

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Vitamin E (*α -Tocoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Konfluen Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal, tentang pengaruh pemberian vitamin E dalam media DMEM terhadap konfluen sel paru-paru fetus hamster kultur primer, diperoleh data yang menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian vitamin E dalam media DMEM terhadap konfluen sel paru-paru fetus hamster kultur primer, sebagaimana tercantum dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Analisis Statistik dengan ANAVA Tunggal tentang Pengaruh Pemberian Vitamin E (*α -Tocoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Konfluen Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

SK	db	JK	KT	Fhitung	Ftabel 1%
Perlakuan	5	4883,33	976,66	50,34**	4,25
Galat	18	350	19,4		
Total	23	5233,33			

Keterangan: ** menunjukkan berbeda sangat nyata

Pada tabel di atas menunjukkan adanya pengaruh pemberian vitamin E dalam media DMEM terhadap konfluen sel paru-paru fetus hamster, selanjutnya dicari nilai KK untuk menentukan uji lanjut yang akan digunakan. Hasil nilai KK yang didapat adalah 6,8%, sehingga uji lanjut yang digunakan yaitu Uji BNT

(Beda Nyata Terkecil) 1%. Berdasarkan hasil uji BNT 1% dari rata-rata konfluen sel maka didapatkan notasi BNT seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Analisis Statistik BNT 1% tentang Pengaruh Pemberian Vitamin E (α -Tocoferol) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Konfluen Sel paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

Perlakuan	Rata-Rata (%)	Notasi 1%
P0 (kontrol)	50	a
P1 (25 μ M)	68,75	b
P2 (50 μ M)	76,25	b
P3 (75 μ M)	83,75	bc
P4 (100 μ M)	88,75	c
P5 (125 μ M)	92,5	c

Keterangan: angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama, menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 1%

Pada table 4.2 menunjukkan bahwa pemberian vitamin E pada perlakuan P0 berbeda sangat nyata dengan P1, P2, P3, P4, dan P5. Perlakuan P1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0, P4, dan P5, tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2 dan P3. Perlakuan P2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0, P4, dan P5, tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1 dan P. Perlakuan P4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0, P1 dan P2, tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P3 dan P5. Perlakuan P5 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0, P1, P2, dan P3, tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P4.

Berdasarkan notasi BNT 1% dapat diketahui bahwa konsentrasi yang berpengaruh dalam mempercepat konfluen sel paru-paru fetus hamster adalah pada perlakuan P1. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi terendah

(25 μM) vitamin E sudah dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap konfluen sel paru-paru fetus hamster.

Menurut Warren (1999), menyatakan bahwa konsentrasi vitamin E 25, 50 μM , dan 75 μM vitamin E atau *tocopherol* asetat menunjukkan efek positif terhadap pertumbuhan sel embrio mencit, sel mencapai konfluen pada 24 jam setelah inkubasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa vitamin E menunjukkan pengaruh yang cepat terhadap konfluen sel kultur. Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini yaitu konfluen sel pada semua perlakuan vitamin E menunjukkan hasil yang positif, semakin tinggi konsentrasi diberikan maka konfluen sel akan semakin cepat.

Pemberian vitamin E dalam media DMEM terbukti dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap konfluen sel paru-paru fetus hamster. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi P1 sudah mampu mempercepat konfluen sel. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi vitamin E memiliki ukuran (konsentrasi) tertentu untuk melakukan aktifitasnya. Allah menciptakan segala sesuatu menurut ukurannya, sehingga ukuran tersebut sesuai dengan kebutuhan yang digunakan untuk melakukan fungsinya. Sebagaimana dalam firman Allah Swt. Dalam Alquran surat al-Qomar: 49.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

”*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukurannya.*” (Qs. al-Qomar: 49).

Ayat tersebut menjelaskan, bahwa Allah telah menunjukkan kebesarannya dengan memperlihatkan kekuasaan dan kasih sayang kepada makhluknya

dengan menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini menurut ukurannya. Tidak hanya dalam penciptaan langit, bumi, manusia, hewan, dan tumbuhan, tetapi juga dalam penciptaan zat-zat yang ada di bumi ini, misalnya ukuran (konsentrasi) vitamin E dalam sel yang juga memiliki ukuran tertentu agar dapat digunakan sel untuk melakukan metabolismenya.

