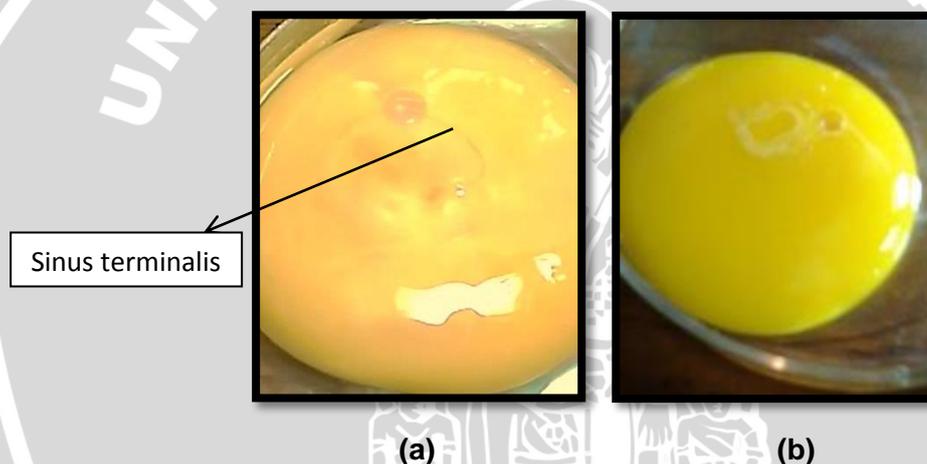


BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Pengaruh Pemberian Genistein terhadap *Survival Rate* Embrio Ayam Umur 48 Jam

Hasil pengamatan *survival rate* pada embrio ayam adalah dengan melihat embrio tersebut hidup atau mati. Kriteria disebut hidup adalah dengan minimal adanya sinus terminalis. Kriteria mati dalam hal ini adalah tidak ada sinus terminalis pada pengamatan, bisa terdapat *blood islands* maupun tidak. Embrio yang hidup dan mati dapat dilihat pada gambar 5.1.



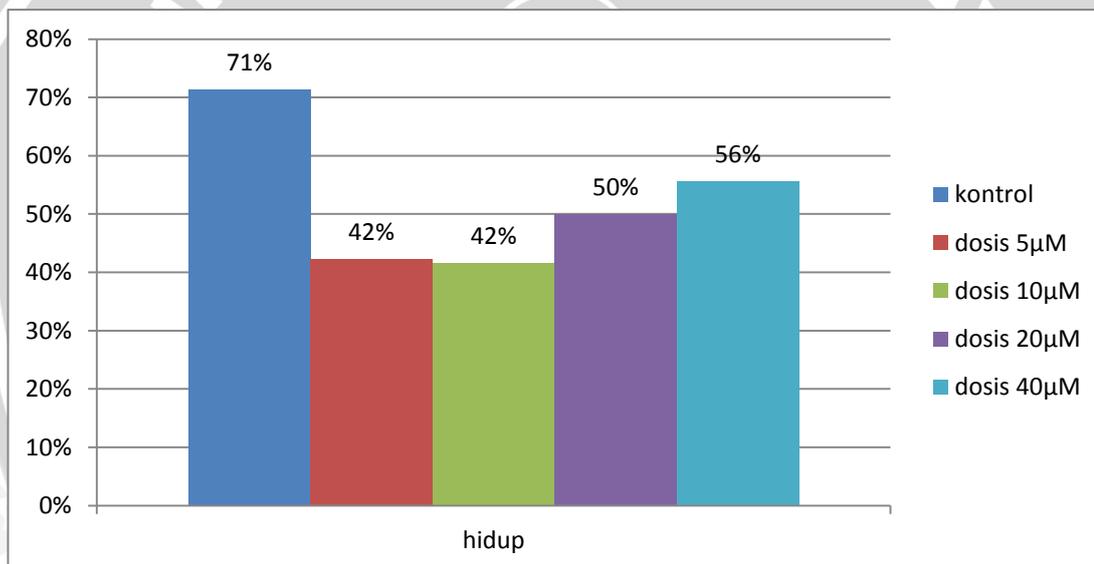
Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Embrio Ayam Umur 48 Jam; (a) Embrio ayam hidup; (b) Embrio ayam mati

Perhitungan *survival rate* dilakukan dengan menghitung persentase embrio hidup dan embrio mati, persentase *survival rate* dapat dilihat pada tabel dan grafik batang berikut. Pada grafik nampak kemampuan bertahan hidup pada kelompok kontrol paling tinggi di antara dosis lain, menurun pada dosis $5\mu\text{M}$, turun lagi pada dosis $10\mu\text{M}$, namun *survival rate* meningkat kembali pada dosis $20\mu\text{M}$ dan dosis $40\mu\text{M}$. Hasil analisis *survival rate* menggunakan uji *Chi-Square* menunjukkan bahwa embrio ayam umur 48 jam yang dipapar Genistein dengan

berbagai doss ini tidak mengalami penurunan *survival rate* secara signifikan ($p>0.05$). Hasil analisis dengan Uji *Chi-Square* ada pada Lampiran 4.

