

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan ekspresi Hsp90 pada organ hepar antara mencit bunting normal dengan mencit model preeklampsia serum pasien preeklampsia berat.

5.1.1 Hasil penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilaksanakan sebelum penelitian dimulai dengan tujuan untuk mendapatkan gambaran tentang model mencit preeklampsia. Pada studi pendahuluan tersebut dibuat 3 kelompok yang terdiri dari K(-) mencit normal tidak bunting, K(+) mencit bunting normal, kelompok perlakuan mencit bunting model preeklampsia. Seperti pada penelitian yang akan dilakukan dengan jumlah replikasi masing-masing kelompok adalah 2. Pengukuran yang dilakukan pada studi pendahuluan ini hanya mengukur tekanan darah dan proteinuria pada keseluruhan mencit. Dari studi pendahuluan tersebut didapatkan hasil terjadi peningkatan tekanan darah dan proteinuria pada kelompok perlakuan (mencit bunting model preeklampsia) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (mencit bunting normal) yang diperiksa pada hari ke 15 gestasi.

5.1.2 Gambaran umum mencit

Mencit model preeklampsia ini berasal dari mencit BALB/C dengan berat badan berkisar 20-30 mg. mencit model preeklampsia ini dibuat mulai dari aklimatisasi mencit, menyamakan fase estrus mencit, mengawinkan mencit hingga membuat model mencit preeklampsia atau perlakuan. Jumlah mencit yang dikawinkan sebanyak 25 ekor mencit dan diperkirakan bunting sebanyak 20 ekor dan 8 ekor mencit lain yang tidak dikawinkan dibiarkan tidak bunting untuk menjadi kontrol negatif, tetapi dari jumlah tersebut hanya 15 ekor yang bunting. Sebanyak 15 ekor mencit bunting ini dipakai terus sampai akhir penelitian.

Pembuatan mencit model preeklampsia ini merujuk pada penelitian yang sudah pernah dilakukan Kalkunte *et al.*, (2010). Untuk mengevaluasi karakteristik mencit preeklampsia dilakukan dengan hipertensi (Johns *et al*, 1996) dan proteinuria positif. Karakteristik dasar mencit pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel dibawah ini. Karakteristik dasar bersifat homogen sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi

Tabel 5.1. Karakteristik Dasar Mencit Model Preeklampsia

Karakteristik	K(-)	K(+)	Perlakuan
Jumlah kelompok	6	6	6
BB awal (g)(sebelum dikawinkan)	27,6±0,5	27,6±0,5	27,6±0,5
BB akhir (g)(setelah dikawinkan)	27,6±0,5	43,8±0,8	42,6±2,1
Tekanan sistolik (mmHg)	118±5,9	122,4±8,9	155,4±7,4
Tekanan diastolic (mmHg)	78,3±1	79,2±0,8	78,8±0,8
Protein urin (µg/dl)	1,2±0,8	4,9±0,9	11,9±1,3

Keterangan: K(-) tikus normal tidak bunting, K(+) tikus bunting normal, perlakuan tikus bunting model preeklampsia

Dari tabel 5.1 menggambarkan karakteristik mencit pada masing-masing kelompok. Setelah diberikan injeksi serum ibu hamil normal pada PEB kecuali pada kontrol negatif, dilakukan pemeriksaan tekanan darah dan proteinuria untuk memastikan timbulnya gejala preeklampsia pada model hewan coba. Dari pemeriksaan tersebut didapatkan peningkatan tekanan darah ($>140\text{mmHg}$) dan kadar proteinuria meningkat jauh pada mencit yang mendapatkan injeksi serum ibu preeklampsia berat dibandingkan dengan mencit bunting yang mendapatkan injeksi serum ibu normal.

Randomisasi dilakukan sebelum mengawinkan hewan coba. Mencit yang tidak dikawinkan dimasukkan kedalam kelompok kontrol negatif, sedangkan mencit yang dikawinkan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kontrol positif dan kelompok perlakuan. Mencit yang mendapatkan injeksi serum ibu hamil normal dimasukkan pada kelompok kontrol positif, sedangkan mencit model preeklampsia dimasukkan menjadi kelompok perlakuan.

