

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel 24 ekor mencit jantan strain Swiss, setelah diadaptasi selama 7 hari tidak didapatkan mencit yang sakit maupun mati. Setelah itu dilakukan induksi sel karsinoma epidermoid terhadap mencit dengan cara mengoleskan 9, 12-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) dan 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA). Evaluasi induksi selama 9 bulan didapatkan 18 ekor mencit berhasil tumbuh tumor pada bagian kulit yang diinduksi, setelah dilakukan biopsi serta pemeriksaan patologi anatomi 12 mencit menunjukkan karsinoma epidermoid. Randomisasi dilakukan dengan cara penomoran dan pengundian ke dalam 4 kelompok. Pembagian kelompok perlakuan sebagai berikut :

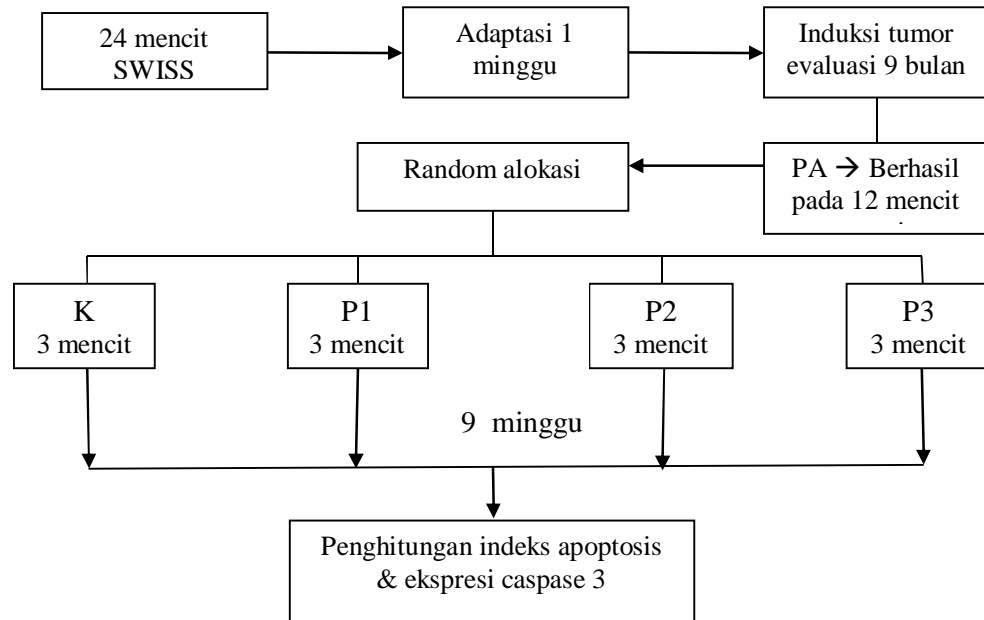
K : kelompok mencit yang diinduksi karsinoma epidermoid.

P1 : kelompok perlakuan 1, mencit yang diinduksi karsinoma epidermoid, setelah timbul benjolan mendapat *phaleria macocarpa* 0,0715 mg (0,36 ml/hari).

P2 : kelompok perlakuan 2, mencit yang diinduksi karsinoma epidermoid, setelah timbul benjolan mendapat sitostatika paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m².

P3 : kelompok perlakuan 3, mencit yang diinduksi karsinoma epidermoid setelah timbul benjolan mendapat sitostatika paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m² dan dikombinasikan dengan *phaleria macocarpa* 0,0715 mg (0,36 ml/hari).

5.1. Hasil



Keterangan:

K = diberi plasebo, tanpa ekstrak *Phaleria Macrocarpa*

P1 = diberi ekstrak *Phaleria Macocarpa* 0,0715 mg (0,36 ml/hari).