Keberadaan vitamin E dalam sel berguna untuk melindungi membran sel dari peroksidasi lipid, apabila ukuran (konsentrasi) vitamin E tidak mencukupi untuk melindungi sel maka sel tersebut akan kehilangan integritas membrannya, sehingga membran sel rapuh dan akhirnya mengalami kerusakan. Apabila ukuran (konsentrasi) vitamin E sesuai dengan kebutuhan sel maka sel akan dapat mempertahankan integritas membrannya, sehingga dapat melakukan metabolismenya dengan baik, tetapi apabila keberadaan vitamin E berlebih maka akan bersifat merusak jaringan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan permadhi (2007), yaitu penggunaan vitamin E yang terus-menerus dengan penggunaan konsentrasi terlalu tinggi yaitu 800 mg dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada perlakuan *in vivo*.

Pada penelitian ini ukuran (konsentrasi) vitamin E P1 sudah mampu mempercepat konfluen sel dan pada konsentrasi lainnya (P2, P3, P4, dan P5) juga mempercepat konfluen sel paru-paru fetus hamster. Konfluen sel dicapai pada akhir *log fase* yaitu setelah beradaptasi dengan lingkungan sel akan mulai bereplikasi (*lag fase*) dan menghasilkan anakan-anakan sel yang berikatan satu sama lain sampai memenuhi *well* (*plateu fase*). *Log fase* ini terjadi pada hari ke-4 (96 jam) setelah sel ditanam. Gambar hasil penelitian tentang konfluen sel

paru-paru fetus hamster dapat diamati dengan menggunakan mikroskop *inverted* pada perbesaran 100x, seperti tampak pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Sel paru-paru fetus hamster yang diamati menggunakan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 100x a) kelompok kontrol b) konsentrasi vitamin E 25 c) konsentrasi vitamin E 50 μM d) konsentrasi vitamin E 75 μM e) konsentrasi vitamin E 100 μM f) konsentrasi vitamin E 125 μM tanda panah menunjukkan ekspansi sel paru-paru fetus hamster selama 4 hari (96 jam) masa inkubasi.

Pada gambar 4.1 menunjukkan bahwa sel paru-paru fetus hamster mempunyai bentuk multipolar atau bipolar menyebar pada permukaan cawan kultur. Kultur sel ini yang telah konfluen akan menjadi bipolar dan tidak menyebar. Sel dapat bermigrasi bipolar atau multipolar seperti sel paru-paru disebut fibroblastik dan sel ini panjangnya lebih dari dua kali lebarnya (Trenggono, 2009).

Pemberian vitamin E dengan konsentrasi yang berbeda (25 μM , 50 μM , 75 μM , 100 μM , 125 μM) pada sel paru-paru fetus hamster mampu mempercepat konfluen sel. Pada gambar 4.1 dapat dilihat, bahwa semakin tinggi pemberian vitamin E maka kerapatan sel akan semakin berkurang. Hal ini dimungkinkan karena adanya pengaruh positif dari vitamin E yang ditambahkan dalam media DMEM tersebut memiliki kemampuan mempercepat konfluen sel paru-paru fetus hamster. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Seidel dan Olson (2000), vitamin E yang ditambahkan dalam media kultur memberi pengaruh positif terhadap proliferasi sel embrio sapi yang dikultur secara *in vitro*.

Vitamin E merupakan vitamin yang bersifat hidrofobik sehingga dapat bertranslokasi di membran sel karena struktur vitamin E mempunyai rantai *phythyl* yang terdiri dari 3 isoprenoid, sehingga dapat berikatan dengan membran. Selain itu vitamin E juga dapat menembus membran sel, vitamin E yang masuk ke dalam sel akan bekerjasama dengan molekul transduktor sinyal untuk menstimulasi aktifitas molekul transduktor di sitosol yang berupa enzim protein kinase dengan jalan mengaktifasi reseptor yang berikatan dengan ligan. Reseptor

yang teraktifasi akan mengaktifkan beberapa molekul transduktor membran (Purnomo, 2009).

Enzim protein kinase yang teraktifasi akan mengaktifkan protein faktor transkripsi. Hal tersebut mengakibatkan protein faktor transkripsi akan berikatan dengan segmen pemicu (*enhancer*) atau segmen promotor, yang akan memicu jalannya transkripsi sehingga siklus sel menjadi lebih cepat dan sel akan lebih cepat konfluen (Purnomo, 2009).

