

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

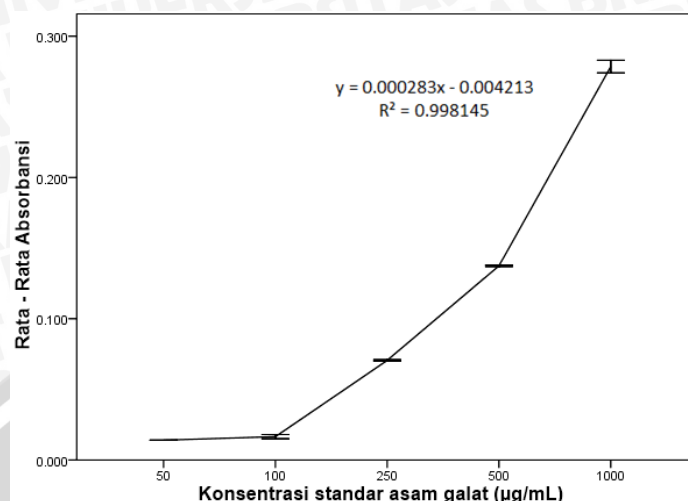
5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Uji Kuantitatif Ekstrak

Penelitian ini menggunakan dua tanaman, daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang diekstrak menggunakan metode ekstraksi dingin (maserasi) dan panas (soxhlet) di laboratorium Farmasi FKUB dan LSIH UB.

5.1.1.1 Fenol Total

Kandungan Fenol Total pada ekstrak etanol daun salam dan daun sirih merah dengan dua metode ekstraksi ditentukan dengan menggunakan metode *colorimetric assay* yang dideskripsikan dalam Perumal *et al* (2012) dengan beberapa modifikasi menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat. Pada Gambar 5.1 menunjukkan kurva baku standar asam galat pada rentang konsentrasi 50 - 1000 µg/ml. Yang menunjukkan nilai R^2 0,998 sedangkan kandungan total fenol pada ekstrak berdasarkan uji dengan *colorimetric assay* dapat dilihat pada Tabel 5.1.



Gambar 5.1 Kurva baku standar asam galat

Tabel 5.1 Kandungan Fenol Total Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirih Merah

Sampel Ekstrak	Metode Ekstraksi	Total Fenol Total (GAE/gram ekstrak)
Salam	Maserasi	47,706 mg
	Soxhlet	62,465 mg
Sirih Merah	Maserasi	48,775 mg
	Soxhlet	96,470 mg

Pada uji fenol total, dapat disimpulkan bahwa (1) total fenol dalam ekstrak daun salam lebih sedikit dibandingkan dengan total fenol pada ekstrak daun sirih merah pada metode maserasi maupun soxhlet, (2) total fenol yang diperoleh dengan metode maserasi lebih sedikit dibandingkan dengan metode ekstraksi soxhlet baik pada daun salam maupun sirih merah, (3) total fenol ekstrak daun sirih merah soxhlet > salam soxhlet > sirih merah maserasi > salam maserasi.

5.1.1.2 Flavonoid Total

Total flavonoid pada ekstrak etanol daun salam dan daun sirih merah dengan dua metode ekstraksi ditentukan dengan menggunakan metode $AlCl_3$ spektrometri. Hasil total flavonoid pada ekstrak dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Salam dan Daun Sirih Merah

Sampel Ekstrak	Metode Ekstraksi	Total Fenol Total
Salam	Maserasi	4,615%
	Soxhlet	2,885%
Sirih Merah	Maserasi	6,07%
	Soxhlet	5,205%

Pada uji flavonoid total, dapat disimpulkan bahwa : (1) flavonoid total dalam ekstrak daun salam lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak daun sirih merah pada metode maserasi maupun soxhlet, (2) flavonoid total dengan metode maserasi lebih banyak dibandingkan dengan metode ekstraksi soxhlet baik pada ekstrak daun salam maupun ekstrak daun sirih merah, (3) flavonoid total ekstrak daun sirih merah maserasi > sirih merah sokletasi > salam maserasi > salam sokletasi.

5.1.2 Uji Jalur Mekanisme Anti-kanker

5.1.2.1 HSP70

5.1.2.1.1 Ekspresi HSP70

Berdasarkan hasil perhitungan sel, jumlah sel yang mengekspresikan HSP70 dibandingkan dengan jumlah total sel didapatkan indeks ekspresi HSP70. Indeks ekspresi HSP70 setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.3 dan Tabel 5.4.

