

## BAB V

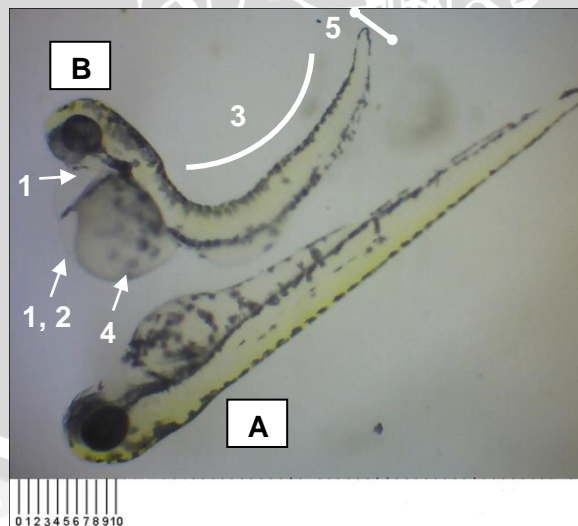
### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Karakteristik Sampel dan Perlakuan Selama Penelitian

Induk ikan zebra dewasa sebanyak 20 ekor betina dan 10 ekor jantan dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telurnya dipergunakan sebagai sampel dalam penelitian. Pada penelitian ini, telur yang berisi embrio ikan zebra dibagi menjadi empat kelompok perlakuan secara acak, yaitu kelompok kontrol (K), paparan ekstrak etanol daun teh hijau 125 ppm (P1), paparan ekstrak etanol daun teh hijau 250 ppm (P2), dan paparan ekstrak etanol daun teh hijau 500 ppm (P3). Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 30 telur dan dilakukan *triplicate* (pengulangan tiga kali) sehingga terdapat 90 telur untuk setiap kelompok perlakuan yang terbagi dalam 3 sumur/*well* yang berbeda dan dilakukan pengulangan 3 kali pada waktu yang berbeda. Ekstrak etanol daun teh hijau dipaparkan sejak 2 *hpf* (*hours post-fertilization*) hingga 72 *hpf*. Embrio yang mati pada 24 *hpf*, 48 *hpf*, dan 72 *hpf* dikeluarkan dari sampel penelitian. Medium embrio diganti setiap hari sesuai dengan jenis paparan yang diberikan. Dari sampel yang hidup pada masing-masing kelompok diambil 10 sampel secara acak untuk diamati malformasi jantungnya. Malformasi jantung yang diamati dalam penelitian ini adalah abnormalitas fungsional dengan menghitung frekuensi denyut jantung dan abnormalitas morfologi dengan membandingkan perubahan morfologi jantung kelompok perlakuan dengan kontrol. Frekuensi denyut jantung dan abnormalitas morfologis jantung diamati pada larva yang sama. Pengamatan dilakukan pada 72 *hpf* ketika ikan zebra sudah dalam stadium larva di bawah mikroskop stereo

Olympus SZ61 dengan perbesaran 45x yang diberi OptiLab sehingga dapat secara langsung dihubungkan dengan laptop sebagai perekam dan pemotret. Sampel yang diamati 10 dari masing-masing kelompok perlakuan sudah representatif mewakili populasi. Dari hasil pengamatan tersebut dibuat rata-rata dari tiga kali pengulangan.

Pada pengamatan larva 72 *hpf* kelompok kontrol telah menetas semua, sedangkan larva pada semua kelompok perlakuan tampak hambatan laju penetasan sehingga semua sampel dari kelompok paparan tersebut dilakukan *dechorionated* atau perobekan cangkang atau chorion telur ikan zebra. *Dechorionated* dilakukan agar pengamatan jantung lebih mudah dilakukan. Pada kelompok paparan banyak ditemukan defek morfologis seperti pembesaran jantung dan perikardium, elongasi jantung dan perikardium, warna yang lebih pucat, tubuh yang pendek, pembesaran *yoic sac*, badan yang melengkung atau terlipat, dan ekor melengkung (Gambar 5.1).