Hal ini terkait dengan aktivitas vitamin E yang dapat mempercepat penempelan eksplan mencit pada substrat (Steele, 1990). Pelekatan eksplan yang cepat akan mempengaruhi waktu konfluen sel, semakin cepat pelekatan eksplan terjadi maka konfluen sel juga akan semakin cepat. Melekatnya sel pada substrat terjadi karena adanya molekul-molekul protein membran yang akan mengikat sel dengan substrat, molekul protein ini disebut dengan integrin. Pada saat sel mulai menempel pada substrat, protein-protein *integrin* dan mikrofilamen akan menyusun diri membentuk *focal contact*. *Focal contact* banyak ditemukan pada sel-sel yang dipelihara pada kondisi *in vitro* (Istanti *et al.*, 1999).

Protein lain yang berpengaruh terhadap proses pelekatan sel pada substrat. Protein-protein tersebut diantaranya protein integral membran, *selectin*, *immunoglobulin*, dan *cadherin*. *Cadherin* merupakan protein yang mengikat sel satu dengan yang lain melalui ikatan antar sel yang terdapat pada permukaan kedua sel. Bentuk ikatan sel tersebut menyebabkan sel-sel hanya dapat berikatan dengan sel-sel lain yang sejenis (Istanti *et al.*, 1999). Protein-protein tersebut

menyusun suatu struktur yang disebut *junction*. *Junction* merupakan hubungan yang terjadi antara sel satu dengan sel yang lain hingga sel mencapai *spreading*.

4.2 Pengaruh Pemberian Vitamin E (*α -Tocoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Viabilitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal tentang pengaruh pemberian vitamin E (*α -Tocoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap viabilitas sel paru-paru fetus hamster kultur primer, diperoleh data yang menunjukkan bahwa F hitung > F tabel 1%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian vitamin E dalam Media DMEM terhadap viabilitas sel paru-paru fetus hamster kultur primer, sebagaimana tercantum dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3 Analisis Statistik dengan ANAVA Tunggal tentang Pengaruh Pemberian Vitamin E (*α -Tokoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Viabilitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

SK	db	JK	KT	Fhitung	Ftabel 1%
Perlakuan	5	846	169	27**	4,25
Galat	18	112	6,2		
Total	23	974			

Keterangan: ** menunjukkan berbeda sangat nyata

Pada tabel di atas menunjukkan adanya pengaruh pemberian vitamin E dalam media DMEM terhadap viabilitas sel paru-paru fetus hamster, selanjutnya dicari nilai KK untuk menentukan uji lanjut yang akan digunakan. Nilai KK yang didapat adalah 3,3%, sehingga uji lanjut yang digunakan yaitu Uji BNJ (Beda

Nyata Jujur) 1%. Berdasarkan hasil uji BNT 1% dari rata-rata viabilitas sel maka didapatkan notasi BNT seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Analisis Statistik BNT 1% tentang Pengaruh Pemberian Vitamin E (α -Tocoferol) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Viabilitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

Perlakuan	Rata-Rata (%)	Notasi 1%
P0 (kontrol)	65	a
P1 (25 μ M)	70,75	a
P2 (50 μ M)	72,25	b
P3 (75 μ M)	76,25	b
P4 (100 μ M)	78,75	b
P5 (125 μ M)	83,5	b

Keterangan: angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama, menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 1%

Hasil dari tabel 4.4 menunjukkan bahwa pada perlakuan P0 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3, P4 dan P5, tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1. Perlakuan P1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3, P4 dan P5 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0. Perlakuan P2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1, tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P3, P4 dan P5. Perlakuan P3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P4 dan P5. Perlakuan P4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3 dan P5. Perlakuan P5 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3 dan P4.

Berdasarkan notasi BNT 1%, dapat diketahui bahwa konsentrasi vitamin E yang efektif memberikan pengaruh terhadap viabilitas sel paru-paru fetus hamster

adalah pada konsentrasi 50 μM . Hal tersebut sesuai dengan penelitian Sugiyama *et al.* (1989), bahwa pemberian 50 μM vitamin E mampu meningkatkan sampai 80% viabilitas sel embrio tikus. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin E dalam media DMEM terbukti memberikan efek positif terhadap viabilitas sel paru-paru fetus hamster.