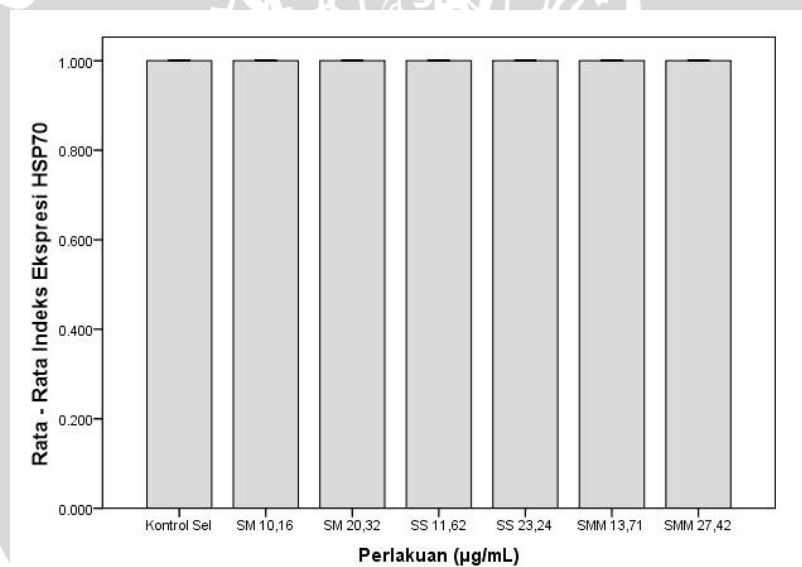
Tabel 5.3 Indeks ekspresi HSP70 pada Sel HeLa dengan Pemberian Ekstrak Tunggal

Perlakuan ekstrak tunggal	Indeks Ekspresi HSP70			Rata – rata indeks Ekspresi	SD	Signifikansi
	1	2	3			
Kontrol sel	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	Tidak ada perbedaan hasil pada semua jenis perlakuan
Salam Maserasi 10,16 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Salam Maserasi 20,32 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Salam Soxhlet 11,62 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Salam Soxhlet 23,24 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	

Tabel 5.4 Indeks Ekspresi HSP70 pada Sel HeLa dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi

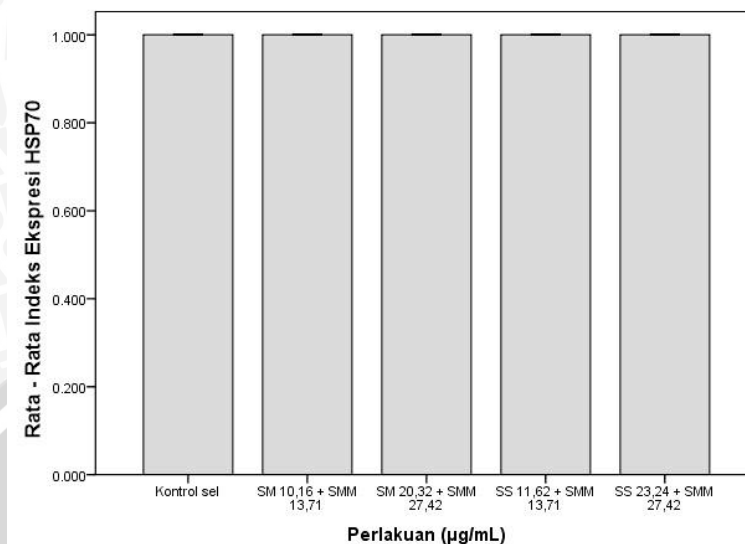
Perlakuan ekstrak tunggal	Indeks Ekspresi HSP70			Rata – rata indeks Ekspresi	SD	Nilai p
	1	2	3			
Kontrol sel	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	Tidak ada perbedaan hasil pada semua jenis perlakuan
Salam maserasi 10,16 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Salam maserasi	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	

20,32 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL						
Salam soxhlet 11,62 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	
Salam soxhlet 23,24 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	1,000	1,000	1,000	1,000	± 0,000	



Gambar 5.2. Indeks ekspresi HSP70 dengan pemberian ekstrak tunggal

Keterangan: Tidak ada perbedaan hasil pada semua jenis perlakuan.



Gambar 5.3 Indeks ekspresi HSP70 dengan pemberian ekstrak kombinasi

Keterangan: Tidak ada perbedaan hasil pada semua jenis perlakuan.