Tabel 5.1 Hasil Pengamatan *Survival rate* pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein

Persentase (%)	Dosis (μM)				
	0	5	10	20	40
Mati	28.57	57.69	58.33	50	44.44
Hidup	71.43	42.31	41.67	50	55.56
Total	100	100	100	100	100



Gambar 5.2 Hasil Pengamatan *Survival rate* Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein

5.2 Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Jumlah Somit Embrio Ayam Umur 48 Jam

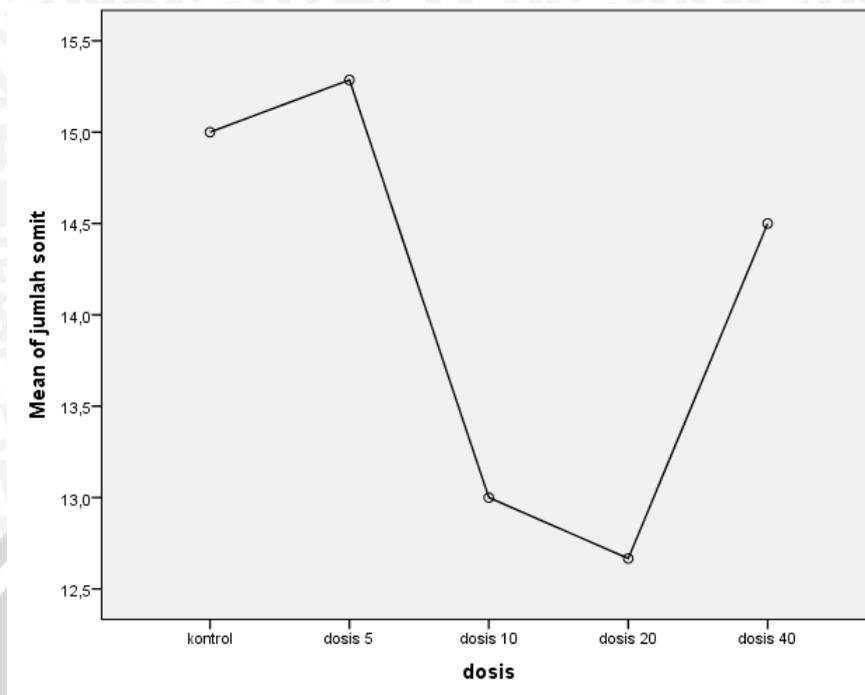
Morfologi embrio ayam dilihat melalui perhitungan jumlah somit. Jumlah somit normal embrio ayam umur 48 jam adalah 16-19 somit. Pemberian Genistein pada embrio ayam menunjukkan jumlah perhitungan somit yang

berbeda-beda tiap dosis, terhadap kontrol juga berbeda. Pada kontrol, rata-rata jumlah somit lebih banyak dibandingkan dengan kelompok perlakuan.

Pada kelompok perlakuan, dosis 20 μ M merupakan dosis yang memiliki rata-rata somit paling sedikit, menunjukkan terhambatnya pembentukan morfologi embrio, khususnya bagian muskuloskeletal. Perkembangan morfologi embrio yang dilihat melalui rata-rata jumlah somit, pada dosis 5 μ M rata-rata jumlah somit meningkat, kemudian menurun pada dosis 10 μ M dan 20 μ M, lalu meningkat lagi pada dosis 40 μ M, namun peningkatan rata-rata jumlah somit pada dosis 40 μ M tidak mencapai rata-rata jumlah somit pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dosis 5 μ M. Pada uji Anova *One-Way* terhadap perbandingan rata-rata jumlah somit terhadap kelompok kontrol dan perlakuan tidak menunjukkan suatu perubahan yang bermakna ($p \geq 0.05$). Uji Anova *One-Way* pada peningkatan rerata jumlah somit dosis 5 μ M terhadap kontrol tidak signifikan ($p > 0.05$). Hasil pengamatan terhadap jumlah somit dapat dilihat pada tabel dan grafik berikut. Hasil analisis statistik dengan Anova *One-Way* ada pada Lampiran 5.

