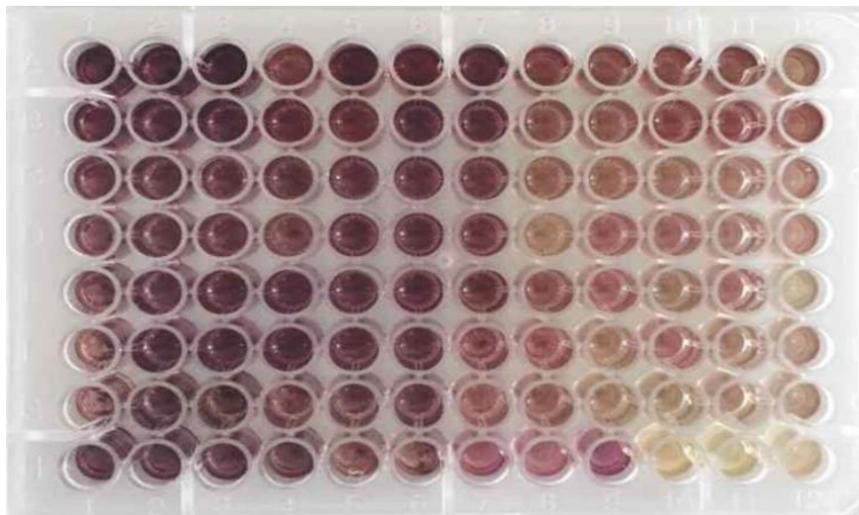


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini melakukan uji sitotoksik dengan menggunakan metode MTT (3- [4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5 Diphenyl tetrazolium bromide) dalam rantai respirasi mitokondria dalam proses reaksi reduksi oleh enzim reduktase pada sel-sel yang hidup membentuk kristalformazan yang terakumulasi pada *intact membrane* secara makroskopis tampak berwarna ungu.. Uji sitotoksik dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi sitoksik dari fraksi etil asetat tanaman sarang semut (senyawa) terhadap sel *Burkitt's lymphoma* (sel kanker).



Gambar 5. Sumuran (*Well-plate 96*) setelah treatment dan MTT

Gambar 5. menunjukkan sumuran *96 well plate* yang bermakna warna ungu merefleksikan banyaknya sel yang hidup sedangkan sumuran

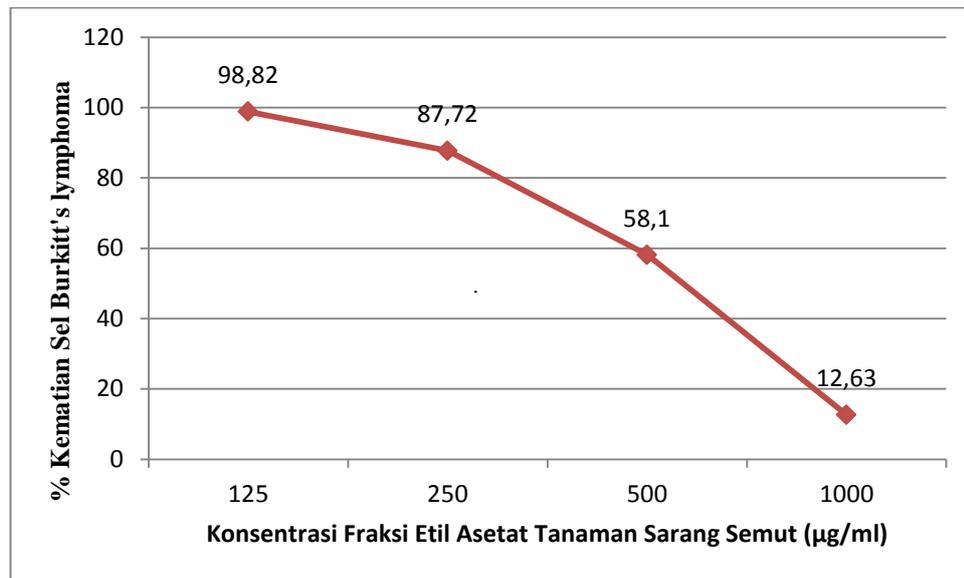
berwarna kuning merefleksikan semakin banyak sel yang mengalami kematian.

Hasil penelitian dapat dilihat pada tabel dan gambar sebagai berikut.

