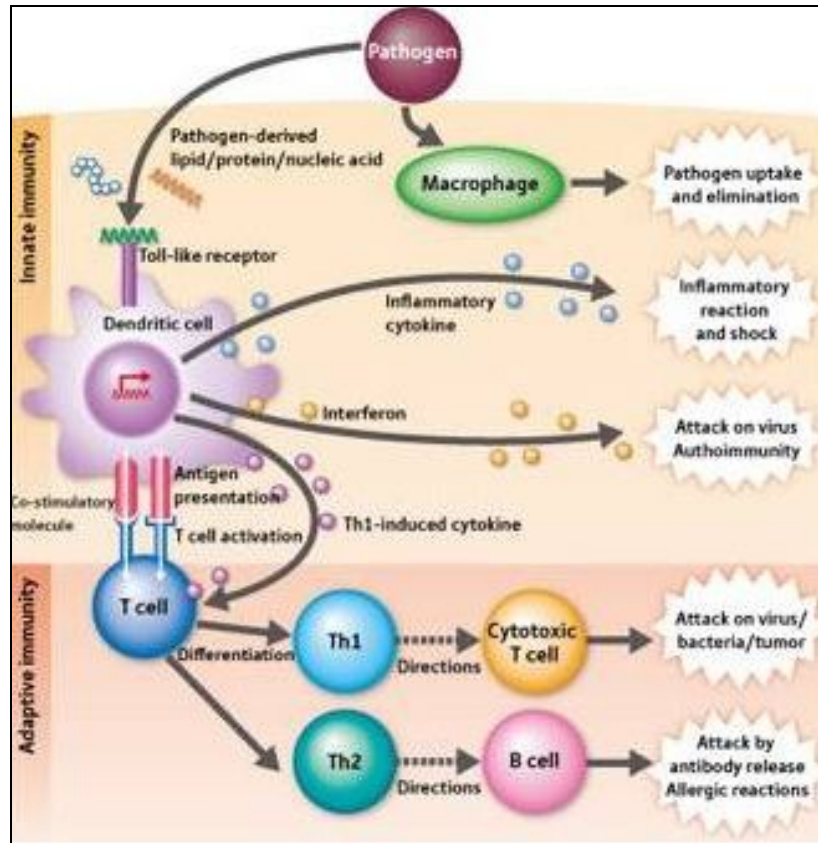
Gambar 2.2 Komponen Penyusun Membran Sel (Rahman, 2010)



Gambar 2.3 Struktur Fosfolipid (Rydberg, 2006)

2.2.3 Fungsi

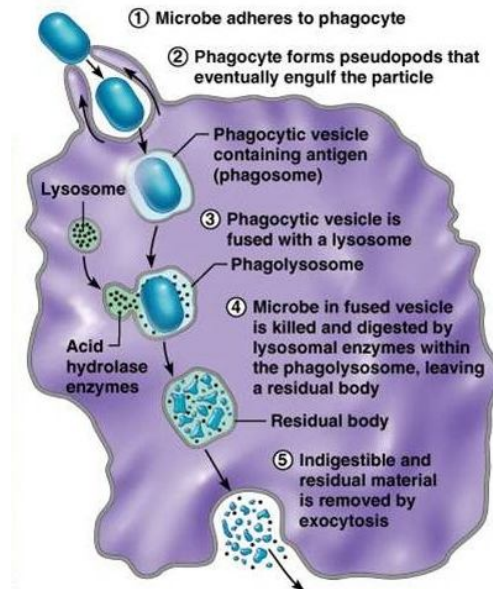
Monosit mempunyai peranan penting dalam perlindungan tubuh terhadap mikroorganisme dengan kemampuannya sebagai fagosit. Monosit memfagosit bakteri hidup yang masuk ke sistem peredaran darah. Monosit membagi fungsi fagositosis dengan neutrofil, namun monosit juga memiliki tugas tambahan yaitu memberikan potongan patogen kepada sel T sehingga patogen tersebut dapat dihafal dan dibunuh.



Gambar 2.4 Aktivasi monosit terhadap infeksi (Yudhasmara, 2012)

Proses fagositosis adalah sebagian dari respons imun non spesifik dan yang pertama kali mempertemukan *host* dengan benda asing. Istilah endositosis lebih umum dan mempunyai dua arti yaitu *fagositosis* (pencernaan partikel) dan *pinositosis* (pencernaan nonpartikel, misalnya cairan). Sel yang berfungsi menelan dan mencerna partikel atau substansi cairan disebut sel fagositik, terdiri dari sel fagosit mononuklear dan fagosit polimorfonuklear. Untuk menelan partikel atau patogen, fagosit memperluas bagian membran plasma kemudian membungkus membran di sekeliling partikel hingga terbungkus. Ketika berada di dalam sel, patogen yang menginvasi disimpan di dalam endosom kemudian bersatu dengan lisosom. Lisosom mengandung

enzim dan asam yang membunuh dan mencerna partikel atau organisme (Anonim, 2011).

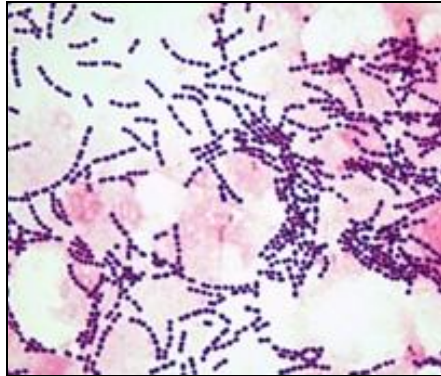


Gambar 2.5 Proses Fagositosis (Anonim, 2011)

2.3 *Streptococcus viridans*

2.3.1 Morfologi

Bakteri *S. viridans* merupakan bakteri yang berbentuk lonjong atau bundar, gram (+) dan terlihat berjajar seperti rantai (Lukitaningsih, 2009). Bakteri *S. viridans* bergaris tengah 1μ dan lebarnya $0,2$ sampai $0,5\mu$. Anatomi bakteri *S. viridans* terdiri dari dua komponen yaitu dinding sel yang kaku dan membran sitoplasma atau membran plasma. Di dalamnya terdapat sitoplasma seperti ribosom, mesosom, granula, vakuola dan benda inti. Tebal dinding sel yaitu 10 sampai 25 nm (Gupte, 1990).



Gambar 2.6 *Streptococcus viridans* (Kuong, 2011)

2.3.2 Taksonomi *Streptococcus viridans*

<i>Regnum</i>	: Tumbuhan
<i>Divisi</i>	: <i>Protophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Schizomycetes</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Eubacteriales</i>
<i>Sub Ordo</i>	: <i>Eubacterrineae</i>
<i>Family</i>	: <i>Lactobacillaceae</i>
<i>Sub family</i>	: <i>Streptococceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Streptococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>viridans</i>

Klasifikasi mikroorganisme menurut Bergery, 1957 (Jawetz, 1984).

2.3.3 Habitat

Streptococcus merupakan anggota flora normal manusia. *Streptococcus* terdapat pada saluran pencernaan dan penting untuk keadaan kesehatan selaput lendir. *S. viridans* merupakan salah satu anggota dari *Streptococcus* yang terdapat pada membran mukosa mulut dan faring (Nolte, 1982; Jawetz, 1984; Topazian dan Golberg; 1987).

2.3.4 Karakteristik

Streptococcus termasuk kelompok kuman Gram positif dan mempunyai membran yang lebih permeabel terhadap yodium. Pada pewarnaan Gram setelah dilakukan pencucian dengan alkohol, bakteri *S. viridans* tetap berwarna ungu sedangkan pada bakteri gram (-) kehilangan warna ungu. Berdasarkan pengadaannya energinya, bakteri *S. viridans* termasuk golongan heterotopik karena memperoleh makanan dari lingkungan sekitarnya serta tidak mampu membuat bahan organik sendiri melalui proses fotosintesis (Stewart dan Beswick, 1977; Jawetz, 1984; Ross, 1989).

2.3.5 Kedudukan dalam Klasifikasi

S. viridans bukan merupakan spesies tertentu, tetapi merupakan suatu kelompok dari beberapa spesies. Sedangkan anggota kelompok dari *S. viridans* seperti *S. bovis I*, *S. bovis II*, *S. gordonii*, *S. milleri* (*S. anginosus*, *S. constelattus*, *S. intermedius*), *S. vestibularis*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. pasanguis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, dan *S. sobrinus* (Baron, dkk., 1994).

Berdasarkan klasifikasi bakteri patogen yang ada dalam tubuh manusia, *S. viridans* termasuk dalam kelompok *Eubacteria*. *Eubacteria* merupakan bakteri dengan sel dinding tebal, kaku, tidak bergerak (non motile) yang bergerak menggunakan flagel (Baron, dkk., 1994; Jawetz, dkk., 2007).

2.3.6 Patogenesis

Bakteri *S. viridans* merupakan bakteri yang bersifat patogen oportunistik, yaitu bakteri yang bisa berada harmoni di dalam tubuh, tetapi dapat menyebabkan penyakit apabila mengalami pergeseran keseimbangan ekologi di dalam tubuh host. Pergeseran keseimbangan ekologi di dalam tubuh dapat dipengaruhi oleh virulensi bakteri yang meningkat atau sistem imun dari host yang menurun. Bakteri ini merupakan anggota flora normal dalam tubuh yang paling banyak ditemukan di

membran mukosa rongga mulut, saluran napas atas dan faring manusia (Jawetz, 2007).

Dalam bidang kedokteran gigi, bakteri *S. viridans* dikenal sebagai penyebab infeksi odontogen. Infeksi odontogen adalah infeksi yang berasal dari gigi. Penyebab dari infeksi ini yaitu flora normal rongga mulut terutama bakteri kokus aerob gram positif, kokus anaerob gram positif dan batang anaerob gram negatif. Pada kasus-kasus infeksi odontogen, sebanyak 65,7% kasus disebabkan oleh bakteri aerob, sedangkan 34,3% kasus disebabkan oleh bakteri anerob. Dari 33% kasus infeksi odontogen yang disebabkan oleh bakteri anaerob, 28,99% kasus disebabkan oleh bakteri *S. Viridans* (Rega, dkk., 2006).