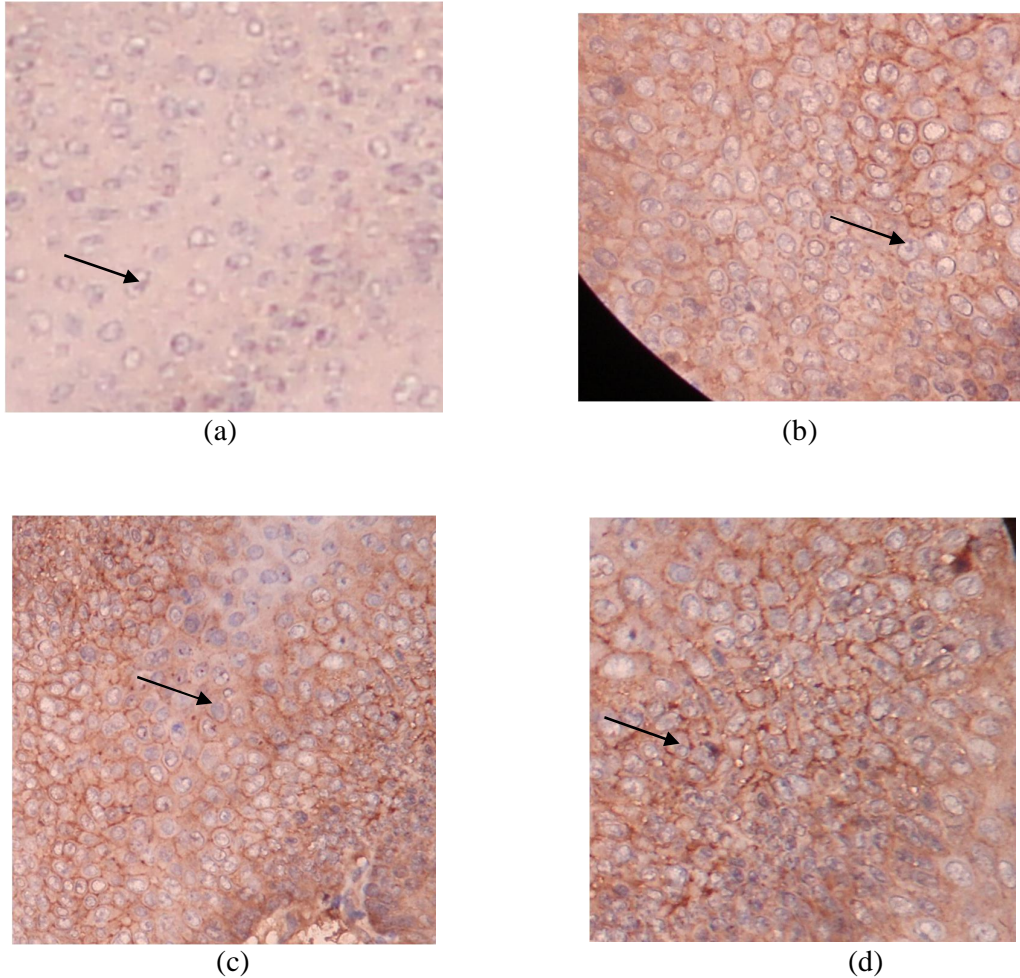
P2 = diberi sitostatika Paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m² (tiap 3 minggu sekali)

P3 = diberi ekstrak *Phaleria Macocarpa* 0,0715 mg (0,36 ml/hari) dan sitostatika Paclitaxel 175 mg/m² dan cisplatin 50 mg/m² (tiap 3 minggu sekali)

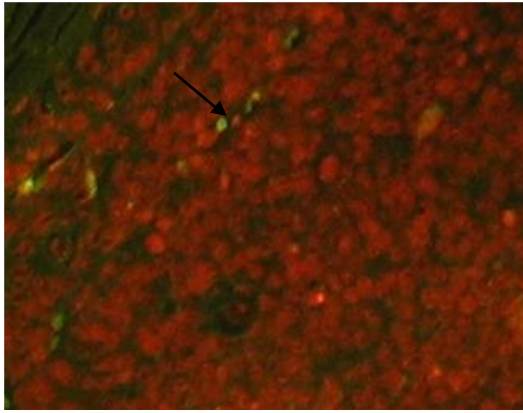
Gambar 6. Skema hasil penelitian

Selama perlakuan tidak didapatkan mencit yang sakit atau mati. Setelah perlakuan, jaringan tumor diambil, dilakukan pemeriksaan histologik dengan pengecatan Tunel untuk menghitung indeks apoptosis dan pengecatan imunohistokimia dengan *Caspase 3 (CPP32) Ab-4 rabbit polyclonal antibody RB-1197-PO, NeoMarkers* untuk menghitung indeks caspase 3.^{38,39} Sel memberikan gambaran apoptosis secara mikroskopis pada pengecatan Tunel berupa sel apoptosis akan berfluoresensi hijau dilihat dengan menggunakan mikroskop fluoresensi dengan perbesaran 400x.³⁹ Sedangkan untuk pewarnaan imunohistokimia dengan caspase 3, gambaran sel disebut positif jika terdapat sel apoptosis berwarna coklat

