

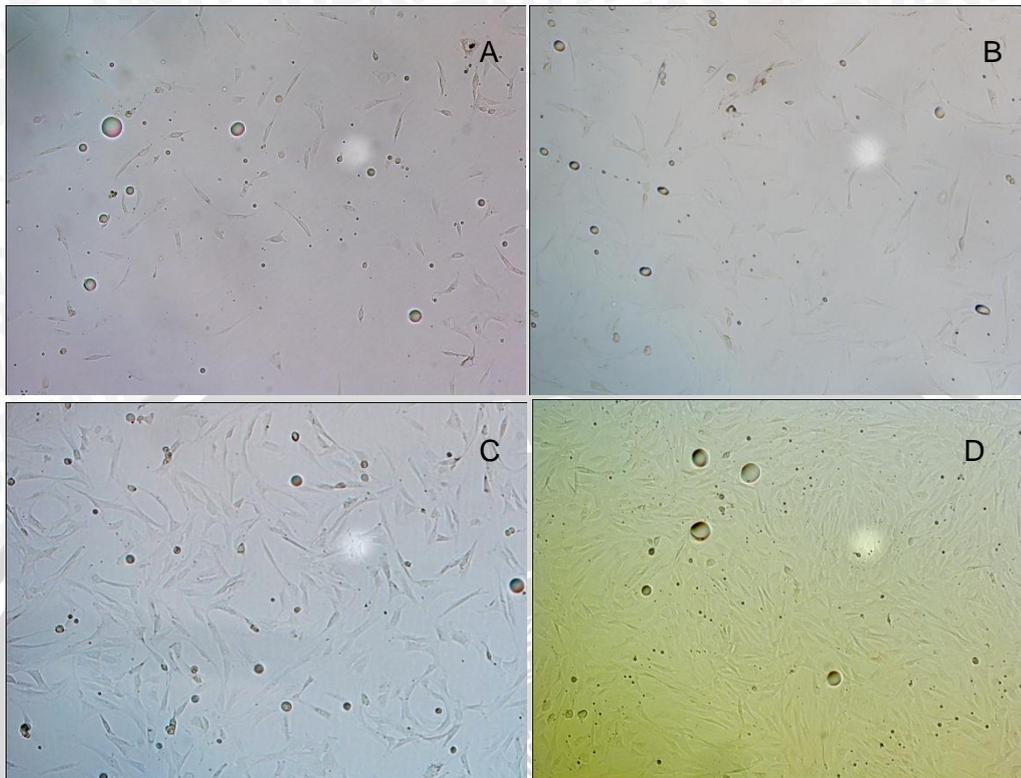
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Kultur Adiposit

Kultur adiposit dimulai dengan mengembangkan kultur sel preadiposit terlebih dahulu. Lemak putih dari Tikus Wistar yang telah dicuci dan dicacah dalam media DMEM dikultur di *flask* pada minggu pertama. Setiap 2 hari sekali media DMEM harus diganti baru dan *flask* harus dicuci dengan media DMEM (washing). Media DMEM juga harus ditambahkan FBS dalam perbandingan 1:9 yang merupakan nutrisi untuk sel preadiposit. Antibiotik (Penicillin-Streptomycin) 1:100 dan antifungal 1:50 juga ditambahkan agar tidak terjadi kontaminasi yang merupakan kriteria eksklusi. Pemantauan apakah kultur terkontaminasi atau tidak dapat dilihat melalui mikroskop untuk mencari adanya bakteri atau jamur yang tumbuh. Kultur dalam *flask* diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C dan konsentrasi CO² 5%. Sel preadiposit yang terdapat dalam *flask* atau *well-24* dapat dilihat pada **Gambar 5.1**.



Gambar 5.1 Foto Kultur sel preadiposit dilihat dengan mikroskop perbesaran 400x (sel yang panjang berwarna transparan): A. Preadiposit dalam *flask* yang telah ditumbuhkan dalam minggu pertama hari ke 3. B. Preadiposit yang telah dipindahkan ke *well-24* pada minggu ke 2 hari ke 4. C. Preadiposit dalam *well-24* pada minggu ke 3 hari ke 4. D. Sel adiposit terlihat sangat banyak dan berdampingan dengan erat pada minggu ke 5.

Pencucian dan penggantian medium tetap dilakukan sampai minggu ke 4 atau 5. Perubahan warna dari media DMEM kultur juga menandakan adanya kontaminasi atau tidak, misalnya media berubah menjadi warna kuning keruh menandakan adanya infeksi bakteri pada kultur. Kontaminasi menandakan kriteria eksklusi terpenuhi dan kultur harus dibuang serta memulai kultur baru dengan evaluasi mikroorganisme yang menginfeksi dan rencana pencegahannya pada kultur baru selanjutnya. Pada minggu ke 4 atau 5 sel preadiposit akan berubah menjadi sel adiposit dan siap untuk diberikan perlakuan.

