

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2013 di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian model hiperglikemia ini menggunakan tikus putih galur Wistar sebanyak 24 ekor. Sebelum penelitian dilaksanakan tikus dilakukan aklitimasi terlebih dahulu sejak tanggal 21 Juni 2013 sampai dengan 27 Juni 2013. Penelitian dilakukan mulai dari pemeliharaan tikus, pembuatan hidrogel binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*) dengan konsentrasi 2,5%; 5%; dan 7,5%, pembuatan dan perawatan luka tikus kondisi hiperglikemia dengan hidrogel binahong, sampai eksisi jaringan kulit yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan pembuatan preparat histokimia dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasil penelitian didapatkan dengan melakukan pengamatan secara mikroskopis pada preparat histokimia, selanjutnya dilakukan pemotretan hasil histokimia. Hasil foto histokimia yang sudah didapat kemudian dihitung dan dilakukan uji statistik dengan *SPSS version 17.00 for windows*. Penelitian dilakukan untuk membuktikan efek pemberian hidrogel binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) terhadap penurunan jumlah makrofag pada penyembuhan luka fase proliferasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar kondisi hiperglikemia.

5.1.1 Jumlah Makrofag pada Luka Kondisi Hiperglikemia

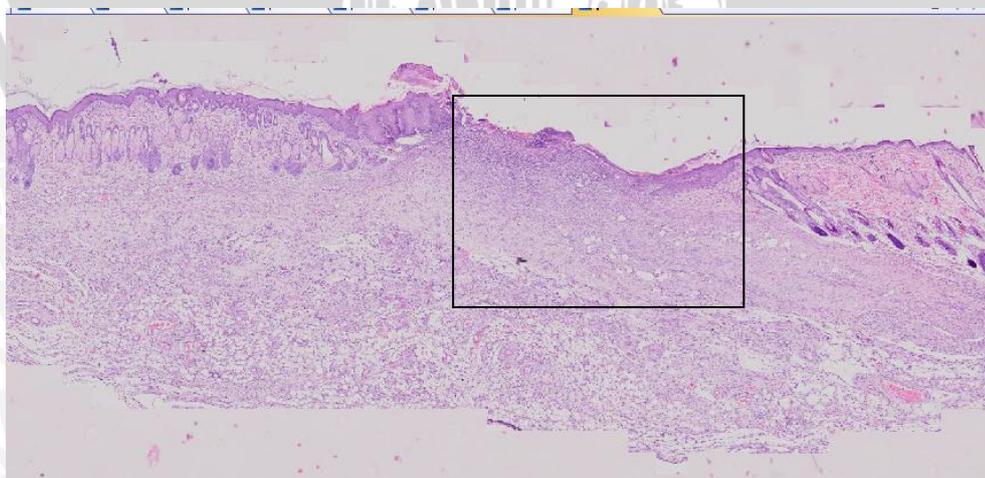
Penghitungan jumlah makrofag dilakukan pada hasil foto preparat histologi yang telah didapat dari hasil perawatan luka selama 12 hari dengan terlebih dahulu melakukan pengecekan gula darah pada tikus untuk mempertahankan kondisi hiperglikemia pada saat pembedahan (tabel 5.1). Penghitungan dilakukan pada jaringan luka dengan menggunakan mikroskop Olympus XC10 yang dikonversi ke software OlyVIA (*viewer for histology examination*).

Tabel 5.1 Hasil Pengecekan Gula Darah Tikus (*Tanpa Lose of Sample*)