Infeksi odontogen biasanya diawali dengan adanya bakteri pada jaringan gigi terutama pada jaringan periapikal. Karena jumlah bakteri yang banyak, maka infeksi ini dapat menyebar ke tulang spongiosa sampai tulang kortikal. Jika tulang ini tipis, maka infeksi akan menembus dan masuk ke jaringan lunak. Infeksi odontogen dapat menyebar melalui jaringan ikat (*pericontinuitatum*), pembuluh darah (*hematogenous*), dan pembuluh limfe (*lymphogenous*). Yang paling sering terjadi adalah penjalaran secara *pericontinuitatum* karena adanya celah/ ruang di antara jaringan yang berpotensi sebagai tempat berkumpulnya pus. Penjalaran infeksi odontogen pada rahang atas dapat membentuk abses palatal, abses submukosa, abses gingiva, *cavernous sinus thrombosis*, abses labial, dan abses fasial. Sedangkan penjalaran infeksi ada rahang bawah dapat membentuk abses sublingual, abses submental, abses submandibular, abses submasseter, dan phlegmon (angina Ludwig's) (Rahardjo, 2008).

2.4 Tanaman Zaitun (*Olea europaea*)

2.4.1 Taksonomi Tanaman Zaitun (*Olea europaea*)

Taksonomi zaitun adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Lamiales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Oleaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Olea</i>
<i>Spesies</i>	: <i>europaea</i>

(Dasuki, 1991).

2.4.2 Definisi

Zaitun termasuk jenis *Olea europaea* dari keluarga *Oleaceae*. Dalam bentuk buah, zaitun muda yang berwarna hijau kekuningan digunakan sebagai penambah rasa. Zaitun yang matang dengan warna hitam dapat diperas untuk diambil minyaknya. Buah zaitun yang matang mengandung 80% air, 15% minyak, 1% protein, 1% karbohidrat, dan 1% serat (Mukhlis, 2008).

2.4.3 Ciri-ciri dan Distribusi

Tanaman zaitun memiliki beberapa ciri yang dapat ditemui di beberapa daerah. Ciri-ciri dari tanaman zaitun yaitu tumbuh sebagai perdu, bunga berbentuk lonceng, daun tunggal dengan kedudukan berhadapan tanpa daun penumpu, bunga banci atau berkelamin tunggal, buah menumpang, serta buahnya berupa buah batu dengan biji memiliki endosperma. Distribusi tanaman zaitun meliputi daerah-daerah iklim panas sampai iklim sedang. Tanaman zaitun dapat ditemui di Asia dan daerah Laut Tengah (Istana Herba, 2010).



Gambar 2.7 Pohon Zaitun (Anonim, 2010)

2.4.4 Buah Zaitun

Buah zaitun berbentuk oval berwarna hijau dan menghitam dikala matang. Pengolahannya dengan cara diperas menggunakan alat khusus menghasilkan minyak zaitun yang serbaguna. Buah zaitun juga merupakan sumber gizi, setiap 7 atau 8 buah zaitun berukuran sedang dapat memberikan sekitar 200 kalori pada tubuh. Rata-rata komposisi kimia buah zaitun yaitu air (50%), minyak (22%), gula (19,1%), selulosa (5,8%), protein (1,6%), abu (1,5%) (Savitri, 2010).

Buah zaitun dapat dikonsumsi dan digunakan sebagai penyedap makanan. Selain buahnya yang enak, kayu dari pohon zaitun juga sangat bagus, keras dan indah. Buah zaitun dapat diperas untuk memperoleh minyak zaitun. Minyak zaitun dapat digunakan sebagai bumbu salad dan sebagai bahan kosmetik yang dapat menjaga kelembaban dan kekencangan kulit (Istana Herba, 2010).



Gambar 2.8 Buah Zaitun (Coeco, 2011)

2.4.5 Minyak Zaitun

Minyak zaitun (*Oleum Olivae*) adalah sebuah minyak yang diperoleh dari pemerasan biji buah zaitun yang telah matang. Buah diproses sebanyak tiga kali. Minyak dapat digunakan untuk memasak, kosmetik, obat-obatan, dan sabun, dan juga sebagai bahan bakar untuk lampu minyak. Minyak zaitun dianggap sebagai minyak yang sehat karena mengandung lemak tak jenuh yang tinggi. Beberapa jenis minyak zaitun tetap tidak berubah keefektifitasannya selama bertahun-tahun (Firdaus, 2005; Fehri, dkk., 1996).



Gambar 2.9 Minyak Zaitun (Anonim, 2011)

2.4.6 Jenis Minyak Zaitun

Berdasarkan jenisnya, minyak zaitun dibagi menjadi :

- a. Extra-Virgin Olive Oil : memiliki tingkat keasaman kurang dari 1%.
- b. Virgin Olive Oil : hampir menyerupai extra virgin olive oil, namun virgin olive oil diambil dari buah yang lebih matang dan memiliki tingkat keasaman lebih tinggi.
- c. Refined Olive Oil : merupakan minyak zaitun yang berasal dari hasil penyulingan. Jenis ini tingkat keasamannya lebih dari 3,3% serta memiliki aroma dan rasa yang kurang baik.
- d. Pure Olive Oil : merupakan minyak zaitun yang paling banyak dijual di pasaran. Warna, aroma, dan rasanya lebih ringan daripada virgin olive oil.
- e. Extra Light Olive Oil : Jenis ini merupakan campuran minyak zaitun murni dan hasil sulungan sehingga kualitasnya kurang begitu baik. Namun, jenis ini cukup populer karena harganya lebih murah daripada jenis lainnya (Kinanthi, 2009).

2.4.7 Kandungan Minyak Zaitun

Minyak zaitun murni (*Extra-Virgin Olive Oil*) terdiri atas komponen mayor dan minor. Komponen mayor ini terdiri dari asam- asam lemak. Asam lemak memiliki efek imunologik dan berperan penting dalam transport dan metabolisme lemak serta dapat mempertahankan fungsi dan integritas membran sel. Sedangkan komponen minor seperti α - tokoferol (Vitamin E), bahan polifenol, flavonoid, hidrokarbon, dan pigmen berperan sebagai antioksidan yang menetralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh peroksidasi lipid yang dikandung dalam minyak zaitun (Ramirez, dkk. 2006).

Secara umum, asam-asam lemak dalam minyak zaitun dibagi menjadi dua bagian, yaitu :

- a. Asam lemak tak jenuh dengan kadar 80%. Asam lemak ini terdiri dari MUFA dan PUFA. MUFA terdiri atas asam oleat/Omega-9 (64%), sedangkan PUFA terdiri atas asam linoleat/Omega-6 (11%) dan asam linolenat/Omega-3 (5%).

- b. Asam lemak jenuh dengan kadar 20%. Asam lemak ini dibagi menjadi asam palmitat (15%), asam stearat (5%) (Savitri, 2011; Kinanthi, 2009).

2.4.8 Manfaat Minyak Zaitun

Penelitian kedokteran saat ini membuktikan bahwa penggantian penggunaan minyak jenuh dengan minyak tak jenuh seperti minyak zaitun dapat menurunkan tingkat kolesterol dalam tubuh. Penelitian lainnya juga menyebutkan bahwa minyak tak jenuh memiliki keuntungan yang lebih potensial daripada minyak jenuh seperti minyak sayur dan mentega. Apalagi setelah dibuktikan bahwa di antara minyak tak jenuh yang tersedia, minyak zaitun terbukti lebih efektif bila dibandingkan dengan minyak jagung dalam hal penanganan lemak tubuh (Rietjens, dkk., 2007; Ruano, dkk., 2005; Marwat, dkk., 2009).

Polifenol merupakan senyawa kimia yang memiliki banyak manfaat bagi tubuh. Komposisi senyawa polifenol utama dalam minyak zaitun adalah *oleuropein*, menyusul *hydroxytyrosol* dan *tyrosol* (Andreadou, dkk., 2006). *Oleuropein* merupakan salah satu komposisi yang penting dalam kandungan polifenol. *Oleuropein* merupakan agen aktif yang bertanggung jawab atas aksi hipotensi ekstrak dari tanaman zaitun, yang bertindak sebagai antioksidan. *Oleuropein* mempunyai aktivitas antioksidan tinggi yang secara *in vitro* sebanding dengan tokoferol. Mekanisme antioksidan *oleuropein* juga dibantu oleh sistem *glutation*. Sistem *glutation* terdiri dari dua macam enzim, yaitu *glutation reduktase* dan *glutation peroksidase*. Enzim *glutation reduktase* memiliki mekanisme utama sebagai proteksi seluler melawan proses oksidasi dalam tubuh (Alleman, 2009; Covas, dkk., 2006).

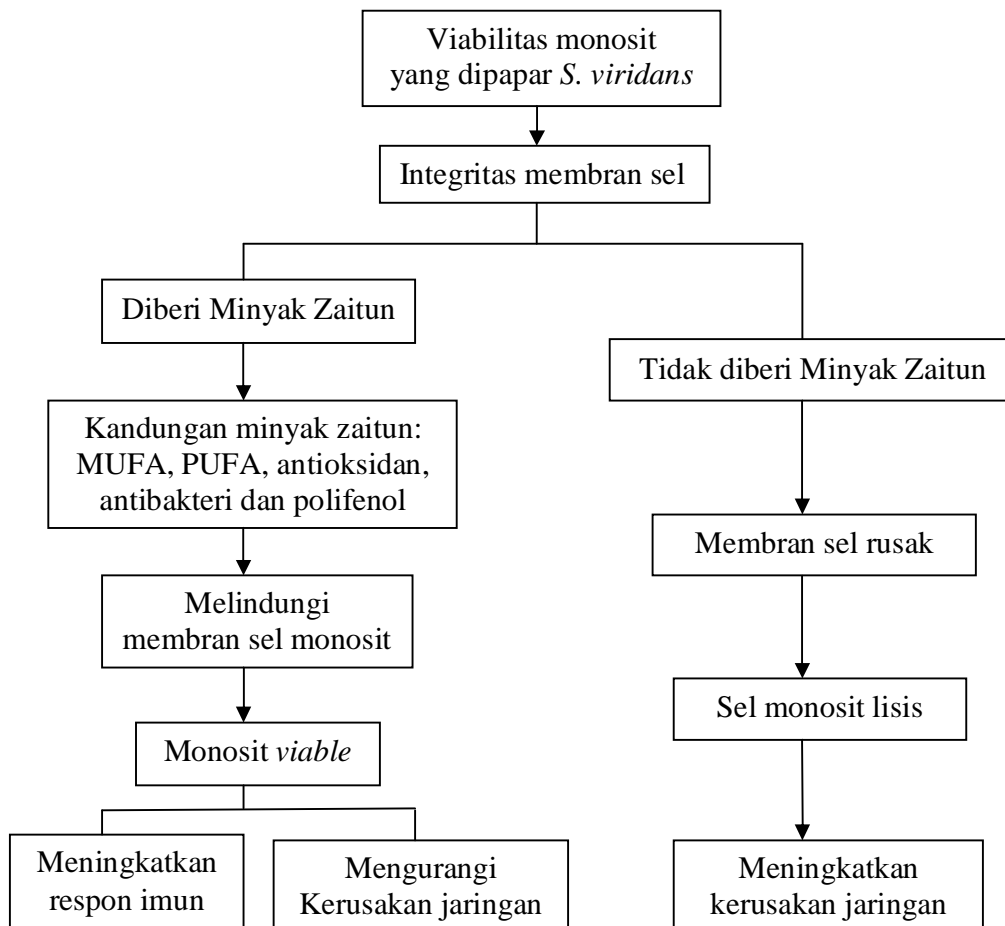
Proses pemurnian minyak zaitun menghasilkan sejumlah komponen lain yang bermanfaat yaitu hidroksitirosol dan tirosol. Menurut penelitian Fabiani dkk., (2008) secara *in vitro*, aktivitas antioksidan *hydroxytyrosol* melalui mekanisme mencegah terjadinya kematian sel, *hydroxytyrosol* dan *oleuropein* lebih poten dalam mengumpulkan radikal bebas dibanding *tyrosol*. Serta melindungi sel-sel dari bahan-bahan sitotoksik, *hydroxytyrosol* memiliki struktur amfifilik, yaitu konsentrasi yang

sama pada membran dan sitosol. Hal tersebut menyebabkan *hydroxytyrosol* mudah melintasi membran sel dan memberikan perlindungan terhadap membran dan sitosol.