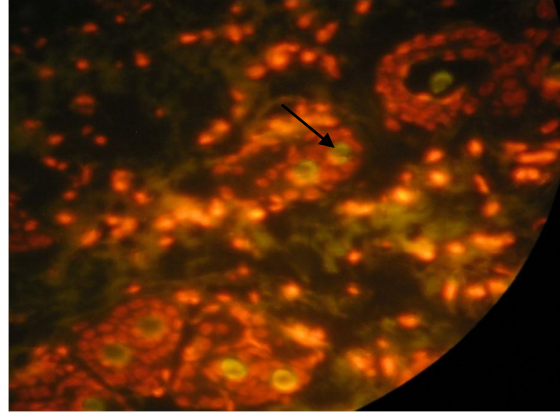
yang dominan pada sitoplasma dan beberapa pada inti sel, juga dibandingkan dengan kontrol positif.³⁸ Hasil pemeriksaan secara histologis adalah sebagai berikut :



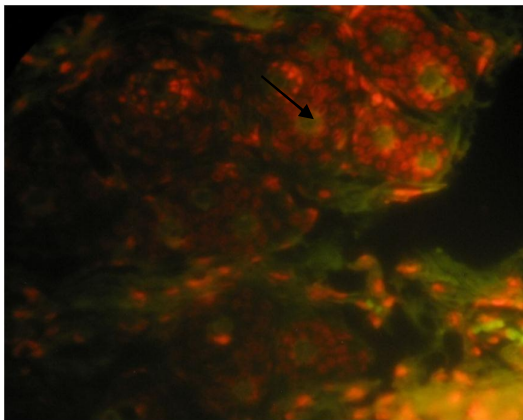
Gambar 7. Gambaran histologis ekspresi caspase 3 (panah) dengan pewarnaan imunohistokimia *polyclonal antibody* anti caspase 3 (pembesaran 400 x). Kelompok Kontrol (a), P1 (b), P2 (c), P3 (d)



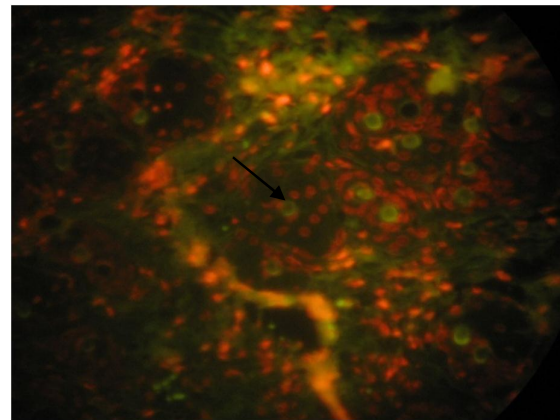
(a)



(b)



(c)



(d)