Tabel 5.3 Hasil Perhitungan Jumlah Somit pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein

Dosis (μ M)	0	5	10	20	40
Rerata jumlah somit	15.00 \pm 2.160	15.28 \pm 1.976	13.00 \pm 2.683	12.67 \pm 4.885	14.50 \pm 5.718



Gambar 5.3 Hasil Penghitungan Jumlah Somit pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein

5.3 Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah Embrio Ayam Umur 48 Jam

Embrio ayam pada umur 48 jam, pada tahapan perkembangan embrio ayam Hamburger dan Hamilton, seharusnya sudah terbentuk jantung. Sehingga, tahapan perkembangan vaskuler yang telah dilalui sebelum itu, adalah terbentuknya *blood islands*, lalu mulai terbentuk *primary capillary streak*, kapiler, lalu pada tahap ini terbentuklah jantung embrio ayam. Sehingga, dalam penelitian ini pengamatan dilakukan pada kematian, hidup dengan adanya *Blood islands*, kapiler, maupun sudah terbentuk jantung.

Pada hasil pengamatan, tahapan pembentukan vaskuler pada embrio ayam umur 48 jam, jantung paling banyak terbentuk pada kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok perlakuan terdapat perbedaan jumlah embrio yang sudah terbentuk jantung, namun tidak berurutan dari dosis terkecil hingga terbesar. Pada pembentukan jantung, embrio dengan paparan Genistein dosis

10 μ M secara signifikan ($p \leq 0.05$) mengalami penurunan yang bermakna terhadap jumlah embrio yang sudah terbentuk jantung pada kelompok kontrol. Sedangkan dosis perlakuan yang lain, berdasarkan Uji *Chi-Square*, tidak memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol. Pada Uji Kolmogorov-Smirnov, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol pada semua dosis, terhadap pembentukan jantung. Hasil Uji *Chi-Square Linear-by-Linear Association* menunjukkan hasil yang signifikan terhadap perbedaan tahapan pembentukan pembuluh darah.

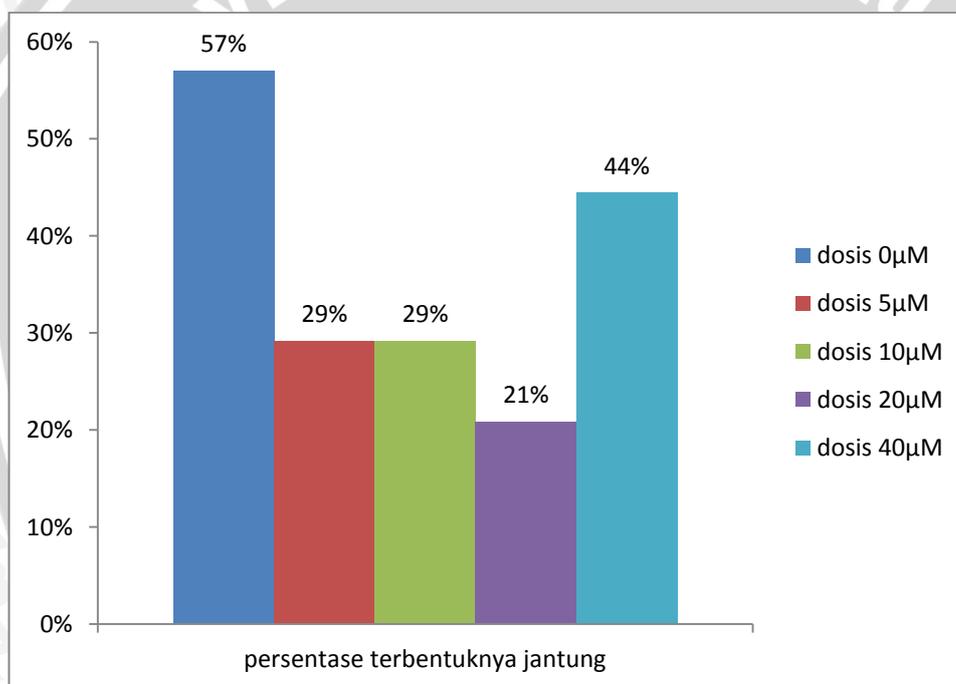
Hasil analisis dengan Uji *Chi-Square* ada pada Lampiran 6. Berikut adalah Tabel hasil pengamatan terhadap tahapan terbentuknya vaskuler pada embrio ayam umur 48 jam pada kelompok kontrol dan perlakuan dan Grafik persentase terbentuknya jantung embrio umur 48 jam dengan paparan Genistein.