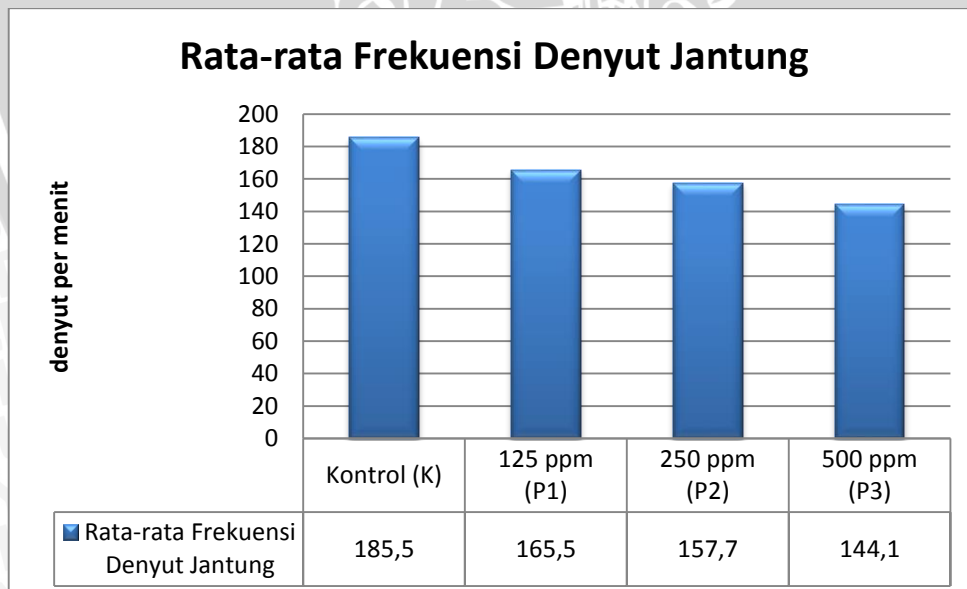
**Gambar 5.1 Perbandingan Kontrol (A) dengan Perlakuan (B). Perbesaran 45x (1 garis pada gambar mewakili 0,1 mm pada ukuran sesungguhnya)**

**Keterangan:**

**(A) Normal tanpa abnormalitas (B) Terdapat beberapa defek: 1) pembesaran jantung dan perikardium serta elongasi jantung dan perikardium hingga bagian bawah *yoic sac*, 2) pendesakan *yoic sac* oleh jantung, 3) badan melengkung dan berkelok, 4) pemendekan tubuh, 5) pembesaran *yoic sac***

## 5.2 Frekuensi Denyut Jantung Larva Ikan Zebra

Dari hasil pengamatan menunjukkan adanya penurunan frekuensi denyut jantung pada kelompok perlakuan. Seperti yang terlihat pada Gambar 5.2 semakin tinggi konsentrasi pemaparan ekstrak etanol daun teh hijau semakin terjadi penurunan frekuensi denyut jantung larva ikan zebra. Penurunan frekuensi denyut jantung paling besar terjadi pada kelompok yang dipapar ekstrak daun teh hijau 500 ppm, yaitu sebesar 22% jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain frekuensi denyut jantung yang semakin menurun, kekuatan denyutan atau kontraktilitas juga semakin melemah seiring peningkatan paparan konsentrasi ekstrak daun teh hijau. Kelompok kontrol memiliki kekuatan denyutan jantung dari sedang hingga kuat, kelompok P1 sedang hingga kuat dan ada 1 yang lemah, kelompok P2 sangat lemah hingga sedang dan ada beberapa denyutan yang kuat, dan kelompok P3 sangat lemah hingga lemah dan ada beberapa yang sedang.



Gambar 5.2 Rata-rata Frekuensi Denyut Jantung Larva Ikan Zebra 72 hpf Setiap Kelompok

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan pada frekuensi denyut jantung maka data dianalisis secara statistik. Analisis data dalam penelitian ini menggunakan program statistik SPSS 12 dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel <50. Menurut uji *Shapiro-Wilk* nilai signifikansi masing-masing kelompok sebesar 0,618 sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil uji normalitas data menunjukkan semua data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Setelah memenuhi uji normalitas, dilanjutkan dengan uji homogenitas varian data untuk mengetahui varian data adalah sama atau tidak. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,065 ( $p > 0,05$ ), dapat disimpulkan bahwa data memiliki varian yang homogen atau sejenis.