Berdasarkan tabel dan grafik dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak tunggal salam maserasi, salam soxhlet dan sirih merah maserasi pada dosis yang diberikan tidak berpengaruh pada hasil indeks ekspresi HSP70. Nilai indeks ekspresi HSP70 sama pada semua perlakuan maupun kontrol.

Sedangkan untuk pemberian ekstrak kombinasi juga dapat diketahui bahwa pada semua kombinasi dosis yang diberikan tidak berpengaruh pada hasil indeks ekspresi HSP70. Nilai indeks ekspresi HSP70 pada semua perlakuan sama dengan indeks ekspresi HSP70 pada kontrol sel.

5.1.2.1.2 Aktivasi HSP70

Berdasarkan hasil perhitungan sel, jumlah sel yang mengalami aktivasi HSP70 dibandingkan dengan jumlah total sel didapatkan indeks aktivasi HSP70. Indeks aktivasi HSP70 setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.5 dan Tabel 5.6.

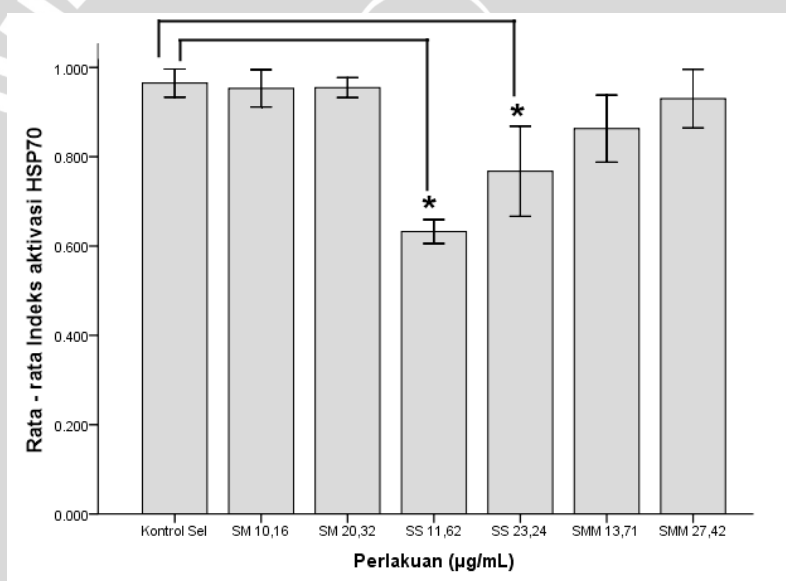
Tabel 5.5 Indeks aktivasi HSP70 pada Sel HeLa dengan Pemberian Ekstrak Tunggal

Perlakuan ekstrak tunggal	Indeks Aktivasi HSP70			Rata – rata indeks aktivasi	SD	Nilai p
	1	2	3			
Kontrol sel	1	0,940	0,954	0,964	± 0,032	0,000
Salam Maserasi 10,16 µg/mL	1	0,920	0,939	0,953	± 0,042	
Salam Maserasi 20,32 µg/mL	0,979	0,950	0,935	0,955	± 0,022	
Salam Soxhlet 11,62 µg/mL	0,662	0,610	0,625	0,632	± 0,027	
Salam Soxhlet 23,24 µg/mL	0,655	0,850	0,797	0,767	± 0,101	
Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	0,949	0,810	0,83	0,863	± 0,075	
Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	1	0,870	0,92	0,930	± 0,066	

Tabel 5.6 Indeks Aktivasi HSP70 pada Sel HeLa dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi

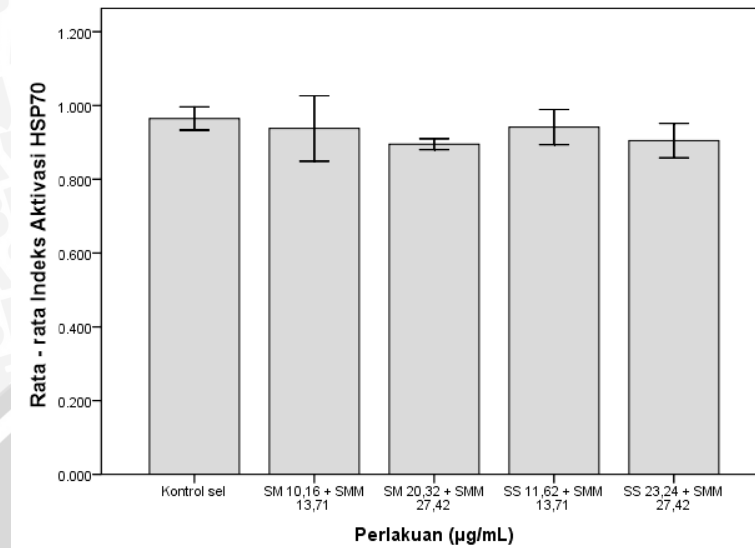
Perlakuan ekstrak Kombinasi	Indeks Aktivasi HSP70			Rata – rata indeks aktivasi	SD	Nilai p
	1	2	3			
Kontrol sel	1	0,94	0,954	0,964	± 0,032	0,499
Salam maserasi 10,16 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	0,836	0,978	0,999	0,937	± 0,089	
Salam maserasi 20,32 µg/mL + Sirih Merah Maserasi	0,898	0,879	0,908	0,895	± 0,015	

