

BAB 5

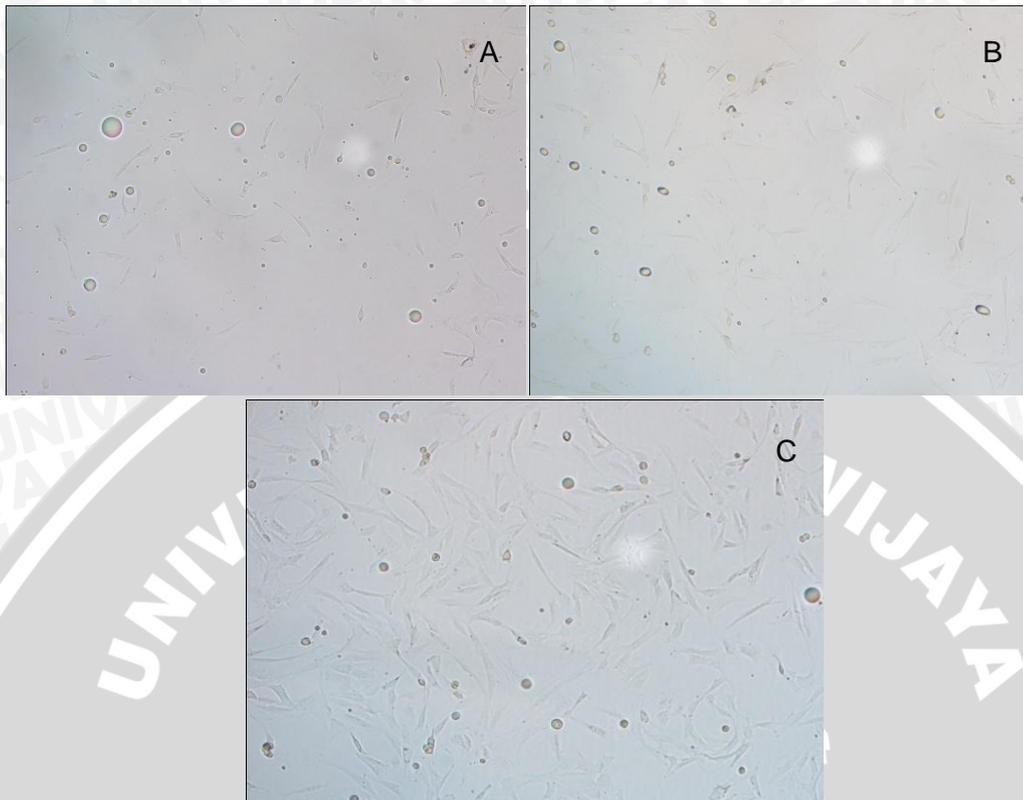
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Kultur Adiposit

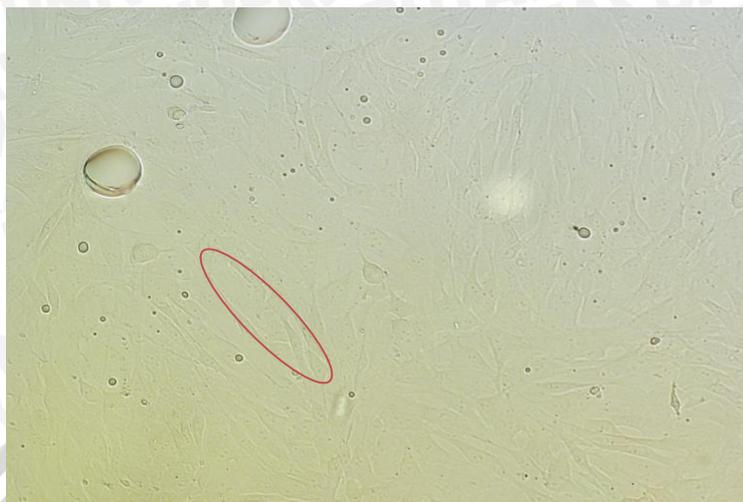
Kultur adiposit yang digunakan pada penelitian ini menggunakan lemak putih Tikus Wistar. Sebelum memulai kultur adiposit, lemak putih yang telah diambil harus di kembangkan dulu sebagai kultur sel preadiposit. Proses kultur preadiposit dimulai dengan mengambil lemak putih dengan membedah tikus wistar, lalu lemak dicacah dan dicuci dalam medium DMEM. Kultur yang sudah dicuci dimasukan dalam *flask* pada minggu pertama dan dilakukan penggantian medium DMEM setiap 2 hari sekali. Setiap mengganti medium *flask* juga dicuci dengan DMEM , serta medium DMEM yang baru harus ditambahkan dengan FBS dengan perbandingan 1:9 sebagai nutrisi untuk sel preadiposit.

