BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

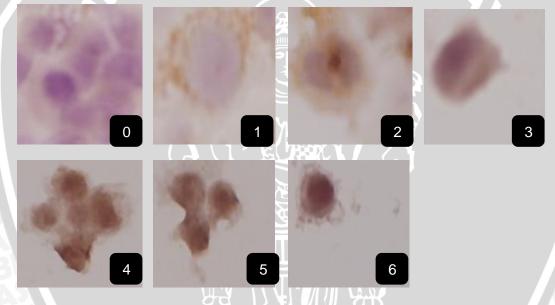
5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Penelitian Ekspresi Laminin5-y2 dengan Metode Imunositokimia

Pada Penelitian ini, ada 3 kelompok sampel perlakuan yang diberi supernatan yogurt LBA-ST yang disebut dengan kontrol positif dan 3 kelompok dibagi berdasar konsentrasi dosis supernatan yogurt yaitu dosis 10% v/v, 20%v/v, dan 40% v/v.Untuk konsentrasi dosis 10% v/v (100µL supernatan yogurt + 900µL media kultur), 20% v/v (200µL supernatan yogurt + 800µL media kultur) dan 40% v/v (400µL supernatan yogurt + 600 µL media kultur) ke dalam 3 well plate dan dengan pengulangan (replikasi) sebanyak 3 kali sehingga total well plate ada 9 untuk sumuran sel HeLa. Untuk kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan yang artinya tidak diberi supernatan yogurt ditambahkan sebesar 1000µL medium kultur ke dalam 3 well plate sumuran sel HeLa. Untuk kontrol tanpa antibodi (tanpa pemberian antibodi primer) ke dalam 2 well plate sumuran sel HeLa.

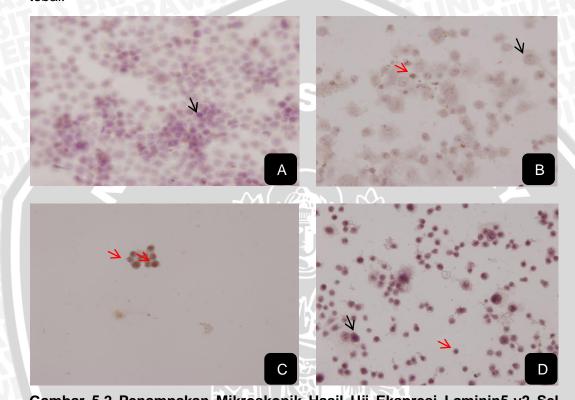
Metode imunositokimia dilakukan setelah sumuran sel HeLa dipapar dengan supernatan yogurt LBA-ST selama 24 jam. Selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran total masing-masing 40x, 100x, 200x, 400x, dan 1000x dari masing-masing kelompok kontrol positif, setiap sampel kontrol positif difoto dalam 5 lapang pandang. Penampakan foto mikroskopik pada perbesaran 400x dapat dilihat di gambar 5. Penghitungan ekspresi Laminin5-γ2 dengan menghitung jumlah sel HeLa yang mengekspresikan Laminin5-γ2 yang ditandai dengan warna kecoklatan pada sitoplasma dan inti sel HeLa di setiap lapang pandang.

Penghitungan ekspresi protein Laminin5-γ2 dalam metode imunositokimia dilakukan berdasar kriteria perhitungan yang telah ditetapkan oleh peneliti seperti yang ada di gambar 5. . Ekspresi protein Laminin5-γ2 muncul ditunjukkan dengan warna coklat muda hingga coklat kehitaman pada sitoplasma dan inti sel HeLa. Warna biru keunguan pada sitoplasma sel menunjukkan tidak adanya ekspresi pada sel atau level ekspresi yang sangat rendah sehingga tidak terdeteksi dalam foto mikroskopis. Sel dengan intensitas dan distribusi sesuai gambar 3, 4, 5, dan 6 akan diinterpretasikan sebagai sel yang mengekpresikan protein Laminin5-γ2 yang terdapat pada sitoplasma dan inti sel HeLa.