Tabel 5.3 Hasil Pengamatan Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein

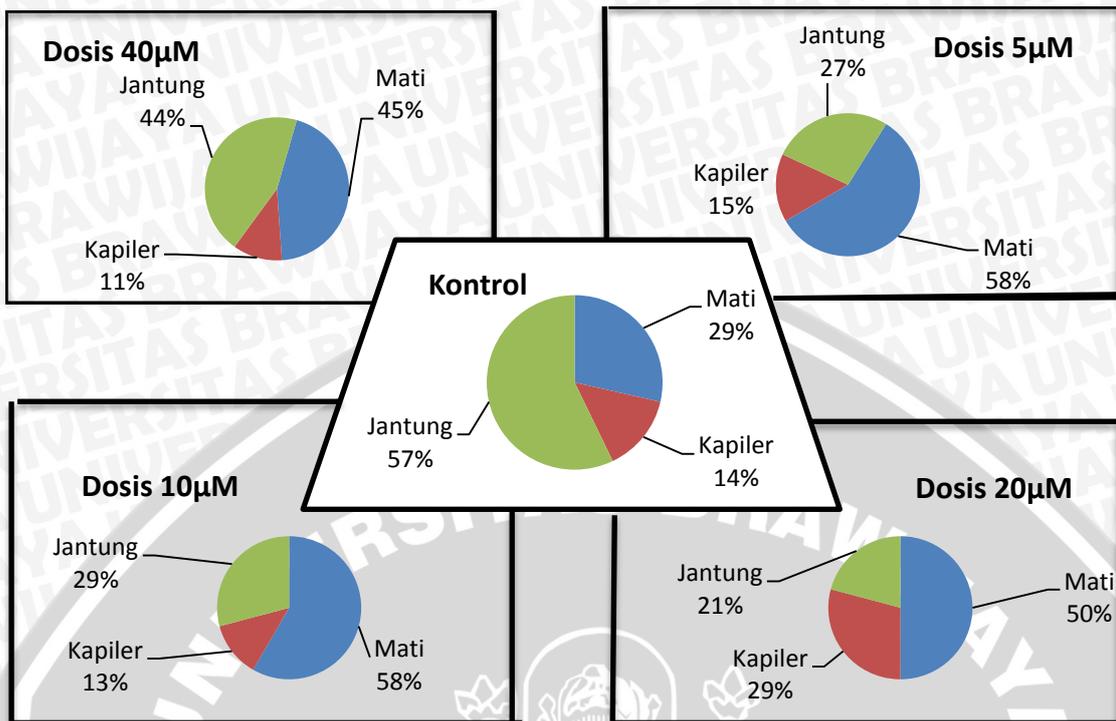
Tahapan Pembentukan Vaskuler	Dosis				
	0 μ M (kontrol)	5 μ M	10 μ M	20 μ M	40 μ M
Mati	4	15	14	12	8
jantung	8	7	7	5	8
Kapiler	2	4	3	7	2
Total	14	26	24	24	18

Tabel 5.4 Persentase Tahapan Pembentukan Pembuluh Darah pada Embrio Ayam Umur 48 Jam

Tahapan Pembentukan Vaskuler (%)	Dosis (μM)				
	0 μM (kontrol)	5 μM	10 μM	20 μM	40 μM
Mati	28.57	57.69	58.33	50	44.44
jantung	57.14	26.92	29.16	20.83	44.44
Kapiler	14.28	15.38	12.5	29.16	11.11
Total	100	100	100	100	100



Gambar 5.4 Hasil Pengamatan Persentase Terbentuknya Jantung pada Embrio Ayam Umur 48 Jam dengan Paparan Genistein



Gambar 5.5 Hasil Pengamatan Persentase pada Tahapan Perkembangan Pembuluh Darah

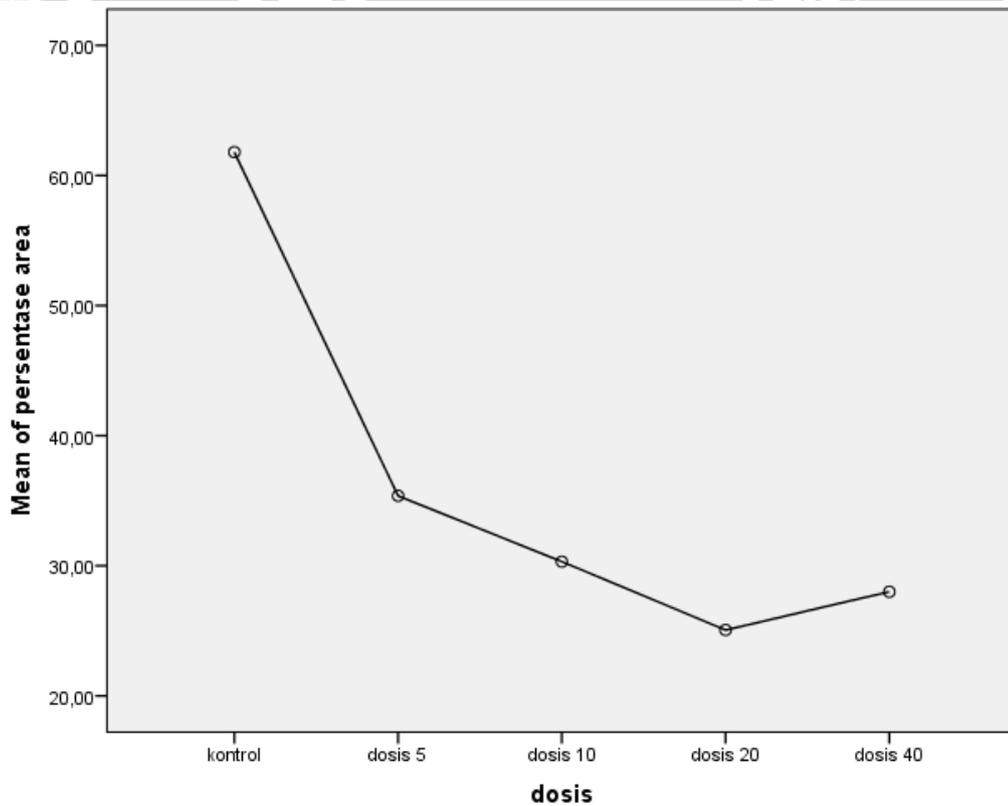
5.4 Pengaruh Pemberian Genistein terhadap Ekspresi VEGFR-2 Embrio Ayam Umur 48 Jam

