

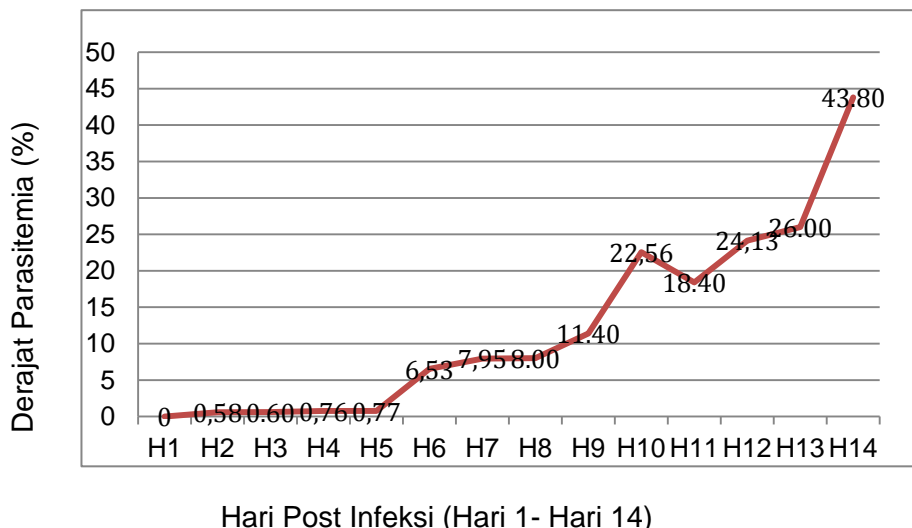
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Pada penelitian ini, mencit C57BL/6 dikelompokkan menjadi dua kelompok berbeda, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Setiap kelompok terdiri dari sembilan ekor mencit C57BL/6 betina yang berumur 12-16 minggu (dewasa muda). Mencit pada kelompok kontrol tidak diinokulasi, sedangkan mencit pada kelompok perlakuan diinokulasi dengan 1×10^6 eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA.

5.1 Hasil Pengukuran Derajat Parasitemia Mencit C57BL/6

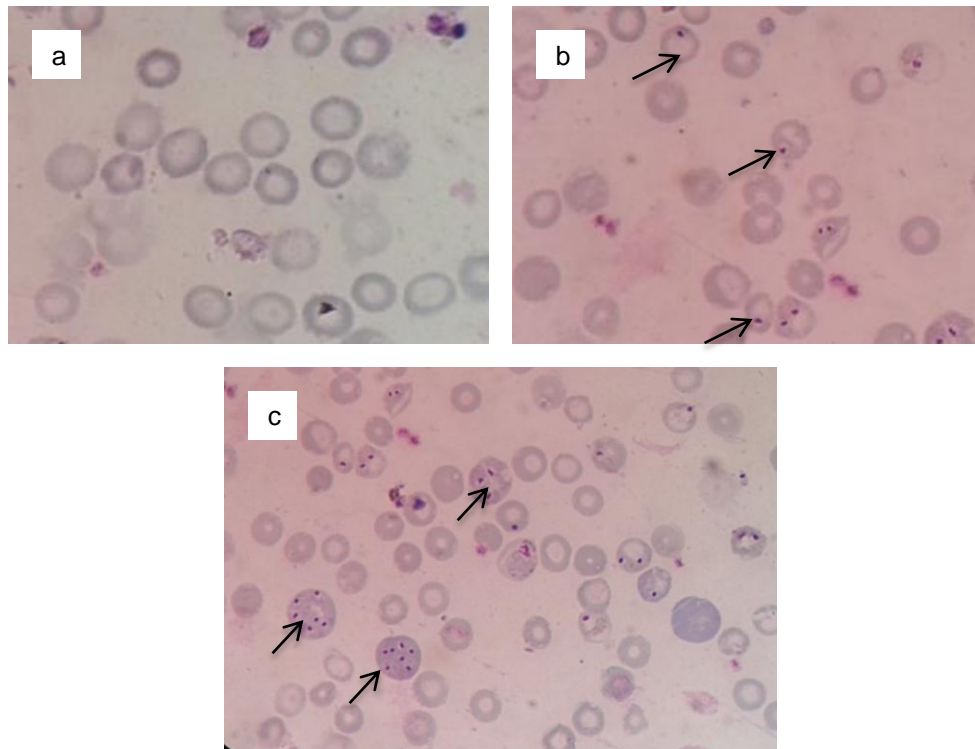
Pengukuran derajat parasitemia pada kelompok perlakuan dilakukan setelah tahap inokulasi, yaitu dilakukan setiap hari selama 14 hari. Hasil Pengukuran derajat parasitemia dinyatakan dalam persen (gambar 5.1),



Gambar 5.1 Derajat Parasitemia kelompok perlakuan dari hari pertama setelah inokulasi sampai hari ke-14. Presentase parasitemia merupakan hasil rata-rata perhari dari 9 sampel perlakuan (n=9).

