

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratory* dengan metode *Randomized Posttest Only Controlled Group Design*. Rancangan penelitian yang dipakai adalah rancangan acak kelompok (RAK). Penelitian ini menggunakan tiga kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol. Induksi pada tikus diberikan dengan menggunakan balok *styrofoam* berukuran 2 x 2 cm mengikuti penelitian yang dilakukan Ramanda (2012). Pemberian dosis ekstrak mengacu pada studi eksplorasi yang telah peneliti lakukan sebelumnya.

4.2 Sampel

4.2.1 Kriteria Sampel

- Inklusi
 - Tikus jantan
 - Umur tikus 3 bulan
 - Berat badan tikus 150-200 gram
 - Tikus sehat
 - Tikus aktif
 - Tikus tidak pernah mendapat perlakuan sebelumnya
- Eksklusi
 - Tikus yang tidak mau makan selama penelitian
 - Tikus yang mengalami penurunan kesehatan fisik atau mati
- Cara perlakuan sampel
 - Semua tikus diberikan makan comfeed

4.2.2 Cara Penghitungan Jumlah Sample

Sampel diambil secara acak (*simple random sampling*) yang selanjutnya dikelompokkan dalam masing-masing kelompok kontrol atau kelompok perlakuan. Besar sampel dalam penelitian ini ditetapkan berdasarkan prosedur baku dalam penetapan jumlah sampel yang menggunakan hewan coba (tikus putih) sebagai sampel percobaan. Selanjutnya untuk menentukan jumlah pengulangan digunakan rumus menurut Hidayat (2009):

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = banyak perlakuan

r = banyak sampel pada tiap kelompok

jadi, untuk mengetahui besar sampel pada kelompok:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq \frac{15}{4}$$

$$r-1 \geq 3,75$$

$$r \geq 4,75$$

$$r \geq 5$$

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 14 hari.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

1. Luka bakar derajat II A
2. Perawatan luka bakar derajat II A pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar menggunakan ekstrak daun melati (*Jasminum sambac* Linn.) dengan dosis 15%, 30% dan 45% berdasarkan studi eksplorasi yang telah dilakukan selama 16 hari pada tanggal 5 Juni 2013 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, serta NaCl (Normal Saline 0.9%).

4.4.2 Variabel Terikat

1. Jumlah makrofag luka bakar derajat II A pada fase proliferasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar.

4.5 Definisi Operasional

Dalam penelitian ini yang dimaksud dijelaskan dalam tabel 4.

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas:				
1. Luka Bakar Derajat II A	Lepuhan yang dibuat dengan cara menginduksi bagian punggung kanan menggunakan balok styrofoam berukuran 2 x 2 cm yang bersuhu 98°C selama 30 detik	<ul style="list-style-type: none"> • Bula • Luas area 	- cm ²	- Rasio

	<p>berdasarkan studi eksplorasi yang telah dilakukan selama 16 hari pada tanggal 5 Juni 2013 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.</p>			
<p>2. Perawatan Luka Bakar Derajat II A dengan Ekstrak Daun Melati</p>	<p>Proses membersihkan area cedera karena termal terlebih dahulu dengan NS 0.9% lalu dikompres menggunakan ekstrak daun melati dosis 15%, 30% dan 45% berdasarkan studi eksplorasi yang telah dilakukan selama 16 hari pada tanggal 5 Juni 2013 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada masing-masing perlakuan dan ditutup dengan menggunakan balutan kasa steril setelah itu diplester. Balutan dibuka pada hari berikutnya (24 jam) untuk</p>	<p>Jumlah</p>	<p>Milliliter (ml)</p>	<p>Rasio</p>



	dilakukan perawatan luka kembali.			
3. Perawatan Luka Bakar Derajat II A dengan NS	Perlakuan pada kelompok kontrol negatif, dengan cara luka dibersihkan dan dikompres menggunakan NaCl (Normal Saline 0.9%) kemudian lepuhan ditutup kassa steril.	-	-	-
4. Perawatan Luka Bakar Derajat II A dengan SSD 1%	Proses membersihkan area cedera karena termal terlebih dahulu dengan NS 0.9% lalu dikompres menggunakan SSD 1% pada kelompok kontrol positif dan ditutup dengan menggunakan balutan kasa steril setelah itu diplester. Balutan dibuka pada hari berikutnya (24 jam) untuk dilakukan perawatan luka kembali.	-	-	-
5. Ekstrak Daun Melati	Bahan perawatan luka bakar derajat II A dari daun melati yang dibuat melalui prosedur ekstraksi dengan pelarut	Dosis	%	Rasio