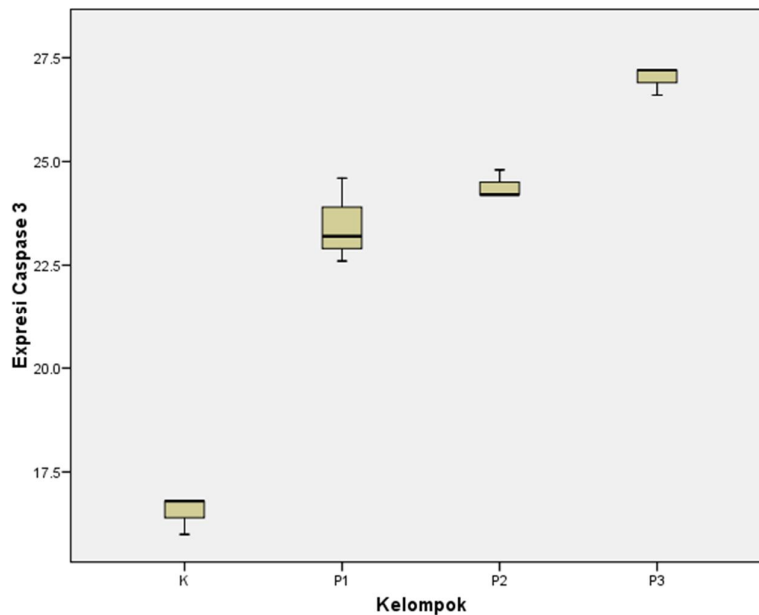
Gambar 8. Gambaran histologis apoptosis (panah) dengan pewarnaan TUNEL (pembesaran 400 x). Kelompok Kontrol (a), P1 (b), P2 (c), P3 (d)

Hasil penghitungan ekspresi caspase 3 dan indeks apoptosis di masing-masing kelompok disajikan dalam tabel berikut :

Tabel 5. Deskriptif data ekspresi caspase 3

Kelompok	Mean \pm SD	Median (min – max)
K	16,5 \pm 0,462	16,8 (16 ó 16,8)
P1	23,5 \pm 1,026	23,2 (22,6 ó 24,6)
P2	24,4 \pm 0,346	24,2 (24,2 ó 24,8)
P3	27 \pm 0,346	27,2 (26,6 ó 27,2)

Nilai median hasil penghitungan dan digambarkan pada grafik *box plot* menunjukkan bahwa ekspresi caspase 3 dari yang paling tinggi ke yang paling rendah adalah pada kelompok P3 (27,2), P2 (24,2), P1(23,2), K(16,8).

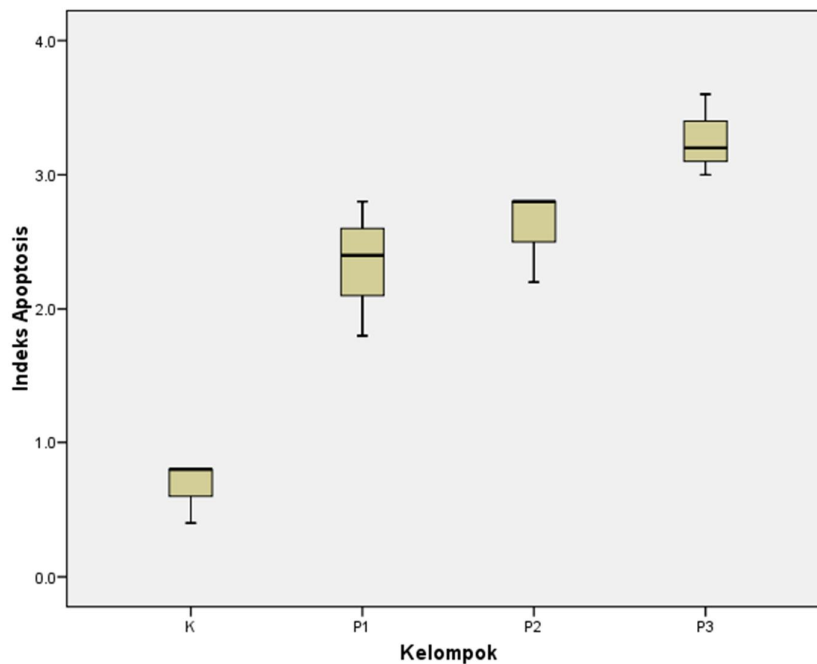


Grafik 1. Box plot ekspresi caspase 3

Tabel 6. Deskriptif data indeks apoptosis

Kelompok	Mean \pm SD	Median (min – max)
K	0,67 \pm 0,231	0,8 (0,4 ó 0,8)
P1	2,33 \pm 0,503	2,4 (1,8 ó 2,8)
P2	2,6 \pm 0,346	2,8 (2,2 ó 2,8)
P3	3,27 \pm 0,306	3,2 (3 ó 3,6)

Pada indeks apoptosis, penghitungan nilai median yang digambarkan pada grafik *box plot* menunjukkan bahwa nilai tertinggi adalah pada kelompok P3(3,2), diikuti kelompok P2 (2,8), P1 (2,4) dan paling rendah pada kelompok K (0,8).