Gambar 5.1 menunjukkan bahwa parasitemia mulai terjadi pada hari ke-2 post infeksi, semakin meningkat hingga hari ke-10, kemudian sempat menurun,

dan kembali meningkat di hari ke-12 hingga di akhir penelitian pada kelompok perlakuan.



Gambar 5.2 Gambaran hapusan darah tipis eritrosit terinfeksi
a. Gambaran mikroskopik hapusan darah tipis eritrosit yang terinfeksi Plasmodium berghei ANKA pada hari ke-1 pasca inokulasi. Mencit diinokulasikan dengan dosis 1×10^6 Plasmodium berghei ANKA.
b. Gambaran mikroskopik hapusan darah tipis eritrosit yang terinfeksi Plasmodium berghei ANKA pada hari ke-7 pasca inokulasi. Mencit diinokulasikan dengan dosis 1×10^6 Plasmodium berghei ANKA.
c. Gambaran mikroskopik hapusan darah tipis eritrosit yang terinfeksi Plasmodium berghei ANKA pada hari ke-14 pasca inokulasi. Mencit diinokulasikan dengan dosis 1×10^6 Plasmodium berghei ANKA.

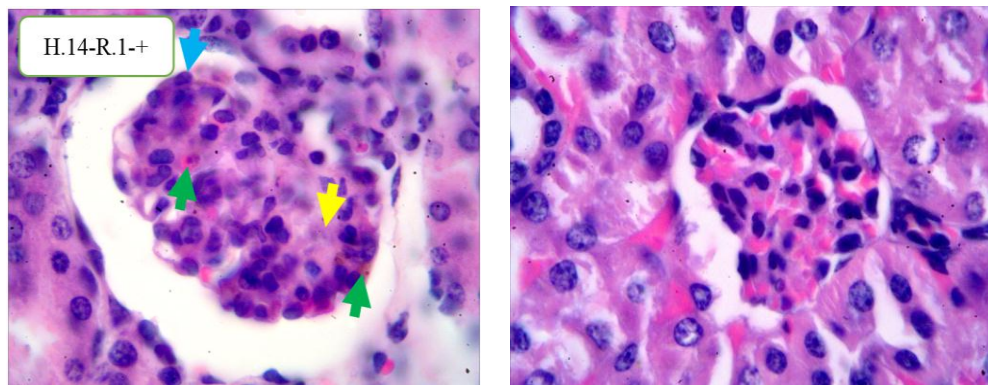
Keterangan :

Gambar adalah hasil hapusan tipis dengan pengecatan giemsa dan diamati dengan perbesaran 1000x menggunakan mikroskop cahaya. Tampak adanya trofozoit imatur bentuk cincin (tanda panah) di siklus intra eritrosit pada hari ke-7 (gambar b). Tampak adanya skizon matur (tanda panah) yang merupakan stadium multinuklease pada trofozoit matur di siklus intra eritrosit pada hari ke-14 (gambar c).

Pada gambar 5.2 (c) ditemukan banyak bentukan skizon matur. Skizon, yang merupakan stadium multinuklease dari trofozoit matur eritrosit parasitik selama fase reproduksi aseksual Plasmodium, dapat melepaskan 6-36 merozoit jika ruptur.

5.2 Hasil Histopatologi Jaringan Ginjal Mencit C57BL/6 sebagai Model Malaria Renal

Dalam penelitian ini, hasil histopatologi jaringan ginjal mencit C57BL/6 di bagian glomerulus telah dilakukan oleh peneliti lain dari pohon penelitian dan tim penelitian yang sama, yang berjudul “Efek Pemberian Kombinasi Ekstrak Brotowali (*Tinospora crispa*) Peroral dan Artesunat Injeksi Terhadap Ekspresi *Intercellular adhesion molecule- 1* (ICAM-1) dan Gambaran Histopatologi Glomerulus Mencit yang Diinfeksi Oleh *Plasmodium berghei*” (Rahmawati, 2015). Gambaran kerusakan glomerulus secara histopatologis yang didapatkan pada kelompok yang diinokulasi *Plasmodium berghei* pada penelitian ini adalah adanya nekrosis pada sel-sel glomerulus, infiltrasi sel-sel radang, proliferasi mesangial, deposisi pigmen hemozoin dan glomerulus sclerosis.