Setelah ditemukan *vaginal plug* dan diperkirakan hamil, seluruh mencit dipelihara selama 20 hari. Kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dipelihara selama 20 hari dengan pemberian makan dan minum standar. Pada hari ke-20 dilakukan terminasi keseluruhan sampel untuk diambil organ hepar. Organ hepar kemudian difiksasi dengan *netral buffer formalin* 10% yang selanjutnya dibuat preparat histologi dengan pengecatan imunohistokimia hasil pembedahan mencit dan preparat histopatologi ditampilkan pada gambar.

5.1.3 Pengukuran ekspresi Hsp90

Hasil organ paraffin blok pertama akan di-*deparafinisasi* terlebih dahulu sebelum dipergunakan. Pemeriksaan immunohistokimia dilakukan dengan cara diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x sebanyak 20x lapang pandang.



Gambar 5.1 Prosedur pemeriksaan dan perhitungan Hsp90 dengan immunohistokimia. Dua gambar di atas menampilkan tempat inkubasi dari anti Hsp90 dan hasil gambar histopatologi liver yang sudah siap untuk dilakukan perhitungan. Panah merah menunjukkan ekspresi Hsp90 pada sel liver menciit.

Sebelum dilakukan pengamatan slide akan terlebih dahulu dan diinkubasi dengan monoklonal anti Hsp90 kemudian akan diamati melalui mikroskop cahaya. Pemeriksaan dan perhitungan diamati ekspresi warna coklat pada inti sel dan untuk aktivasi Hsp90 tampak warna coklat pada inti sel, kemudian dilihat sebanyak 20 lapang pandang dan kemudian dirata-rata untuk mendapatkan hasil setiap sampel.

5.2 Hasil uji prasyarat parametric

Penelitian ini hasil analisis data pada uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Adapun kriteria keputusan, yaitu bila nilai Sig atau *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ maka data terdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai Sig atau *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Pada analisis uji *Shapiro-Wilk* diperoleh dan dijelaskan secara lengkap tampak pada tabel dibawah ini (Lampiran 1).

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas data

Kelompok Pengamatan	<i>p-value</i> Ekspresi Hsp90	Distribusi
Kontrol negatif	0,721	Normal
Kontrol positif	0,964	Normal
Perlaukan (PEB)	0,554	Normal

Keterangan: data terdistribusi normal bila $p\text{-value} > 0,05$

Berdasarkan tabel 5.2 hasil uji *Shapiro-Wilk* diperoleh bahwa data ekspresi Hsp90 untuk masing-masing kelompok pengamatan telah menunjukkan nilai *p-value* yang semuanya lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$. Jadi semua data telah memenuhi uji prasyarat parametrik, yaitu data terbukti terdistribusi normal. Selanjutnya data telah siap dianalisis lebih lanjut dengan uji statistik parametrik guna membuktikan hipotesis penelitian yang telah diajukan.

5.3 Pengaruh Kehamilan dan Pemberian Injeksi Serum Ibu Normal Terhadap Ekspresi Hsp90 pada Liver Mencit Bunting Normal

Hasil uji perbandingan kelompok kontrol negatif (mencit sehat) dengan kontrol positif (mencit bunting normal) pada data ekspresi Hsp90. Hal ini

membuktikan pemberian injeksi serum ibu normal dapat meningkatkan ekspresi Hsp90 pada liver mencit bunting.

5.4 Pengaruh Pemberian Injeksi Serum Ibu Preeklampsia terhadap Perbedaan Ekspresi Hsp90 pada Mencit Liver Bunting Model Preeklampsia

Berdasarkan hasil uji *Anova one way* pada data ekspresi Hsp90 diperoleh perbedaan bermakna rerata ekspresi Hsp90 pada kontrol positif dengan perlakuan dengan nilai $p\text{-value} = 0,000 < \alpha$ ($\alpha=0,005$). Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji lanjut *tukey'HSD* (*honest significant difference*) diperoleh dan ditampilkan secara lengkap disajikan pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.3 Perbedaan Ekspresi Hsp90 dalam Liver Mencit pada Kontrol Positif dan Perlakuan

Kelompok pengamatan	N	Rerata \pm Stan.deviasi	<i>p-value</i>
Kontrol Negatif	6	5,50 \pm 2,67 ^a	<i>P</i> =0,000
Kontrol positif	6	14,33 \pm 2,16 ^b	
Perlakuan (PEB)	6	7,33 \pm 1,37 ^a	

Keterangan: Pada rerata \pm sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value}<0.05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value}>0.05$). K(-)^a dan Perlakuan (PEB)^a berbeda nyata signifikan dengan K(+)^b. sedangkan K(-)^a dengan perlakuan (PEB)^a tidak berbeda nyata signifikan.