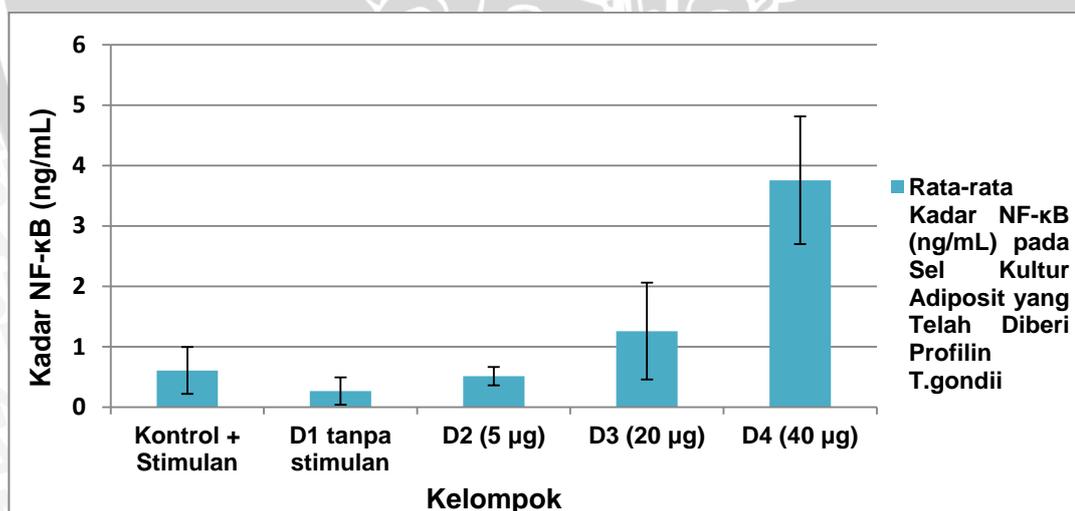
5.1.2. Kadar NF- κ B pada Kultur Adiposit yang Dipapar Profilin *T. gondii*

Kultur adiposit yang telah diberi profilin *Toxoplasma gondii* dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 5 μ g, 20 μ g dan 40 μ g selanjutnya dipisahkan antara sel dan medianya. Kadar NF- κ B diukur pada sel menggunakan metode ELISA.

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar NF- κ B dalam ng/mL

	Pengulangan				Rata-rata	\pm SD
	1	2	3	4		
Kontrol + IBMX Dexamethasone	1,118	0,208	0,648	0,448	0,606	0,386
D1 (0 μg)	0,201	0,518	0,078	-1,061	0,266	0,227
D2 (5 μg)	0,728	0,508	0,388	0,428	0,513	0,151
D3 (20 μg)	2,088	0,608	0,538	1,798	1,258	0,800
D4 (40 μg)	4,298	3,258	4,918	2,548	3,756	1,056

Keterangan : Data kadar NF- κ B setiap kelompok dengan pemberian kadar profilin yang berbeda diukur dengan 4 kali pengulangan dalam satuan (ng/mL) dan kadar yang bernilai negatif tidak dimasukkan perhitungan.



Gambar 5.2 Grafik Rata-rata Kadar NF- κ B pada Sel Kultur Adiposit yang Telah Diberi Profilin *T.gondii*. Rata-rata kadar NF- κ B pada kultur adiposit yang telah diberi profilin *T.gondii* mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan dosis profilin yang diberikan.

Gambar 5.2 menunjukkan rerata kadar NF- κ B pada kultur adiposit yang telah diberi profilin *Toxoplasma gondii* dengan dosis yang berbeda-beda. Kelompok kontrol yang diberi stimulan memiliki rata-rata kadar NF- κ B sebesar 0,606 ng/mL sedangkan kontrol yang tanpa stimulan memiliki rata-rata kadar NF- κ B sebesar 0,298 ng/mL. Kelompok yang diberi dosis terendah profilin *T.gondii* yaitu 5 μ g mempunyai rata-rata kadar NF- κ B sebesar 0,513 ng/mL dan sebesar 1,258 ng/mL pada kelompok yang diberi profilin 20 μ g serta sebesar 3,756 ng/mL pada kelompok yang diberi profilin 40 μ g.