Sama halnya dengan konfluen sel, viabilitas sel yang meningkat diduga karena adanya pemberian vitamin E. Vitamin E yang bersifat hidrofobik akan bertranslokasi di membran sel karena struktur vitamin E mempunyai rantai *phythyl* yang terdiri dari 3 isoprenoid, sehingga dapat berikatan dengan membran. Selain itu vitamin E juga dapat menembus membran sel, vitamin E yang masuk ke dalam sel akan bekerjasama dengan molekul transduktor sinyal untuk menstimulasi aktifitas molekul transduktor di sitosol yang berupa enzim protein kinase dengan jalan mengaktifasi reseptor yang berikatan dengan ligan. Reseptor yang teraktifasi akan mengaktifkan beberapa molekul transduktor membran (Purnomo, 2009).

Enzim protein kinase yang teraktifasi akan mengaktifkan protein faktor transkripsi. Hal tersebut mengakibatkan protein faktor transkripsi akan berikatan dengan segmen pemicu (*enhancer*) atau segmen promoter, yang akan memicu jalannya transkripsi sehingga siklus sel menjadi lebih cepat (Purnomo, 2009), dan viabilitas akan meningkat.

Siklus sel diatur oleh adanya *growth factor*, komponen serum, dan senyawa (vitamin E) yang dapat mempertinggi ketahanan sel terhadap faktor yang merugikan. Faktor pertumbuhan (*growth factor*) adalah protein. Ligan (protein)

ini berkaitan dengan reseptor atau enzim terkait reseptor pada permukaan sel yang menyebabkan bermacam-macam respon seluler seperti proliferasi diferensiasi, *survival* dan *angiogenesis* (Pawiroharsono, 1991).

Siklus sel dibedakan menjadi 4 fase. Dua fase utama yang merupakan fungsi utama dalam siklus sel, yaitu fase S (sintesis), fase pada saat sel mengalami duplikasi DNA selama 10-12 jam, dan fase M (mitosis), fase pada saat DNA hasil duplikasi mengalami segregasi dan pembelahan sel selama kurang lebih satu jam pada sel mamalia. Pada fase M, terdapat 5 fase mitosis, tahapan terjadinya pembelahan sel, yaitu profase, metafase, anafase dan telofase, selanjutnya diakhiri dengan sitokinesis yang menghasilkan dua sel anak (Albert, 1994). Dari dua sel anakan ini maka sel akan terus membelah sampai memenuhi *well*, sehingga sel tersebut dapat dikatakan hidup.

Sel yang telah melalui tahap-tahap dari siklus sel akan melakukan proliferasi, sehingga sel akan membelah menjadi 2 sel baru. Proses pembelahan tersebut akan terus terjadi apabila nutrisi yang dibutuhkan sel tercukupi, dan proses pembelahan akan terhenti apabila nutrisi sel tidak tercukupi. Pembelahan sel merupakan proses yang dilakukan sel sebagai unit dasar struktur dan fungsional terkecil penyusun makhluk hidup untuk memperbanyak diri. Allah menciptakan manusia dari beberapa tingkatan kejadian, begitu pula dengan sel yang merupakan susunan terkecil dari makhluk hidup. Sebagaimana dalam firman Allah Swt. Alquran surat Nuh: 14.

وَقَدْ خَلَقْنَاكُمْ أَطْوَارًا ﴿١٤﴾

”Dan sesungguhnya Dia telah menciptakan kamu dalam beberapa tingkatan kejadian.” (Qs. Nuh: 14).

Ayat tersebut menjelaskan tentang tingkatan kejadian penciptaan makhluk hidup. sel merupakan susunan terkecil dari makhluk hidup, yang juga mengalami tingkatan kejadian. Tingkatan kejadian sel dalam sistem yaitu berupa fase-fase pertumbuhan. Pertumbuhan sel dalam sistem kultur terdapat 3 tingkat (fase) kejadian yaitu *lag fase*, *log fase* dan *plateu fase* (Trenggono, 2009). *Lag fase* merupakan fase awal pertumbuhan sel, yang mana fase sel mengganti elemen-elemen glycoalyx yang hilang waktu tripsinasi, pelekatan pada substrat dan penyebaran sel. Fase selanjutnya yaitu *log fase*, pada fase ini terjadi peningkatan jumlah sel secara eksponensial dan saat pertumbuhan mencapai konfluen, proliferasi akan terhenti. Waktu fase ini tergantung pada konsentrasi awal sewaktu dilakukan seeding, kecepatan pertumbuhan sel, serta kepekatan dimana proliferasi sel akan terhambat oleh kepekatan. Fraksi pertumbuhan pada fase ini mencapai 90 – 100%.