Antibiotik (Penicillin-Streptomycin) 1:100 dan antifungal 1:50 juga ditambahkan agar tidak terjadi kontaminasi yang merupakan kriteria eksklusi. Pemantauan kultur dilihat melalui mikroskop untuk mencari adanya bakteri atau jamur yang tumbuh guna menentukan apakah kultur terkontaminasi atau tidak. Jika sel preadiposit sudah cukup banyal, maka sebagian dipindahkan ke *well-24*. Kultur 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 40x10 (sel yang panjang berwarna transparan): **A.** Preadiposit dalam *flask* yang telah ditumbuhkan dalam minggu pertama. **B.** Preadiposit yang telah dipindahkan ke *well-24* pada minggu ke 2. **C.** Preadiposit dalam *well-24* pada minggu ke 3.

Proses pencucian dan penggantian medium tetap dilakukan sampai minggu ke 4 atau 5. Terjadi atau tidaknya kontaminasi dapat ditandakan dengan perubahan warna pada medium DMEM, normalnya media berwarna oranye kemerahan transparan, jika terjadi kontaminasi bakteri medium berubah warna menjadi kuning dan jika kontaminasi jamur maka akan menjadi keruh. Adanya kontaminasi menyebabkan kultur memenuhi kriteria eksklusi dan harus dibuang serta memulai kultur baru dengan evaluasi organisme yang menyebabkan kontaminasi dan rencana pencegahannya. Setelah 4-5 minggu sel preadiposit berubah menjadi sel adiposit yang dapat dilihat pada **Gambar 5.2** dan siap untuk diberikan perlakuan.



Gambar 5.2 Kultur adiposit *mature* dilihat dengan perbesaran 40x10. Sel adiposit terlihat berbentuk menyerupai cerutu, berjumlah sangat banyak dan berdekatan pada minggu ke 5.

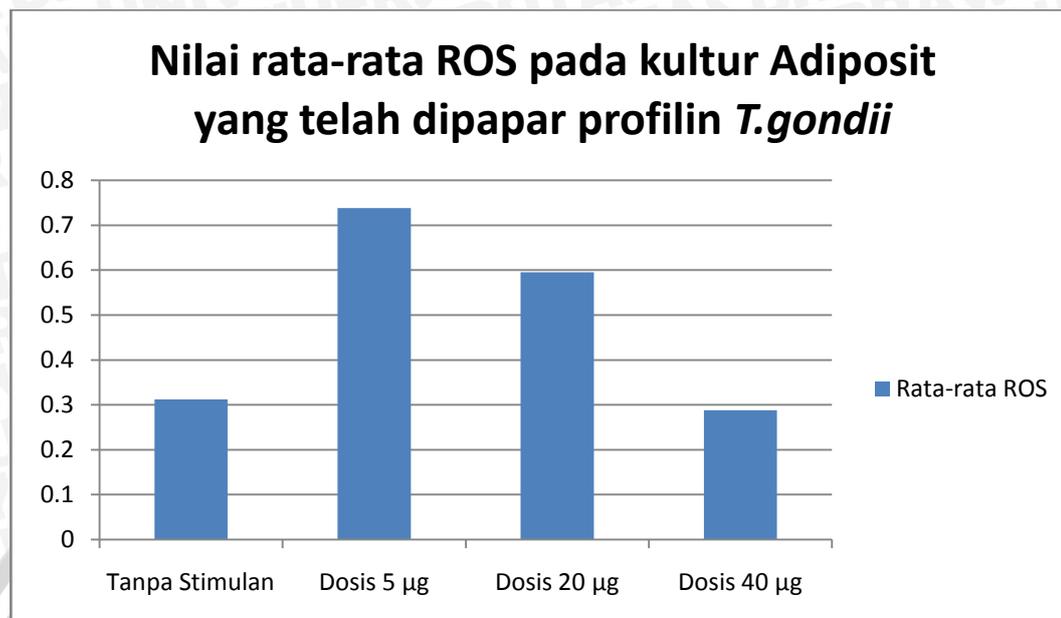
5.1.2. Kadar ROS pada Kultur Adiposit yang Dipapar Profilin *T.gondii*

Kultur adiposit yang telah *mature* dipanen dan di warna dengan 20 μM DCFDA sebelum diberi profilin. Selanjutnya, kultur adiposit diberi profilin *Toxoplasma gondii* dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 5 μg , 20 μg dan 40 μg . Setelah semua perlakuan selesai, kadar ROS dalam sel diukur menggunakan *flow cytometer*. Dalam penelitian ini peneliti menggunakan *Abcam's DCFDA - Cellular Reactive Oxygen Species Detection Assay Kit*.

