

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

Pada penelitian ini, pemaparan genistein dilakukan 2 jam setelah fertilisasi pada embrio *zebrafish* yang telah dimasukkan ke dalam piring kultur. Terdapat 5 kelompok dengan dosis yang berbeda yakni kelompok kontrol, genistein 0,1  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , dan 5  $\mu\text{M}$ . Pemeriksaan ekspresi gen HSP-70 dilakukan pada 72 *hpf* dengan menggunakan teknik *Real-time PCR*. Data dianalisa dari hasil rata-rata tiga kali pengulangan. Perhitungan ekspresi HSP-70 ini menggunakan metode Livak yang terlihat pada tabel 5.1. Hasil yang didapatkan berupa rasio ekspresi relatif terhadap  $\beta$ -actin (*housekeeping gene*).

**Tabel 5.1 Metode Livak**

|                         |                                                      |
|-------------------------|------------------------------------------------------|
| $\Delta\text{Ct}$       | $\text{Ct target} - \text{Ct reference}$             |
| $\Delta\Delta\text{Ct}$ | $\Delta\text{Ct reference} - \Delta\text{Ct target}$ |
| Rasio Ekspresi Relatif  | $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$                         |

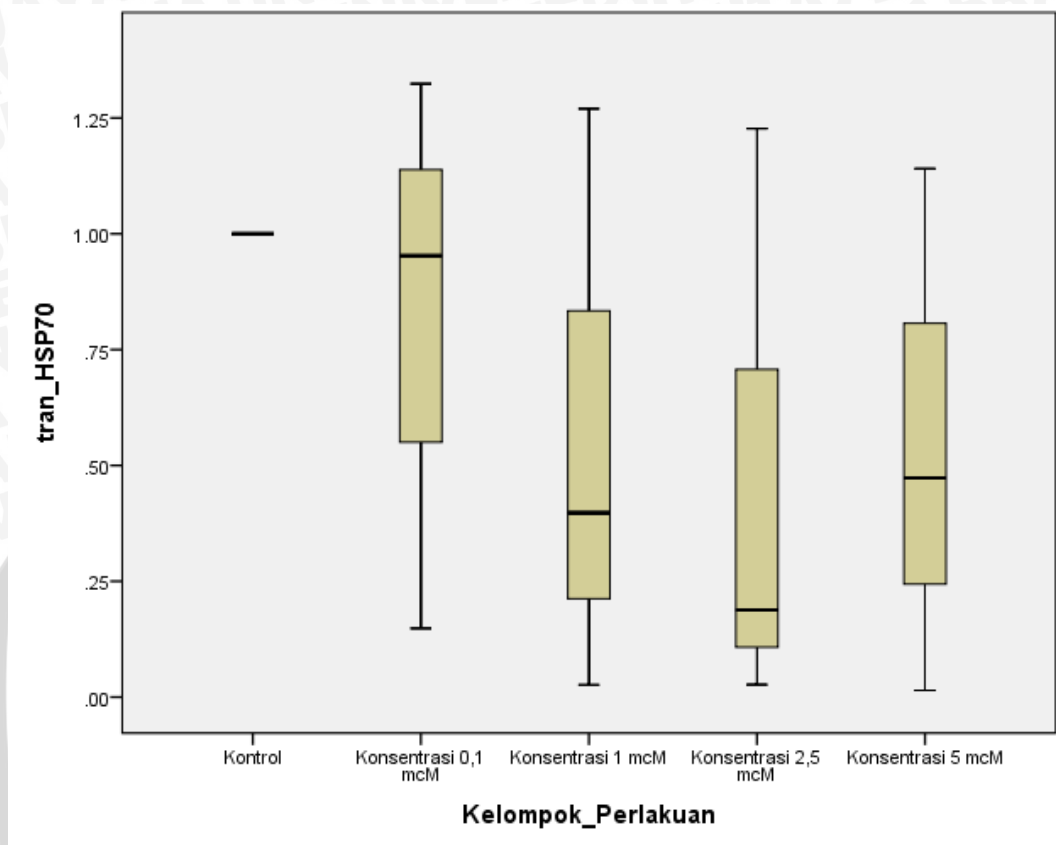
(Livak, 2001)

Hasil lengkap perhitungan rasio ekspresi relatif gen HSP-70 dapat dilihat pada tabel 5.2.