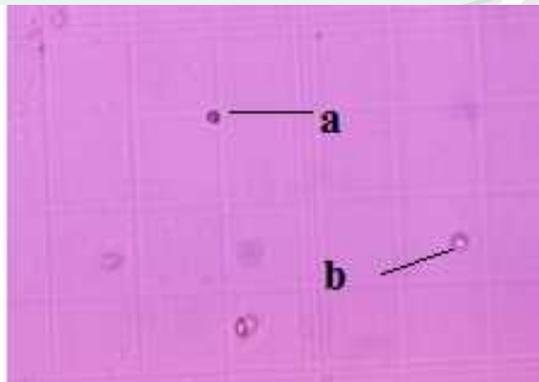
Mendekati akhir dari *log fase*, sel telah konfluen yaitu permukaan substrat untuk pertumbuhan sel sudah dipenuhi oleh sel. Kecepatan tumbuh sel akan berkurang dan pada beberapa kasus proliferasi sel akan terhenti. Pada tahap ini kultur mencapai *plateu fase* atau *stationary*, dan fraksi pertumbuhan akan mencapai 0 – 10% (Budiono, 2002). Pertumbuhan sel kultur ini mengindikasikan bahwa sel mengalami proses pembelahan, kemudian sel berekspansi dan berproliferasi.

Proliferasi merupakan salah satu parameter yang menunjukkan sel-sel tersebut hidup. Viabilitas sel merupakan perbandingan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati. Viabilitas sel ditentukan dari kemampuan sel untuk hidup dan

menjalankan metabolismenya dimana ini merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur sel (Pavlovic, 2005).

Pengamatan viabilitas sel dilakukan setelah sel dipanen, kemudian sel diberi tripsin EDTA 0,25%, agar lebih mudah melakukan perhitungan karena sel akan terpisah-pisah. Tripsin berfungsi untuk memisahkan sel dengan substrat, dan dapat dengan cepat melakukan disagregasi sel, tetapi dapat merusak permukaan sel dengan cara merusak protein yang terdapat pada permukaan sel (Trenggono, 2009). Tripsin, kolagenase atau proteinase termasuk enzim proteolitik, biasanya dikombinasikan dengan EDTA, dan menyebabkan sel lepas dari substrat. Akan tetapi, reaksi proteolisis dapat dicegah dengan penambahan medium berserum dan antioksidan yaitu vitamin E.

Perhitungan viabilitas dilakukan dengan diberi pewarna *tripan blue* 0,4%. *Tripan Blue* merupakan pewarna yang biasanya digunakan untuk uji viabilitas sel secara sederhana. *Tripan blue* tidak mengubah integritas membran plasma dan memperlambat proses kematian sel, dan juga memperkecil jumlah sel dan memfasilitasi identifikasi sel yang akan dilihat menggunakan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 100x (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Sel paru-paru fetus hamster dilihat dengan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 100x, sel hasil tripsinasi yang diwarnai dengan *tripan blue* 0,4%, a) Sel yang mati terlihat berwarna biru, b) Sel yang hidup terlihat transparan.

Sel-sel yang mati (Gambar 4.2a) ditandai dengan sel yang menyerap warna dari *tripan blue*, hal ini diduga sel tersebut memiliki membran yang rapuh karena vitamin E belum mampu mempertahankan integritas membran atau karena enzim protease yang diakibatkan oleh tripsin mendegradasi membran sel, sehingga membran sel menjadi rapuh dan mudah dilalui zat-zat ekstrasel termasuk *tripan blue*. Sel yang hidup ditandai dengan warna sel yang transparan (Gambar 4.2b) karena tidak menyerap warna *tripan blue*, diduga sel tersebut mampu mempertahankan integritas membran sehingga sel tidak terwarnai. Hal tersebut diduga karena adanya aktifitas vitamin E yang berada di membran sel, sehingga vitamin E akan berikatan dengan membran dan menjaga integritas membran.