Setelah memenuhi uji normalitas dan homogenitas, dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* terhadap frekuensi denyut jantung diperoleh nilai  $p = 0,003$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua perlakuan ( $p < 0,05$ ). Selanjutnya, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna, maka digunakan *Post Hoc Test* dengan menggunakan salah satu fungsi *Tukey*. Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc Test*, kelompok yang menunjukkan perbedaan bermakna yaitu antara kelompok kontrol dan P2 ( $p = 0,019$ ), kelompok kontrol dan P3 ( $p = 0,002$ ). Sedangkan kelompok yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna adalah kelompok kontrol dengan P1 ( $p = 0,087$ ), kelompok P1 dengan P2 ( $p = 0,707$ ), kelompok P1 dengan P3 ( $p = 0,67$ ), dan kelompok P2 dengan P3 (0,296).

Uji korelasi juga dilakukan untuk mengetahui seberapa besar hubungan antara pemaparan ekstrak etanol daun teh mempengaruhi penurunan frekuensi

denyut jantung. Hasil uji korelasi adalah  $-0,867$  yang memiliki arti apabila nilai yang semakin mendekati 1 menunjukkan bahwa korelasi yang semakin kuat antara daun teh hijau terhadap penurunan frekuensi denyut jantung larva ikan zebra. Sedangkan, notasi negatif (-) menunjukkan hubungan yang berkebalikan, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun teh hijau membuat semakin turunnya frekuensi denyut jantung larva ikan zebra. Uji regresi kuadratik ( $R^2$ ) untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak etanol *Camellia sinensis* dalam penurunan frekuensi denyut jantung dengan hasil sebesar  $0,751$ , yang artinya  $75,1\%$  penurunan frekuensi denyut jantung diakibatkan oleh paparan ekstrak etanol daun teh hijau, dan  $24,9\%$  akibat dari faktor lainnya.

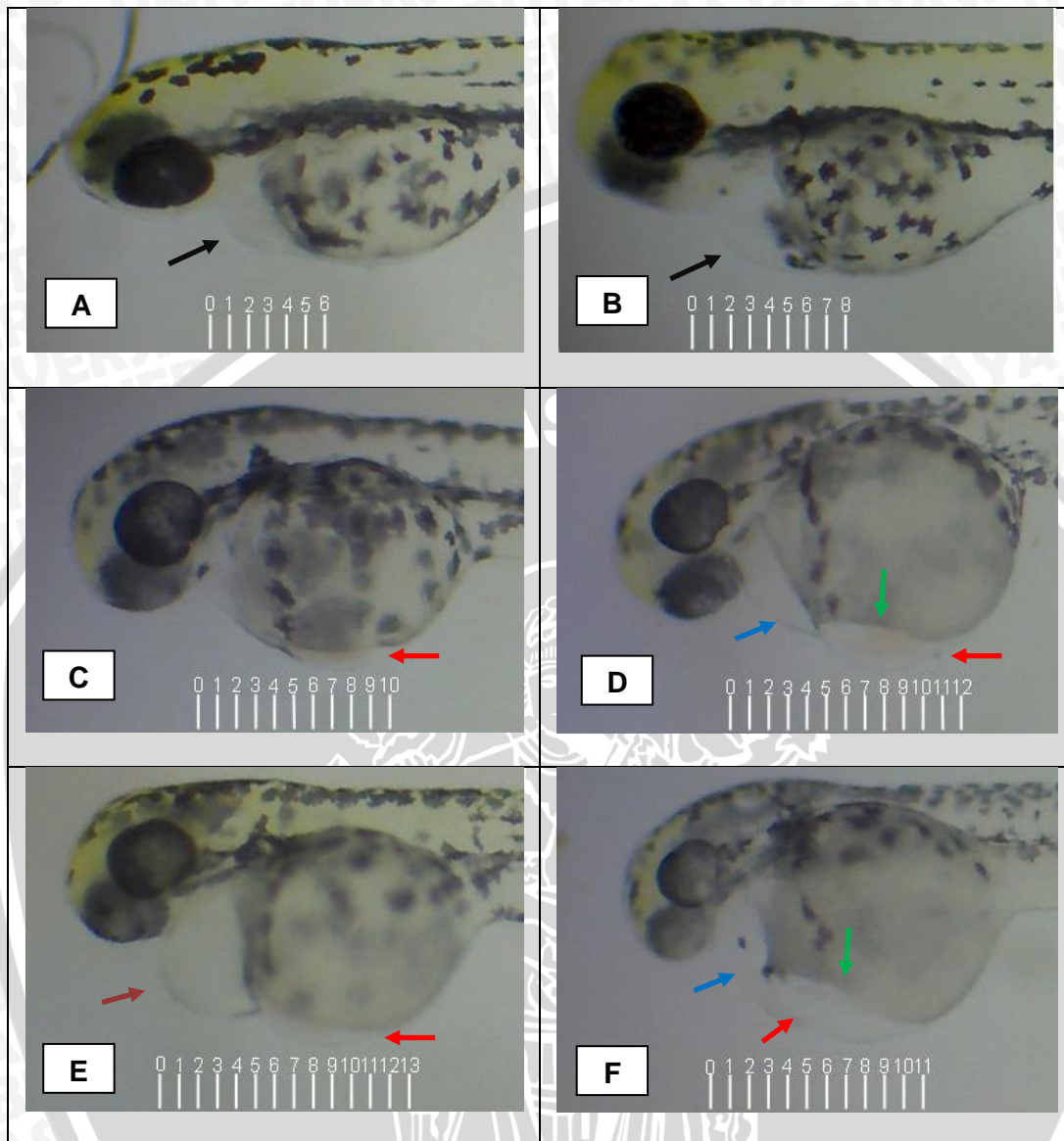
### 5.3 Abnormalitas Morfologi Jantung Larva Ikan Zebra