**Tabel 5.2 Rata-rata Rasio Ekspresi HSP-70**

| Perlakuan | Pengulangan | $\Delta\Delta Ct$ | Rasio level ekspresi | Rata-rata rasio | SD       |
|-----------|-------------|-------------------|----------------------|-----------------|----------|
| Kontrol   | 1           | 0                 | 1                    | 1               | 0        |
|           | 2           | 0                 | 1                    |                 |          |
|           | 3           | 0                 | 1                    |                 |          |
| 0,1       | 1           | 5,51              | 0,021944             | 0,89422502      | 0,865710 |
|           | 2           | -0,81             | 1,753211             |                 |          |
|           | 3           | 0,14              | 0,907519             |                 |          |
| 1         | 1           | 10,47             | 0,000705             | 0,59073605      | 0,889047 |
|           | 2           | 2,66              | 0,15822              |                 |          |
|           | 3           | -0,69             | 1,613284             |                 |          |
| 2,5       | 1           | 10,42             | 0,00073              | 0,51379309      | 0,858799 |
|           | 2           | 4,82              | 0,035403             |                 |          |
|           | 3           | -0,59             | 1,505247             |                 |          |
| 5         | 1           | 12,24             | 0,000207             | 0,50843495      | 0,695715 |
|           | 2           | 2,16              | 0,223756             |                 |          |
|           | 3           | -0,38             | 1,301342             |                 |          |

**Gambar 5.1 Nilai Rata-rata Rasio Ekspresi HSP-70 terhadap Paparan Genistein dengan Dosis Tertentu**



Dari hasil perhitungan, didapatkan rata-rata rasio ekspresi HSP-70 yang semakin menurun tiap penambahan konsentrasi genistein. Pada kelompok paparan genistein 0,1  $\mu\text{M}$ , rasio HSP-70 menurun 0,89 kali lipat dibanding kontrol. Penurunan rasio HSP-70 juga terjadi pada setiap penambahan konsentrasi paparan genistein. Kelompok paparan genistein 1  $\mu\text{M}$  mengalami penurunan rasio 0,59 kali lipat dibanding dengan kontrol. Kelompok paparan genistein 2,5  $\mu\text{M}$  mengalami penurunan rasio rata-rata sebanyak 0,51 kali lipat dibanding kontrol. Sedangkan untuk kelompok paparan 5  $\mu\text{M}$  tidak terlalu berbeda dengan kelompok paparan 2,5  $\mu\text{M}$ , yaitu memiliki rasio rata-rata sebanyak 0,508 kali lipat dibandingkan dengan kontrol.

Jika dilihat dari masing-masing pengulangan ada kelompok yang mengalami penurunan dan peningkatan rasio. Seperti pada pengulangan pertama, didapatkan penurunan rasio seiring dengan penambahan konsentrasi genistein. Pada kelompok 0,1  $\mu\text{M}$  terjadi penurunan rasio sebesar 0,021 kali lipat dibanding kontrol, kelompok 1  $\mu\text{M}$  juga terjadi penurunan rasio sebesar 0,0007 kali lipat dibanding kontrol. Namun pada kelompok 2,5  $\mu\text{M}$  terjadi peningkatan rasio yaitu 0,00073. Kemudian terjadi penurunan rasio lagi sebesar 0,0002 di kelompok paparan genistein dengan konsentrasi 5  $\mu\text{M}$ .

Pada kelompok pengulangan kedua juga terjadi penurunan dan peningkatan ekspresi gen HSP-70. Kelompok paparan genistein 0,1  $\mu\text{M}$  mengalami peningkatan rasio hampir 2 kali lipat, yaitu 1,753 kali dibanding kontrol. Kelompok paparan 1  $\mu\text{M}$  mengalami penurunan rasio sebesar 0,158 kali lipat terhadap kontrol. Penurunan juga terjadi pada kelompok paparan genistein 2,5  $\mu\text{M}$ , yaitu 0,035 kali lipat dibanding dengan kontrol. Namun kelompok terakhir terjadi peningkatan rasio kembali sebesar 0,223 kali lipat terhadap kontrol.

Untuk pengulangan ketiga didapatkan hasil yang cenderung meningkat jika dibandingkan dengan kontrol. Kelompok paparan genistein 0,1  $\mu\text{M}$  mengalami penurunan rasio sebesar 0,907. Kelompok paparan selanjutnya terekspresi gen HSP-70 yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Pada kelompok papara genistein 1  $\mu\text{M}$  rasionya menjadi 1,613 terhadap kontrol. Kelompok 2,5  $\mu\text{M}$  memiliki rasio 1,505 terhadap kontrol. Sedangkan kelompok paparan genistein 5  $\mu\text{M}$  memiliki rasio 1,301 terhadap kontrol. Dilihat dari tiga kelompok terakhir, memang rasio ekspresi HSP-70 menurun jika dibandingkan dengan paparan genistein dengan konsentrasi yang lebih rendah. Namun dibandingkan

dengan kontrol, ketiga kelompok terakhir menunjukkan peningkatan rasio terhadap kontrol tiap kelompoknya.

## 5.2 Analisa Data

Hasil penelitian dianalisa dengan *software* SPSS versi 21 dan *output* analisis.