Ekspresi VEGFR-2 merupakan marker pada proses vaskulogenesis dan angiogenesis. Pada embrio, VEGFR-2 diekspresikan lebih dominan saat proses angiogenesis, jika dibandingkan dengan reseptor VEGF yang lain. Oleh karena itu, persentase area ekspresi VEGFR-2 yang banyak menunjukkan kegiatan vaskuloangiogenesis yang sedang berlangsung. Pada hasil penelitian, ekspresi VEGFR-2 pada kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Data statistik Uji Anova-One-Way ada pada lampiran 7. Genistein dengan dosis 20µM memiliki ekspresi VEGFR-2 paling rendah jika dibandingkan dengan dosis yang lain, sedangkan pada dosis 40µM ekspresi VEGFR-2 meningkat lagi namun tetap lebih rendah dibandingkan

dengan dosis yang lain, dan peningkatan persentase area pada dosis 40µM tidak signifikan dibanding dosis 20µM. Tabel dan grafik akan ditampilkan berikut:

Tabel 5.5 Persentase Area dengan Ekspresi VEGFR-2

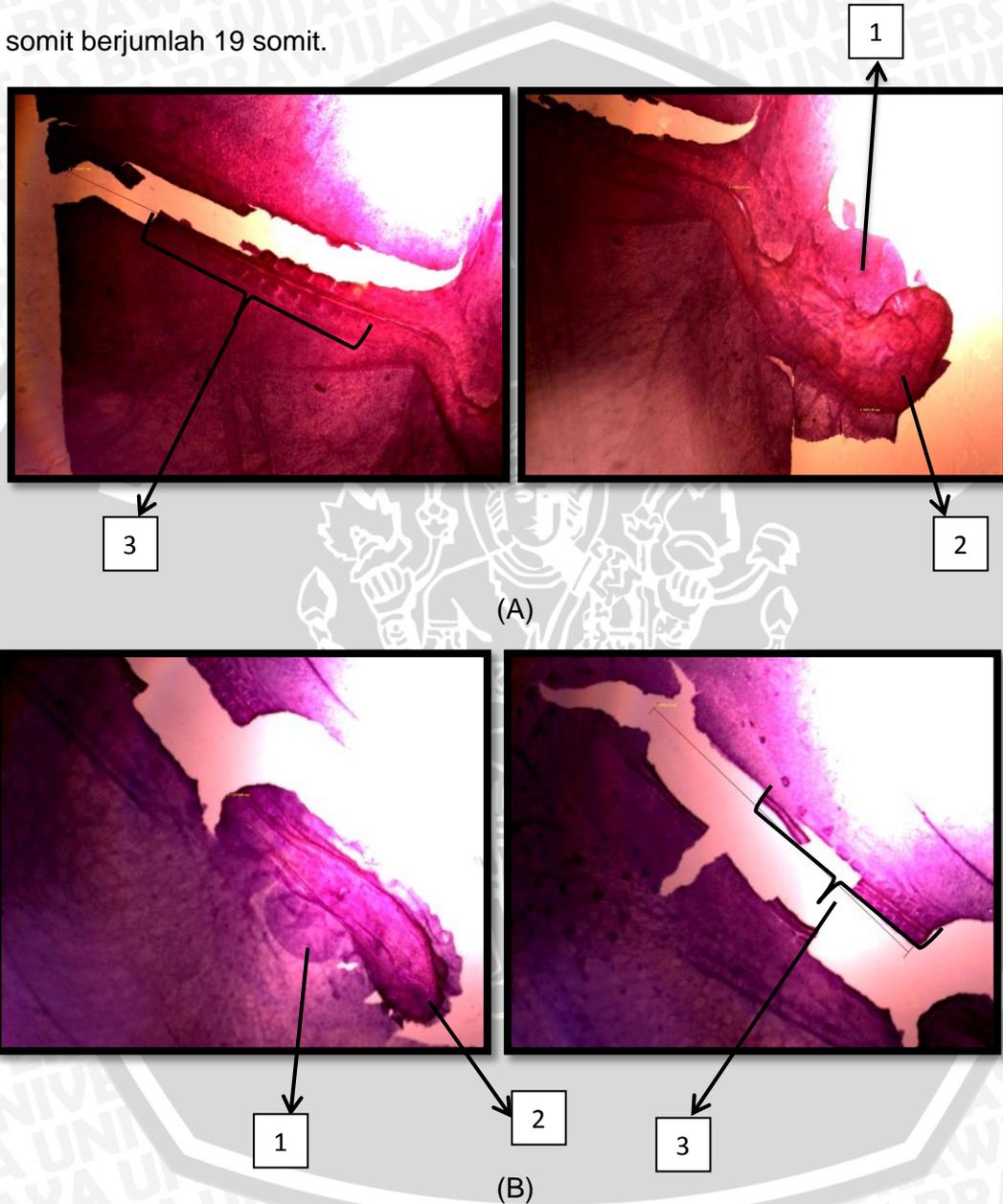
Rerata Persentase area VEGFR-2 (%)	Dosis (µM)				
	0	5	10	20	40
	61.80%	35.38%	30.32%	25.06%	28.00%