Gambar 5.1 Kriteria Indeks Protein (Penampakan Mikroskopik sel HeLa dengan perbesaran 1000x) Gambar 0) inti sel tampak jelas berwarna ungu 1) inti sel tampak jelas berwarna ungu yang kurang terang dan terdapat warna coklat muda tipis di tepi sitoplasma sel 2) inti sel tampak berwarna ungu mulai pudar dan terdapat warna coklat tebal di dalam sitoplasma sel 3) inti sel tampak berwarna ungu pudar yang terdapat warna coklat tebal di dalam sitoplasma sel dan mulai menyebar ke inti sel 4) inti tidak tampak dan terdapat warna coklat tipis

tebal pada sitoplasma dan inti sel 5) inti sel sudah tidak tampak lagi dengan warna coklat tipis serta sitoplasma sel berwarna coklat tebal 6) inti dan sitoplasma sel sudah tidak tampak lagi karena tertutup dengan warna coklat tebal.



Gambar 5.2 Penampakan Mikroskopik Hasil Uji Ekspresi Laminin5-γ2 Sel HeLa dengan metode imunositokimia. Ekspresi Laminin5-γ2 pada sel HeLa menyebabkan perubahan kepekatan warna dan perubahan morfologi sel HeLa (pada perbesaran total 400x). Ekspresi Laminin5-γ2 yang rendah pada sel ditunjukkan dengan panah hitam (→) yan ditandai masih ada warna ungu pada sel dan tidak terdapa warna coklat pada tepi sitoplasma sel. Sel dengan ekspresi Laminin5-γ2 yang tinggi ditunjukkan dengan panah merah (→) yang ditandai dengan warna coklat pada sitoplasma sel dan inti sel. Perbandingan ekspresi Laminin5-γ2 pada kontrol positif sel A) dengan perlakuan pemberian supernatan

yogurt LBA-ST dengan dosis 10%v/v **B)** 20% v/v **C)** dan 40 % v/v **D)** yang telah diinkubasi selama 24 jam.

Setelah dilakukan pemotretan dan pengamatan, dilakukan penghitungan ekspresi Laminin5-γ2 menggunakan **rumus Indeks Ekspresi Laminin5-γ2** =

 $\frac{\Sigma \ sel \ yang \ mengekspresikan \ Laminin 5 - \gamma 2 \ (5 \ lapang \ pandang)}{\Sigma \ total \ sel (5 \ lapang \ pandang)} \ x \ 100\%$

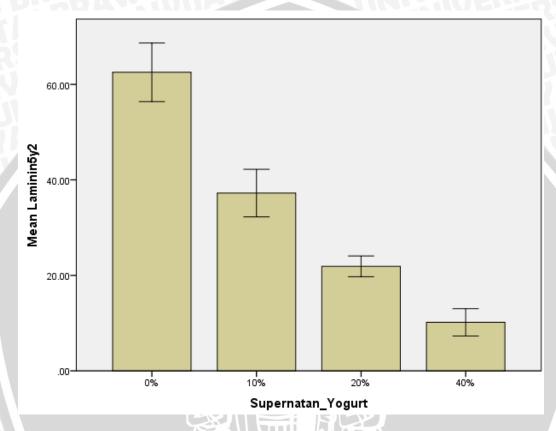
Indeks ekspresi Laminin5-γ2 ialah presentase jumlah dari sel yang positif mengekspresikan Laminin5-γ2 dibagi jumlah total sel HeLa per 5 lapang pandang. Hasil dari perhitungan tersebut yang akan dibuat analisis data (Lampiran 3). Kemudian dilakukan penghitungan rata-rata indeks ekspresi Laminin5-γ2 pada setiap kelompok perlakuan yang dilanjutkan setiap kelompok lapang pandang (Tabel 5.3)

Tabel 5.3 Rata-RataIndeksEkspresiLaminin5-y2

				_
Perlakuan	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
		(g) 1 (g)		Standard error
Kontrol Sel	69,43	57,62	60,55	3,55
10%	32	41,91	37,79	2,87
20%	19,67	22,01	24,02	1,25
40%	10,33	12,93	7,22	1,65

BerdasarkanTabel 5.3 HasilPerhitungan rata-rata indeksekspresiLaminin5-γ2masing-masingkelompok control sebesar 3,55 ,kelompokdosis 10% sebesar 2,87, kelompokdosis 20% sebesar 1,25 , dankelompokdosis 40% sebesar 1,65. Selanjutnya,rata-rata indeks ekspresi Laminin5-γ2 ditampilkan pada grafik hubungan antara perlakuan terhadap nilai rata-rata indeks ekspresiLaminin5-γ2.