27,42 µg/mL					
Salam soxhlet 11,62 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	0,989	0,941	0,894	0,941	± 0,048
Salam soxhlet 23,24 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	0,899	0,861	0,954	0,905	± 0,047



Gambar 5.4. Indeks aktivasi HSP70 dengan pemberian ekstrak tunggal

Keterangan : Simbol * menunjukkan nilai $p < 0,05$. Indeks aktivasi HSP70 pada SS 11,62 µg/mL lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sel ($p = 0,000$). Indeks aktivasi HSP70 pada SS 23,24 µg/mL lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sel ($p = 0,014$).



Gambar 5.5 Indeks aktivasi HSP70 dengan pemberian ekstrak kombinasi

Keterangan: Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kontrol sel dengan semua kelompok perlakuan.

Berdasarkan uji *one way* ANOVA dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak tunggal salam maserasi, salam soxhlet dan sirih merah maserasi pada dosis yang diberikan berpengaruh secara signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70 yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ pada Tabel 5.5. Indeks aktivasi paling rendah sampai paling tinggi adalah sebagai berikut salam soxhlet dosis 11,62 µg/mL; salam soxhlet dosis 23,24 µg/mL; sirih merah maserasi dosis 13,71 µg/mL; sirih merah maserasi dosis 27,42 µg/mL ; salam maserasi dosis 10,16 µg/mL; dan terakhir salam maserasi 20,32 µg/mL. Kontrol sel HeLa tanpa perlakuan memiliki indeks aktivasi HSP70 paling tinggi. Penurunan ekspresi HSP70 dapat menginduksi terjadinya apoptosis.

Sedangkan untuk pemberian ekstrak kombinasi tidak berpengaruh signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70 yang ditunjukkan oleh nilai $p > 0,05$ pada Tabel 5.6.

5.1.2.2 Persentase Kadar ROS

Berdasarkan hasil uji penentuan kadar ROS dengan reagen NBT, kadar ROS pada sel HeLa yang dinyatakan dalam persentase kadar ROS. Persentase kadar ROS dapat dilihat pada Tabel 5.7 dan Tabel 5.8.

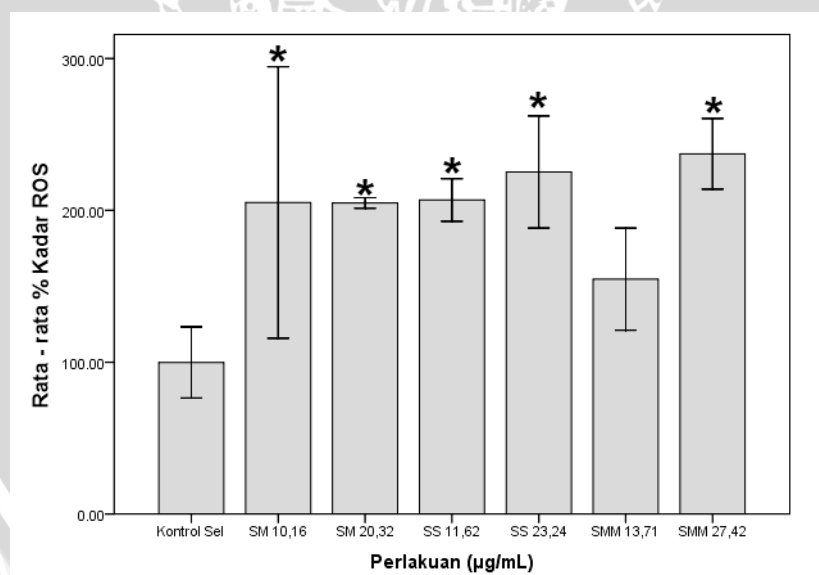
Tabel 5.7 Persentase Kadar ROS pada Sel HeLa dengan Pemberian Ekstrak Tunggal

