

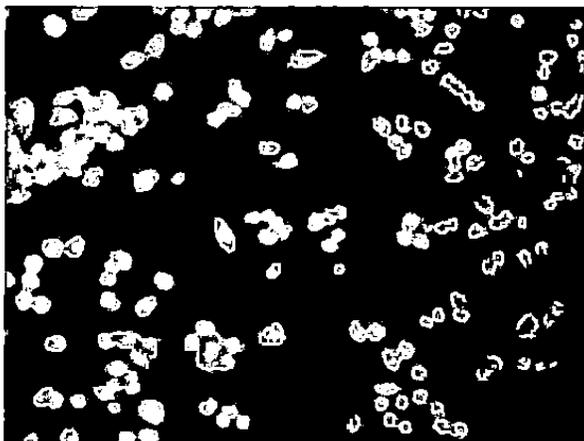
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

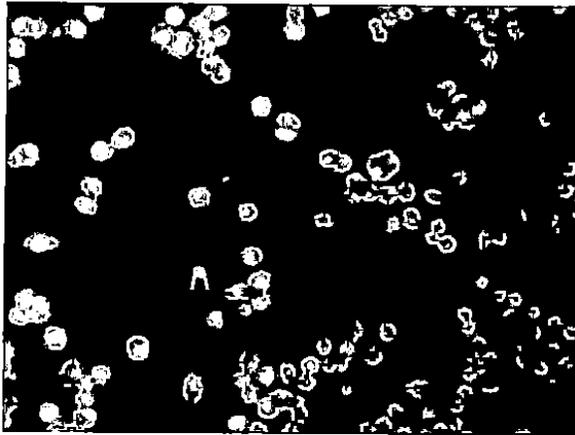
Hasil penelitian mengenai potensi ekstrak etanol daun binahong terhadap peningkatan apoptosis sel kanker lidah manusia secara *in vitro* menunjukkan bahwa sel kanker lidah manusia *Supri's clone* (SP-C1) yang sudah di inkubasi dapat digunakan untuk uji apoptosis dengan metode *double staining* yaitu dengan etidium bromida dan acridine orange. Metode ini adalah metode yang digunakan untuk melihat apoptosis sel, sel yang hidup akan larut dengan *acridine orange* sehingga menghasilkan warna hijau sedangkan sel yang apoptosis akan larut dengan etidium bromida sehingga menghasilkan warna orange. Sel kanker lidah manusia (SP-C1) tampak pada Gambar 4. dibawah ini setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* Tenorea Steenis).

a.



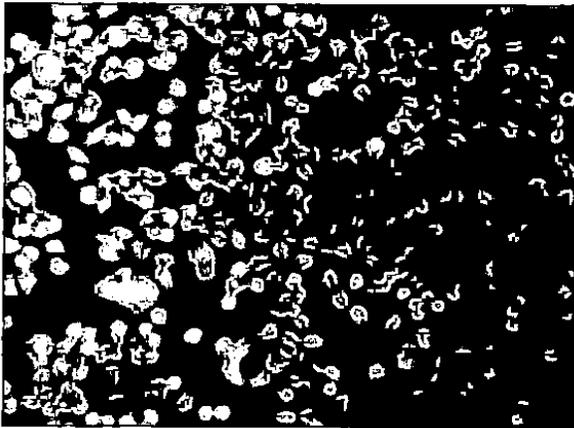
Gambar 4a. Gambaran sel SP-C1 setelah di inkubasi selama 24 jam, menunjukkan

b.



Gambar 4b. gambaran sel SP-C1 setelah di inkubasi selama 24 jam menunjukkan sel nekrosis

c.