Pengamatan abnormalitas morfologis jantung dilakukan pada larva yang sama dengan saat pengamatan frekuensi denyut jantung. Pengamatan abnormalitas morfologis dilakukan dengan membandingkan perubahan morfologi jantung antara kelompok kontrol dengan perlakuan. Pada kelompok kontrol tidak ditemukan perubahan morfologis jantung ke arah abnormalitas di setiap pengulangan. Pada kelompok P1 yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau dengan konsentrasi  $125 \text{ ppm}$  terlihat perubahan morfologis jantung dibandingkan dengan kontrol dengan jumlah 3 pada pengulangan pertama, 2 pada pengulangan kedua, dan 1 pada pengulangan ketiga. Pada kelompok P2 yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau dengan konsentrasi  $250 \text{ ppm}$  juga nampak perubahan morfologis jantung dibandingkan dengan kontrol dengan jumlah 7 pada pengulangan pertama, 5 pada pengulangan kedua, dan 6 pada pengulangan ketiga. Begitu pula dengan kelompok P3 yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau dengan konsentrasi  $500 \text{ ppm}$  juga nampak perubahan

morfologis jantung dibandingkan dengan kontrol dengan jumlah 7 pada pengulangan pertama dan semua mengalami abnormalitas morfologis jantung pada pengulangan kedua dan ketiga.

Macam-macam bentuk perubahan morfologis jantung kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol yang dapat diamati meliputi beberapa hal, yaitu (1) pembesaran jantung dan perikardium artinya terdapat gambaran penonjolan perikardium yang abnormal dan dimungkinkan jantung mengalami pembesaran juga, (2) elongasi jantung dan perikardium artinya jantung beserta perikardium mengalami pemanjangan hingga bagian bawah *yolc sac* terkadang hingga disertai pendesakan jantung yang membesar ke arah *yolc sac*, (3) denyut jantung yang menyebar di seluruh perikardium yang membesar artinya jantung juga mengalami pembesaran atau elongasi yang ditandai dengan denyutannya yang memenuhi seluruh perikardium, dan (4) bagian jantung di bawah *yolc sac* berwarna kemerahan bukan merupakan suatu abnormalitas karena kemerahan tersebut adalah darah.





Gambar 5.3 Perbandingan Perubahan Morfologi Jantung Kelompok Kontrol dan Perlakuan

→	: jantung normal	→	: pembesaran jantung
→	: elongasi jantung dan perikardium	→	: pembesaran ekstrim jantung
→	: pendesakan jantung menuju <i>yolc sac</i>		

Keterangan:

Perbesaran 45x, 1 garis pada gambar mewakili 0,1 mm pada ukuran sesungguhnya, gambar hasil *crop* sehingga tampak fokus pada area jantung. A) Kontrol, B) P1 normal, C) P1 dengan elongasi jantung, D) P2 dengan pembesaran dan elongasi jantung, E) P3 dengan pembesaran ekstrim dan elongasi jantung, F) P3 dengan pembesaran dan elongasi jantung