Tabel 1. Persentase kematian sel *Burkitt's lymphoma*

| Konsentrasi Fraksi Etil Asetat | Persentase Kematian (%) |
|--------------------------------|-------------------------|
| 125 µg/mL | 98.82% |
| 250 µg/mL | 87.72% |
| 500 µg/mL | 58.1% |
| 1000 µg/mL | 12.63 % |

Berdasarkan data tabel 1. dapat diinterpretasikan bahwa fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) menunjukkan pada konsentrasi 125 µg/mL dengan persentase kematian sel tertinggi sebesar 98.82 % dan persentase kematian sel terendah sebesar 12.63 % pada konsentrasi 1000 µg/mL. Pada data tabel 1 diatas merupakan persentase kematian sel *Burkitt's lymphoma* terhadap masing-masing jenis konsentrasi fraksi etil asetat tanaman sarang semut. Kontrol sel adalah sumuran yang hanya berisi media kultur dan sel *Burkitt's lymphoma* (tanpa perlakuan).



Gambar 6. Grafik rerata presentase kematian sel *Burkitt's lymphoma* setelah diberikan perlakuan dengan berbagai konsentrasi dari fraksi etil asetat tanaman sarang semut.

Grafik kematian sel *Burkitt's lymphoma* pada Gambar 5. menunjukkan bahwa setelah diberikan perlakuan dengan berbagai konsentrasi dari fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*), mengalami penurunan grafik kematian sel dari konsentrasi 125 µg/mL sampai dengan konsentrasi 1000 µg/mL

B. Pembahasan

Berdasarkan Gambar 5. menunjukkan hasil uji sitotoksitas dengan metode pengamatan dengan MTT pada sumuran pada fraksi etil asetat tanaman sarang semut terhadap sel *Burkitt's lymphoma* yang dapat diinterpretasikan warna ungu pada sumuran merefleksikan banyaknya sel yang hidup sedangkan sumuran berwarna kuning merefleksikan semakin banyak sel yang mengalami kematian. Sel hidup dapat mereduksi larutan

MTT, sedangkan sel mati tidak dapat mereduksi MTT karena enzim di dalam sel tidak berfungsi lagi (Dona., *et al* 2016).

Intensitas warna ungu mempunyai korelasi langsung dengan jumlah sel yang hidup dan besarnya absorbansi dapat diukur dengan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme atau dengan kata lain sebanding dengan jumlah sel yang hidup. Semakin kuat intensitas warna ungu yang diperoleh absorbansi akan semakin besar. Hal ini menunjukkan bahwa banyak sel yang hidup dan bereaksi dengan garam tetrazolium, sehingga formazan yang terbentuk juga banyak. Hal ini dapat terlihat beberapa konsentrasi pada sumuran yang berwarna ungu yang berarti terdapat banyak sel yang hidup dan mengindikasikan fraksi etil asetat tanaman sarang semut tidak menyebabkan kematian atau tidak memiliki potensi sitotoksik terhadap sel *Burkitt's lymphoma* yang diujikan. Pada sumuran diperoleh intensitas warna ungu dan kuning yang tidak merata.

Menurut Tabel 1. menunjukkan persentase kematian sel *Burkitt's lymphoma* pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan kematian sel 12.63% dan konsentrasi terkecil pada penelitian ini yaitu 125 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan persentase kematian terbesar yaitu 98.82% dan hasil tersebut melebihi persentase kontrol sel (100%). Menurut CCRC (2010) semakin tinggi konsentrasi larutan uji semakin rendah persentase kematian sel yang terjadi. Penelitian yang dilakukan oleh Darma, *et al* (2009) menunjukkan adanya fenomena *dose dependent* atau terdapat hubungan antara konsentrasi larutan

uji dengan efek toksik yang ditimbulkan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa efek toksik meningkat seiring peningkatan konsentrasi yang berarti semakin kecil sel yang hidup. Tetapi, fenomena *dose-dependent* tersebut tidak terjadi pada penelitian ini yang menunjukkan hasil konsentrasi tinggi (1000 µg/mL) menghasilkan persentase kematian sel yang rendah (12.63%) dan konsentrasi rendah (125 µg/mL) menghasilkan persentase kematian sel yang tinggi (98.82%).