Gambar 4c. Gambaran sel SP-C1 setelah di inkubasi selama 24 jam sel kontrol

Berdasarkan Gambar 4. dapat dijelaskan bahwa terdapat perbandingan antara sel yang berapoptosis dan sel tanpa perlakuan atau kontrol sel. Untuk sel kanker SP-C1 dengan perlakuan ekstrak etanol daun binahong menunjukkan pewarnaan orange berarti sel tersebut mengalami apoptosis. Sedangkan sel tanpa perlakuan atau sel kontrol akan menghasilkan pewarnaan bewarna hijau. *Acridine orange* merupakan penggambaran dari asam nukleat. *Acridine orange* dapat melewati permeabilitas sel normal dan akan berkorelasi dengan DNA/RNA

Karakteristik sel yang mengalami apoptosis akan menunjukkan pewarnaan orange ketika diamati di bawah mikroskop *flourosence*, terlihat bentuk sel tidak teratur, kondensasi kromatin mulai di perifer membran nukleus, membentuk struktur seperti cincin, kemudian kromatin terus memadat hingga pecah dalam sel dengan membran utuh gambaran ini disebut dengan karioreksis (Kresno, 2012).

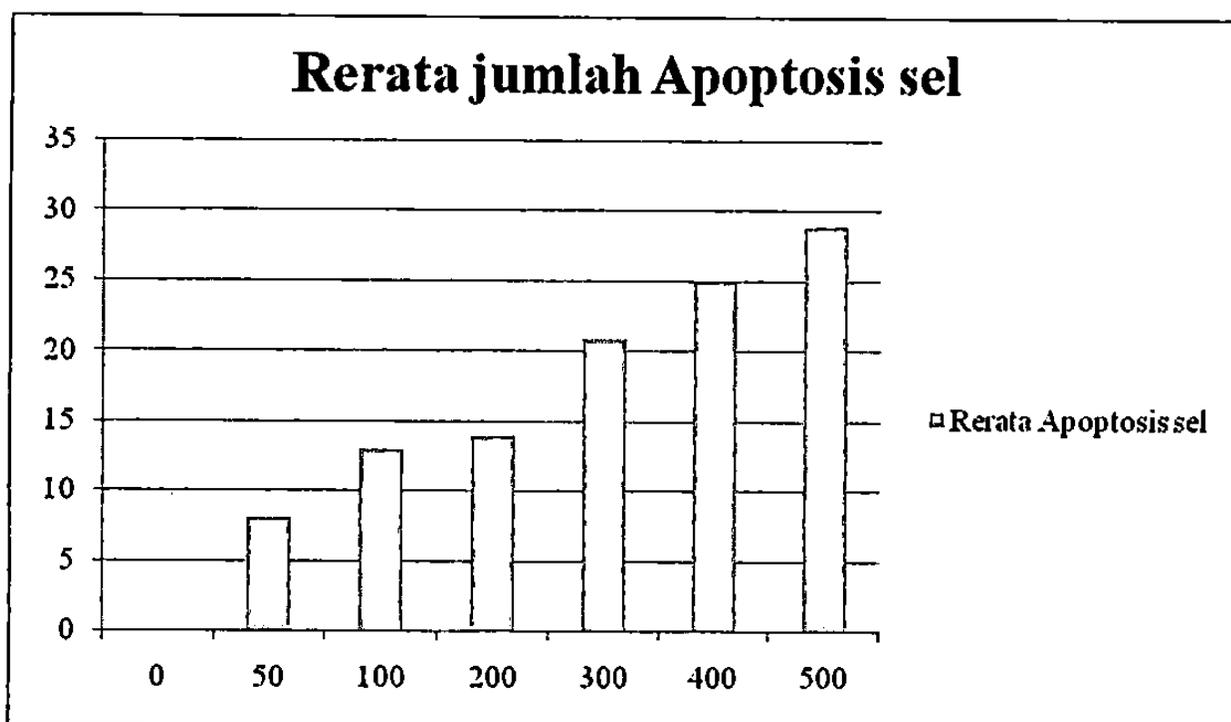
Data jumlah sel yang mengalami apoptosis. Rerata dan simpangan baku setelah perlakuan dengan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* Tenore Steenis) dapat dilihat pada Tabel 1. berikut.