Tyrosol merupakan senyawa stabil yang efektifitasnya sebagai antioksidan paling rendah dibandingkan dengan senyawa polifenol lainnya. *Tyrosol* merupakan antioksidan intraseluler yang berperan sebagai pelindung kerusakan sel dan apoptosis bahan sitotoksik. *Tyrosol* hanya dapat memberikan efek antioksidan sebagai pengaktif senyawa tokoferol (Giovannini dkk., 1999).

Minyak zaitun juga mengandung vitamin E (mengandung α -, β -, γ -, δ -tokoferol). Tokoferol merupakan antioksidan penting bagi tubuh untuk mencegah invasi radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan sel. Vitamin E juga dapat menurunkan lipida peroksidase tetapi membutuhkan vitamin C untuk memberikan efek yang maksimal pada manusia (Kiritsakis, 2008; Retzlaff, 2008).

2.5 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.10 Kerangka Konsep Penelitian

Monosit diisolasi dari darah vena periperal orang sehat untuk mendapatkan monosit yang *viable* (hidup). Viabilitas monosit didasarkan pada integritas membran sel yang utuh. Membran sel monosit merupakan lapisan lipid ganda yang terdiri atas berbagai macam lipid seperti MUFA dan PUFA. Sel monosit tersebut kemudian diberi perlakuan diinkubasi dengan menggunakan minyak zaitun 25%, 50%, *Extra Virgin Olive Oil* dan tidak diinkubasi dengan minyak zaitun. Kandungan minyak zaitun memiliki kandungan MUFA yang tinggi, PUFA, antioksidan yang tinggi serta mengandung polifenol yang dapat memberikan perlindungan terhadap membran.

Selanjutnya sel monosit yang telah diberi perlakuan dipapar oleh salah satu bakteri pada rongga mulut yaitu *S. viridans*. Dengan demikian, minyak zaitun yang digunakan diharapkan dapat melindungi membran sel monosit agar tidak lisis ketika dipapar oleh bakteri *S. viridans*, sehingga sel monosit dapat tetap hidup. Monosit yang *viable* (hidup) dapat meningkatkan respon imun tubuh terhadap bakteri *S. viridans* dan menurunkan kerusakan jaringan yang disebabkan lisisnya monosit.

2.6 Hipotesis

Inkubasi minyak zaitun akan meningkatkan viabilitas monosit yang dipapar oleh *S. viridans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Karena sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan kelompok kontrol (*The Post Test Only Control Group Design*), yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi setelah perlakuan diberikan. Tujuan utama penelitian eksperimental laboratoris adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling berhubungan dengan mengadakan intervensi kepada satu atau lebih kelompok eksperimen, kemudian akibat dari intervensi dibandingkan dengan kelompok yang tidak dikenakan perlakuan (kelompok kontrol) (Notoatmojo, 2005).

3.2 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2011.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah minyak zaitun.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah viabilitas sel monosit.

3.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali pada penelitian ini adalah prosedur laboratorium dan analisis data.

3.4 Sampel Penelitian

3.4.1 Kriteria Sampel

Monosit diisolasi dari darah vena periferal laki-laki sehat yang tidak mempunyai riwayat kelainan darah dan tidak memiliki kebiasaan merokok.

3.4.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan untuk tiap kelompok dalam penelitian ini adalah 6 sampel yang didasarkan pada penghitungan rumus besar sampel menurut Supranto (Lampiran A).

3.4.3 Penggolongan Sampel Penelitian

Sampel digolongkan dalam 4 kelompok, yaitu:

- a. Kelompok I (isolasi sel monosit dipapar *S. viridans* dan diinkubasi *Extra-Virgin Olive Oil*)
- b. Kelompok II (isolasi sel monosit dipapar *S. viridans* dan diinkubasi minyak zaitun konsentrasi 50%)
- c. Kelompok III (isolasi sel monosit dipapar *S. viridans* dan diinkubasi minyak zaitun konsentrasi 25%)
- d. Kelompok IV (isolasi sel monosit dipapar *S. viridans* dan tidak diinkubasi-kontrol)

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Viabilitas Sel Monosit

Viabilitas (kelangsungan hidup) sel monosit diamati dengan pewarnaan *trypan blue* dan dihitung menggunakan *hemocytometer*. Monosit yang tidak menyerap pewarnaan *trypan blue* terlihat seperti sel bening dihitung sebagai monosit yang *viable* (hidup) karena memiliki membran sel yang tetap utuh setelah dipapar bakteri *S. viridans*.

3.5.2 Minyak Zaitun

Minyak zaitun yang digunakan adalah:

a. *Extra-Virgin Olive Oil* yang digunakan adalah *extra virgin olive oil* produksi dari Pietro Coricelli, Italy.

b. Minyak Zaitun Konsentrasi 50%

Minyak zaitun konsentrasi 50 % adalah 5 ml *extra virgin olive oil* produksi dari Pietro Coricelli yang diencerkan dengan menggunakan 0,1 ml DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), yang kemudian ditambah dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 ml.

c. Minyak Zaitun Konsentrasi 25%

Minyak zaitun konsentrasi 25 % adalah 2,5 ml *extra virgin olive oil* produksi dari Pietro Coricelli yang diencerkan dengan menggunakan 0,1 ml DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), yang kemudian ditambah dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 ml.

3.5.3 *Streptococcus viridans*

S. viridans merupakan bakteri anaerob bentuk gram positif. Pada penelitian ini digunakan *S. viridans* dalam medium cair BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*). Kultur ini diinkubasi secara anareobik pada suhu 37°C selama 1-2 hari.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Tabung falcon 15 ml
- b. *Dysposable syringe* 5 ml
- c. *Inkubator*
- d. *Cover glass*
- e. *Object glass*
- f. Rak tabung
- g. *Microtube*
- h. Mikroskop *inverted*
- i. *Hemocytometer*
- j. Pipet mikro
- k. *Blue/yellow tip*
- l. Petridish kecil
- m. Gelas ukur
- n. *Laminar flow cabinet*
- o. *Sentrifuse*
- p. *Vortex*
- q. *Rotating shaker*
- r. *Incubator shaker*
- s. Stopwatch

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Minyak Zaitun (Pietro Coricelli, Italy)
- b. Darah vena periveral
- c. Heparin
- d. HBSS/*Hank's Balanced Salt Solution* (GIBCO)

- e. Histopaque (SIGMA)
- f. *Ficoll hypaque gradient*
- g. RPMI (SIGMA)
- h. *Streptococcus viridans* (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember)
- i. Media BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*)
- j. *Trypan blue* (GIBCO)
- k. *Giemsa stain*
- l. Minyak emersi
- m. Alkohol
- n. Aquades steril.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Mensterilkan Alat

Peralatan dicuci bersih dan disterilkan di dalam laminar flow cabinet selama 15 menit.

3.7.2 Prosedur Pembuatan Minyak Zaitun

Extra-Virgin Olive Oil yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Extra-Virgin Olive Oil* yang diperoleh dari produksi pabrik. Sedangkan untuk minyak zaitun dengan konsentrasi 50% dan 25% didapatkan dari *Extra-Virgin Olive Oil* yang telah dilakukan pengenceran. Metode pengenceran menggunakan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*). Untuk membuat minyak zaitun konsentrasi 50%, *Extra-Virgin Olive Oil* sebanyak 5 ml ditambah dengan 0,1 ml DMSO, kemudian ditambah dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 ml. Untuk membuat minyak zaitun konsentrasi 25%, *Extra-Virgin Olive Oil* sebanyak 2,5 ml ditambah dengan 0,1 ml DMSO, kemudian ditambah dengan aquades hingga volumenya menjadi 10 ml. Prosedur pembuatan minyak zaitun konsentrasi 50% dan 25% ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.7.3 Pengambilan sampel darah

Enam cc darah (*whole blood*) diambil dari darah vena peripheral orang sehat (tidak mempunyai riwayat kelainan darah). Pengambilan darah vena dengan *dysposable syringe* secara intravena. Segera setelah 6 cc darah diambil kemudian dibagi dalam dua tabung yang telah diberi heparin.

3.7.4 Prosedur Isolasi Sel Monosit

Prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- a. Sampel darah (*heparinized whole blood*) diencerkan dengan HBSS 6 cc dalam tabung reaksi. *Heparinized whole blood* : HBSS = 1:2 → 3 cc : 6 cc.
- b. Dilapiskan pada tiga cc *ficoll*.
- c. Disentrifuse selama 30 menit dengan kecepatan 1350 rpm dalam suhu ruang.
- d. Aspirasi interface plasma *ficoll* “buffy coat” (untuk isolasi monosit).
- e. Cuci 2 kali dengan menggunakan HBSS sebanyak 1-2 cc lalu disentrifuse dengan kecepatan 1350 rpm selama 10 menit.
- f. Resuspensi dalam 2500 µl RPMI.
- g. Membuat preparat hapus dengan pengecatan Giemsa.

3.7.5 Prosedur Kultur dan Preparasi *Streptococcus viridans*

S. viridans yang digunakan didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, yang dibiakkan dalam medium cair BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*). Kultur ini diinkubasi secara anareobik pada suhu 37°C selama 1-2 hari.