Gambar 5.3 Hasil Histopatologi pada glomerulus mencit C57BL/6

A. Histopatologi glomerulus mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* pada kelompok perlakuan pada hari ke-14

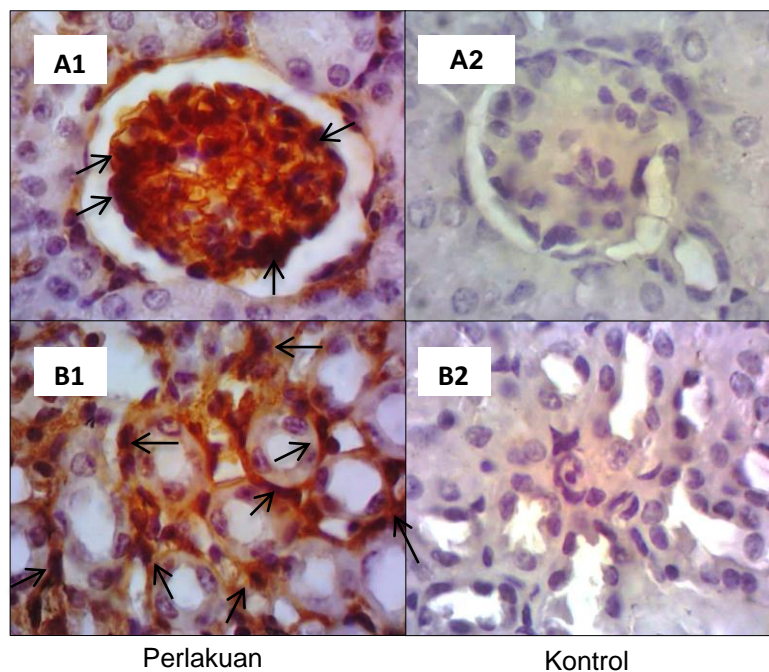
B. Histopatologi glomerulus pada kelompok kontrol hari ke-14 (Rahmawati, 2015).

Tanda panah biru menunjukkan proliferasi mesangial/matriks. Tanda panah kuning menunjukkan adanya nekrosis sel-sel glomerulus. Tanda panah hijau menunjukkan adanya deposisi hemozoin.(pencatatan HE, 1000x).

5.3 Ekspresi HSP70 pada Jaringan Ginjal Mencit galur C57BL/6

Ekspresi HSP70 yang diekspresikan oleh sel-sel pada jaringan ginjal setiap kelompok mencit C57BL/6 diperiksa dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi terhadap protein HSP70 (*Stressmarq Biosciences, Inc.* dengan nomor katalog HSP70 2A4: SMC-163). Ekspresi HSP70 pada sel-sel tubulus dan glomerulus dihitung dari jumlah sitoplasma yang mengekspresikan HSP70 (seluruh sitoplasma berwarna coklat tua/gelap) yang dibagi dengan 20 lapang pandang, dengan perbesaran 1000 kali.

Hasil pewarnaan imunohistokimia terhadap ekspresi HSP70 pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada gambar 5.4 dan grafik rerata jumlah sel positif disajikan dalam gambar 5.6.



Gambar 5.4 Ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan pewarnaan imunohistokimia.