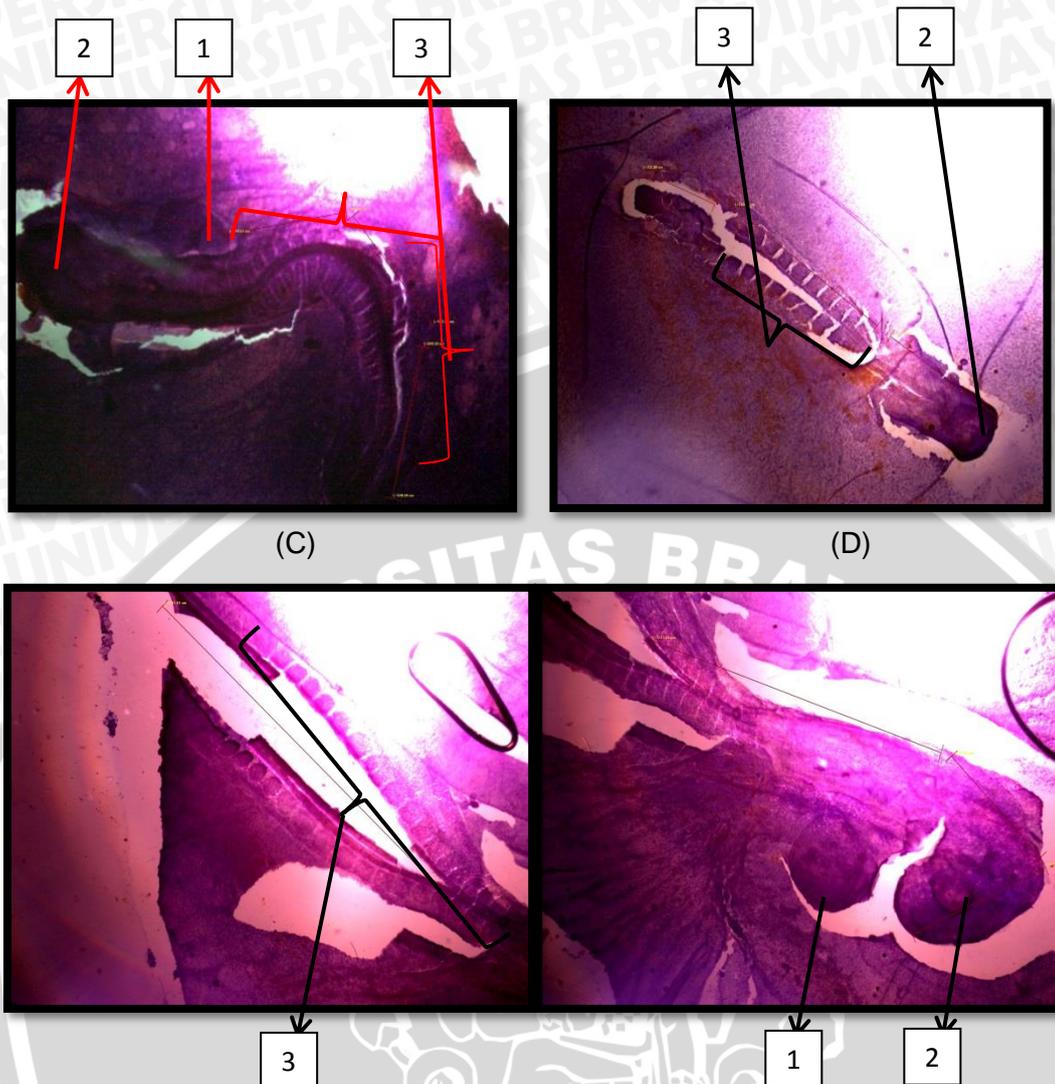


Gambar 5.6 Hasil Pengamatan Persentase Area Ekspresi VEGFR-2 Embrio Umur 48 jam dengan Paparan Genistein

