

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Pemeriksaan Ekspresi *Bcl-2*

Pada penelitian ini, pemaparan genistein terhadap embrio zebrafish dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok paparan genistein 5 μ M sejak 2 *hpf*, 24 *hpf*, dan 48 *hpf* yang masing-masing terdiri dari 30 embrio zebrafish. Pemaparan dilakukan hingga 72 *hpf* dan embrio yang mati dikeluarkan dari sampel penelitian. Dari sampel yang hidup diambil 20 sampel larva zebrafish secara acak untuk dilakukan pemeriksaan ekspresi *Bcl-2* dengan metode *Real-Time PCR*. Besar masing-masing sampel sebanyak 20 larva zebrafish merupakan hasil dari optimasi sebelumnya, jika besar sampel < 20 maka tidak ada DNA yang dapat terbaca.

Data yang diperoleh adalah angka *Curve Point* (CP) atau disebut juga *Threshold Cycle* (C_T), yaitu jumlah siklus dimana sinyal fluoresensi dari reaksi amplifikasi PCR dapat terbaca. Nilai C_T ini berbanding terbalik dengan jumlah gen pada sampel sehingga dapat dipakai untuk pemeriksaan realtif kuantitatif ekspresi gen (Gambar 4.1) setelah di normalisasi dengan gen referensi β -aktin (Livak dan Schmittgen, 2001).

Setelah dilakukan normalisasi dengan penghitungan menggunakan rumus Livak, hasil ekspresi gen dapat digunakan untuk menghitung secara relatifkuantitatif. Hasil pemeriksaan ekspresi *Bcl-2* ditampilkan pada tabel 5.1. Hasil ini merupakan ekspresi gen *Bcl-2* relatif terhadap kontrol yang bernilai rasio 1, karena dalam metode Livak kelompok kontrol digunakan sebagai kalibrator. Sehingga hasil yang dapat diinterpretasikan dengan metode ini ialah, bahwa gen *Bcl-2* pada waktu paparan tertentu diekspresikan sebanyak sekian kali dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Ekspresi *Bcl-2* mRNA dengan Rumus Livak

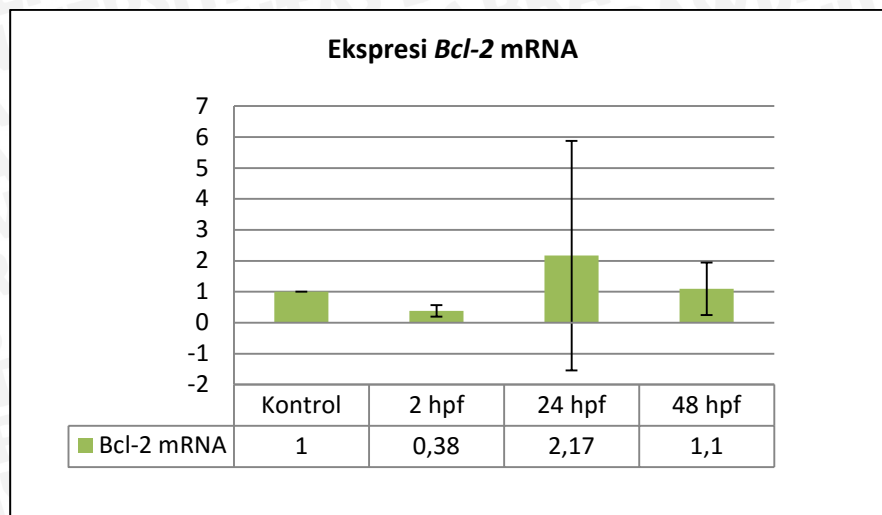
Perlakuan	Kode Pengulangan	Gen	Ekspresi Gen*	Rata-rata	Standar Deviasi
Kontrol (Calibrator)	1	<i>Bcl-2</i>	1	1	0
	2	<i>Bcl-2</i>	1		
	3	<i>Bcl-2</i>	1		
2 hpf (test)	1	<i>Bcl-2</i>	0.37113089	0.387907263	±0.1866377
	2	<i>Bcl-2</i>	0.58236679		
	3	<i>Bcl-2</i>	0.2102241		
24 hpf (test)	1	<i>Bcl-2</i>	0.00765172	2.170054459	±3.70931442
	2	<i>Bcl-2</i>	6.45313407		
	3	<i>Bcl-2</i>	0.04937758		
48 hpf (test)	1	<i>Bcl-2</i>	0.13584186	1.108060577	±0.84780394
	2	<i>Bcl-2</i>	1.49484925		
	3	<i>Bcl-2</i>	1.69349062		

Keterangan :

*ekspresi gen setelah normalisasi dengan gen referensi β -actin

Pada Tabel 5.1 dapat dilihat rata-rata dari ekspresi *Bcl-2*. Penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok yang diberi paparan genistein pada 2, 24 dan 48 hpf berturut-turut mengekspresikan *Bcl-2* sebanyak 0.38, 2.17, dan 1.1 kali dibandingkan dengan ekspresi *Bcl-2* pada kelompok kontrol.

Dengan hasil seperti pada Gambar 5.2, dapat dilihat bahwa pada paparan yang diberikan sejak 2 hpf terdapat penurunan ekspresi *Bcl-2* jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok dengan paparan genistein sejak 24 hpf dan kelompok dengan paparan genistein sejak 48 hpf terdapat peningkatan ekspresi *Bcl-2* jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.



Gambar 5.1 Hasil pemeriksaan rata-rata ekspresi *Bcl-2* mRNA pada sampel dengan tiga kali pengulangan

5.2 Analisa Data

Sebelum dilakukan uji *One-Way ANOVA* maka dilakukan uji normalitas ekspresi gen *Bcl-2* dengan software SPSS 17 untuk mengetahui apakah distribusi sampel normal atau tidak. Nilai signifikansi yang diterima adalah lebih besar dari 0.05. Uji normalitas dengan metode Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada kelompok dengan paparan genistein 5µM adalah 0.077. Karena signifikansi untuk seluruh kelompok waktu paparan sejak 2, 24, dan 48 *hpf* lebih besar dari 0.05, maka sampel dinyatakan berdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian dengan *Levene Test*. Data yang memenuhi syarat adalah jika varian sampel sama atau subjek berasal dari kelompok yang homogen, yaitu jika nilai signifikansi lebih besar dari 0.05. Hasil uji homogenitas ekspresi gen *Bcl-2* dengan SPSS 17 menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0.002 lebih kecil dari 0.05. Dapat disimpulkan keempat varian kelompok sampel tidak homogen.

Hasil analisis dari uji normalitas dan uji homogenitas tersebut tidak memenuhi syarat untuk dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*, sehingga dilakukan uji Kruskal-Wallis sebagai alternatif. Pada uji Kruskal-Wallis dilakukan dengan software SPSS 17 untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan ekspresi *Bcl-2* dalam semua kelompok. Pada uji Kruskal-Wallis dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$) didapatkan hasil sebesar 0.551. Nilai ini lebih besar dari $p = 0.05$ sehingga dapat dikatakan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan ekspresi *Bcl-2* yang signifikan pada keseluruhan perlakuan antara perbedaan waktu paparan genistein. Dengan hasil tersebut, analisa data tidak perlu dilanjutkan ke uji *post-hoc* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