Tabel Data Hasil Pengukuran Kadar ROS pada kultur Adiposit yang telah dipapar profilin *T.gondii*

Pengulangan/ dosis	1	2	3	4	Rata- rata	Standard Deviasi
D1 tanpa stimulan	0.241	0.425	0.562	0.020	0.312	\pm 0.234
D2 (5 μg)	0.803	0.743	0.775	0.633	0.738	\pm 0.074
D3 (20 μg)	0.635	0.621	0.515	0.611	0.595	\pm 0.054
D4 (40 μg)	0.268	0.256	0.320	0.310	0.288	\pm 0.031

Tabel 5.1 Hasil pengukuran ROS menggunakan *Abcam's DCFDA* kit. Data kadar ROS setiap kelompok dengan pemberian kadar profilin yang berbeda diukur dengan 4 kali pengulangan.



Gambar 5.3 Grafik rata-rata kadar ROS pada kultur adiposit yang telah diberi profilin *T.gondii*.

Pada **tabel 5.1** terlihat bahwa kadar ROS mengalami penurunan seiring bertambahnya dosis profilin yang diberikan. Kelompok kontrol tanpa stimulan memberikan hasil rata-rata ROS sebesar 0.312 µg/mL. Kelompok yang diberi profilin dengan dosis 5 µg, 20 µg dan 40 µg masing-masing menghasilkan rata-rata ROS sebesar 0.738 µg/mL, 0.595 µg/mL dan 0.288 µg/mL. Penurunan kadar ROS berbanding lurus dengan peningkatan dosis profilin *T.gondii* yang diberikan seperti terlihat pada grafik **gambar 5.3**.

5.2. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan pemberian profilin *T.gondii* terhadap kultur adiposit sebagai variabel bebas dan kadar ROS yang diukur dengan *flow cytometer* sebagai variabel tergantung. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji hipotesis komparatif dan uji hipotesis korelatif. Uji hipotesis komparatif digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar kultur adiposit yang telah diberi paparan profilin dengan dosis berbeda-beda.

Untuk uji hipotesis komparatif peneliti menggunakan uji Kruskal Wallis. Uji hipotesis korelatif yang digunakan adalah uji korelatif *Spearman* dengan hanya melihat korelasi antar kultur yang diberi profilin *T.gondii*.

5.2.1. Uji Kruskal Wallis

Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar ROS yang bermakna antara kultur yang tidak diberi stimulan, kultur yang diberi profilin 5 μg , 20 μg dan 40 μg .

Hasil uji Kruskal Wallis dinyatakan signifikan jika didapatkan nilai $p < 0.05$. Hasil uji Kruskal Wallis sebesar 0.008 sehingga dapat dinyatakan data signifikan dan terdapat terdapat minimal satu perbedaan perlakuan yang bermakna antara empat kelompok tersebut.

5.2.2. Uji Mann Whitney

Setelah uji Kruskal Wallis, analisis data dilanjutkan menggunakan uji Mann Whitney. Uji ini digunakan untuk mengetahui dimana letak perbedaan yang signifikan dengan melakukan perbandingan setiap dua kelompok. Hasil uji Mann Whitney dinyatakan signifikan apabila nilai $p < 0.05$. Data hasil uji Mann Whitney dapat dilihat pada **tabel 5.2**.

TABEL HASIL UJI MANN WHITNEY

	Kontrol	Dosis 5 μg	Dosis 20 μg	Dosis 40 μg
Kontrol	-	0.021*	0.043*	1.000
Dosis 5 μg	0.021*	-	0.043*	0.021*
Dosis 20 μg	0.043*	0.043*	-	0.021*
Dosis 40 μg	1.000	0.021*	0.021*	-

Keterangan :

***** : Perbedaan bermakna ($p < 0.05$)

Tabel 5.3 Hasil uji Mann Whitney menunjukkan hasil tidak signifikan hanya pada perbandingan antara kontrol dan dosis 40 μg

Dari hasil uji Mann Whitney didapatkan perbedaan bermakna antara kontrol dengan pemberian profilin dosis 5 μg dan 20 μg . Perbedaan bermakna juga di temukan antara pemberian dosis 5 μg dengan 20 μg dan 40 μg , serta antara pemberian dosis 20 μg dengan dosis 40 μg . Sedangkan hasil antara kontrol dengan pemberian dosis 40 μg tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

5.2.3. Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan pemberian profilin *T.gondii* dengan perubahan kadar ROS pada kultur adiposit. Untuk uji korelasi yang digunakan adalah uji korelasi Spearman dengan hanya melihat hubungan antar kadar ROS yang diberi profilin saja. Jadi dalam uji Spearman ini data kontrol tanpa stimulan tidak dimasukkan dalam analisis.

Hasil uji korelasi Spearman menunjukkan nilai korelasi sebesar -0.917 yang berarti terdapat hubungan yang kuat antara dosis profilin yang diberikan dengan perubahan kadar ROS. Nilai negatif menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis profilin yang diberikan maka kadar ROS semakin menurun. Nilai signifikansi sebesar 0.000 menunjukkan adanya hubungan bermakna antara pemberian dosis profilin yang berbeda dengan perubahan kadar ROS pada kultur adiposit.