Grafik 2. Box plot indeks apoptosis

5.2. Uji Statistik

Pada penelitian ini dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk ekspresi caspase 3, didapatkan data yang tidak normal.

Tabel 7. Deskriptif dan normalitas data ekspresi caspase 3

Kelompok	Mean \pm SD	Median (min – max)	p
K	16,5 \pm 0,462	16,8 (16 ó 16,8)	0,000
P1	23,5 \pm 1,026	23,2 (22,6 ó 24,6)	0,567
P2	24,4 \pm 0,346	24,2 (24,2 ó 24,8)	0,000
P3	27 \pm 0,346	27,2 (26,6 ó 27,2)	0,000

Levene test = 0,121

Dari tabel normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* didapatkan pada kelompok K, P2 dan P3 mempunyai nilai $p < 0,05$ yang berarti bahwa distribusi data tidak normal dan dari uji *levene test* = 0,121 ($p > 0,05$) yang berarti bahwa varian data homogen , sehingga uji selanjutnya dengan menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

Tabel 8. Uji *Kruskal Wallis* ekspresi caspase 3

Kelompok	Mean Rank	P
K	2,00	
P1	5,67	
P2	7,33	0,021*
P3	11,00	

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Dari tabel uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p < 0,05$ atau signifikan, maka untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Mann Whitney*.

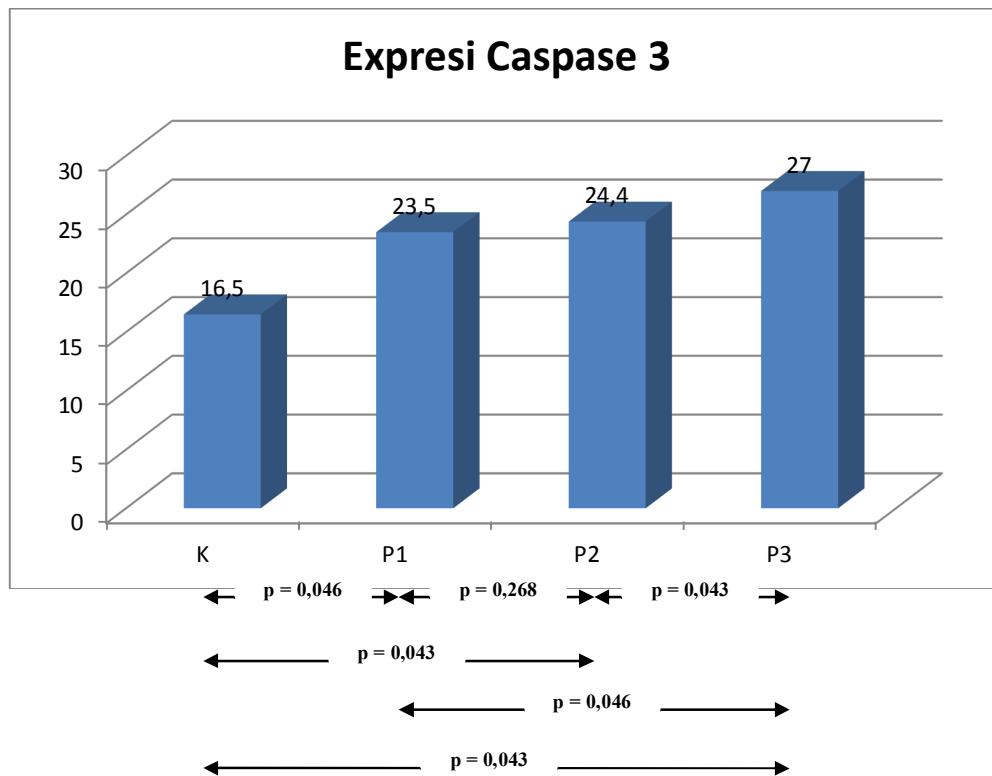
Tabel 9. Uji *Mann Whitney* ekspresi caspase 3