Perlakuan ekstrak tunggal	% Kadar ROS			Rata – rata % kadar ROS	SD	Nilai p
	1	2	3			
Kontrol sel	143,689	91,262	101,942	99,838	± 23,433	0,001
	81,553	79,612	100,971			
Salam Maserasi 10,16 µg/mL	207,767	293,204	114,563	205,178	± 89,349	
Salam Maserasi 20,32 µg/mL	205,767	200,971	207,767	204,854	± 3,501	
Salam Soxhlet 11,62 µg/mL	222,330	202,913	195,146	206,796	± 14,002	
Salam Soxhlet 23,24 µg/mL	266,019	194,175	215,534	225,243	± 36,893	
Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	193,204	131,068	139,806	154,693	± 33,637	
Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	223,301	224,272	264,078	237,217	± 23,267	

Tabel 5.8 Persentase Kadar ROS pada sel HeLa dengan Pemberian Ekstrak Kombinasi

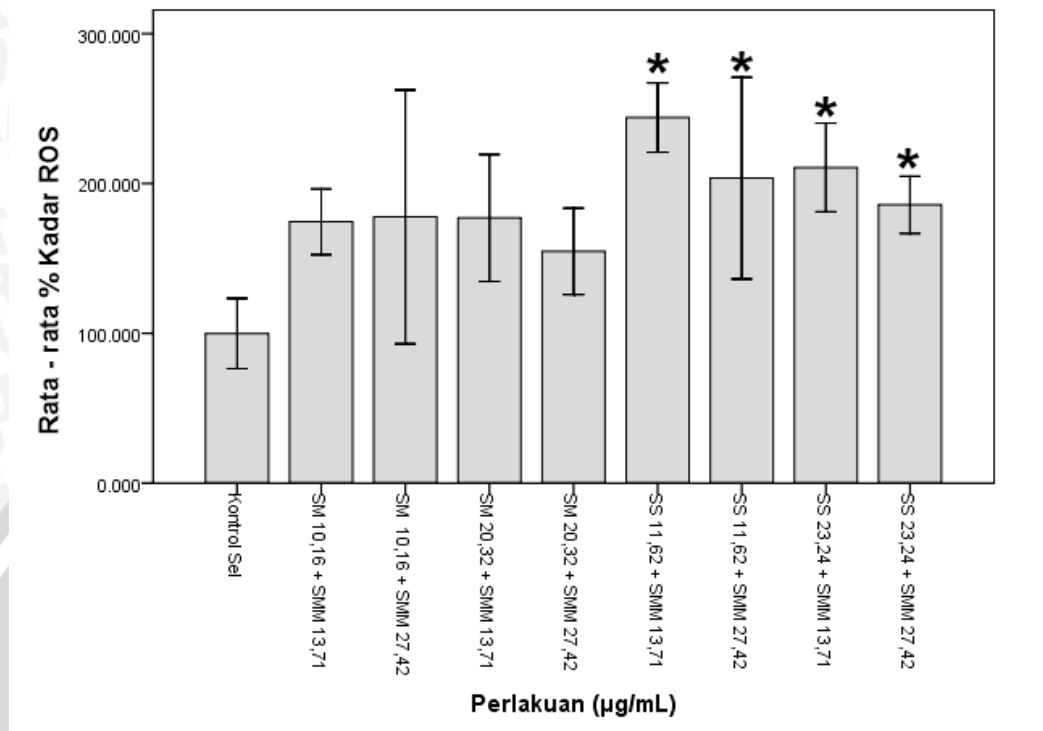
Perlakuan ekstrak Kombinasi	% Kadar ROS			Rata – rata % kadar ROS	SD	Nilai p
	1	2	3			
Kontrol sel	143,689 81,553	91,262 79,612	101,942 100,971	99,838	± 23,433	0,001
Salam maserasi 10,16 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	149,515	190,291	183,495	174,434	± 21,846	
Salam maserasi 20,32 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	185,437	131,068	214,563	177,023	± 42,379	
Salam maserasi 10,16 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	107,767	153,398	271,845	177,670	± 84,689	
Salam maserasi 20,32 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	133,010	143,689	187,379	154,693	± 28,806	
Salam soxhlet 11,62 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	254,369	260,194	217,476	244,013	± 23,166	