Tabel 1. Rerata sel dan simpangan baku sel yang mengalami apoptosis

Konsentrasi	Mean \pm S. Deviation
Kontrol	.00 \pm .00
50	8.07 \pm 1.033
100	13.07 \pm 1.033
200	14.07 \pm 1.280
300	21.00 \pm 1.309
400	25.07 \pm .884
500	29.00 \pm .756

Berdasarkan Tabel 1. diketahui bahwa rerata sel dan simpangan baku yang mengalami apoptosis meningkat mulai dari konsentrasi 300 $\mu\text{g/ml}$ yang mempunyai rerata sel mengalami apoptosis 21.00 \pm 1.309, awal peningkatan terjadinya sel yang mengalami apoptosis lalu konsentrasi 400 $\mu\text{g/ml}$ dengan nilai rerata sel yang mengalami apoptosis 25.07 \pm .884, kemudian konsentrasi 500

$\mu\text{g/ml}$ dengan nilai rerata sel yang mengalami apoptosis $29.00 \pm .756$ mempunyai hambatan yang kuat dibandingkan kontrol, untuk dapat lebih mudah dipahami dapat dilihat pada Gambar 5. di bawah ini.



Gambar 5. Rerata jumlah apoptosis sel setelah perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun binahong.

Gambar 5. menunjukkan terjadi peningkatan sel yang mengalami apoptosis mulai dari konsentrasi awal $50 \mu\text{g/ml}$ sampai dengan konsentrasi $500 \mu\text{g/ml}$ dengan jumlah rerata sel yang mengalami apoptosis 29.00% .

Syarat yang harus dipenuhi untuk melakukan uji analisis varian satu jalur adalah data terdistribusi normal dan varians yang sama. Tes normalitas data menggunakan analisis *Shapiro Wilk* dikarenakan jumlah sampel kurang dari 50

Agar analisis *Shapiro Wilk* terdistribusi normal, maka nilai signifikansinya lebih besar dari 0,05 ($P > 0,05$)

Tabel 2. Hasil Tes Uji Normalitas *Saphiro-Wilk* Dari Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi	Statistic	DF	Signifikan
Kontrol	.000	15	.000
50 $\mu\text{g/ml}$.932	15	.293
100 $\mu\text{g/ml}$.817	15	.006
200 $\mu\text{g/ml}$.781	15	.002
300 $\mu\text{g/ml}$.868	15	.031
400 $\mu\text{g/ml}$.823	15	.007
500 $\mu\text{g/ml}$.932	15	.293

Keterangan :

DF : *Degree of Freedom* (Derajat Kebebasan)

Sig. : Signifikansi (perbedaan yang bermakna)

Data Tabel 2. terlihat beberapa angka signifikansi *Shapiro wilk* $P > 0,05$, data tersebut mengindikasikan terdistribusi normal. Langkah selanjutnya melakukan uji varians. Data dikatakan memiliki varians yang normal jika signifikansi lebih besar dari 0,05 ($P > 0,05$).

Uji analisis varians satu jalur menunjukkan hasil nilai signifikansi 0.000 ($P < 0,05$), maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna jumlah sel yang mengalami apoptosis seteah diberi berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun binahong. Selanjutnya dilakukan uji statistik *Least Significant Different* (LSD). Untuk mengetahui signifikansi perbedaan rerata antara masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun binahong. Uji statistik LSD dapat dilihat

Tabel 4. Hasil Uji Statistik LSD

Kelompok	0	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	300 $\mu\text{g/ml}$	400 $\mu\text{g/ml}$	500 $\mu\text{g/ml}$
Control	-----	.000	.000	.000	.000	.000	.000*
50 $\mu\text{g/ml}$.000*	-----	.000	.000	.000	.000	.000
100 $\mu\text{g/ml}$.000*	.000	-----	.000	.000*	.000	.000*
200 $\mu\text{g/ml}$.000*	.000	.000	-----	.000*	.000	.000*
300 $\mu\text{g/ml}$.000*	.000	.007*	.007*	-----	.000	.000
400 $\mu\text{g/ml}$.000*	.000	.000	.000	.000	-----	.000
500 $\mu\text{g/ml}$.000*	.000	.000*	.000*	.000	.000	-----