	<p>etanol 95% dan dibuat dosis 15%, 30% dan 45% di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Selanjutnya diberikan pada area luka masing-masing sebanyak 100 mg.</p>			
<p>Variabel Terikat:</p> <p>1. Jumlah Makrofag</p>	<p>Preparat luka diambil dengan prosedur paraffinisasi dan selanjutnya dicat menggunakan <i>Imunohistokimia (IHK)</i>. Pengamatan preparat dilakukan dengan mikroskop OLYMPUS seri CX 21 dengan perbesaran 400 kali tiap lapang pandang. Setiap sediaan diperiksa pada lapang pandang 10 area, selanjutnya hasil dipotret menggunakan kamera digital Canon Ixus 105 dan dianalisa menggunakan <i>software OlyVIA (viewer for</i></p>	<p>Jumlah rata-rata sel</p>	<p>Sel</p>	<p>Rasio</p>

	<p><i>histological examination</i>) yang dihubungkan dengan komputer. Pengukuran dilakukan setelah hari ke-14 perawatan luka. Interpretasi hasil pengamatan banyaknya sel yang berdinging coklat dengan inti berwarna kebiruan.</p>			
--	---	--	--	--

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstraksi

Pembuatan ekstraksi daun sirih dibutuhkan beberapa alat dan bahan, yaitu:

1. Daun sirih
2. Etanol 95%
3. Aquades
4. Vaseline
5. Botol hasil ekstrak
6. Oven
7. Timbangan (1)
8. Pisau *stainlesssteel*
9. Gelas *Erlenmeyer* (2)
10. Corong gelas (1)
11. Kertas saring (1)
12. Labu evaporator (1)
13. Labu penampung etanol (1)

14. Evaporator (1)
15. Pendingin spiral atau *rotary evaporator* (1)
16. Selang *water pump* (1)
17. *Water pump*
18. *Water bath*
19. *Vaccum pump* (1)

(Patmawati, 2010)

4.6.2 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Luka Bakar Derajat II A

Pembuatan luka bakar derajat II A diperlukan alat dan bahan yaitu:

1. Tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar
2. Air mendidih suhu 98°C
3. Air dingin steril
4. Pisau cukur dan gagangnya
5. Penggaris
6. Aquades
7. Kom steril
8. Pinset anatomis
9. Obat anastesi (lidocain)
10. S spuit 5 cc dan jarum steril
11. Alkohol 70%
12. Kassa steril
13. *Styrofoam*
14. Sarung tangan steril
15. Bengkok
16. Perlak dan alasnya

17. Arloji

18. Jas lab

(Kristianto, 2005).

4.6.3 Bahan dan Alat untuk Perawatan Luka Bakar Derajat II A

Bahan untuk merawat luka bakar derajat II A adalah :

1. Sarung tangan
2. Jas laboratorium
3. Bak instrumen
4. Pinset anatomis
5. Kom
6. Korentang dan tempatnya
7. Kassa
8. Lidi wotten
9. Kipas
10. Bengkok
11. Perlak
12. Plester
13. Gunting plester
14. Gunting kassa
15. Gunting jaringan nekrotik
16. Spuit 3 cc (4 buah)
17. Normal Saline 0.9%
18. Ekstrak daun melati dosis 15%
19. Ekstrak daun melati dosis 30%
20. Ekstrak daun melati dosis 45%

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol dari Daun Melati

- Proses Pengeringan

Daun melati (*Jasminum sambac* Linn.) yang diambil dari Balai Materia Medika Batu dicuci dengan air mengalir sampai bersih, lalu dikeringkan dengan diangin-anginkan di dalam ruangan dengan suhu kamar selama 120 jam.

- Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi mengikuti standard pembuatan ekstrak di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang. Setelah daun melati kering dihaluskan menggunakan blender sehingga menjadi bentuk serbuk. Serbuk daun melati ditimbang sebanyak 100 gram menggunakan timbangan analitik. Selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter dan direndam (maserasi) dengan etanol 95% selama 3 hari. Kocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit). Diamkan 1 malam sampai mengendap.

- Proses Evaporasi

Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30° - 40° terhadap meja. Kemudian hasil maserasi etanol dengan serbuk daun melati dimasukkan ke dalam labu evaporasi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath*. *Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 78°C (sesuai dengan titik didih etanol). Kemudian ditunggu proses berjalan

(pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu. Tunggu sampai larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung. Hasil yang diperoleh kira-kira sepertiga dari bahan alam kering. Hasil evaporasi berupa cairan kental. Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik dan simpan dalam *freezer*.