4.2 Pengaruh Pemberian Vitamin E (*α-Tocoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Abnormalitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan ANAVA tunggal tentang pengaruh pemberian vitamin E (*α-tocoferol*) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap abnormalitas sel paru-paru fetus hamster kultur primer, diperoleh data yang menunjukkan bahwa F hitung > F tabel 1%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian vitamin E dalam Media DMEM terhadap abnormalitas sel paru-paru fetus hamster kultur primer, sebagaimana tercantum dalam tabel 4.5.

Tabel 4.5 Analisis Statistik dengan ANAVA Tunggal tentang Pengaruh Pemberian Vitamin E (α -Tocoferol) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Abnormalitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

SK	dB	JK	KT	Fhitung	Ftabel 1%
Perlakuan	5	5181,75	1036,35	22,8**	4,25
Galat	18	818,25	45,45		
Total	23	6000			

Keterangan: ** menunjukkan berbeda sangat nyata

Pada tabel di atas menunjukkan adanya pengaruh pemberian vitamin E dalam media DMEM terhadap abnormalitas sel paru-paru fetus hamster, selanjutnya dicari nilai KK untuk menentukan uji lanjut yang akan digunakan. Nilai KK yang didapat adalah 42%, sehingga uji lanjut yang digunakan yaitu UJD (Uji Jarak Duncan) 1%. Berdasarkan hasil UJD 1% dari rata-rata abnormalitas sel maka didapatkan notasi UJD 1% seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Analisis Statistik UJD 1% tentang Pengaruh Pemberian Vitamin E (α -Tocoferol) dalam Media DMEM (*Dulbeccos Modified Eagles Medium*) terhadap Abnormalitas Sel Paru-Paru Fetus Hamster Kultur Primer

Perlakuan	Rata-rata (%)	Notasi 1%
P5 (125 μ M)	1	a
P4 (100 μ M)	4,5	a
P3 (75 μ M)	8,25	a
P2 (50 μ M)	13,5	a
P1 (25 μ M)	22,75	b
P0 (kontrol)	44,75	c

Keterangan: angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama, menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 1%

Hasil dari tabel 4.6 menunjukkan bahwa pemberian vitamin E pada perlakuan P0 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P5. Perlakuan P1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0, P2, P3, P4 dan P5. Perlakuan P2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P3, P4 dan P5. Perlakuan P3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P4 dan P5. Perlakuan P4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3 dan P5. Perlakuan P5 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P0 dan P1 tetapi tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3 dan P4.

Berdasarkan hasil analisis ANAVA tunggal dan UJD 1% pada sel kultur primer paru-paru fetus hamster, dapat diketahui bahwa konsentrasi yang efektif untuk menurunkan abnormalitas sel paru-paru fetus hamster adalah pada konsentrasi P1. Aktivitas vitamin E dalam menurunkan abnormalitas pada sel kultur primer paru-paru fetus hamster, dikarenakan vitamin E yang bersifat hidrofobik, sehingga dapat berikatan dengan membran sel dan menjaga integritas membran sel, sehingga membran sel tidak mudah rusak akibat perlakuan sel pada saat dikultur.

Sel dikatakan abnormal apabila sel tersebut berukuran melebihi ukuran sel normal dan mengalami perubahan bentuk dari asalnya, terkontaminasi oleh bakteri dan jamur (Djati, 2006). Abnormalitas sel yang sering muncul pada kultur sel ditandai dengan adanya pembengkakan sel, sel tampak berukuran lebih besar daripada sel normal (Gambar 4.3).