3.7.6 Prosedur Uji Viabilitas Sel Monosit

Uji viabilitas sel pada penelitian ini dengan metode mikroskopis. Viabilitas sel ditunjukkan oleh warna sel monosit setelah dipapar bakteri *S. viridans*. Monosit yang tidak menyerap pewarnaan *trypan blue* dihitung sebagai monosit yang viable (hidup). Prosedur yang dilakukan sebagai berikut :

- a. Menyiapkan 24 *microtube* yang telah disterilkan.
- b. Isi setiap *microtube* dengan 200 μ l suspensi monosit yang telah diresuspensi dengan RPMI.
- c. Kemudian tambahkan 100 μ l minyak zaitun *Extra-Virgin* pada kelompok perlakuan I, 100 μ l minyak zaitun konsentrasi 50% pada kelompok perlakuan II, 100 μ l minyak zaitun konsentrasi 25% pada kelompok perlakuan III dan 100 μ l HBSS pada kelompok perlakuan IV.
- d. Letakkan pada *rotating shaker* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 jam.
- e. Menambahkan suspensi 100 μ l bakteri *S. viridans* pada tiap sampel. Volume akhir dari tiap sampel yaitu 400 μ l.
- f. Letakkan pada *incubator shaker* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 9 jam.
- f. Medium inkubasi dibuang, sel dicuci 3 kali dengan HBSS dan disentrifuse untuk menghilangkan minyak.

3.7.7 Penghitungan Viabilitas Monosit

- a. Mengambil 50 μ l suspensi sel pada tiap sampel dan diberi 50 μ l *trypan blue* kemudian dipipetting.
- b. Diletakkan pada *hemocytometer* kemudian dihitung dengan menggunakan mikroskop inverted.
- c. Monosit yang tidak menyerap pewarnaan *trypan blue* dihitung sebagai monosit yang *viable* (hidup). Persentase viabilitas monosit diperoleh dengan membagi jumlah sel yang *viable* dengan jumlah sel monosit seluruhnya (monosit yang menyerap dan tidak menyerap pewarnaan *trypan blue*).

$$\text{Viabilitas sel (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel monosit yang } \textit{viable}}{\text{jumlah sel monosit seluruhnya}} \times 100\%$$

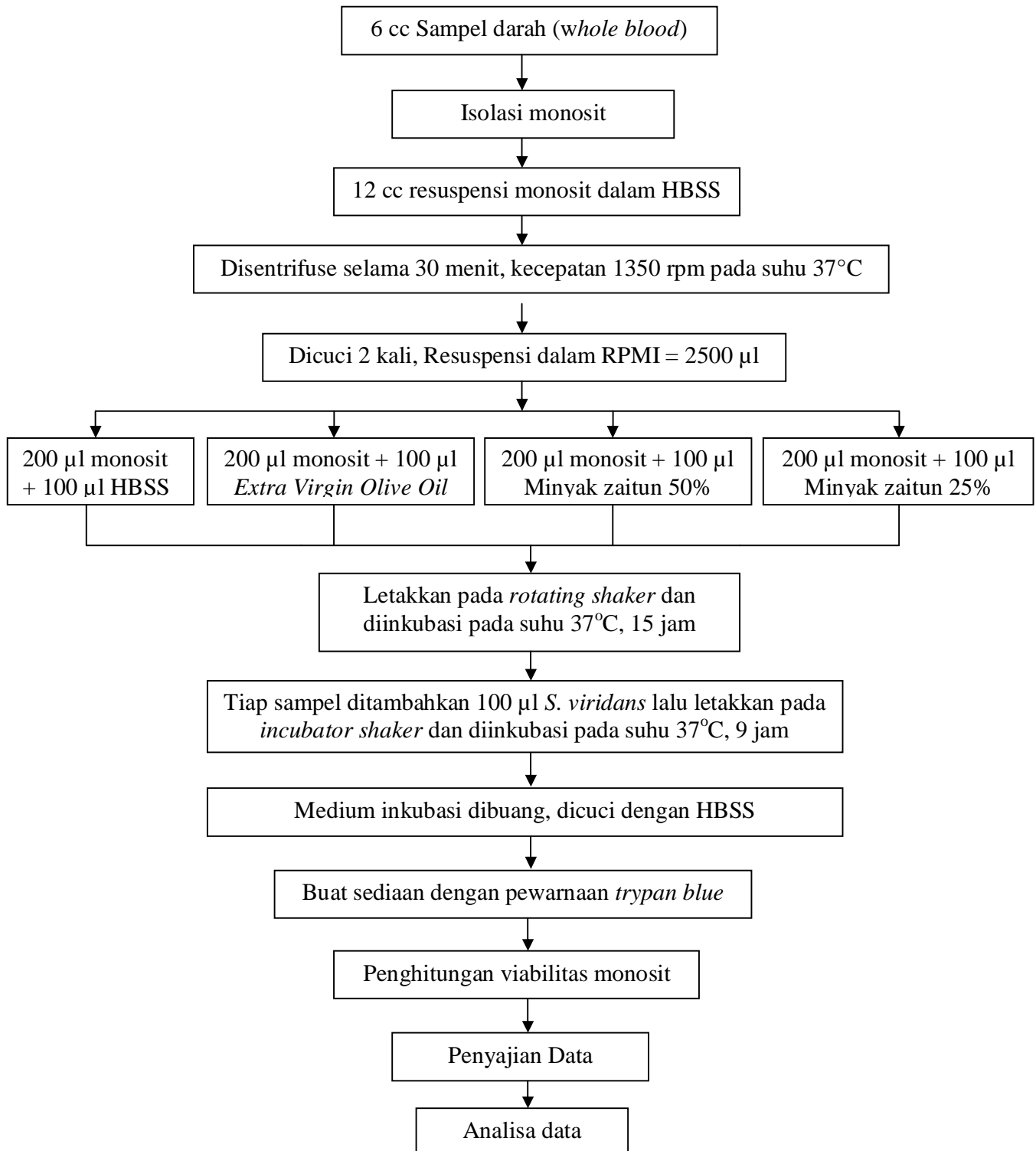
(Strober, 1997).

3.8 Analisis Data

Dalam penelitian ini, data yang didapatkan dianalisa menggunakan uji statistik parametrik sebagai berikut.

1. Uji *kolmogorov smirnov* untuk uji normalitas.
2. *Levene test* untuk uji homogenitas.
3. Jika data yang dihasilkan homogen dan normal, maka dilakukan uji statistik parametrik, yaitu *one way annova* dan apabila terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji HSD (Notoatmojo, 2005).

3.9 Alur Penelitian

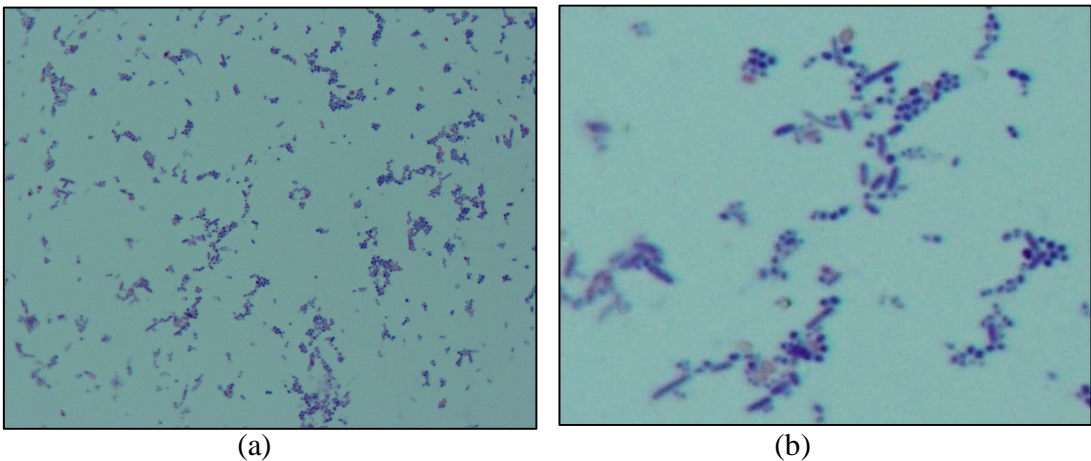


BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Sub Kultur *Streptococcus viridans*

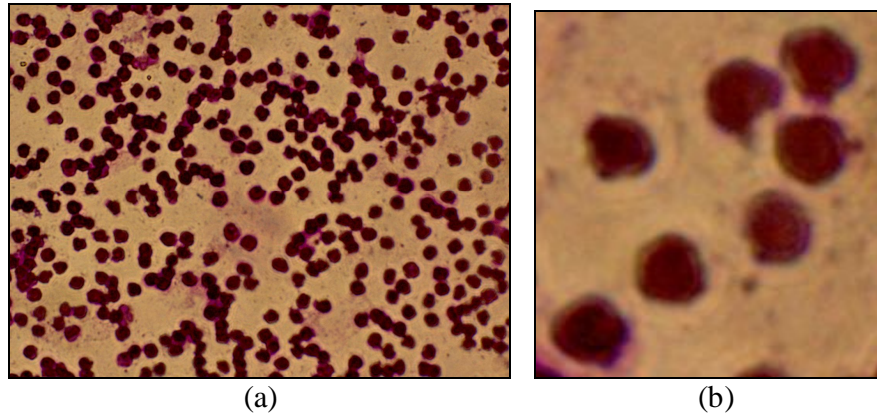
Hasil sub kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *S.viridans*. Setelah diinkubasi selama 48 jam dan dibuat preparat hapus dengan pewarnaan Gram, bakteri tampak berwarna ungu (Gram positif) dan bentuk bakteri yang seragam yaitu berbentuk bulat.



Gambar 4.1 Preparat apus *S. viridans* (pewarnaan Gram)
(a) Pembesaran 400x (b) Pembesaran 1000x

4.1.2 Hasil Isolasi Monosit

Hasil proses isolasi pada penelitian ini menunjukkan bahwa seluruhnya adalah sel monosit. Sel monosit tampak berwarna keunguan (pewarnaan Giemsa) dan inti dari monosit berbentuk seperti ginjal.