Stok ekstrak daun melati yang ada kemudian akan dibuat beberapa dosis yang berbeda dengan cara menambahkan pelarut vaselin (kadar vaselin yang digunakan sebanyak 50 mg berdasarkan ukuran luas luka yang akan diberikan yaitu $2 \times 2 \text{ cm}^2$) menggunakan rumus:

$$L = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

L : Konsentrasi larutan (%)

a : Massa zat terlarut (mg)

b : Massa zat pelarut (mg)

Berdasarkan studi eksplorasi dosis yang telah dilakukan peneliti selama 16 hari pada tanggal 5 Juni 2013 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, diketahui dosis ekstrak daun melati yang efektif adalah ekstrak daun melati dengan konsentrasi 30%. Untuk penelitian selanjutnya, peneliti menggunakan dosis ekstrak daun melati setengah atas dosis efektif dan setengah bawah dosis efektif, yaitu 15% dan 45%. Bila dimasukkan rumus

penambahan vaselin seperti di atas, maka didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Konsentrasi 15%

$$L = \frac{a}{b} \times 100\%$$

$$a = \frac{15 \times 170 \text{ mg}}{100}$$

$$a = 25.5 \text{ mg}$$

Dalam ekstrak daun melati dosis 15% terdapat 25.5 mg ekstrak daun melati dalam 170 mg vaselin.

2. Konsentrasi 30%

$$L = \frac{a}{b} \times 100\%$$

$$a = \frac{30 \times 140 \text{ mg}}{100}$$

$$a = 42 \text{ mg}$$

Dalam ekstrak daun melati dosis 30% terdapat 42 mg ekstrak daun melati dalam 140 mg vaselin.

3. Konsentrasi 45%

$$L = \frac{a}{b} \times 100\%$$

$$a = \frac{45 \times 110 \text{ mg}}{100}$$

$$a = 49.5 \text{ mg}$$

Dalam ekstrak daun melati dosis 45% terdapat 49.5 mg ekstrak daun melati dalam 110 mg vaselin.

Vaselin merupakan turunan dari petroleum jelly, diambil dari oilrig residu yang disebut dengan *rod wax* (Health Publication, 2003 dalam Nurudin, 2011) yang banyak digunakan dalam bidang kecantikan dan

kesehatan. Vaseline ini diketahui mengandung bahan yang disebut *lesitin* yang berfungsi sebagai bahan pengemulsi (Nurudin, 2011). Ciri dari vaselin yang dimanfaatkan untuk kepentingan kecantikan dan kesehatan adalah tidak diserap oleh kulit tubuh, sehingga relative lebih aman (Polk, 2001 dalam Nurudin, 2011). Bentuk formula vaselin yang digunakan dalam penelitian ini adalah formula vaselin non antibiotic *lomatulle*. Indikasi penggunaannya adalah untuk luka bakar, luka bedah, sirkumsisi dan trauma (Mims, 2007 dalam Nurudin, 2011). Dasar kerja dari vaselin adalah membantu menjaga keseimbangan pH kulit tubuh (Nurudin, 2011).

4.7.2 Persiapan Hewan Coba

4.7.2.1. Sebelum Penelitian

- Hewan coba diseleksi sesuai dengan kriteria sampel
- Hewan coba dilakukan aklimatisasi (penyesuaian lingkungan) selama tujuh hari di Laboratorium Farmakologi FKUB. Persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, alkohol 70%.
- Tikus diberi makan dan minum standart laboratorium dan dilakukan penimbangan berat badan di akhir aklimatisasi.

4.7.2.1. Selama Penelitian

- Pembuatan Luka Bakar Derajat II A

- Tentukan terlebih dahulu daerah yang akan dibuat luka bakar yaitu punggung kanan atas.
- Bersihkan bulu dan cukur area yang akan dibuat induksi luka bakar seluas 5x5 cm².
- Pasang perlak/ alas di bawah tubuh tikus yang akan dibuat luka bakar.
- Buka bak instrumen steril, cuci tangan, dan pakai sarung tangan steril.
- Desinfeksi area kulit yang akan dibuat luka bakar, tunggu sampai alkohol kering.
- Lakukan anestesi dengan cara disuntikkan pada area kulit yang akan di buat luka bakar yaitu punggung kanan atas dengan lidocain non adrenalin dosis 0,5 cc.
- Siapkan *styrofoam* berukuran 2x2 cm² kemudian balut dengan kasa sebanyak 2 lapis.
- Celupkan *styrofoam* yang berbungkus kasa ke dalam air panas (suhu 98⁰ C) selama 3 menit.
- Tempelkan *styrofoam* yang berbungkus kasa pada hewan coba selama 30 detik.
- Setelah diinduksi, kompres area yang diberi luka bakar menggunakan normal salin selama 1 menit untuk mencegah luka bakar menyebar ke daerah yang lain.
- Tunggu sampai terbentuk bula.
- Balut luka.
- Lepas sarung tangan.