Kelompok	P1	P2	P3
K	0,046*	0,043*	0,043*
P1	ó	0,268	0,046*
P2		ó	0,043*

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Dari tabel uji *Mann Whitney* didapatkan Perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terdapat antara kelompok kontrol (K) dengan perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3), antara kelompok perlakuan 1 (P1) dengan perlakuan 3 (P3), antara perlakuan 2 (P2) dengan perlakuan 3 (P3)



Grafik 3. Data dan hasil uji *Mann Whitney* ekspresi caspase 3

Pada uji normalitas data indeks apoptosis dengan uji *Shapiro-Wilk*, didapatkan data yang tidak normal.

Tabel 10. Deskriptif dan normalitas data Indeks Apoptosis

Kelompok	Mean \pm SD	Median (min – max)	P
K	0,67 \pm 0,231	0,8 (0,4 ó 0,8)	0,000
P1	2,33 \pm 0,503	2,4 (1,8 ó 2,8)	0,780
P2	2,6 \pm 0,346	2,8 (2,2 ó 2,8)	0,000
P3	3,27 \pm 0,306	3,2 (3 ó 3,6)	0,637

Levene test = 0,591

Dari tabel normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* didapatkan pada kelompok K dan P2 mempunyai nilai $p < 0,05$ yang berarti bahwa distribusi data tidak normal dan dari uji *levene test* = 0,591 ($p > 0,05$) yang berarti bahwa varian data homogen, sehingga uji selanjutnya dengan menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.

Tabel 11. Uji *Kruskal Wallis* Indeks Apoptosis

Kelompok	Mean Rank	p
K	2,00	0,022*
P1	6,00	
P2	7,00	
P3	11,00	

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Dari tabel uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p = 0,022$ ($p < 0,05$) yang berarti signifikan, maka untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Mann Whitney*.

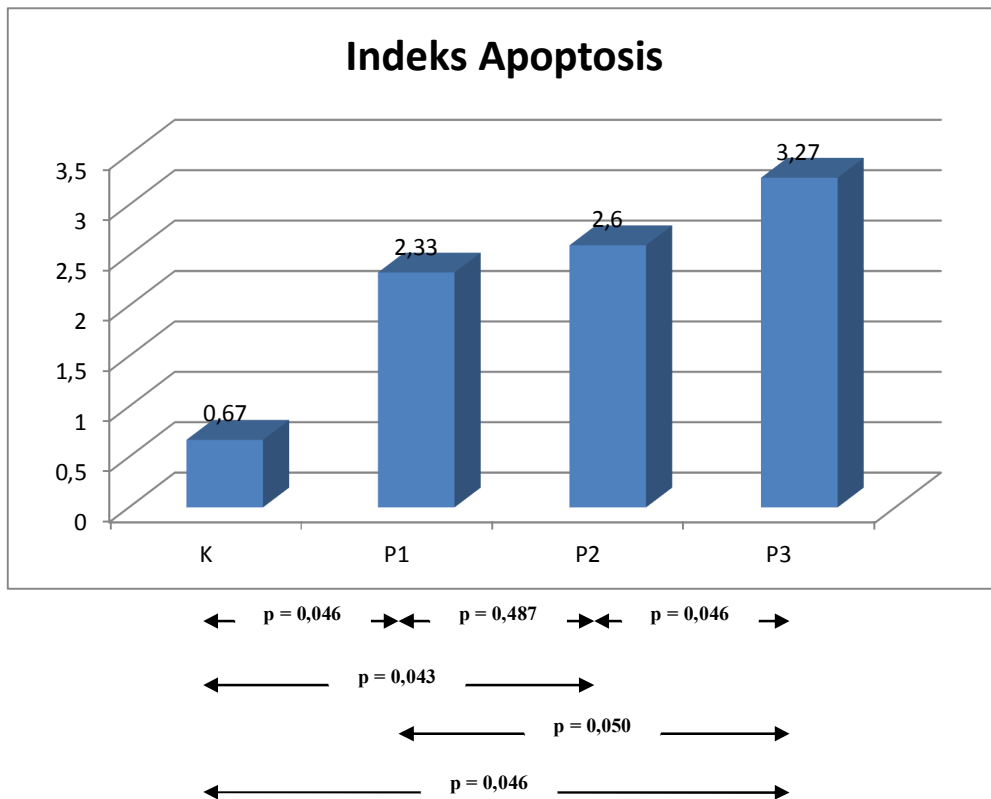
Tabel 12. Uji *Mann Whitney* Indeks Apoptosis