Beberapa gambaran abnormalitas morfologis jantung ditemukan pada kelompok perlakuan ketika dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 5.3). Gambar A merupakan jantung larva ikan zebra 72 *hpf* dari kelompok kontrol, terlihat morfologi jantung yang normal. Gambar B dan C merupakan morfologi jantung larva kelompok yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau konsentrasi 125 *ppm*. Pada gambar B tampak morfologi jantung yang normal dan tidak ada perubahan dari kelompok kontrol, tetapi pada gambar C tampak elongasi perikardium dan jantung hingga bagian bawah *yolc sac*, juga tampak denyut jantung yang menyebar di seluruh perikardium disertai bagian jantung di bawah *yolc sac* berwarna kemerahan. Gambar D adalah morfologi jantung larva ikan zebra yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau dengan konsentrasi 250 *ppm*. Pada gambar D tampak pembesaran disertai elongasi jantung dan perikardium hingga mendesak bagian bawah *yolc sac*, juga tampak denyut jantung yang menyebar di seluruh perikardium disertai bagian jantung di bawah *yolc sac* berwarna kemerahan. Gambar E dan F merupakan morfologi jantung larva kelompok yang dipapar ekstrak etanol daun teh hijau konsentrasi 500 *ppm*. Pada gambar E tampak jantung dan perikardium yang mengalami penonjolan ekstrim disertai elongasi hingga bagian bawah *yolc sac*, juga tampak denyut jantung yang menyebar di seluruh perikardium disertai bagian jantung di bawah *yolc sac* berwarna kemerahan. Pada gambar F tampak pembesaran disertai elongasi jantung dan perikardium hingga mendesak bagian bawah *yolc sac*, juga tampak denyut jantung yang menyebar di seluruh perikardium.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan pada abnormalitas morfologis jantung maka data dianalisis secara statistik. Analisis data



dalam penelitian ini menggunakan program statistik SPSS 12 dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ).

Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel  $<50$ . Menurut uji *Shapiro-Wilk* nilai signifikansi masing-masing kelompok sebesar 0,137 sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil uji normalitas data menunjukkan semua data terdistribusi normal ( $p>0,05$ ). Setelah memenuhi uji normalitas, dilanjutkan dengan uji homogenitas varian data untuk mengetahui varian data adalah sama atau tidak. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,067 ( $p>0,05$ ), dapat disimpulkan bahwa data memiliki varian yang homogen atau sejenis.

Setelah memenuhi uji normalitas dan homogenitas, dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* terhadap frekuensi denyut jantung diperoleh nilai  $p=0,000$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua perlakuan ( $p<0,05$ ). Selanjutnya, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna, maka digunakan *Post Hoc Test* dengan menggunakan salah satu fungsi *Tukey*. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test*, kelompok yang menunjukkan perbedaan bermakna yaitu antara kelompok kontrol dan P2 ( $p=0,001$ ), kelompok kontrol dan P3 ( $p=0,000$ ), serta kelompok P1 dengan P2 ( $p=0,010$ ), kelompok P1 dengan P3 ( $p=0,000$ ), dan kelompok P2 dengan P3 ( $p=0,44$ ). Sedangkan kelompok yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna adalah kelompok kontrol dengan P1 ( $p=0,205$ ).

Uji korelasi juga dilakukan untuk mengetahui seberapa besar hubungan antara pemaparan ekstrak etanol daun teh mempengaruhi abnormalitas morfologi jantung. Hasil uji korelasi adalah 0,949 yang memiliki arti apabila nilai yang semakin mendekati 1 menunjukkan bahwa korelasi yang semakin kuat

antara daun teh hijau terhadap abnormalitas morfologi jantung larva ikan zebra. Sedangkan, notasi positif (+) menunjukkan hubungan yang sinergis, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun teh hijau membuat semakin banyak pula kejadian abnormalitas morfologi jantung larva ikan zebra. Uji regresi kuadratik ( $R^2$ ) untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak etanol *Camellia sinensis* dalam penurunan frekuensi denyut jantung dengan hasil sebesar 0,900, yang artinya 90% abnormalitas morfologi jantung diakibatkan oleh paparan ekstrak etanol daun teh hijau, dan 10% akibat dari faktor lainnya.