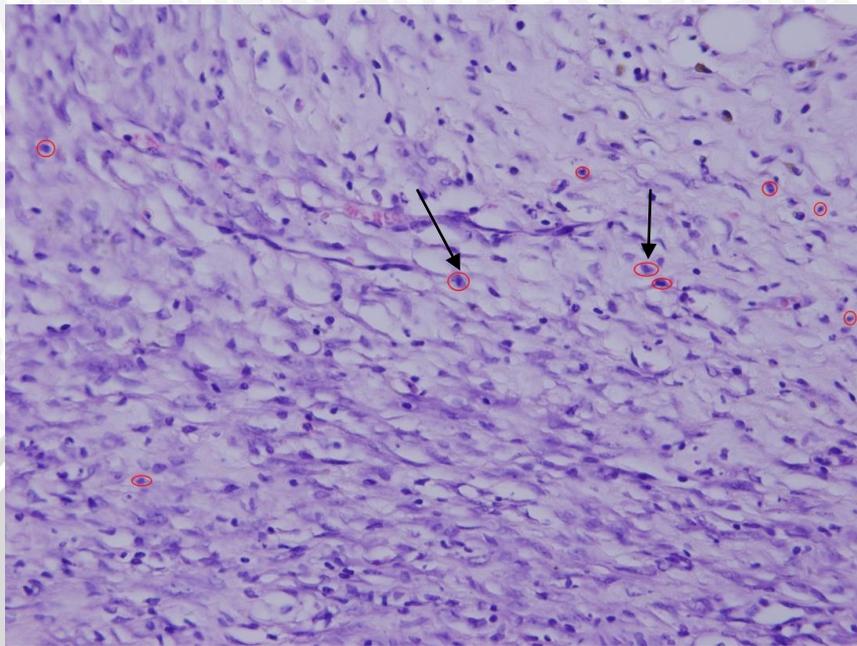
PERLAKUAN	Kode tikus	Hasil gula darah sebelum induksi STZ	Hasil gula darah H+11
KONTROL 1 TIKUS NORMAL + NS	K1 1	110 mg/dl	112 mg/dl
	K1 2	103 mg/dl	125 mg/dl
	K1 3	110 mg/dl	100 mg/dl
	K1 4	97 mg/dl	121 mg/dl
KONTROL 2 TIKUS HIPERGLIKEMIA + NS	K2 1	95 mg/dl	323 mg/dl
	K2 2	98 mg/dl	350 mg/dl
	K2 3	110 mg/dl	312 mg/dl
	K2 4	73 mg/dl	302 mg/dl
PERLAKUAN 1 TIKUS HIPERGLIKEMIA + BASIS HIDROGEL	P1 1	96 mg/dl	288 mg/dl
	P1 2	120 mg/dl	311 mg/dl
	P1 3	111 mg/dl	351 mg/dl
	P1 4	103 mg/dl	301 mg/dl
PERLAKUAN 2 TIKUS HIPERGLIKEMIA + HIDROGEL BINAHONG 2,5%	P2 1	107 mg/dl	270 mg/dl
	P2 2	120 mg/dl	360 mg/dl
	P2 3	115 mg/dl	312 mg/dl
	P2 4	130 mg/dl	341 mg/dl
PERLAKUAN 3 TIKUS HIPERGLIKEMIA + HIDROGEL BINAHONG 5%	P3 1	103 mg/dl	369 mg/dl
	P3 2	115 mg/dl	481 mg/dl
	P3 3	111 mg/dl	299 mg/dl
	P3 4	111 mg/dl	252 mg/dl
PERLAKUAN 4 TIKUS HIPERGLIKEMIA + HIDROGEL BINAHONG 7,5%	P4 1	127 mg/dl	458 mg/dl
	P4 2	105 mg/dl	480 mg/dl
	P4 3	100 mg/dl	306 mg/dl
	P4 4	111 mg/dl	299 mg/dl

Penghitungan jumlah makrofag menggunakan perbesaran 400 kali dilakukan setelah diketahui daerah batas luka dengan membuat 5 lapang pandang melalui mikroskop pada area luka yang akan dilakukan penghitungan. Setelah dilakukan pembagian lapang pandang, dilanjutkan dengan penghitungan manual jumlah makrofag ditiap lapang pandang menggunakan *Corel Photo Paint 12* dengan menandai makrofag yang telah dihitung untuk menghindari penghitungan ulang.