- Rapikan alat dan cuci tangan (Khorasani, 2008).
- Selanjutnya tikus dipisahkan satu dengan yang lainnya dan dikelompokkan menurut terapi yang diberikan (Purnama *et al.*, 2013).
- **Prosedur Perawatan Luka Bakar Derajat II A**
 - Persiapan alat :
 - a. Semua peralatan yang diperlukan disiapkan
 - b. Cuci tangan
 - Perawatan luka (prinsip steril)
 - Pakai sarung tangan
 - Buka balutan
 - Perawatan
 - ❖ Kelompok 1 (Kelompok P1 dengan perlakuan perawatan luka tertutup menggunakan ekstrak daun melati dosis 15%).
 - Bersihkan luka dengan Normal Saline 0.9%.
 - Berikan ekstrak daun melati dosis 15% yang dilarutkan dalam 50 mg vaselin pada area luka menggunakan *cotton bud* sebanyak 100 mg (perawatan dilakukan 1x/hari yaitu jam 09.00-10.00 WIB).
 - ❖ Kelompok 2 (Kelompok P2 dengan perlakuan perawatan luka tertutup menggunakan ekstrak daun melati dosis 30%).
 - Bersihkan luka dengan Normal Saline 0.9%.

- Berikan ekstrak daun melati dosis 30% yang dilarutkan dalam 50 mg vaselin pada area luka menggunakan *cotton bud* sebanyak 100 mg (perawatan dilakukan 1x/hari yaitu jam 09.00-10.00 WIB).
- ❖ Kelompok 3 (Kelompok P3 dengan perlakuan perawatan luka tertutup menggunakan ekstrak daun melati dosis 45%).
 - Bersihkan luka dengan Normal Saline 0.9%.
 - Berikan ekstrak daun melati dosis 45% yang dilarutkan dalam 50 mg vaselin pada area luka menggunakan *cotton bud* sebanyak 100 mg (perawatan dilakukan 1x/hari yaitu jam 09.00-10.00 WIB).
- ❖ Kelompok 4 (Kelompok kontrol negatif dengan perawatan luka tertutup menggunakan Normal Saline 0.9% saja)
 - Bersihkan luka dengan Normal Saline 0.9 %.
 - Berikan 0,5 cc normal salin pada area luka (perawatan dilakukan 1x/hari jam 09.00-10.00 WIB).
- ❖ Kelompok 5 (Kelompok kontrol positif dengan perawatan luka tertutup menggunakan Normal Saline 0.9% dan SSD 1%)
 - Bersihkan luka dengan Normal Saline 0.9 %.

– Berikan SSD 1% pada area luka (perawatan dilakukan 1x/hari jam 09.00-10.00 WIB).

- Tutup luka dengan kassa steril dan plester

4.7.2.2. Sesudah Penelitian

- Pembedahan dilakukan pada hari ke 15 dengan mematikan tikus
- Pengambilan jaringan kulit melalui prosedur pembedahan
- Tikus dikubur
- Pembuatan preparat histopatologi jaringan kulit luka bakar derajat II A pada tikus
- Pewarnaan imunohistokimia untuk melihat jumlah makrofag

4.7.3 Prosedur Pembuatan Sediaan Histologi Kulit Luka Bakar Derajat II A pada Tikus

Jaringan kulit diambil melalui pembedahan kemudian difiksasi dengan merendam jaringan kulit tikus dalam formalin 10% selama 2 x 24 jam (48 jam) pada suhu kamar (Prasetyo, 2008) kemudian dilanjutkan dengan tahap pencucian menggunakan aquadest 1 jam (Triyono, 2005). Jaringan dimasukkan dalam cairan alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 99% selama 1 jam dan alkohol absolut = 1 : 1 selama 0,5 jam dan xylol PA selama 2 x 30 menit. Jaringan dipotong setipis mungkin dan dimasukkan ke dalam metled paraffin : xylol = 1 : 1, paraffin (56-58° C) ditunggu sampai paraffin padat. Jaringan dipotong dengan ketebalan 4 µm dengan mikrotom. Hasil pemotongan yang berbentuk pita (*ribbon*) tersebut