Gambar 4.2 (a) Preparat apus monosit (pewarnaan Giemsa) dengan pembesaran 400x
(b) Pembesaran monosit

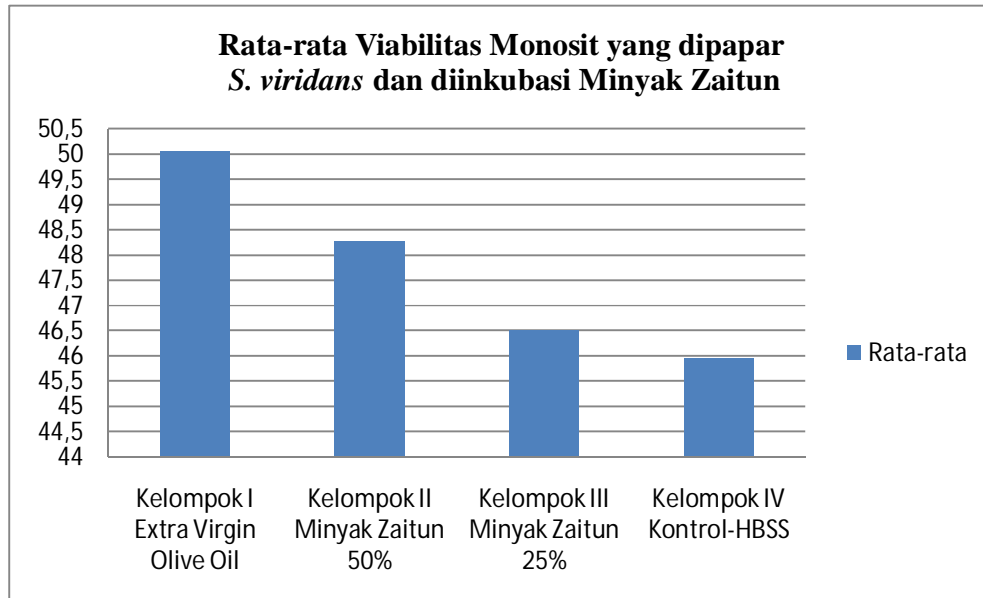
4.1.3 Hasil Uji Viabilitas

Data hasil penelitian tentang viabilitas monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi dengan minyak zaitun dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Penghitungan Viabilitas Monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi dengan minyak zaitun

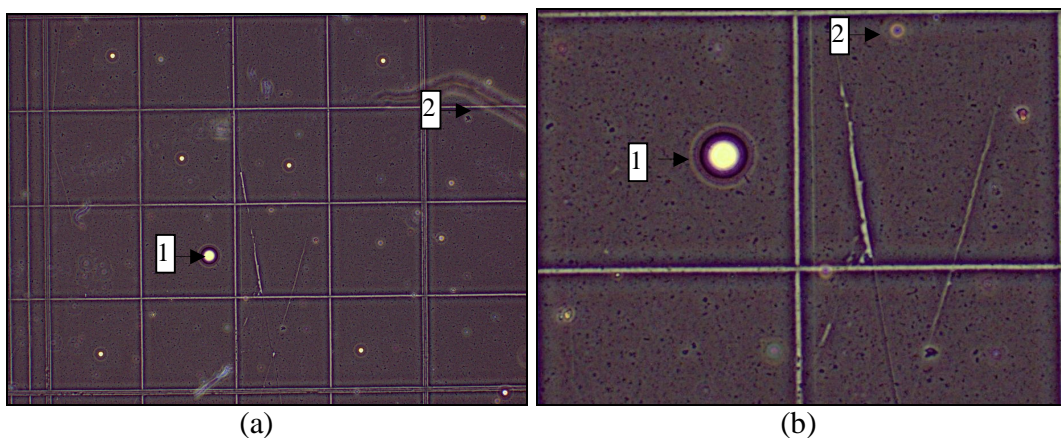
Kelompok Perlakuan	Rata-rata Viabilitas (%)	Standar Deviasi
Monosit+ <i>Virgin</i>	50,05	$\pm 0,88$
Monosit+50%	48,26	$\pm 2,12$
Monosit+25%	46,51	$\pm 0,61$
Monosit+HBSS	45,96	$\pm 0,30$

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa urutan jumlah monosit yang viabel (hidup), dari yang paling tinggi adalah kelompok I (*Extra-Virgin Olive Oil*), kemudian kelompok II (minyak zaitun konsentrasi 50%), lalu kelompok III (minyak zaitun konsentrasi 25%), dan kelompok IV (kontrol-HBSS) (gambar 4.3).

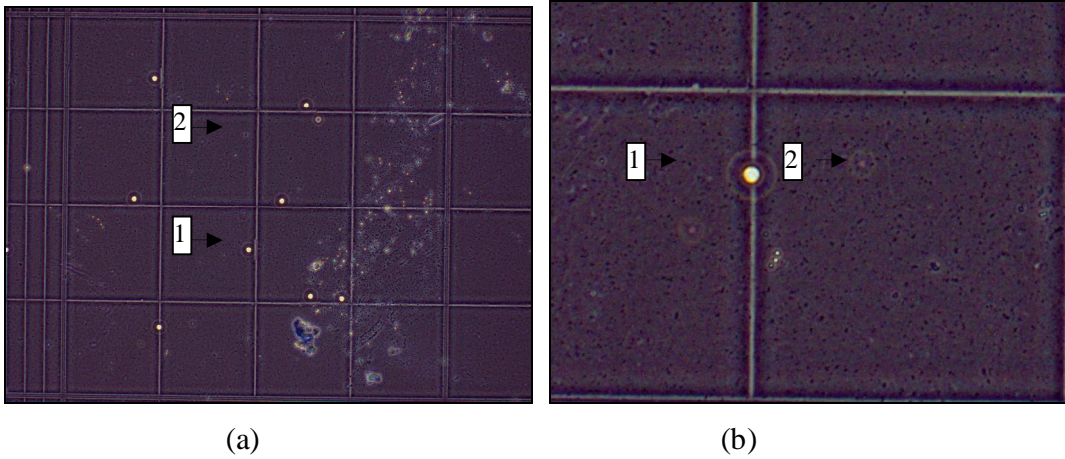


Gambar 4.3 Diagram batang rata-rata viabilitas monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi dengan minyak zaitun

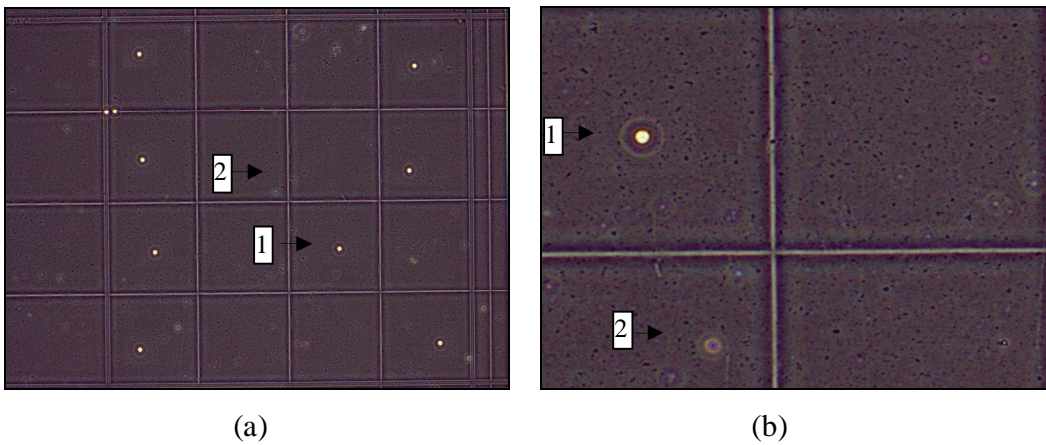
Penghitungan tiap sampel dilakukan dengan menggunakan *hemocytometer* yang dilihat dengan menggunakan mikroskop inverted, sehingga didapatkan gambar sel monosit yang *viable* (hidup) dan monosit yang mati dari masing-masing sampel seperti pada gambar 4.4, 4.5, 4.6, 4.7.



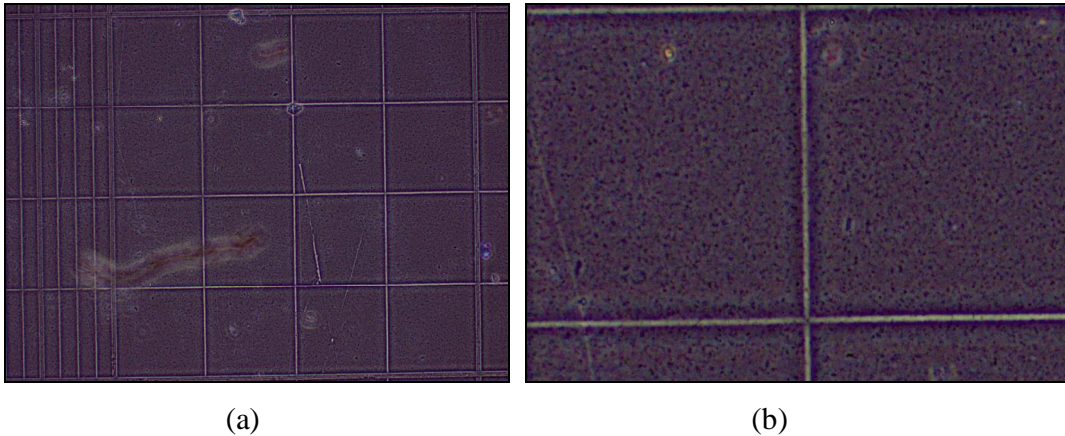
Gambar 4.4 (a) Kelompok perlakuan I; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x
(b) Pembesaran gambar monosit



(a) (b)
 Gambar 4.5 (a) Kelompok perlakuan II; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x
 (b) Pembesaran gambar monosit



(a) (b)
 Gambar 4.6 (a) Kelompok perlakuan III; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x
 (b) Pembesaran gambar monosit



Gambar 4.7 (a) Kelompok perlakuan IV; (1) sel hidup (bening) (2) sel mati (biru) dengan pembesaran 400x
(b) Pembesaran gambar

4.1.4 Analisa Data

a. Uji Normalitas Menggunakan Uji *Kolmogorov Smirnov*

Sebelum dilakukan uji analisis statistik, dilakukan uji normalitas *kolmogorov smirnov* untuk menentukan apakah data tersebut terdistribusi normal dengan asumsi bahwa suatu data dikatakan normal apabila Sig (p) lebih besar dari 0.05.

Dari hasil uji normalitas yang tertera pada lampiran C1, dapat dilihat bahwa Sig (p) dari data pada setiap kelompok perlakuan lebih besar dari 0.05. Jadi dapat dikatakan bahwa data tersebut berdistribusi normal.

b. Uji Homogenitas Menggunakan Uji *Levene test*

Uji selanjutnya yang diperlukan sebagai prasyarat dalam pengujian statistik parametrik khususnya dalam pengujian *one way anova* maka perlu dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan uji *levene test*. Uji *levene test* ini digunakan untuk mengetahui apakah variasi data tergolong homogen atau heterogen.