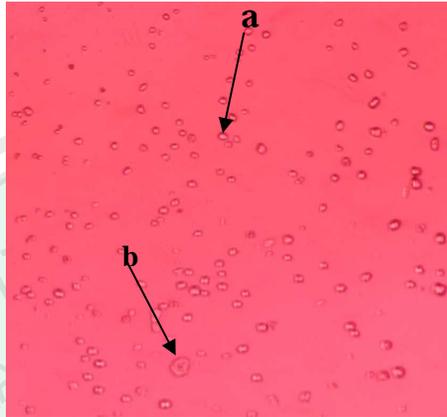
Pembengkakan sel paru-paru fetus hamster menunjukkan bahwa sel tersebut mengalami kondisi yang tidak seimbang. Ketidakseimbangan sel diduga akibat adanya kerusakan, terutama kerusakan pada membran sel. Kerusakan membran dapat mengakibatkan pembengkakan pada sel sehingga sel berukuran besar yaitu melebihi ukuran sel yang normal, seperti tampak pada gambar 4.3b. Apabila keseimbangan sel terjaga maka sel akan tumbuh normal (gambar 4.3a). Jadi keseimbangan sel penting untuk proses metabolisme, pembelahan dan menjaga integritas membran agar kondisi sel tetap normal. Keseimbangan juga berlaku untuk semua ciptaan Allah Swt, Hal tersebut sesuai dalam firman Allah Swt. Alquran surat al-Mulk: 3.

مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ ۚ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

”Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka Lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (Qs. Al-Mulk: 3).

Ayat tersebut menjelaskan, bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu dengan seimbang, termasuk sel yang merupakan susunan terkecil dari makhluk hidup, juga Allah ciptakan dalam kondisi seimbang. Apabila kondisi sel seimbang maka sel dapat melakukan proses metabolisme, pembelahan, berekspansi, dan berproliferasi. Kondisi sel yang tidak seimbang menyebabkan gangguan yang berakibat pada kerusakan membran sel. Kerusakan membran akan menyebabkan ukuran sel membesar, karena membran kehilangan permeabilitas, sehingga membran tidak dapat menyaring zat-zat yang masuk ke dalam sel. Zat-zat yang berada di luar sel akan mudah masuk ke dalam sel sehingga ukuran sel membesar,

lisis, dan akhirnya sel akan mengalami kematian. Kondisi sel yang tidak seimbang tersebut, menyebabkan sel mengalami pertumbuhan yang abnormal.



Gambar 4.3 Sel Paru-Paru Fetus Hamster Hasil Tripsinasi a) Sel Normal, b) Sel Abnormal

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan sel abnormal yang terlihat pada sel paru-paru adalah pembengkakan sel. Sel kultur primer paru-paru yang mengalami pembengkakan ditandai dengan rusaknya membran sel sehingga komponen-komponen yang berada di luar menjadi mudah masuk ke dalam sel. Tanda lain yang menunjukkan bahwa sel tersebut mengalami abnormal adalah sel berwarna biru kehitaman karena pewarna *tripan blue* mudah masuk ke dalam sel, yang disebabkan integritas membran sel rusak. Hasil ini sesuai dengan penelitian bahwa morfologi sel yang abnormal adalah kromatin menggumpal, pembengkakan organel, kerusakan membran sel, dan keluarnya isi sel yang bisa menyebabkan inflamasi (Moodie, 2004).

Abnormalitas sel dapat dilihat berdasarkan bentuk dan ukuran. Sel yang abnormal mempunyai ukuran yang lebih besar daripada sel normal. Abnormalitas sel diduga terjadi akibat adanya perlakuan-perlakuan pada saat kultur seperti, *washing*, sentrifus dan tripsinasi. Sel yang di tripsin akan memisah satu sama lain sehingga dapat diamati dengan menggunakan mikroskop *inverted*. Sel yang abnormal akan jelas terlihat karena bentuknya yang berbeda dengan sel lainnya, yaitu sel tersebut akan berbentuk lebih besar dari sel di sekelilingnya.

Terjadinya abnormalitas sel pada sel normal diduga terjadi akibat adanya beberapa perlakuan dalam kultur sel yang merangsang peningkatan konsentrasi Ca^{2+} yang mengakibatkan protein dalam membran sel terdegradasi oleh enzim protease dan menyebabkan kerusakan pada sitoskelet serta menurunkan ATP, sehingga membran sel menjadi rusak dan zat-zat yang berada di luar membran sel baik yang dibutuhkan atau tidak akan mudah masuk ke dalam sel. Sel akan mengalami pembengkakan dan volume sel akan bertambah (Pospos, 2005). Kejadian ini dapat dihindari dengan memberikan bahan penyeimbang berupa vitamin E, agar stabilitas membran terjaga, sehingga sel tumbuh dan berkembang dalam kondisi normal (Gambar 4.3a).