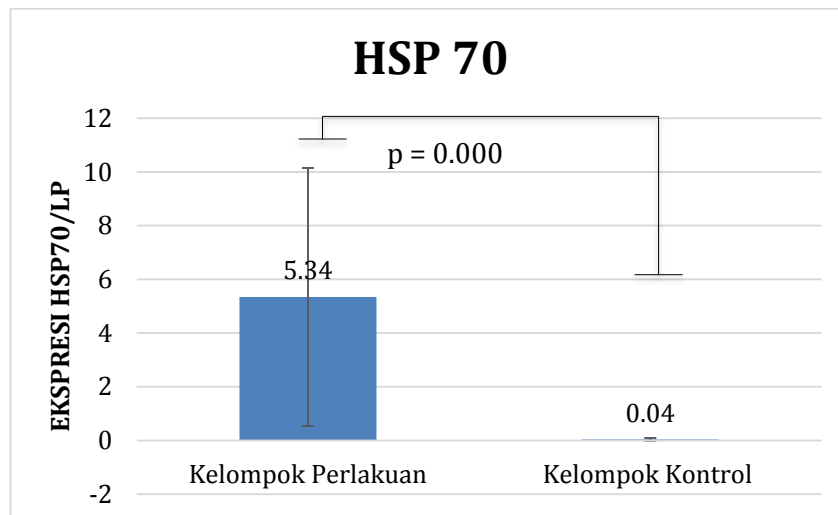
Keterangan :

- A1. Sel-sel glomerulus (tanda panah) yang mengekspresikan HSP70 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.
- A2. Sel-sel glomerulus yang tidak mengekspresikan HSP70 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.
- B1. Sel-sel tubulus (tanda panah) yang mengekspresikan HSP70 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.
- B2. Sel-sel tubulus yang tidak mengekspresikan HSP70 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.

Dari gambar imunohistokimia diatas, terlihat perbedaan gambaran imunohistokimia antara dua kelompok. Pada kelompok perlakuan terlihat sel-sel glomerulus dan tubulus yang tercat dengan warna coklat, sedangkan pada kelompok kontrol tidak terlihat adanya sel yang mengekspresikan HSP70. Overekspresi HSP70 sebagian besar terdapat di sel-sel glomerulus dan tubulus.

Setelah dilakukan Uji Normalitas menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov*, didapatkan hasil $p = 0.016$ pada kelompok perlakuan dan $p = 0.009$ pada kelompok kontrol ($p < 0.05$). Dapat disimpulkan bahwa data antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, uji komparatif dilakukan menggunakan Uji Non Parametrik, yaitu Uji *Mann-Whitney*.

Hasil Uji *Mann-Whitney* diperoleh nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal kedua kelompok mencit C57BL/6, yaitu antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.



Gambar 5.5 Grafik rerata jumlah sel yang mengekspresikan HSP70 pada kelompok perlakuan dan kontrol.

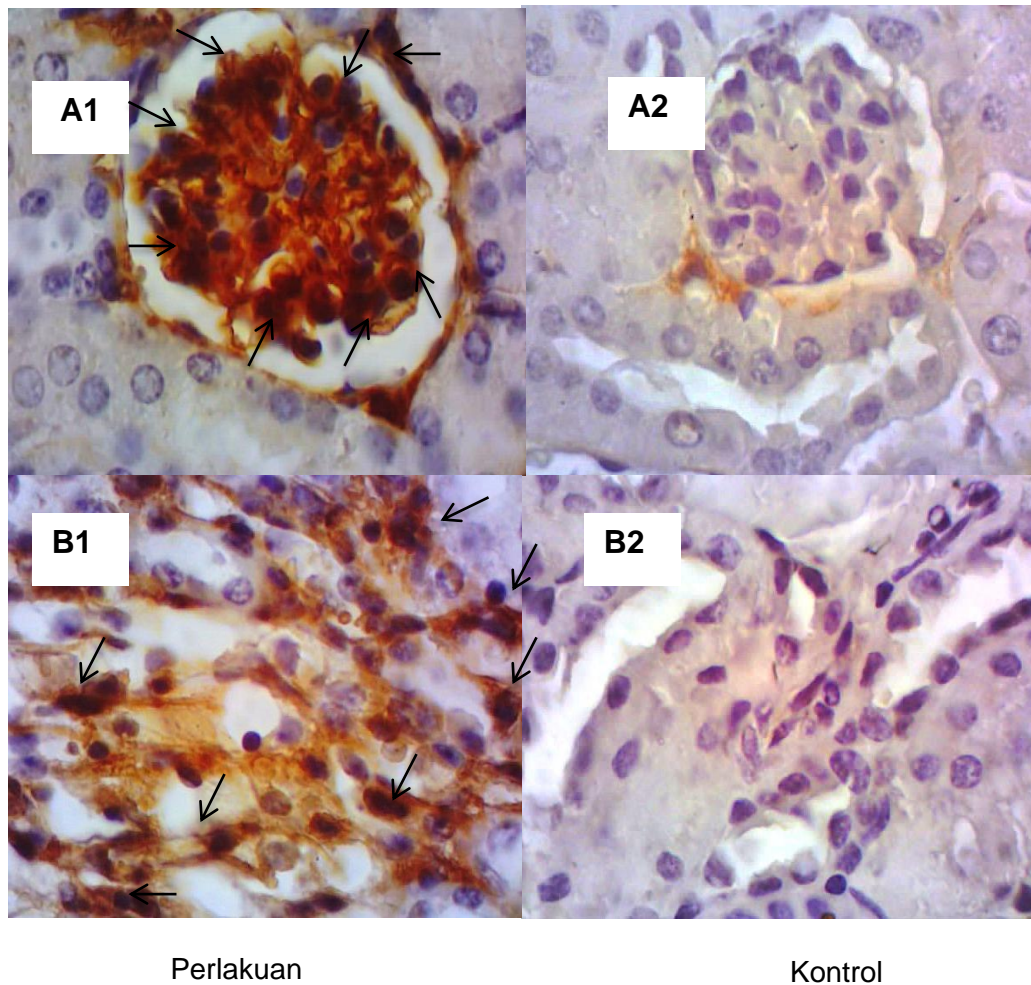
Dari gambar 5.5 terlihat ekspresi HSP70 pada kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan ekspresi HSP70 pada kelompok kontrol. Rerata