Secara kualitatif, embrio ayam umur 48 jam yang merupakan kelompok kontrol misalnya, dalam contoh gambar 5.7(A). Embrio ayam kelompok kontrol yang hanya diberikan injeksi NaCl 0.9% memiliki kepala yang sudah flexi, terdapat jantung, 16 somit. Pada embrio ayam dengan paparan Genistein dosis 5µM,

pada gambar 5.7(B), kepala embrio juga sduah flexi, terdapat jantung, 16 somit.
 Pada embrio ayam dosis 10 μ M, Gambar 5.7(C), kepala belum flexi, terdapat jantung, 20 somit, pada dosis 20 μ M kepala belum flexi, belum terbentuk jantung, 10 somit, sedangkan pada dosis 40 μ M, kepala sudah flexi, terdapat jantung dan somit berjumlah 19 somit.





Gambar 5.7 Embrio Ayam Umur 48 jam (A) dengan injeksi NaCl 0.9%; (B) dengan Paparan Genistein 5 μ M; (C) dengan paparan genistein 10 μ M; (D) dengan paparan Genistein 20 μ M; (E) dengan paparan Genistein 40 μ M

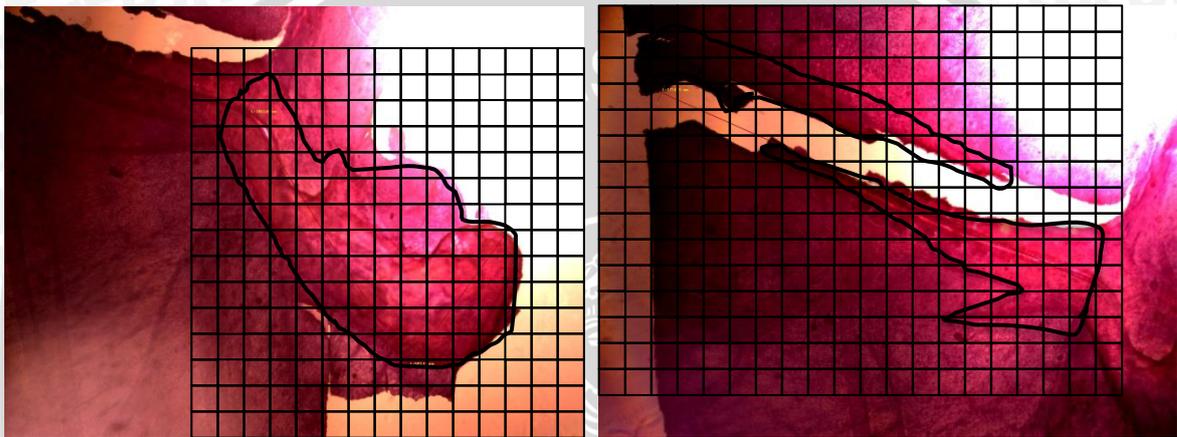
Keterangan Gambar:

1. Jantung
2. Kepala
3. Somit

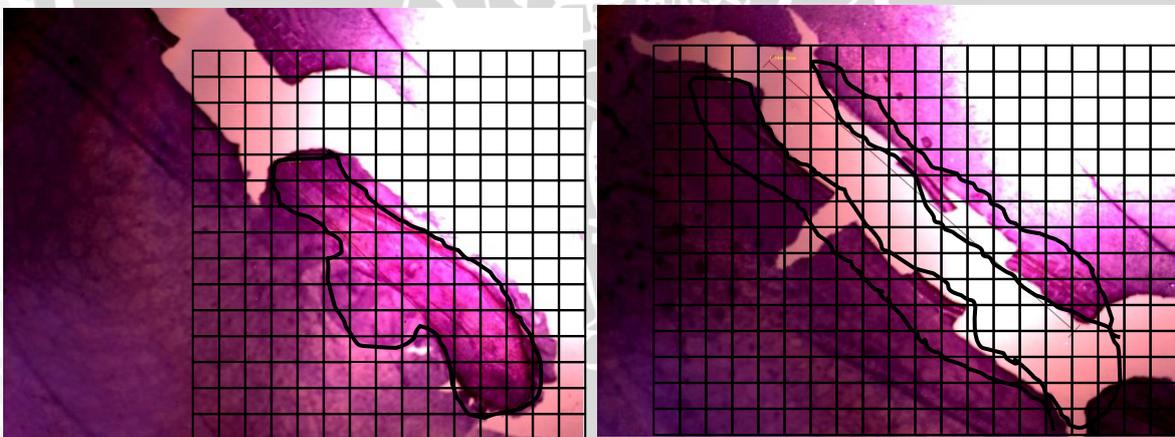
Pewarnaan imunohistokimia, counterstain Meyer, perbesaran mikroskop 400 kali.