Berdasarkan hasil analisis yang tertera pada lampiran C2 terlihat bahwa nilai signifikansi lebih besar dari 0.05 yaitu 0.104. Jadi dapat dikatakan bahwa semua data tersebut homogen dan dapat dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

c. Analisis dan Interpretasi Menggunakan *One Way Anova*

Analisis *one way anova* dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara keempat kelompok baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Berdasarkan hasil analisis yang tertera pada lampiran C3 terlihat bahwa nilai signifikansi lebih kecil dari 0.05, sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan viabilitas yang signifikan pada keempat kelompok penelitian.

d. Analisis dan Interpretasi Hasil Uji Lanjut *One Way Anova* : Uji HSD

Uji HSD ini dilakukan untuk membandingkan hasil perhitungan viabilitas pada tiap kelompok. Hasil uji HSD dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Uji HSD Viabilitas Monosit yang Dipapar *S. viridans* dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol

Kelompok	Viabilitas ($\bar{x} \pm SD$)					
Monosit+HBSS	45,96±0,30	45,96±0,30	45,96±0,30	-	-	-
Monosit+25%	46,51±0,61	-	-	46,51±0,61	46,51±0,61	-
Monosit+50%	-	48,26±2,12	-	48,26±2,12	-	48,26±2,12
Monosit+Virgin	-	-	50,05±0,88	-	50,05±0,88	50,05±0,88
	p=0.856	p=0.016*	p=0.000*	p=0.086	p=0.000*	p=0.076

Ket * : berbeda bermakna $p < 0.05$

Dari tabel 4.2, didapatkan bahwa kelompok yang memiliki perbedaan signifikan adalah antara kelompok I (*Extra-Virgin Olive Oil*) dengan kelompok III (minyak zaitun konsentrasi 25%) dan kelompok IV (kontrol-HBSS), antara kelompok II (minyak zaitun konsentrasi 50%) dengan kelompok IV (kontrol-HBSS). Sedangkan kelompok yang tidak memiliki perbedaan yang signifikan adalah antara kelompok I (*Extra-Virgin Olive Oil*) dengan kelompok II (minyak zaitun konsentrasi 50%), antara kelompok II (minyak zaitun konsentrasi 50%) dengan kelompok III (minyak zaitun konsentrasi 25%), antara kelompok III (minyak zaitun konsentrasi 25%) dengan kelompok IV (kontrol-HBSS). Hal ini mungkin disebabkan oleh variasi data yang

cukup besar pada tiap kelompok, yang mengakibatkan hasil uji menjadi tidak signifikan.

4.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini secara keseluruhan menunjukkan adanya perbedaan viabilitas monosit pada setiap kelompok dimana terjadi peningkatan viabilitas monosit secara berurutan dari kelompok IV (kontrol-HBSS), kelompok III (minyak zaitun konsentrasi 25%), kelompok II (minyak zaitun konsentrasi 50%), dan kelompok I (*Extra-Virgin Olive Oil*). Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi minyak zaitun maka semakin besar viabilitas sel monosit yang telah dipapar dengan bakteri *S. viridans*. Berdasarkan tabel 4.2 terlihat bahwa nilai signifikansi terhadap kelompok kontrol hanya didapatkan pada kelompok perlakuan yang diberi *Extra-Virgin Olive Oil* dan minyak zaitun konsentrasi 50%.

Pada penelitian ini, keefektifan minyak zaitun dalam meningkatkan viabilitas sel monosit yang dipapar *S. viridans* berada pada kelompok I yang diinkubasi dengan *extra-virgin olive oil* karena memiliki rata-rata viabilitas yang terbesar yaitu 50,05%. Sedangkan rata-rata viabilitas yang terkecil diperoleh dari kelompok IV di mana pada kelompok ini tidak diberi perlakuan (sebagai kontrol) dengan rata-rata viabilitas yaitu 45,96%.

Berbagai penelitian menunjukkan minyak zaitun memiliki efektifitas sebagai antioksidan, hal ini karena kandungan polifenol yang dapat berpengaruh terhadap keutuhan membran sel monosit. Komposisi senyawa polifenol utama dalam minyak zaitun adalah *oleuropein*, menyusul *hydroxytyrosol* dan *tyrosol*. *Oleuropein* mempunyai aktivitas antioksidan tinggi yang secara *in vitro* sebanding dengan tokoferol. Aktivitas antioksidan *hydroxytyrosol* secara *in vitro* dapat mencegah terjadinya kematian sel karena *hydroxytyrosol* dan *oleuropein* lebih poten dalam mengumpulkan radikal bebas dibanding *tyrosol*. Selain itu *hydroxytyrosol* dapat melindungi sel-sel dari bahan-bahan sitotoksik karena *hydroxytyrosol* memiliki struktur amfifilik yaitu konsentrasi yang sama pada membran. Hal tersebut

menyebabkan *hydroxytyrosol* mudah melintasi membran sel dan memberikan perlindungan terhadap membran (Andreadou, dkk., 2006).

Polifenol dapat meningkatkan kapasitas antioksidan. Antioksidan yang terdapat pada polifenol mampu melindungi lipid membran terhadap reaksi oksidasi yang merusak sehingga integritas membran sel monosit terjaga, meskipun dipapar oleh bakteri *S. viridans*. Akibatnya membran sel monosit yang diinkubasi dengan minyak zaitun dapat terjaga integritas membran selnya. Dengan integritas membran sel yang bagus, monosit mampu menjalankan tugasnya yakni bergerak aktif dan menelan berbagai zat dengan proses yang disebut fagositosis. Monosit mampu memfagosit *S. viridans* yang melekat pada membran sel monosit dengan membran sel yang lebih sehat dan utuh seiring dengan meningkatnya konsentrasi minyak zaitun (Roslida, 2008). Hal ini sejalan dengan penelitian Pratiwi (2011) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak zaitun maka semakin besar viabilitas sel neutrofil yang telah dipapar dengan bakteri *S. viridans*. Karena kedua sel tersebut yaitu sel neutrofil dan sel monosit merupakan jenis leukosit yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh.

Dari gambar hasil penelitian dapat dilihat monosit yang *viable* dan yang tidak *viable*. Monosit yang sitoplasmanya jernih dan tidak menyerap pewarnaan *trypan blue* dihitung sebagai monosit yang *viable* sedangkan monosit yang mati sitoplasmanya berwarna biru dan menyerap pewarnaan *trypan blue*. Hal ini didasarkan bahwa sel-sel *viable* memiliki membran sel yang utuh, sedangkan sel-sel yang mati memiliki membran sel yang sudah tidak utuh lagi sehingga dapat menyerap pewarnaan seperti *trypan blue* (Arzumanyan, 2002).

Membran sel monosit berperan penting dalam kehidupan sel monosit itu sendiri, diantaranya sebagai pembatas yang bersifat semi permeabel yang mengontrol pertukaran molekul materi dari dan ke dalam sel guna kehidupan sel, dan sebagai pendukung aktivitas biokimia yang berlangsung di dalam sel (Faustino, dkk., 2003). Seperti membran sel pada umumnya, membran sel monosit juga terdiri dari dua lapisan fosfolipid. Fosfolipid mengandung asam lemak, alkohol dan juga residu asam

fosfat. Asam lemak terdiri atas asam lemak jenuh (SFA) dan asam lemak tidak jenuh (UFA). Asam lemak tidak jenuh terdiri dari asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA) dan asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) (Murray, dkk., 2003).

Komponen fosfolipid ini banyak ditemukan pada minyak zaitun murni. Asam lemak jenuh dalam minyak zaitun terdiri dari asam *Palmitic* 7,5-20,0%, asam *stearic* 0,5-5,0%, asam *arachidic* <0,8%, asam *behenic* <0,3%, asam *myristic* <0,1%, serta asam *lignoceric* <1,0%. Sedangkan asam lemak tak jenuh yang terdiri dari MUFA dan PUFA banyak ditemukan pada minyak zaitun. MUFA merupakan komponen mayor dalam minyak zaitun. Kandungan MUFA dalam minyak zaitun berupa asam *oleic* sebanyak 55,0-83,0% serta asam *palmitoleic* 0.3-3.5%. Sedangkan kandungan PUFA dalam minyak zaitun berupa asam *linoleic* 3,5-21,0% dan asam *linolenic* <1,5% (Kinanthi, 2009).

MUFA berperan dalam pengaturan kolesterol di dalam tubuh karena kolesterol mempengaruhi integritas membran sel. Kolesterol membuat membran sel menjadi lebih rigid sehingga membran sel lebih rapat karena adanya kolesterol yang mengisi ruangan yang dibentuk oleh interaksi dari asam-asam lemak tak jenuh (Zulham, 2010). PUFA berperan dalam membantu membentuk dan mengintegrasikan membran sel. Membran sel menjadi lebih lentur, dan mampu menyerap nutrisi lebih baik, serta mempermudah sisa pembuangan keluar dari sel. Kualitas membran sel menjadi lebih baik dan tidak mudah rusak (Darmo, 2010).

Minyak zaitun juga mengandung vitamin E yang terdiri dari α - tokoferol, β - tokoferol, γ - tokoferol, δ - tokoferol. Vitamin E berfungsi sebagai pelindung terhadap peroksidasi lipid di dalam membran dengan cara melindungi asam lemak jenuh ganda dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksidase lipid dan menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak. (Suhartono, dkk., 2007).

Implikasi klinis minyak zaitun pada bidang kedokteran gigi yaitu dapat digunakan dengan cara berkumur menggunakan emulsi minyak zaitun dan air.

Beberapa penelitian kecil telah menunjukkan bahwa perawatan dengan minyak zaitun dapat mengurangi terjadinya infeksi (Orey, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui minyak zaitun meningkatkan viabilitas monosit yang dipapar dengan bakteri *S. viridans* di mana konsentrasi minimal minyak zaitun yang berpengaruh terhadap viabilitas monosit yang dipapar dengan bakteri *S. viridans* adalah 25%.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Minyak zaitun dapat meningkatkan viabilitas sel monosit yang dipapar oleh bakteri *S. viridans*. Sehingga dapat meningkatkan respon imun pada tubuh terhadap bakteri *S. viridans* serta mengurangi kerusakan jaringan akibat lisisnya monosit.
- b. Konsentrasi minimal minyak zaitun yang dapat mempengaruhi viabilitas sel monosit yang dipapar oleh *S. viridans* adalah 25%.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen utama minyak zaitun yang berpengaruh terhadap viabilitas sel monosit yang dipapar oleh bakteri *S. viridans*.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi klinis minyak zaitun terhadap penderita yang terinfeksi bakteri *S. viridans* khususnya pada penderita infeksi odontogen.
- c. Perlu dilakukan penelitian lain mengenai viabilitas sel monosit yang dipapar dengan bakteri lainnya dan diinkubasi dengan minyak zaitun.