jumlah sel positif pada kelompok perlakuan adalah sebesar 5.34 sedangkan pada kelompok kontrol sebesar 0.04, dengan nilai $p = 0.000$.

5.4 Ekspresi HMGB1 pada Jaringan Ginjal Mencit galur C57BL/6

Ekspresi HMGB1 yang diekspresikan oleh sel-sel pada jaringan ginjal setiap kelompok mencit C57BL/6 diperiksa dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi terhadap protein HMGB1 (*Santa Cruz Biotechnology, Inc.* dengan nomor katalog HMG-1 (J2E1): sc-135809). Ekspresi HMGB1 pada sel-sel ginjal dihitung dari sitoplasma yang mengekspresikan HMGB1, yaitu sel glomerulus, tubulus, intersisial, dan endotel. Ekspresi yang dihitung adalah jika seluruh sitoplasma berwarna coklat tua/gelap yang dibagi dengan 20 lapang pandang, dengan perbesaran 1000 kali.

Hasil pewarnaan imunohistokimia terhadap ekspresi HMGB1 pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol disajikan pada gambar 5.6 dan grafik rerata jumlah sel positif disajikan dalam gambar 5.7.



Gambar 5.6 Ekspresi HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan pewarnaan imunohistokimia.

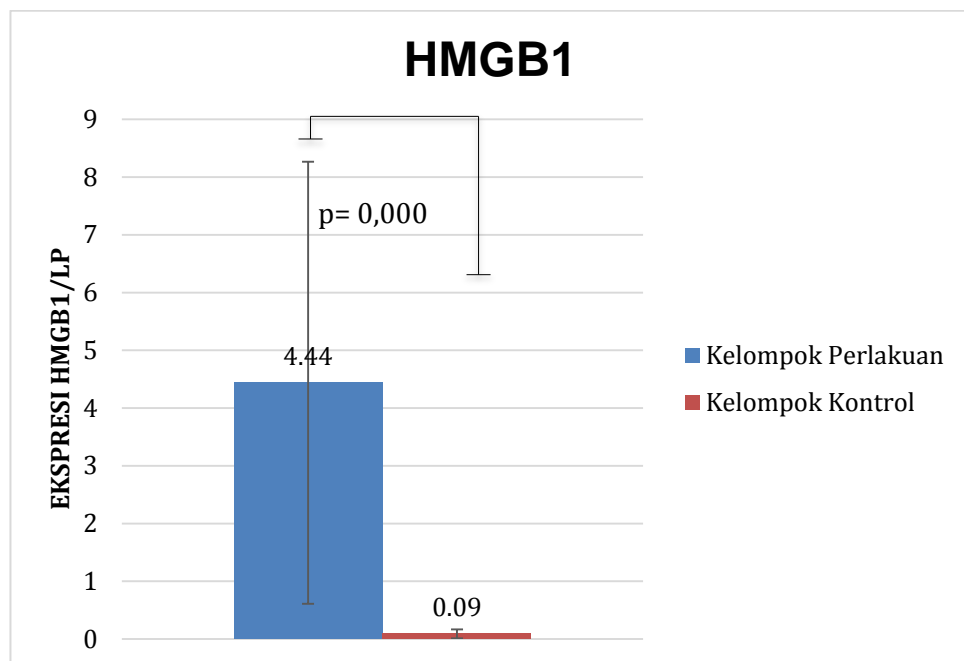
Keterangan :