dibentangkan di atas air hangat yang bersuhu 46° C dan langsung diangkat yang berguna untuk meregangkan potongan agar tidak berlipat atau menghilangkan lipatan akibat dari pemotongan (Prasetyo, 2008). Potongan jaringan diletakkan di kaca objek yang telah diolesi polilisin sebagai perekat. Jaringan pada kaca objek dikeringkan dalam inkubator suhu 56-58° C (Triyono, 2005) selanjutnya dilakukan pengecatan *imunohistokimia* (Suwanti, 2008). Hasil diamati pada mikroskop untuk mengetahui progresivitas perbaikan jaringan yang mengalami luka bakar.

4.8 Prosedur Pengumpulan Data

4.8.1 Teknik Pengumpulan Data

Data didapatkan dari sampel yang di bagi menjadi 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol, negatif dan positif, kelompok kontrol negatif diberikan perawatan dengan pemberian NS (*Normal Saline*), dan kelompok kontrol positif diberikan perawatan dengan SSD 1%, serta 3 kelompok perlakuan menggunakan pemberian ekstrak daun melati (*Jasminum sambac* Linn.) dengan dosis 15%, 30% dan 45%. Pengumpulan data dilakukan selama perawatan luka dari hari pertama setelah diinduksi luka bakar, sampai hari ke – 14.

4.8.2 Metode Pengumpulan Data

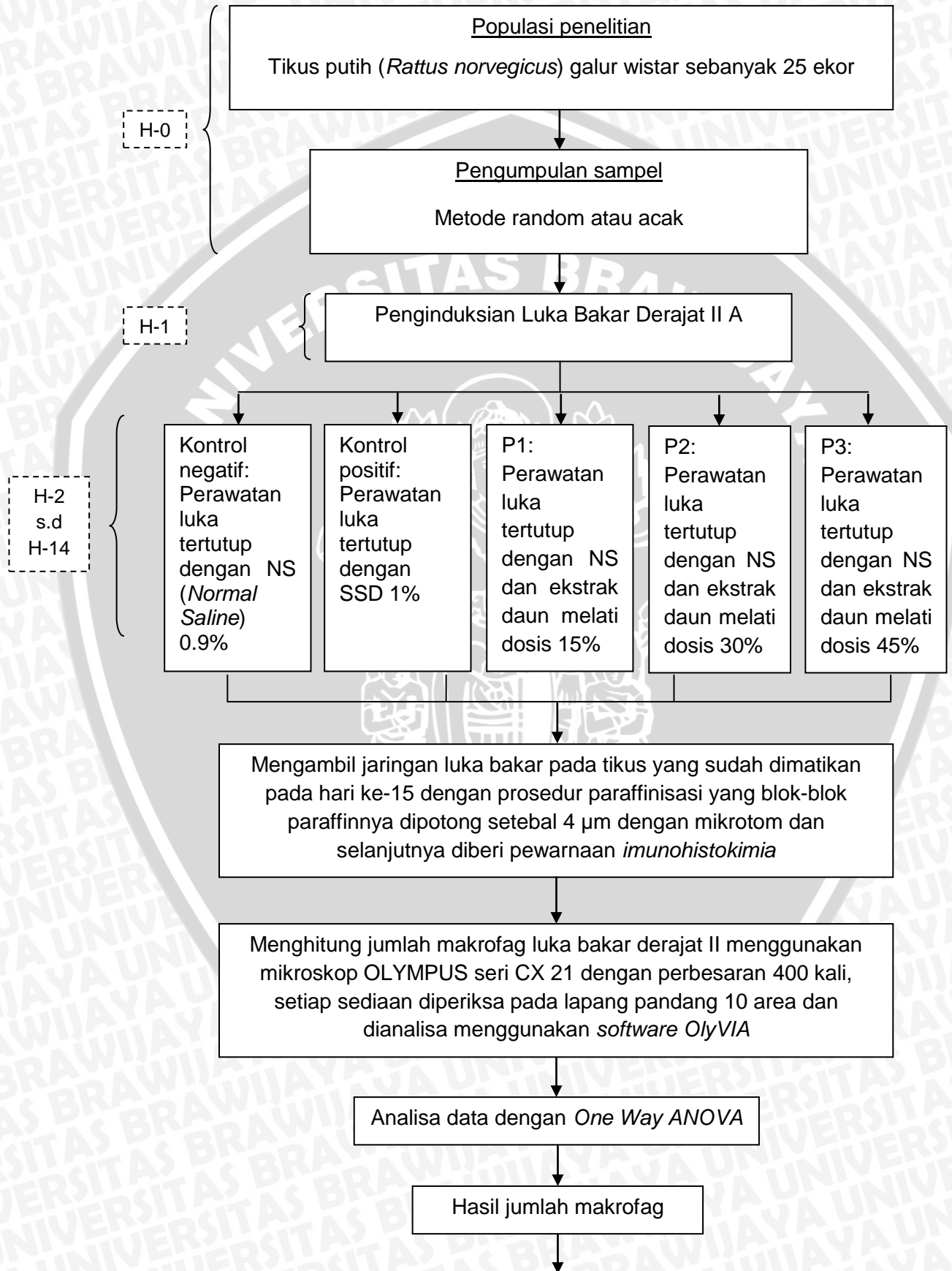
Metode pengumpulan data dengan menghitung jumlah makrofag menggunakan mikroskop OLYMPUS seri CX 21 dengan perbesaran 400 kali, kemudian dipotret menggunakan kamera digital Canon Ixus 105 dan dianalisa menggunakan *software OlyVIA (viewer for*