Kelompok	P1	P2	P3
K	0,046*	0,043*	0,046*
P1	ó	0,487	0,050*
P2		ó	0,046*

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Dari tabel uji *Mann Whitney* didapatkan Perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) terdapat antara kelompok kontrol (K) dengan perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan 3 (P3), antara kelompok perlakuan 1 (P1) dengan perlakuan 3 (P3), antara perlakuan 2 (P2) dengan perlakuan 3 (P3).



Grafik 4. Data dan hasil uji *Mann Whitney* indeks apoptosis

Tabel 13. Deskriptif dan normalitas data ekspresi caspase 3 dan indeks apoptosis

Variabel	Mean \pm SD	Median (min – max)	p
Ekspresi Caspase 3	22,85 \pm 4,076	24,2 (16 ó 27,2)	0,025
Indeks Apoptosis	2,22 \pm 1,046	2,6 (0,4 ó 3,6)	0,161

Dari tabel normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* didapatkan pada variabel ekspresi caspase 3 mempunyai nilai $p = 0,025$ ($p < 0,05$) yang berarti distribusi data tidak normal, sehingga untuk uji selanjutnya digunakan uji non parametrik korelasi *spearman*.

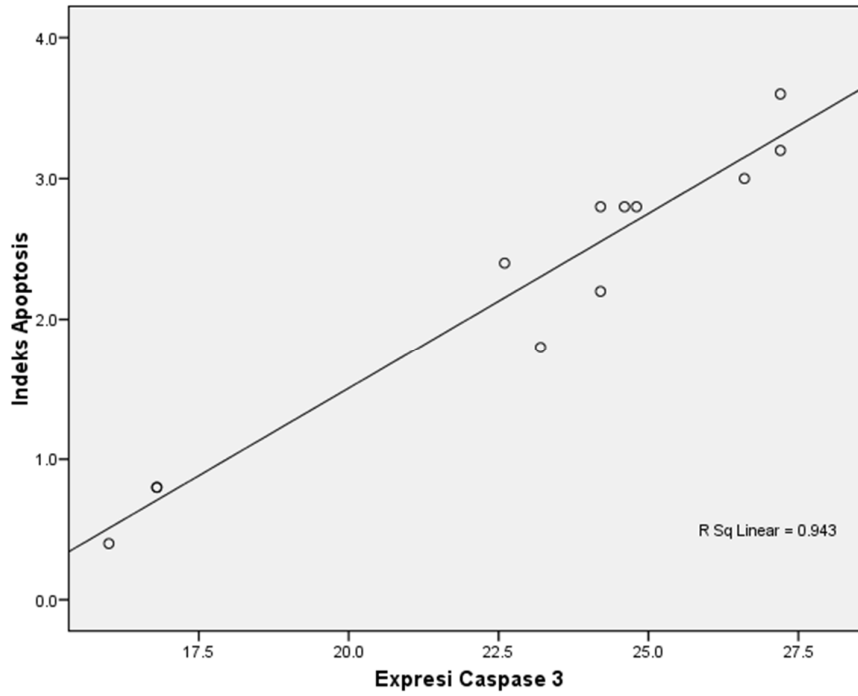
Tabel 14. Korelasi *spearman* ekspresi caspase 3 terhadap indeks apoptosis

Variabel	r	p
Ekspresi Caspase 3	0,961	< 0,001*
Indeks Apoptosis		

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Dari tabel uji korelasi *spearman* didapatkan nilai $p = < 0,001$ ($p < 0,05$) dan nilai $r = 0,961$, sehingga dapat disimpulkan terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi caspase 3 terhadap indeks apoptosis dengan hubungan positif sangat kuat.



Grafik 5. Scatter plot uji korelasi Spearman ekspresi caspase 3 terhadap indeks apoptosis dengan $p < 0,05$ dan koefisien korelasi 0,961

1