- A1. Sel-sel glomerulus (tanda panah) yang mengekspresikan HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.
- A2. Sel-sel glomerulus yang tidak mengekspresikan HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.
- B1. Sel-sel tubulus (tanda panah) yang mengekspresikan HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.
- B2. Sel-sel tubulus yang tidak mengekspresikan HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan pewarnaan imunohistokimia yang diamati pada perbesaran 1000 kali.

Dari gambar imunohistokimia diatas, terlihat perbedaan gambaran imunohistokimia antara dua kelompok. Pada kelompok positif terlihat sel-sel glomerulus dan tubulus yang tercatat dengan warna coklat, sedangkan pada kelompok kontrol tidak terlihat adanya sel yang mengekspresikan HMGB1. Overekspresi HMGB1 sebagian besar terdapat di sel-sel glomerulus dan tubulus.

Setelah dilakukan Uji Normalitas menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov*, didapatkan data antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, uji komparatif dilakukan menggunakan Uji Non Parametrik, yaitu Uji *Mann-Whitney*.

Hasil Uji *Mann-Whitney* diperoleh nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada ekspresi HMGB1 pada jaringan ginjal kedua kelompok mencit C57BL/6, yaitu antara kelompok perlakuan dan kelompok perlakuan.



Gambar 5.7 Grafik rerata jumlah sel yang mengekspresikan HMGB1 pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Dari gambar 5.7 terlihat ekspresi HMGB1 pada kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan ekspresi HMGB1 pada kelompok kontrol. Rerata jumlah sel positif pada kelompok perlakuan adalah sebesar 4.44 sedangkan pada kelompok kontrol sebesar 0.09 dengan nilai $p = 0.000$.

5.5 Korelasi antar Variabel

Korelasi antara ekspresi HSP70 dengan ekspresi HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 diuji dengan Uji Korelasi *Spearman*. Hasil Uji Korelasi tersebut menunjukkan nilai yang signifikan dengan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) dan koefisien korelasi sebesar $r = 1.000$. Nilai tersebut bermakna bahwa korelasi antara variabel ekspresi HSP70 dan HMGB1 merupakan korelasi positif dengan skala sangat kuat (skala 0.8 - 1), signifikan, dan searah. Jika ekspresi HMGB1 meningkat di ginjal, maka ekspresi HSP70 juga meningkat.

Korelasi antara Ekspresi HSP70 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan derajat parasitemia mencit diuji dengan Uji Korelasi *Spearman*. Hasil Uji Korelasi tersebut menunjukkan nilai yang tidak signifikan dengan nilai $p = 0.212$ ($p > 0.05$) dan koefisien korelasi sebesar $r = 0.461$. Nilai tersebut bermakna bahwa meskipun koefisien korelasi antara variabel ekspresi HSP70 dengan derajat parasitemia merupakan korelasi positif dengan skala sedang (0.4-0.6), namun tetap dianggap tidak berkorelasi karena $p = 0.212$.

Korelasi antara Ekspresi HMGB1 pada jaringan ginjal mencit C57BL/6 dengan derajat parasitemia mencit diuji dengan Uji Korelasi *Spearman*. Hasil Uji Korelasi tersebut menunjukkan nilai yang tidak signifikan dengan nilai $p = 0.212$ ($p > 0.05$) dan koefisien korelasi sebesar $r = 0.461$. Nilai tersebut bermakna bahwa meskipun koefisien korelasi antara variabel ekspresi HMGB1 dengan derajat parasitemia merupakan korelasi positif dengan skala sedang (0.4-0.6), namun tetap dianggap tidak berkorelasi karena $p = 0.212$.

Tabel 5.1 Hasil Uji korelasi antara HSP70 dengan HMGB1 serta korelasi antara HSP70 dan HMGB1 dengan derajat Parasitemia

Variabel 1	Variabel 2	p.	R.	Uji
HSP70	HMGB1	0.000*	1.000*	Spearman
HSP70	Derajat Parasitemia	0.212	0.461	Spearman
HMGB1	Derajat Parasitemia	0.212	0.461	Spearman