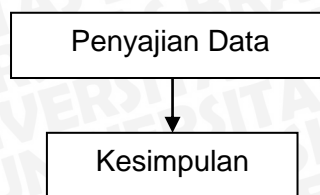
histological examination) dimana setiap sediaan diperiksa pada lapang pandang 10 area (Sunaryati, 2010) kemudian dirata-rata.

4.8.3 Identifikasi Makrofag

Proses identifikasi makrofag dilakukan setelah 14 hari perawatan, setelah luka dibersihkan dan dibuat sediaan histologi. Makrofag adalah sel khusus yang terdapat di dekat pembuluh darah, memiliki inti satu berukuran 10-30 μm , inti lonjong atau bentuk ginjal (adanya lekukan ke dalam/ tapal kuda), mengandung granula azurofilik. Pada keadaan rusaknya jaringan tubuh, makrofag juga disebut *clasmatoocytes*, *rhagiocrine cells*, *histiocytes*, *resting wandering cells*. Pada pewarnaan *imunohistokimia*, pada saat dilakukan pengamatan, makrofag tercat kebiruan pada area inti, dan kecoklatan pada dinding selnya (Suwanti, 2008). Penghitungan jumlah makrofag dilakukan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri CX 21 dengan pembesaran 400 kali, setiap sediaan diperiksa pada lapang pandang 10 area (Sunaryati, 2010) dan dianalisa dengan menggunakan *software OlyVIA (viewer for histological examination)* yang dihubungkan dengan komputer.

4.8.4 Alur Penelitian





4.9 Analisis Data

4.9.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Hasil analisa terhadap jumlah makrofag luka bakar derajat II A pada masing-masing sampel pada setiap perlakuan dilakukan uji statistik *SPSS version 21* dengan cara uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dengan $\alpha=0,05$. Jika didapatkan data menunjukkan $p \text{ value} > 0,05$, maka data terdistribusi normal. Kemudian pada uji homogenitas / keragaman data menggunakan uji *Test of Homogeneity of Variance*, jika nilai F hasil $>$ nilai F tabel, maka data adalah homogeny, sehingga dapat dilakukan uji parametrik lebih lanjut menggunakan *One way ANOVA*.

4.9.2 Uji *One Way ANOVA*

Data hasil penelitian kemudian dianalisa dengan *One Way ANOVA SPSS version 21* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok uji coba. Jika signifikansi $< \alpha$ (0,05), maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah makrofag luka bakar pada luka bakar derajat II A antar kelompok uji coba.

4.9.3 Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*)

Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*) merupakan metode pegujian lanjutan apabila hasil pengujian *ANOVA* terdapat nilai beda atau ketidaksamaan nilai tengah pada data yang diujikan. Metode ini berfungsi untuk mengetahui nilai tengah mana yang memiliki

perbedaan yang signifikan. Biasanya dilakukan dengan melihat besar variasi dari tiap kombinasi perbandingan nilai tengah yang diamati. Kelompok dengan nilai signifikansi paling kecil, mempunyai nilai signifikansi paling bermakna dalam kelompok – kelompok uji coba.