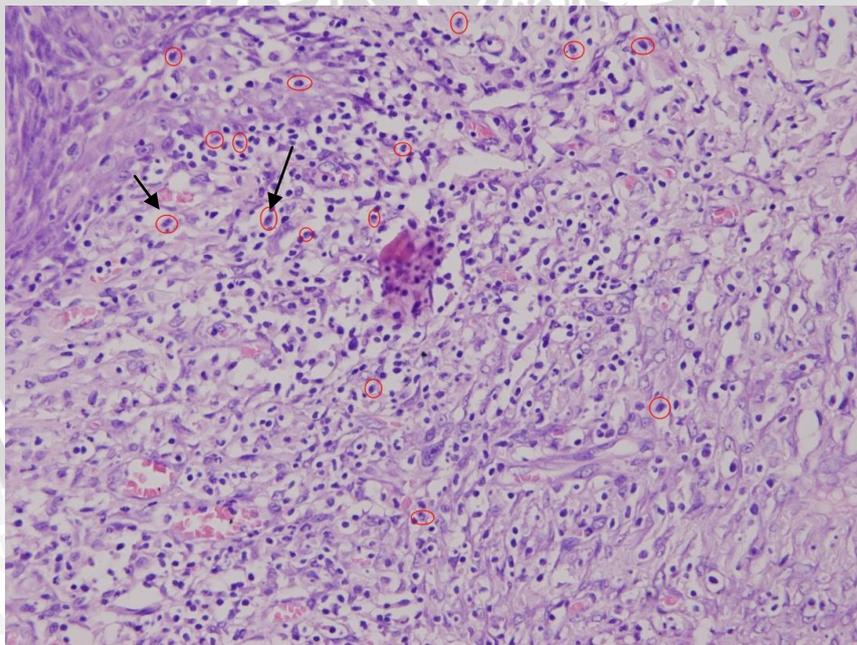
Pada gambar 5.1 sampai gambar 5.7 dapat terlihat penurunan jumlah makrofag pada fase proliferasi jaringan luka kondisi hiperglikemia. Penurunan jumlah makrofag bervariasi setiap jaringan dan perlakuan. Pada penelitian ini dilakukan pengujian efek perlakuan hidrogel binahong konsentrasi 2,5%, hidrogel binahong konsentrasi 5%, dan hidrogel binahong konsentrasi 7,5% terhadap jumlah makrofag pada hari ke-12 setelah perawatan luka pada kondisi hiperglikemia. Hasil yang didapat adalah sebagai berikut (tabel 5.2 dan gambar 5.8):