Berikut disajikan grafik hubungan antara kontrol sel (dosis supernatan 0% v/v) dan dengan perlakuan kontrol positif (10%,20%, dan 40%) v/v terhadap ratarata Indeks Laminin5-y2 (p<0,05)



Gambar 5.3 Grafik Hubungan Rata-Rata Ekspresi Laminin5-γ2 terhadap Kontrol Sel serta Kontrol Positif yanga telah dipapar Supernatan Yogurt

5.2 Analisis Data

Pada penelitian ini, parameter yang paling penting dilihat ialah terjadinya penurunan ekspresi Laminin5-γ2 setelah dipapar oleh supernatan yogurt LBA-ST dibanding sebelum diberi supernatan yogurt LBA-ST. Hasil dari uji imunositokimia menunjukkan adanya penurunan secara umum ekspresi Laminin5-γ2 pada sel HeLa yang telah dipapar dengan supernatan yogurt LBA-ST dibandingkan dengan kontrol sel HeLa yang tanpa dipapar supernatan yogurt. Pada kajian pustaka sebelumnya diterangkan bahwa Laminin5-γ2

berperan dalam metastaseselkankermelewatijalur invasi, migrasi, dan adhesi (IAM) dan proliferasi kanker terutama pada pada kanker serviksataukankerepitelsquamosa. Jalur Invasi , migrasidanadhesi ini juga berperan vital selain jalur apoptosis dalam metastase kanker, akan tetapi kebanyakan penelitian masih perlumelakukanpenelitianpada jalur apopotosis tersebut. Produk Yogurt LBA-ST setelah disentrifugasi terbagai menjadi ketiga bagian yaitu supernatan di bagian atas, Bakteri, dan whole yogurt LBA-ST. Ketiga-tiganya berpeluang menjadi agen terapi kanker serviks, akan tetapi peneliti lebih memilih supernatan yogurt oleh karena dapat dikembangkan sebagai agen terapi yan steril, aplikatif, serta tahan lama dalam waktu penyimpanannya. Dari Gambar 5.3 menunjukkan bahwa ekspresi Laminin5-y2 berperan dalam jalur IAM sel kanker HeLa serta terbukti dapat diturunkan dengan pemberian supernatan yogurt dengan dosis efektif (ED) 40% v/v karena yang menyebabkan penurunan paling signifikan indeks ekspresi Laminin5-γ2 $(p<0,05\pm0,005)$.

5.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Data

Pada Penelitian ini, peneliti menggunakan uji normalitas menggunakan metode saphiro-wilk, lalu dilanjutkan denganujiHomogenitas data (lampiran 8). Distribusi data dikatakan normal bila hasil signifikansi lebih besar dari 0,05 (p>0,05). Dari hasil uji normalitas metode saphiro-wilk menunjukan bahwa data terdistribusi secara normal dengan nilai p=0,459(p>0,05), p=0,815(p>0,05), p=0,916(p>0,05), p=0,902 (p>0,05)(lampiran 8). Setelah data terdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji homogenitas. Data dikatakan homogen bila signifikansi lebih besar dari 0.05 (p > 0.05). Dari hasil bahwa data sudah homogen dengan p=0,291 (p>0,05)(lampiran 8). Dari data tersebut dinyatakan

bahwa data hasil uji adalah homogen. Setelah data sudah terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan analisis statistik One Way Anova.

5.2.2 Analisis Statistik One Way Anova

Dilakukan uji statistik one way anova untuk mengetahui pengaruh dosis supernatan yogurt LBA-ST terhadap aktivitas Invasi, adhesi dan migrasipada ekspresi Laminin5-γ2. Dengan tingkat kepercayaan 95%(α=0,05), apabila diperoleh p>0,05 artinya tidak ada perbedaan dan pengaruh yang signifikan, sebaliknya bila p<0,05 menunjukkan adanya perbedaan dan pengaruh yang signifikan terdapat hipotesis null. Dari hasil Analisis Statistik One way Anova, p=0,000 (p<0,05) yang menunjukkan kesimpulan terjadi penurunan jumlah sel line kanker serviks(HeLa cell) yang mengekspresikan Laminin5-y2, menunjukkan bahwa terjadi penurunan ekspresi Laminin5-γ2 setelah diberikan Supernatan Yogurt LBA-ST(Lactobacillus Bulgaricus dan Streptococcus Thermopilus).