Salam soxhlet 23,24 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 13,71 µg/mL	242,718	184,466	204,854	210,854	± 29,560
Salam soxhlet 11,62 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	183,495	148,544	278,641	203,560	± 67,329
Salam soxhlet 23,24 µg/mL + Sirih Merah Maserasi 27,42 µg/mL	193,204	164,078	200,000	185,761	± 19,083



Gambar 5.6 Persentase Kadar ROS pada sel HeLa dengan pemberian ekstrak tunggal

Keterangan: Simbol *menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang dibandingkan dengan kontrol sel



Gambar 5.7 Persentase Kadar ROS pada sel HeLa dengan pemberian ekstrak kombinasi

Keterangan : Simbol *menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang dibandingkan dengan kontrol sel

Berdasarkan uji *one way* ANOVA dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak tunggal salam maserasi, salam soxhlet dan sirih merah maserasi pada dosis yang diberikan berpengaruh secara signifikan terhadap kadar ROS yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ pada Tabel 5.7. Kadar ROS paling tinggi sampai paling rendah adalah sebagai berikut sirih merah maserasi dosis 27,42 µg/mL; salam soxhlet dosis 23,24 µg/mL; salam soxhlet dosis 11,62 µg/mL; salam maserasi dosis 10,16 µg/mL; salam maserasi 20,32 µg/mL; dan terakhir adalah sirih merah maserasi dosis 13,71 µg/mL. Dimana kontrol memiliki kadar ROS paling rendah.

Sedangkan untuk pemberian ekstrak kombinasi juga berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS yang ditunjukkan oleh nilai $p < 0,05$ pada Tabel 5.8. Kadar ROS paling tinggi sampai paling rendah adalah sebagai berikut Salam soxhlet 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$; Salam soxhlet 23,24 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$; Salam soxhlet 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$; Salam soxhlet 23,24 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$; Salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$; Salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$; Salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$; Salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$ + Sirih Merah Maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$. Dimana kontrol sel memiliki kadar ROS yang paling rendah.

Terjadinya peningkatan kadar ROS pada sel HeLa menginduksi apoptosis melalui peningkatan kadar ROS. Dimana peningkatan ROS memainkan peranan penting pada pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Sitokrom c pada sitoplasma akan mengaktifasi caspase-9 yang kemudian akan mengaktifasi caspase-3 dan menginduksi apoptosis sel kanker (Szeto, 2005).

5.2 Analisis Data

5.2.1. HSP70

5.2.1.1 Ekspresi HSP70

5.2.1.1.1 Ekstrak Tunggal

Data penelitian efek pemberian ekstrak tunggal (salam maserasi, salam soxhlet dan sirih merah maserasi) terhadap indeks ekspresi HSP70 seharusnya dianalisis dengan menggunakan *one way ANOVA*. Namun karena semua hasil menunjukkan nilai yang sama yaitu 1,000 pada kontrol sel dan semua perlakuan

maka secara jelas dapat dikatakan bahwa perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh pada hasil (indeks ekspresi HSP70) tanpa menggunakan analisis statistik.

5.2.1.1.2 Ekstrak Kombinasi

Data penelitian efek pemberian ekstrak kombinasi (salam maserasi + sirih merah maserasi dan salam soxhlet + sirih merah maserasi) terhadap indeks ekspresi HSP70 seharusnya dianalisis dengan menggunakan *one way* ANOVA. Namun karena semua hasil menunjukkan nilai yang sama yaitu 1,000 pada kontrol sel dan semua perlakuan maka secara jelas dapat dikatakan bahwa perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh pada hasil (indeks ekspresi HSP70) tanpa menggunakan analisis statistik.

5.2.1.2 Aktivasi HSP70

5.2.1.2.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal

Data penelitian efek pemberian ekstrak tunggal (salam maserasi, salam soxhlet dan sirih merah maserasi) terhadap indeks aktivasi HSP70 pada sel HeLa dianalisis menggunakan *one way* ANOVA. Sebelum dianalisis dengan ANOVA, data harus memenuhi syarat yaitu sebaran data normal dan varian harus sama (homogen). Oleh karena itu maka terlebih dahulu dilakukan tes normalitas (menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50) untuk menguji distribusi data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal atau tidak. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal. Hasil uji normalitas pada kontrol sel adalah 0,430; salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,438; salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$

adalah 0,653; salam soxhlet 11,62 µg/mL adalah 0,542; salam soxhlet 23,24 µg/mL adalah 0,508; sirih merah maserasi 13,71 µg/mL adalah 0,255; sirih merah maserasi 27,42 µg/mL adalah 0,747 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua data terdistribusi normal ($p>0,05$). Hasil tes normalitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 14.