Berdasarkan hasil uji statistik *Least Significant Different* (LSD) pada Tabel 4. Diketahui bahwa tidak semua pasangan memiliki perbedaan peningkatan apoptosis yang bermakna. Sebagian besar pasangan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) memiliki perbedaan yang bermakna atau signifikan. Hal tersebut dapat dilihat dengan adanya tanda * di belakang angka. Tanda bintang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna atau signifikan dari masing-masing pasangan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). Tidak adanya tanda bintang di belakang angka menunjukkan bahwa pasangan tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna atau tidak

B. Pembahasan

Daun binahong merupakan salah satu jenis tanaman herbal yang belum dikenal oleh seluruh masyarakat di Indonesia (Winarto, 2003). Setelah dilakukan penelitian ternyata daun binahong dapat mencegah pertumbuhan kanker salah satunya kanker lidah manusia.

Daun binahong diketahui mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, polifenol dan minyak atsiri (Winarto, 2003). Senyawa flavonoid memiliki aktifitas antitumor karena memiliki gugus hidroksil fenolik yang mampu menghambat terjadinya radikal bebas, suatu spesies yang memiliki aksi reduksi oksidasi di dalam sel. Dengan sifat antitumor ini, senyawa flavonoid memiliki potensi untuk menghambat proses inisiasi karsinogenesis dengan cara menghambat aktivasi karsinogenesis (Meiyanto, 2007).

Karsinogenesis berasal dari sel normal yang teratur dan terkendali, sehingga terjadi kerusakan DNA/RNA dan menyebabkan sel bermutasi melalui jalur p53. Jalur p53 adalah suatu protein penghambat tumor yang berfungsi mengontrol siklus pembelahan sel (mitosis), berperan pada kerusakan DNA dan apoptosis (Herman, 2007). Iradiasi atau obat-obatan yang digunakan untuk terapi kanker dapat menyebabkan kerusakan DNA dalam sel yang dapat berakibat apoptosis melalui jalur p53 (Kresno, 2012). Pada keadaan normal, gen p53 dalam kondisi nonaktif, sedangkan pada kerusakan DNA ekspresi gen meningkat dan akan memberhentikan siklus pembelahan sel. Bila DNA berhasil diperbaiki pembelahan sel akan dilanjutkan jika DNA tidak berhasil diperbaiki sel akan

Apoptosis yang juga dikenal sebagai *programmed cell death*, terjadi normal selama proses perkembangan dan penuaan sebagai mekanisme homeostatik untuk memelihara populasi sel dan jaringan. Apoptosis juga terjadi sebagai mekanisme pertahanan, misalnya reaksi imun atau apabila sel rusak akibat penyakit atau agen perusak. Walaupun ada berbagai jenis rangsangan dan keadaan, baik fisiologik maupun patologik, tidak semua sel harus mati sebagai respons terhadap rangsangan yang sama (Kresno, 2012). Apoptosis merupakan suatu proses bunuh diri dengan sukarela yang bersifat biologis dan umum terjadi pada organisme multiseluler. Adapun tipe kematian sel yang lain yaitu nekrosis. Nekrosis berbeda dengan apoptosis. Kata nekrosis berasal dari bahasa Yunani "Nekrosis" yang artinya kematian. Nekrosis merupakan bentuk patologis dari kematian sel akibat kerusakan sel akut, ditandai dengan pembengkakan sel diikuti dengan lisis yang berakhir inflamasi.

Hasil penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) berpotensi meningkatkan apoptosis sel kanker lidah manusia (Sel SP.C1). Hal ini menentang hipotesis yang