DAFTAR PUSTAKA

- Alleman, Gayle A. 2009. *Health Benefits of Olive Oil* [on line]. <http://recipes.howstuffworks.com/the-health-benefits-of-olive-oil-ga2.htm> [28 November 2010].
- Andreadou, Ioanna. 2006. The Olive Constituent Oleuropein Exhibits Anti-Ischemic, Antioxidative, and Hypolipidemic Effects in Anesthetized Rabbits: *The Journal of Nutrition and Disease*. Volume 136.
- Anonim. 2010. *Keajaiban Pohon Zaitun*. [on line]. <http://griyazaitun.com/2010/11/09/ba-tang-pohon-zaitun/> [02 Februari 2012].
- Anonim. 2011. *Sistem Kekebalan Tubuh*. [on line]. <http://biologimediacentre.com/sistem-kekebalan-tubuh/> [02 Februari 2012].
- Anonim. 2011. *Manfaat dan Kandungan Minyak Zaitun*. [on line]. <http://usahasuksesmandiri.com/2011/05/manfaat-kandungan-minyak-zaitun.html> [02 Februari 2012].
- Arzumanyan, V. G., Ozhvan, I. M. 2002. Modified Method for Evaluation of Plasma Membrane Integrity in Eukaryotic Cell. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Volume 134.
- Baron, E.J., dkk. 1994. *Balley&Scott's Diagnostic Microbiology 9th edition*. St. Louis: Mosby Year Books Inc.
- Coecoos. 2011. *Rahasia dan Manfaat Buah Zaitun*. [on line]. <http://www.coecoos.com/ke-sehatan/rahasia-dan-manfaat-buah-zaitun> [02 Februari 2012].
- Covas, Maria I., dkk. 2006. The Effect of Polyphenols in Olive Oil on Heart Disease Risk Factors: *Annals of Internal Medicine Journal*. Volume 145.
- Chusnia, Wilda. 2010. *Struktur Membran Sel*. [on line]. <http://id.shvoong.com/exact-sciences/biology/2073876-struktur-membran-sel/> [20 November 2010].
- Darmo. 2010. *Peran Penting Minyak Essensial Bagi Tubuh*. [on line]. <http://id.shvoong.com/business-management/health-care-management/204909-peran-penting-lemak-essensial-bagi/> [15 Agustus 2011].

- Dasuki, Ahmad Undang. 1991. *Sistematika Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Dorland, W.A. Newman. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland. Edisi 29*. Jakarta: EGC.
- Effendi, Zukesti. 2003. *Peranan Leukosit sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh*. Sumatra Utara: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Fabiani, R., dkk. 2008. Oxidative DNA Damage Is Prevented by Extracts of Olive Oil, Hydroxytyrosol, and Other Olive Phenolic Compounds in Human Blood Mononuclear Cells and HL60 Cells: *The Journal of Nutrition*. Volume 138.
- Faustino, Martín, dkk. 2003. Role of Vesicle-Associated Membrane Protein-2, Through Q-Soluble N- Ethylmaleimide-Sensitive Factor Attachment Protein Receptor/R-Soluble N- Ethylmaleimide-Sensitive Factor Attachment Protein Receptor Interaction, in the Exocytosis of Specific and Tertiary Granules of Human Neutrophils: *The Journal of Immunology*. Volume 170.
- Fehri, B., dkk. 1996. Ole Africana herba. *Olea europaea L.* : stimulant, anti-ulcer and anti-inflammatory effects. *Boll. Chim. Pharm.* 135(1): 42-49.
- Firdaus, Yulian. 2005. *Zaitun*. [on line]. <http://yulian.firdaus.or.id/>. [27 November 2010].
- FLP Indonesia. 2006. *Yang Luar Biasa dari Minyak Zaitun*. [on line]. <http://www.flpindo.com/news18zaitun.html> [1 Oktober 2010].
- Giovannini, C., dkk. 1999. Tyrosol, the Major Olive Oil Biophenol, Protects Against Oxidized-LDL Induced Injury in Caco-2 Cells: *The Journal of Nutrition*. Volume 129.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Guyton, Arthur C. 1995. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit Edisi 3*. Jakarta: EGC.
- Irawan, Panji. 2009. *Analisa Hapusan Darah Tepi*. [on line]. <http://panji1102.blogspot.com/2009/12/analisa-apusan-darah-tepi.html> [28 November 2010].
- Iriawati. 2009. *Struktur dan Fungsi Membran Sel*. Bandung: Insitut Teknologi Bandung.

- Istana Herba. 2010. *Minyak Zaitun*. [on line]. <http://istanaherba.wordpress.com/category/tazakka/minyak-zaitun/> [28 November 2010].
- Kinanthi. 2009. *Minyak Zaitun (Sumber Lemak Nabati)*. [on line]. <http://kinanthidiah.multiply.com/journal/item/4> [12 November 2010].
- Kiritsakis, Apostolos K. 2008. *Composition of Olive Oil and Its Nutritional And Health Effect*. [on line]. <http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/226.htm> [28 November 2010].
- Jawetz, E., dkk. 1984. *Review of Medical Microbiology 16th edition*. Jakarta EGC.
- Jawetz, E. dkk. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Kuong, Suy. *Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World*. [on line]. <http://suykong.wordpress.com> [20 Maret 2011].
- Leeson, T.S., dkk. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi V*. Jakarta: EGC.
- Lukitaningsih, Arfiyati. 2009. *Perbedaan Jumlah Bakteri Streptococcus viridans Sebelum dan Sesudah Mengunyah Permen Karet yang Mengandung Xylitol pada Penghuni Wisma Melati No 101 Pedalangan Banyumanik Semarang Tahun 2009*. [on line]. http://www.prasxo.co.cc/2010/06/karya-tulis-kesehatan-gigi_3197.html [14 November 2010].
- Marwat, Sarfaraz Khan, dkk. 2009. Fruit Plant Species Mentioned in Holy Qura'n and Ahadith and Their Ethnomedicinal Importance: *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science* .Volume 5.
- Merriam. 2010. *Viability*. [on line]. <http://www.merriam-webster.com/medical/viability> [28 November 2010].
- Metuk. 2009. *Struktur Sel dan Jaringan*. Lampung: Universitas Lampung.
- Mukhlis. 2008. *Rahasia di Balik Minyak Zaitun*. [on line]. http://hidupsehatalami.multiply.com/journal/item/9/Rahasia_di_Balik_Minyak_Zaitun [28 November 2010].

- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W. 2003. *Biokimia Harper Edisi 25*. Jakarta: EGC
- Nolte, A.W. 1982. *Oral Microbiology with Basic Microbiology and Immunology 4th edition*. St. Louis: CV Mosby Co.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan. Cetakan III*. Jakarta: PT.Rineka Cipta.
- Nuraini, Tuti. 2009. *Struktur dan Fungsi Organel Sel*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Orey, Cal. 2008. *Khasiat Minyak Zaitun*. [on line]. <http://books.google.co.id/books?id=PeaOyxcakIC&pg=PA161&lpg=PA161&dq=minyak+zaitun+di+kedokteran+gigi&source=bl&ots=GAB--> [05 Februari 2012].
- Pratiwi, Indah. 2011. *Viabilitas Neutrofil yang Dipapar Streptococcus viridans dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun*. Jember: Universitas Jember.
- Rahardjo, S. 2008. Penatalaksanaan Angina Ludwig's : *Jurnal Dexa Media*. Volume 21.
- Rahman, Safriani. 2010. *Sel, Jaringan dan Membran Sel*. [on line]. <http://biofarmasiumi.com/2010/09/26/sel-jaringan-dan-membran-sel/> [01 Februari 2012].
- Ramirez, M.C., dkk. 2006. *Olive Oil and Health*. CABInternational.
- Rega, Anthony J., Aziz, Shahid R., Ziccardi, Vincent, B. 2006. *Microbiology and Antibiotic Sensitivities of Head and Neck Space Infections of Odontogenic Origin*. Canada: Department of Oral and Maxillofacial Surgery University of Medicine and Dentistry of New Jersey.
- Retzlaff, Kimberly J. 2008. *Controlling Cholesterol*. [on line]. <http://www.naturalproductsinsider.com/Health-Conditions/Heart-Health.aspx> [28 November 2010].
- Rietjens, S.J., Bast A., Vente, J., Haenen. 2007. The Olive Oil Antioxidant Hydroxytyrosol Efficiently Protects Against the Oxidative Stress-Induced Impairment of the NO₂ Response of Isolated Rat Aorta: *American Journal of Heart Circulation Physiology*. Volume 292.

- Roslida. 2008. *Antiinflammatory and Antinociceptive of the Ethanolic Extract of Pluchea Indica (L) Less Leaf*. Pharmacologyonline.
- Ross, M. 1989. *Relation of implicit theories to the construction of personal histories. Psychological*. Edisi 96.
- Ruano, J., Miranda, J.L., dkk. 2005. Phenolic Content of Virgin Olive Oil Improves Ischemic Reactive Hyperemia in Hypercholesterolemic Patients: *Journal of the American College of Cardiology*. Volume 46 No.10.
- Rydberg, Edwin. 2006. *How does the structure of the head of a phospholipid give it polarity?*. [on line]. <http://www.madsci.org/posts/archives/2006-12/1164999854.Bc.r.html> [01 Februari 2012].
- Savitri. 2010. *Perbandingan Daya Kelembaban Minyak Zaitun (Olea europaea) Dan Gliserol dalam Sediaan Krim Tangan*. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Sartika, Ratu Ayu Dewi. 2008. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh, dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan: *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. Volume 2 No.4.
- Simmons, Kent. 2007. *Cell and Cellular*. [on line]. <http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/cm1504/15intro.htm>. [25 Juli 2011].
- Stewart, F. S. , Beswick, T. S. L. 1977. *Bacteriology, Virology, and Immunity*. Edisi 10. London : Balliere Tindall.
- Strober, Warren. 1997. *Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability*. Maryland:National Institute of Allergy and Infectious Diseases Bethesda.
- Suhartono E., Fachir H., Setiawan B. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Banjarmasin: Pustaka Benua.
- Topazian RG, Golberg MH. 1987. *Oral and Maxillofacial Infections*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders.
- Underwood, I. C. E. 2000. *Patologi Umum dan Sistemik Edisi 2*. Jakarta: EGC.
- Wikipedia. 2011. *Membran Sel*. [on line]. http://id.wikipedia.org/wiki/Membran_sel. [21 Oktober 2011].

Wikipedia. 2010. *Viability*. [on line]. <http://en.wikipedia.org/wiki/Viable>. [22 Oktober 2011].

Yudhasmara. 2012. *Imunitas Non Spesifik*. [on line]. <http://allergyclinic.com/imunitas-non-spesifik/> [02 Februari 2012].