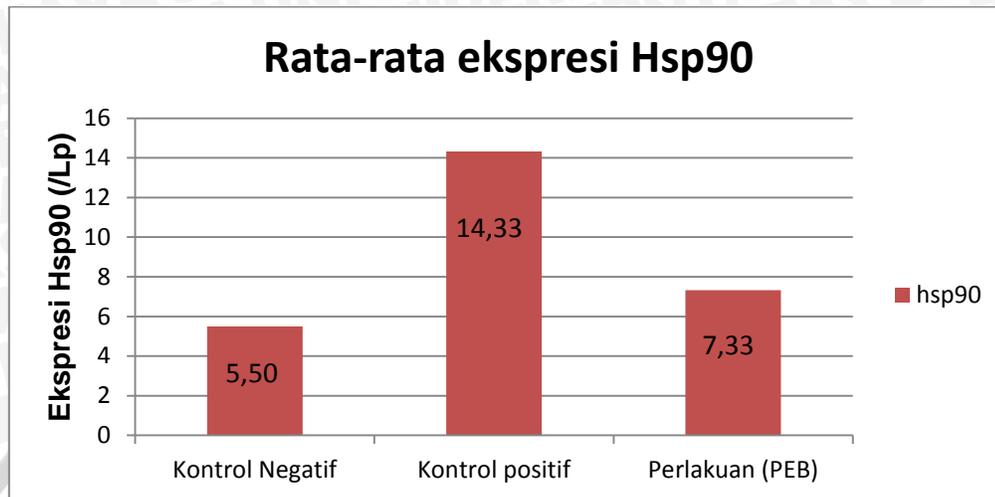
Pada Tabel 5.3 berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji *tukey'HSD* menunjukkan bahwa ada perbedaan rerata ekspresi Hsp90 antara kelompok kontrol positif (mencit bunting bunting normal) (14,33 \pm 2,16^b)/Lp dengan kelompok perlakuan pemberian serum preeklampsia berat (7,33 \pm 1,37^a)/Lp. hal ini berarti bahwa ada pengaruh perlakuan pemberian serum preeklampsia berat

terhadap ekspresi Hsp90 pada hepar mencit bunting normal. Ekspresi Hsp90 menunjukkan pada perlakuan (PEB) mengalami gangguan atau penurunan yang signifikan berdasarkan dari ekspresi Hsp90 dari hepar mencit bunting normal.

Selanjutnya ternyata ekspresi Hsp90 pada liver mencit tidak bunting didapatkan perbedaan yang tidak signifikan ($5,50 \pm 2,67^a$)/Lp dengan kelompok perlakuan (PEB) atau mencit bunting model preeklampsia ($7,33 \pm 1,37^a$)/Lp. Data ini menunjukkan bahwa kemungkinan ekspresi Hsp90 pada kelompok kontrol negatif dengan perlakuan (PEB) tidak jauh berbeda dan ini menunjukkan pada kelompok perlakuan ekspresi Hsp90 normal.

Berdasarkan uraian hasil dari Tabel 5.3 di atas maka dapat diartikan bahwa terjadinya peningkatan ekspresi Hsp90 pada kelompok kontrol positif mencit bunting normal dibandingkan kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok perlakuan (PEB) menunjukkan terjadinya penurunan ekspresi Hsp90 yang signifikan berdasarkan kontrol positif. Jadi hipotesis penelitian ini telah terbukti, yaitu terjadi perubahan dan penurunan ekspresi Hsp90 pada mencit model preeklampsia.

Selanjutnya rerata ekspresi Hsp90 pada ketiga kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap tampak pada gambar histogram (diagram batang) di bawah ini.



Gambar 5.2 Grafik ekspresi Hsp90 setiap kelompok

Gambar 5.1 tampak adanya penurunan ekspresi Hsp90 pada perlakuan (PEB) ($7,33 \pm 1,37^a$)/Lp yang nyaris mendekati kontrol negatif mencit tidak bunting ($5,50 \pm 2,67^a$)/Lp. Adapun penurunan kelompok perlakuan (PEB) ini berdasarkan dari data ekspresi Hsp90 pada kontrol positif mencit bunting normal ($14,33 \pm 2,16^b$)/Lp. Hal ini dapat dikatakan bahwa memang terjadi penurunan ekspresi Hsp90 pada liver mencit bunting model preeklampsia.