### 5.2.1 Uji Asumsi Data

Sebelum data mengenai pengaruh paparan genistein terhadap HSP-70 pada embrio *zebrafish* dianalisis dengan menggunakan uji statistik, perlu dilakukan pengujian terhadap beberapa asumsi data, yaitu asumsi normalitas distribusi data dan homogenitas data yang akan dianalisa.

#### 5.2.1.1 Normalitas Distribusi Data I

**Tabel 5.3 Hasil Pengujian Normalitas Data**

|        | Kelompok_Perlakuan  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------|---------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|        |                     | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| HSP_70 | Konsentrasi 0,1 mcM | .177                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | .975 |
|        | Konsentrasi 1 mcM   | .353                            | 3  | .    | .822         | 3  | .169 |
|        | Konsentrasi 2,5 mcM | .378                            | 3  | .    | .767         | 3  | .039 |
|        | Konsentrasi 5 mcM   | .325                            | 3  | .    | .874         | 3  | .308 |

a. HSP\_70 is constant when Kelompok\_Perlakuan = Kontrol. It has been omitted.

b. Lilliefors Significance Correction

Pada penelitian ini normalitas distribusi data diuji dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel yang digunakan tidak lebih dari 50 (Sopiyudin, 2013). Dari pengujian normalitas data yang telah dilakukan,

didapatkan nilai signifikansi untuk kelompok paparan genistein dengan konsentrasi 2,5  $\mu\text{M}$  sebesar 0,039 ( $< 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa data pada kelompok paparan genistein dengan konsentrasi 2,5  $\mu\text{M}$  memiliki distribusi yang tidak normal. Maka perlu dilakukan transformasi data.

### 5.2.1.2 Transformasi Data

Transformasi data dilakukan untuk merubah skala data ke dalam bentuk lain, sehingga data memiliki distribusi yang normal. Data ditransformasi ke dalam bentuk *sqrt*.

### 5.2.1.3 Normalitas Distribusi Data II

**Tabel 5.4 Hasil Pengujian Normalitas Data yang Ditransformasi**

| Tests of Normality <sup>a</sup> |                     |                                 |    |      |              |    |      |
|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                                 | Kelompok_Perlakuan  | Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|                                 |                     | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| tran_HSP70                      | Konsentrasi 0,1 mcM | .262                            | 3  | .    | .957         | 3  | .600 |
|                                 | Konsentrasi 1 mcM   | .270                            | 3  | .    | .949         | 3  | .563 |
|                                 | Konsentrasi 2,5 mcM | .340                            | 3  | .    | .849         | 3  | .237 |
|                                 | Konsentrasi 5 mcM   | .216                            | 3  | .    | .989         | 3  | .796 |

a. tran\_HSP70 is constant when Kelompok\_Perlakuan = Kontrol. It has been omitted.

b. Lilliefors Significance Correction

Uji normalitas distribusi data tetap diuji dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Dari pengujian normalitas data yang telah ditransformasi, didapatkan nilai signifikansi untuk semua kelompok  $> 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa semua data yang ada memiliki distribusi yang normal, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

#### 5.2.1.4 Homogenitas Ragam Data

**Tabel 5.5 Hasil Pengujian Homogenitas Ragam Data**

| Test of Homogeneity of Variances |     |     |      |
|----------------------------------|-----|-----|------|
| tran_HSP70                       |     |     |      |
| Levene Statistic                 | df1 | df2 | Sig. |
| 2.241                            | 4   | 10  | .137 |

Untuk mengetahui ada atau tidaknya heterogenitas ragam data, perlu dilakukan uji kesamaan ragam, yaitu uji *Levene* (*Levene test homogeneity of variances*). Dari pengujian homogenitas ragam data yang telah dilakukan, didapatkan nilai signifikansi uji *Levene* sebesar 0,137 ( $> 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa data-data yang didapatkan dari penelitian ini adalah homogen.

#### 5.2.2 One-Way ANOVA

**Tabel 5.6 Hasil Uji Analisa *One-Way ANOVA***

| ANOVA          |                |    |             |      |      |
|----------------|----------------|----|-------------|------|------|
| tran_HSP70     |                |    |             |      |      |
|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F    | Sig. |
| Between Groups | .572           | 4  | .143        | .472 | .755 |
| Within Groups  | 3.028          | 10 | .303        |      |      |
| Total          | 3.600          | 14 |             |      |      |

Setelah dilakukan uji analisis dengan menggunakan *one-way ANOVA* didapatkan hasil nilai signifikansi sebesar 0,755 ( $> 0,05$ ). Dari hasil nilai signifikansi ini dapat diambil kesimpulan bahwa dosis paparan genistein pada

embrio zebrafish (*Danio rerio*) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi HSP-70.