Secara kuantitatif dengan perhitungan persentase area VEGFR-2, dosis kontrol memiliki persentase area yang lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan. Pada Gambar 5.7 yang merupakan contoh perhitungan dari persentase are VEGFR-2, dapat dihitung, pada kertas ukuran 5R dan ukuran grid

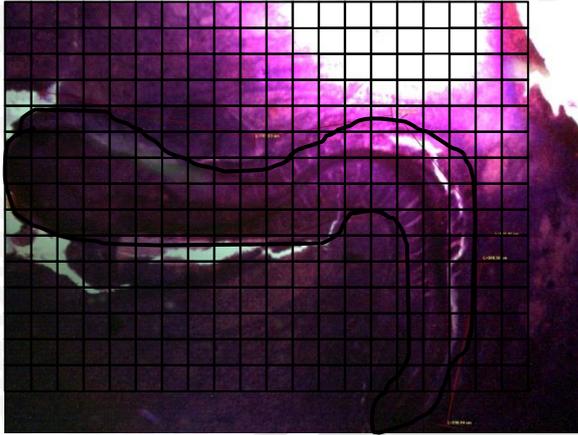
stereologi P4, yaitu: Persentase area = jumlah reaksi (+) pada area ekspresi VEGFR-2 (warna coklat)/ jumlah (+) total area embrio x 100%, persentase area kontrol = $53/81 \times 100 \% = 65.4\%$. Persentase area embrio dengan paparan genistein $5\mu\text{M} = 40/100 \times 100 \% = 40\%$, Persentase area dosis $10\mu\text{M} = 25/78 \times 100 \% = 32\%$, Persentase area dosis $20\mu\text{M} = 14/45 \times 100 \% = 31.1\%$, sedangkan pada paparan Genistein dosis $40\mu\text{M}$, Persentase area = $40/127 \times 100 \% = 31,5\%$.



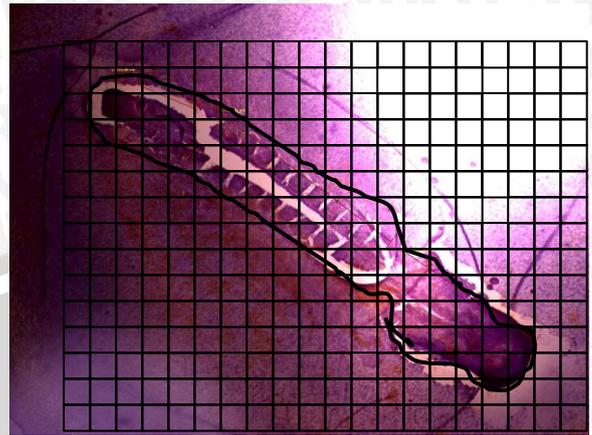
(A)



(B)



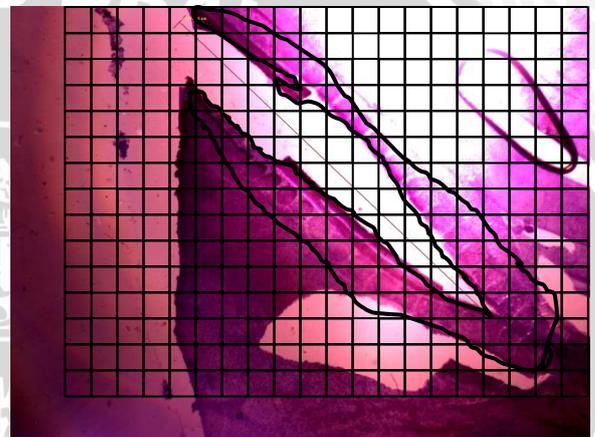
(C)



(D)



(E)



Gambar 5.8 Hasil Pengamatan Ekspresi VEGFR-2 pada Embrio Ayam Umur 48 Jam Menggunakan Metode Stereologi (A) dengan Injeksi NaCl 0.9%; (B) dengan paparan Genistein dosis $5\mu\text{M}$; (C) dengan paparan Genistein dosis $10\mu\text{M}$; (D) dengan paparan Genistein dosis $20\mu\text{M}$; (E) dengan paparan Genistein dosis $40\mu\text{M}$