Langkah selanjutnya adalah melakukan uji homogenitas dari varian untuk mengetahui bahwa semua sampel berasal dari varian yang sama. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p>0,05$) artinya semua varian adalah identik (data homogen), sedangkan apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p<0,05$) maka semua varian tidak identik (data tidak homogen). Hasil uji homogenitas untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,082 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua varian pada penelitian ini adalah identik. Hasil uji homogenitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 14.

Setelah data yang didapatkan memenuhi syarat, maka langkah selanjutnya adalah melakukan tes *one way* ANOVA. Penilaian berdasarkan nilai signifikansi, apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p<0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak tunggal berpengaruh signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70 dan apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p>0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak tunggal tidak berpengaruh signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70. Hasil uji dengan *one way* ANOVA untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,000 ($p<0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak tunggal berpengaruh signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70. Hasil uji *one way* ANOVA selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 14.

Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada indeks aktivasi HSP70 antara kelompok kontrol sel dengan salam soxhlet

(SS) dosis 11,62 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,000$; kontrol sel dengan salam soxhlet (SS) dosis 23,24 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,014$. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ dengan SM 10,16 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,000$; SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ dengan SM 20,32 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,000$; SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ dengan SMM 13,71 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,004$; SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ dengan SMM 27,42 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,000$. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan SS 23,24 $\mu\text{g/mL}$ dengan SM 10,16 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,022$; SS 23,24 $\mu\text{g/mL}$ dengan SM 20,32 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p= 0,020$. Hasil *Post Hoc Test* selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 14.

5.2.1.2.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi

Data penelitian efek pemberian ekstrak kombinasi (salam maserasi + sirih merah maserasi dan salam soxhlet + sirih merah maserasi) terhadap indeks aktivasi HSP70 pada sel HeLa dianalisis menggunakan *one way ANOVA*. Sebelum dianalisis dengan ANOVA, data harus memenuhi syarat yaitu sebaran data normal dan varian harus sama (homogen). Oleh karena itu maka terlebih dahulu dilakukan tes normalitas (menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50) untuk menguji distribusi data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal atau tidak. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p>0,05$) maka data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal. Hasil uji normalitas pada kontrol sel adalah 0,430 ; salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,227 ; salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,661 ; salam soxhlet 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,988 ; salam soxhlet 23,24 + sirih merah

maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,799 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil tes normalitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 15.

Langkah selanjutnya adalah melakukan uji homogenitas dari varian untuk mengetahui bahwa semua sampel berasal dari varian yang sama. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) artinya semua varian adalah identic (data homogen), sedangkan apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka semua varian tidak identik (data tidak homogen). Hasil uji homogenitas untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,091 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua varian pada penelitian ini adalah identik. Hasil uji homogenitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 15.

Setelah data yang didapatkan memenuhi syarat, maka langkah selanjutnya adalah melakukan tes *one way* ANOVA. Penilaian berdasarkan nilai signifikansi, apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak tunggal berpengaruh signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70 dan apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak kombinasi tidak berpengaruh signifikan terhadap indeks aktivasi HSP70. Hasil uji dengan *one way* ANOVA untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,499 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kombinasi tidak berpengaruh signifikan terhadap indeks aktifasi HSP70. Hasil uji *one way* ANOVA selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 15.

Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada semua perlakuan yang diberikan. Hasil *Post Hoc Test* selengkapnya dapat dilihat pada lampiran.

5.2.1.3 Persentase Kadar ROS

5.2.1.3.1 Perlakuan Ekstrak Tunggal

Data penelitian efek pemberian ekstrak tunggal (salam maserasi, salam soxhlet dan sirih merah maserasi) terhadap kadar ROS pada sel HeLa dianalisis menggunakan *one way* ANOVA. Sebelum dianalisis dengan ANOVA, data harus memenuhi syarat yaitu sebaran data normal dan varian harus sama (homogen). Oleh karena itu maka terlebih dahulu dilakukan tes normalitas (menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50) untuk menguji distribusi data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal atau tidak. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal. Hasil uji normalitas pada kontrol sel adalah 0,111; salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,952; salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,537; salam soxhlet 11,62 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,537; salam soxhlet 23,24 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,561; sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,249; sirih merah maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,040 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil tes normalitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 16.