Zulham. 2010. *Hubungan Bentuk Sel dan Peran Fisiologis Sel*. [on line]. <http://histologi.usu.ac.id/files/BAB%20II%20Sel%20dan%20Peran%20Fisiologis%20Sel.pdf> [21 Oktober 2011].

LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Jumlah Sampel

Besar sampel penelitian dihitung dengan menggunakan rumus:

$$(t-1)(r-1) > 15$$

Keterangan : t = banyaknya kelompok perlakuan

r = jumlah replikasi

(Supranto, 2000)

Dalam penelitian ini diketahui jumlah perlakuan (t) = 4, maka dapat dilakukan perhitungan jumlah sampel sebagai berikut :

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$n \geq 5 + 1$$

$$n \geq 6$$

Dari hasil perhitungan diatas, diperoleh jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus ≥ 6 . Peneliti menggunakan batas minimal jumlah sampel yaitu 6 sampel untuk tiap-tiap perlakuan.

Lampiran B. Hasil Penelitian

B.1 Hasil penghitungan monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi minyak zaitun *Virgin Olive Oil*

Ulangan	Kotak	Sel Hidup	Sel Mati	Jumlah Sel	Viabilitas (%)	Rata-rata (%)
1	1	19	19	38	50	50,66
	2	20	19	39	51,28	
	3	20	18	38	52,63	
	4	18	19	37	48,65	
2	1	21	21	42	50	50,59
	2	22	21	43	51,16	
	3	21	21	42	50	
	4	22	21	43	51,16	
3	1	17	18	35	48,57	48,90
	2	17	18	35	48,57	
	3	17	17	34	50	
	4	16	17	33	48,48	
4	1	19	19	38	50	50,66
	2	20	19	39	51,28	
	3	20	18	38	52,63	
	4	18	19	37	48,65	
5	1	21	21	42	50	50,59
	2	22	21	43	51,16	
	3	21	21	42	50	
	4	22	21	43	51,16	
6	1	17	18	35	48,57	48,90
	2	17	18	35	48,57	
	3	17	17	34	50	
	4	16	17	33	48,48	
\bar{x}						50,05
Standar Deviasi						±0,88

B.2 Hasil penghitungan monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi minyak zaitun 50%

Ulangan	Kotak	Sel Hidup	Sel Mati	Jumlah Sel	Viabilitas (%)	Rata-rata (%)
1	1	24	24	48	50	50,53
	2	24	22	46	52,17	
	3	24	24	48	50	
	4	24	24	48	50	
2	1	15	18	33	45,45	45,80
	2	15	18	33	45,45	
	3	13	15	28	46,43	
	4	16	20	36	44,44	
3	1	24	26	50	48	48,45
	2	23	24	47	48,94	
	3	24	26	50	48	
	4	23	24	47	48,94	
4	1	24	24	48	50	50,53
	2	24	22	46	52,17	
	3	24	24	48	50	
	4	24	24	48	50	
5	1	15	18	33	45,45	45,80
	2	15	18	33	45,45	
	3	13	15	28	46,43	
	4	16	20	36	44,44	
6	1	24	26	50	48	48,45
	2	23	24	47	48,94	
	3	24	26	50	48	
	4	23	24	47	48,94	
\bar{x}						48,26
Standar Deviasi						±2,12

B.3 Hasil penghitungan monosit yang dipapar *S. viridans* dan diinkubasi minyak zaitun 25%

Ulangan	Kotak	Sel Hidup	Sel Mati	Jumlah Sel	Viabilitas (%)	Rata-rata (%)
1	1	24	28	52	46,15	46,19
	2	22	26	48	45,83	
	3	22	26	48	45,83	
	4	23	26	49	46,94	
2	1	17	20	37	45,94	46,04
	2	16	19	35	45,71	
	3	16	19	35	45,71	
	4	15	17	32	46,87	
3	1	18	20	38	47,37	47,29
	2	18	20	38	47,37	
	3	18	20	38	47,37	
	4	16	18	34	47,06	
4	1	24	28	52	46,15	46,19
	2	22	26	48	45,83	
	3	22	26	48	45,83	
	4	23	26	49	46,94	
5	1	17	20	37	45,94	46,04
	2	16	19	35	45,71	
	3	16	19	35	45,71	
	4	15	17	32	46,87	
6	1	18	20	38	47,37	47,29
	2	18	20	38	47,37	
	3	18	20	38	47,37	
	4	16	18	34	47,06	
\bar{x}						46,51
Standar Deviasi						±0,61

B.4 Hasil penghitungan monosit yang dipapar *S. viridans* dan tidak diinkubasi minyak zaitun (Kontrol-HBSS)

Ulangan	Kotak	Sel Hidup	Sel Mati	Jumlah Sel	Viabilitas (%)	Rata-rata (%)
1	1	18	22	40	45	45,68
	2	19	22	41	46,34	
	3	18	21	39	46,15	
	4	19	23	42	45,24	
2	1	21	24	45	46,67	46,34
	2	21	24	45	46,67	
	3	16	18	34	47,06	
	4	18	22	40	45	
3	1	16	18	34	47,06	45,86
	2	15	18	33	45,45	
	3	15	18	33	45,45	
	4	15	18	33	45,45	
4	1	18	22	40	45	45,68
	2	19	22	41	46,34	
	3	18	21	39	46,15	
	4	19	23	42	45,24	
5	1	21	24	45	46,67	46,34
	2	21	24	45	46,67	
	3	16	18	34	47,06	
	4	18	22	40	45	
6	1	16	18	34	47,06	45,86
	2	15	18	33	45,45	
	3	15	18	33	45,45	
	4	15	18	33	45,45	
\bar{x}						45,96
Standar Deviasi						±0,30

Lampiran C. Analisis Data

C.1 Uji Normalitas *Kolmogorov Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Monosit + Virgin	Monosit + 50%	Monosit + 25%	Monosit + HBSS
N		6	6	6	6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	50,0504	48,2605	46,5111	45,9617
	Std. Deviation	,88769	2,11828	,61264	,30565
Most Extreme Differences	Absolute	,394	,210	,365	,291
	Positive	,247	,210	,365	,291
	Negative	-,394	-,203	-,234	-,226
Kolmogorov-Smirnov Z		,966	,516	,894	,713
Asymp. Sig. (2-tailed)		,308	,953	,401	,689

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

C.2 Uji Homogenitas *Levene test*

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Monosit + Virgin	6	50,0504	,88769	48,91	50,66
Monosit + 50%	6	48,2605	2,11828	45,80	50,53
Monosit + 25%	6	46,5111	,61264	46,04	47,30
Monosit + HBSS	6	45,9617	,30565	45,68	46,34

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Jml Sel Hidup	5,125	3	20	,009
Jml Sel Mati	4,703	3	20	,012
Jml Sel	4,689	3	20	,012
Viabilitas	6,119	3	20	,104

C.3 One Way Annova

Descriptives

Viabilitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Monosit + Virgin	6	50,0504	,88770	,36240	49,1188	50,9820	48,91	50,66
Monosit + 50%	6	48,2605	2,11828	,86478	46,0375	50,4835	45,80	50,53
Monosit + 25%	6	46,5111	,61264	,25011	45,8682	47,1540	46,04	47,30
Monosit + HBSS	6	45,9617	,30565	,12478	45,6410	46,2825	45,68	46,34
Total	24	47,6959	1,98210	,40460	46,8590	48,5329	45,68	50,66

ANOVA

Viabilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61,642	3	20,547	14,309	,000
Within Groups	28,719	20	1,436		
Total	90,361	23			

C.4 Uji HSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Viabilitas

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Monosit + Virgin	Monosit + 50%	1,7899	,69185	,076	-,1465	3,7264
	Monosit + 25%	3,5393*	,69185	,000	1,6029	5,4757
	Monosit + HBSS	4,0887*	,69185	,000	2,1523	6,0251
Monosit + 50%	Monosit + Virgin	-1,7899	,69185	,076	-3,7264	,1465
	Monosit + 25%	1,7494	,69185	,086	-,1871	3,6858
	Monosit + HBSS	2,2988*	,69185	,016	,3623	4,2352
Monosit + 25%	Monosit + Virgin	-3,5393*	,69185	,000	-5,4757	-1,6029
	Monosit + 50%	-1,7494	,69185	,086	-3,6858	,1871
	Monosit + HBSS	,5494	,69185	,856	-1,3870	2,4858
Monosit + HBSS	Monosit + Virgin	-4,0887*	,69185	,000	-6,0251	-2,1523
	Monosit + 50%	-2,2988*	,69185	,016	-4,2352	-,3623
	Monosit + 25%	-,5494	,69185	,856	-2,4858	1,3870

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Viabilitas

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Monosit + HBSS	6	45,9617		
Monosit + 25%	6	46,5111	46,5111	
Monosit + 50%	6		48,2605	48,2605
Monosit + Virgin	6			50,0504
Sig.		,856	,086	,076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran D. Alat dan Bahan Penelitian

Foto 1. Autoklaf

Foto 2. A. Syringe B. *Object glass*
C. *Torniquet* D. *Cover glass*Foto 3. Mikroskop *inverted*Foto 4. Inkubator *shaker*Foto 5. *Laminar flow cabinet*Foto 6. *Sentrifuse*

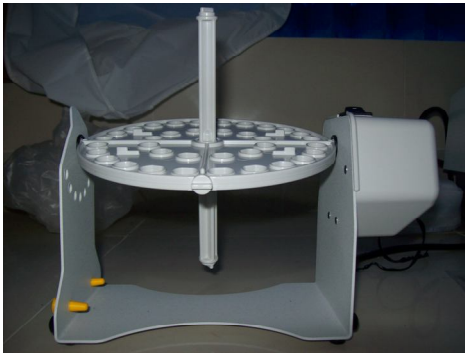


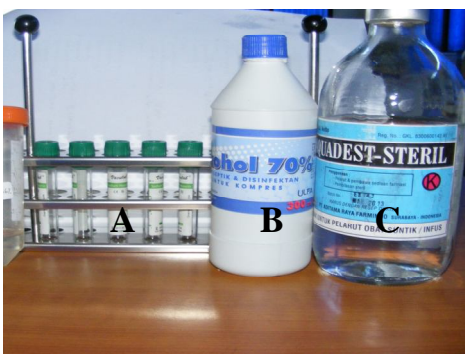
Foto 7. Rotating shaker



Foto 8. Vortex



Foto 9. Minyak Zaitun

Foto 10. A. Trypan blue B. HBSS
C. RPMI D. HistopaqueFoto 11. A. Heparin B. Alkohol
C. Aquades steril