5.2. Analisis Data

Pada penelitian ini yang menjadi variabel bebas adalah pemberian profilin terhadap kultur adiposit, sedangkan kadar NF- κ B yang diukur melalui teknik ELISA merupakan variabel tergantung. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji hipotesis komparatif dan uji hipotesis korelatif. Uji hipotesis komparatif bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kultur adiposit yang diberi profilin dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 5 μ g, 20 μ g dan 40 μ g. Variabel ordinal pada penelitian ini adalah kadar NF- κ B yang terekspresikan di kultur adiposit dan variabel bebas pada penelitian ini tak berpasangan sehingga uji hipotesis komparatif yang digunakan adalah Oneway Anova, akan tetapi pada penelitian ini didapatkan hasil yang berdistribusi tidak normal ($p < 0.05$) dan tidak homogen ($p < 0.05$) sehingga syarat untuk menggunakan uji Oneway Anova tidak terpenuhi, Hasil uji normalitas dan homogenitas dapat dilihat di lampiran. Setelah dilakukan transformasi data, hasil yang diharapkan belum didapatkan sehingga uji hipotesis yang digunakan adalah uji non parametrik Kruskal Wallis. Begitu pula dengan uji hipotesis korelatif yang digunakan adalah uji non parametrik Spearman.

5.2.1. Uji Kruskal Wallis

Penggunaan uji non parametric Kruskal Wallis bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar perlakuan dan juga perbedaan antara dosis profilin satu dengan yang lain. Hasil dari uji Kruskal Wallis diperoleh $p=0,019$ dengan kadar NF- κ B sebagai variabel dependen dan kelompok perlakuan sebagai variabel independen. Jika didapatkan $p<0.05$ dari hasil uji Kruskal Wallis berarti terdapat minimal satu perbedaan perlakuan yang bermakna antara lima kelompok tersebut.

5.2.2. Uji Mann Whitney

Setelah mengetahui adanya perbedaan perlakuan yang bermakna, diperlukan suatu uji nonparametrik untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar NF- κ B kultur adiposit pada setiap dosis yang diberikan. Uji nonparametrik yang digunakan adalah uji Mann Whitney karena dapat mengetahui perbedaan dari median dua kelompok bebas dengan skala data ordinal yaitu kadar NF- κ B. Perbedaan yang bermakna pada uji Mann Whitney ditentukan dari nilai $p<0.05$. Hasil uji Mann Whitney dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.2 Uji Mann Whitney

	Kontrol+Stimulan	Kontrol	5 μ g	20 μ g	40 μ g
Kontrol +Stimulan	-	0.355	0.773	0.248	0.021*
Kontrol	0.355	-	0.643	0.064	0.064
5 μ g	0.773	0.643	-	0.083	0.021*
20 μ g	0.248	0.064	0.083	-	0.021*
40 μ g	0.021*	0.064	0.021*	0.021*	-

Keterangan :

* :Perbedaan bermakna ($p<0.05$)

□ : Perbedaan tak bermakna ($p>0.05$)

Hasil Uji Mann Whitney menyatakan bahwa yang memiliki perbedaan bermakna adalah kadar NF- κ B antara kontrol yang diberi stimulan dengan pemberian dosis profilin 40 μ g, pemberian dosis profilin 5 μ g dengan dosis 40 μ g, dan pemberian dosis profilin 20 μ g dengan dosis 40 μ g. Kelompok lainnya tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

5.2.3. Uji Korelasi Spearman

Hubungan dari pemberian profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kadar NF- κ B kultur adiposit juga perlu untuk diketahui maka dari itu digunakan uji korelasi untuk data yang berskala ordinal dan dengan distribusi data yang tidak normal yaitu menggunakan uji korelasi Spearman.

Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan nilai korelasi antara kelompok yang diberi profilin dengan dosis yang berbeda-beda (0, 5, 20, 40 μ g) terhadap kadar NF- κ B sebesar 0.888 yang berarti terdapat hubungan yang kuat antara dosis profilin yang diberikan dengan kadar NF- κ B yang diekspresikan dalam kultur adiposit. Nilai yang positif menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis profilin yang diberikan maka kadar NF- κ B dari kultur adiposit juga akan semakin meningkat. Nilai signifikan sebesar 0.000 menunjukkan bahwa adanya hubungan yang signifikan antara dosis profilin yang diberikan dengan kadar NF- κ B yang dihasilkan. Nilai R square yang didapat dengan regresi linier adalah 0,663 yang berarti persamaan yang diperoleh mampu menjelaskan kadar NF- κ B sebesar 66,3%, sedangkan 43,7% lainnya dijelaskan oleh variabel lain yang tidak diteliti.