Berdasarkan Gambar 6. menunjukkan grafik kematian sel yang terjadi dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi yang dapat diinterpretasikan bahwa pemberian berbagai macam konsentrasi fraksi etil asetat tidak memiliki potensi sitotoksik terhadap kematian sel *Burkitt's lymphoma*. Hal tersebut dapat diamati dari konsentrasi terendah (125 µg/mL) terjadi persentase kematian sel *Burkitt's lymphoma* yang tertinggi (98.82%) yang menunjukkan hasil tersebut mendekati persentase kontrol sel (100% kematian sel). Dilanjutkan konsentrasi 250 µg/mL, konsentrasi 500 µg/mL, dan konsentrasi 1000 µg/mL terjadi persentase kematian sel *Burkitt's lymphoma* yang cukup signifikan perbedaannya. Hal tersebut menunjukkan bahwa dari ketiga konsentrasi tersebut menyebabkan efek yang berbeda terhadap kematian sel *Burkitt's lymphoma*, namun dari keseluruhan hasil tersebut menunjukkan hasil yang berbanding terbalik dengan fenomena *dose-dependent* yang seharusnya hasil yang diperoleh menunjukkan efek toksik meningkat seiring peningkatan konsentrasi yang berarti semakin kecil sel yang hidup.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) terhadap sel *Burkitt's lymphoma* tidak memiliki potensi sitotoksik atau mengalami kegagalan dapat dikarenakan pada hasil sumuran setelah dilakukan *treatment* menghasilkan hasil absorbansi yang bias sehingga menghasilkan perhitungan persentase kematian sel yang bias juga. Faktor yang menyebabkan hasil absorbansi menjadi bias merupakan salah satunya dari sampel yang berwarna yang dapat memberikan absorbansi pada pembacaan ELISA *reader*, sehingga absorbansi yang terbaca tidak hanya warna ungu yang sebanding dengan jumlah sel yang hidup tapi juga warna atau kekeruhan dari sampel, sehingga diperlukan adanya kontrol sampel untuk mengeliminasi pengaruh absorbansi dari sampel (Dona., et al 2016).

Faktor berikutnya yang dapat menyebabkan hasil absorbansi yang bias yaitu penggunaan pelarut DMSO pada prosedur pengenceran dari setiap konsentrasi sampel. DMSO merupakan salah satu bahan pilihan sebagai pelarut sampel uji dalam berbagai uji biologis atau uji terhadap sel kanker. Menurut Sarker (2006) pelarut DMSO dan pelarut organik lainnya tidak biasanya memberikan hasil yang baik dalam hal kelarutan dan ketidakcocokan dalam media uji, serta memiliki efek toksik tertentu pada pengujian organisme atau pada ekstrak uji. Berdasarkan hal tersebut maka bias nya hasil absorbansi dapat melalui efek toksik yang dikontribusi oleh pelarut DMSO yang terbaca pada pembacaan absorbansi dengan ELISA

reader serta disimpulkan hasil absorbansi itu bukan dari persentase kematian sel, tetapi efek toksik dari pelarut DMSO tersebut.

Faktor kegagalan lainnya yang dapat terjadi yaitu tidak dilakukan penggantian *tip* setiap konsentrasi yang berbeda pada proses *treatment* pada sel di dalam sumur yang menyebabkan terjadinya kontaminasi sehingga menyebabkan hasil absorbansi yang bias. Menurut Gilson (2018) untuk mencegah terjadinya kontaminasi diperlukan prosedur penggantian *tip* pada setiap dilakukan *pipetting*. Kemungkinan penyebab bias yaitu kontaminasi pipet-ke-sampel dengan kondisi menggunakan *tip* atau pipet yang sudah terkontaminasi dan kontaminasi sampel-ke-sampel (*sample carryover*) dengan kondisi menggunakan *tip* bekas untuk setiap sampel yang berbeda.

Penyebab kegagalan lainnya yaitu penggunaan *flask* terbuka yang menyebabkan masuknya O₂ dan meningkatnya pH dan konsentrasi sel yang tinggi menyebabkan diproduksi CO₂ dan asam laktat menyebabkan turunya pH, mengingat bahwa pertumbuhan sel yang baik umumnya terjadi pada pH 7,0-7,4 (CCRC, 2013). Dalam pertumbuhannya, konsentrasi sel yang tinggi menyebabkan produksi asam laktat dan berkurangnya nutrisi untuk pertumbuhan sel dan untuk mencapai kondisi sel yang pertumbuhannya optimum diperlukan penggantian media pertumbuhan yang merupakan faktor menyebabkan bias atau kegagalan dalam kultur sel jika tidak dilakukan (GIBCO, 2016).

Berdasarkan pembahasan tersebut dikatakan tidak terdapat potensi sitotoksik pada fraksi etil asetat tanaman sarang semut terhadap sel *Burkitt's*

lymphoma yang dapat ditunjukkan pada gambar sumuran, grafik dan persentase kematian sel yang terjadi dari masing-masing konsentrasi yang menunjukkan hasil penelitian tidak sesuai dengan hipotesis penelitian.