Langkah selanjutnya adalah melakukan uji homogenitas dari varian untuk mengetahui bahwa semua sampel berasal dari varian yang sama. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) artinya semua varian adalah identic (data homogen), sedangkan apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka semua varian tidak identik (data tidak homogen). Hasil uji homogenitas untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,065 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua varian pada penelitian ini adalah identik. Hasil uji homogenitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 16.

Setelah data yang didapatkan memenuhi syarat, maka langkah selanjutnya adalah melakukan tes *one way* ANOVA. Penilaian berdasarkan nilai signifikansi, apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak tunggal berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS dan apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak tunggal tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS. Hasil uji dengan *one way* ANOVA untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,001 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak tunggal berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS. Hasil uji *one way* ANOVA selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 16.

Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada persentase kadar ROS antara kelompok kontrol sel dengan SM 10,16 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,017$; kontrol sel dengan SM 20,32 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,018$; kontrol sel dengan SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,015$; kontrol sel dengan SS 23,24 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,004$; dan kontrol sel dengan SMM 27,42 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,002$. Namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan SM dengan kelompok perlakuan SS dan kelompok perlakuan SMM pada semua dosis yang diberikan. Hasil *Post Hoc Test* selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 16.

5.2.1.3.2 Perlakuan Ekstrak Kombinasi

Data penelitian efek pemberian ekstrak kombinasi (salam maserasi + sirih merah maserasi dan salam soxhlet + sirih merah maserasi) terhadap kadar ROS pada sel HeLa dianalisis menggunakan *one way* ANOVA. Sebelum dianalisis dengan ANOVA, data harus memenuhi syarat yaitu sebaran data normal dan

varian harus sama (homogen). Oleh karena itu maka terlebih dahulu dilakukan tes normalitas (menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50) untuk menguji distribusi data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal atau tidak. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka data yang akan diuji tersebut terdistribusi normal. Hasil uji normalitas pada kontrol sel adalah 0,111 ; salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,298 ; salam maserasi 10,16 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,521 ; salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,670 ; salam maserasi 20,32 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,356 ; salam soxhlet 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,241 ; salam soxhlet 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,501 ; salam soxhlet 23,24 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 13,71 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,672 ; salam soxhlet 23,24 $\mu\text{g/mL}$ + sirih merah maserasi 27,42 $\mu\text{g/mL}$ adalah 0,342 sehingga dapat disimpulkan bahwa semua data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil tes normalitas selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 17.

Langkah selanjutnya adalah melakukan uji homogenitas dari varian untuk mengetahui bahwa semua sampel berasal dari varian yang sama. Bila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) artinya semua varian adalah identic (data homogen), sedangkan apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka semua varian tidak identik (data tidak homogen). Hasil uji homogenitas untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,029 (Hasil uji homogenitas selengkapnya dapat dilihat pada lampiran) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data tidak sama, maka syarat untuk melakukan uji *one way ANOVA* tidak terpenuhi. Oleh karena itu harus dilakukan transformasi data supaya diperoleh varian yang sama. Hasil uji homogenitas untuk data yang telah ditransform

menunjukkan nilai p sebesar 0,198 sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data sama. Hasil uji homogenitas data transform dapat dilihat di Lampiran 17.

Setelah data yang didapatkan memenuhi syarat, maka langkah selanjutnya adalah melakukan tes *one way* ANOVA. Penilaian berdasarkan nilai signifikansi, apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak tunggal berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS dan apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka perlakuan pemberian ekstrak kombinasi berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS. Hasil uji dengan *one way* ANOVA untuk data ini menunjukkan nilai p sebesar 0,001 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kombinasi berpengaruh signifikan terhadap kadar ROS. Hasil uji *one way* ANOVA selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 17.

Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kadar ROS antara kelompok kontrol sel dengan SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + SMM 13,71 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,001$; kelompok kontrol sel dengan SS 11,62 $\mu\text{g/mL}$ + SMM 27,42 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,011$; kelompok kontrol sel dengan SS 23,24 $\mu\text{g/mL}$ + SMM 13,71 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai $p = 0,005$; kelompok kontrol sel dengan SS 23,24 $\mu\text{g/mL}$ + SMM 27,42 dengan nilai $p = 0,023$. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan SS + SMM pada semua dosis yang diberikan. Hasil *Post Hoc Test* selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 17.