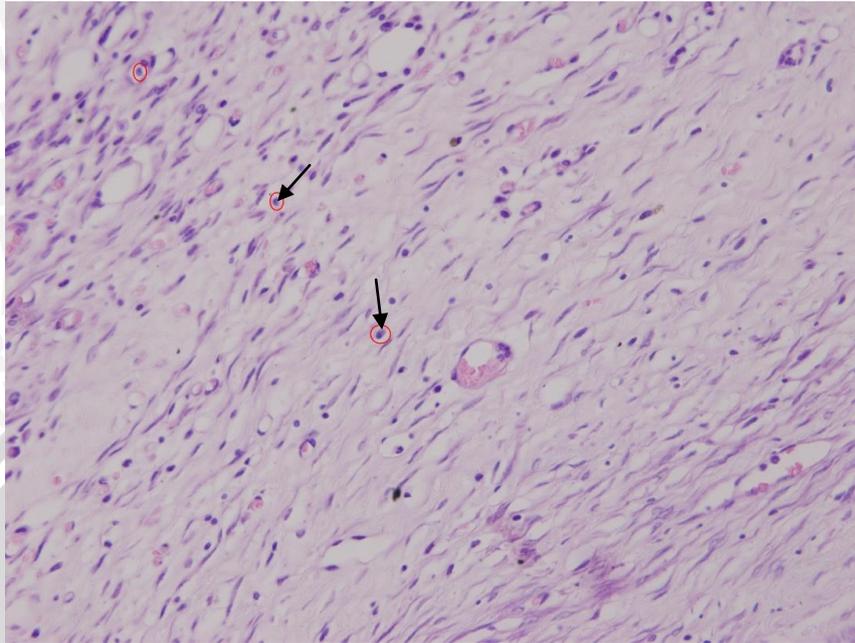
Gambar 5.1 Batas Luka yang Diukur



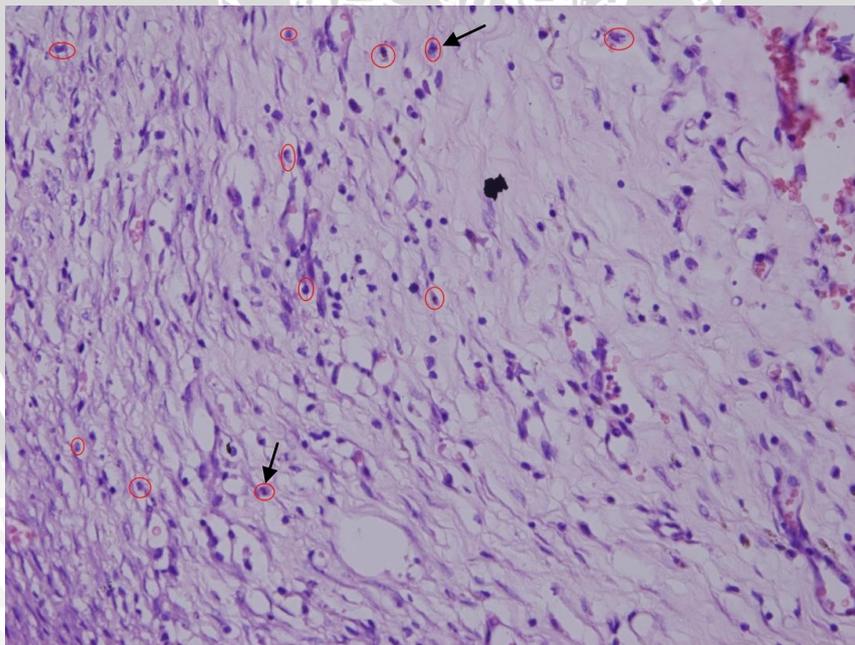
Gambar 5.2 Tampilan Slide Histologi Kelompok Kontrol 1 (Tikus Kondisi Sehat dengan Perawatan Luka Menggunakan *Normal Saline*) dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* Menggunakan Mikroskop OLYMPUS XC10 Perbesaran 400 kali. Lingkaran berwarna merah atau anak panah menunjukkan makrofag.



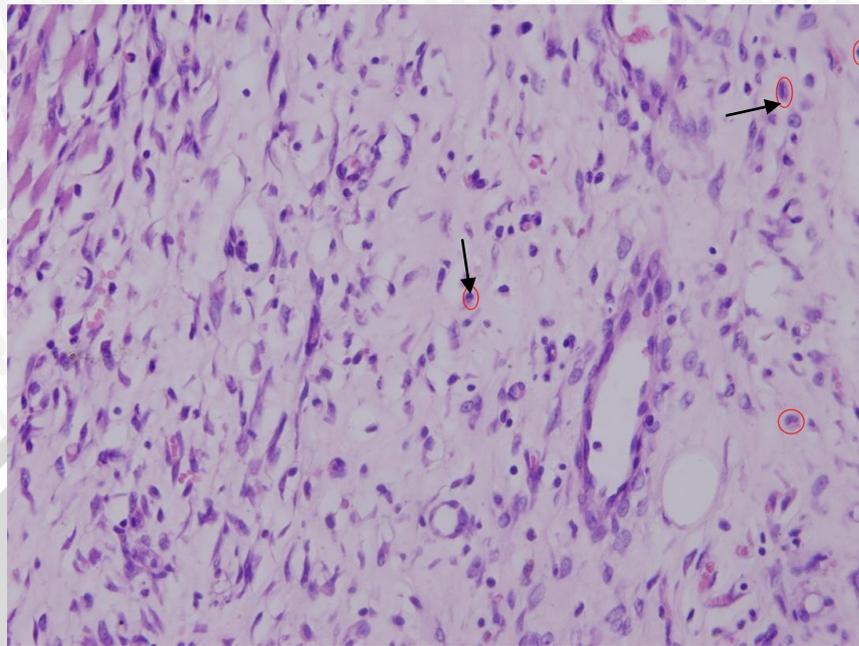
Gambar 5.3 Tampilan Slide Histologi Kelompok Kontrol 2 (Tikus Kondisi Hiperglikemia dengan Perawatan Luka menggunakan *Normal Saline*) dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* Menggunakan Mikroskop OLYMPUS XC10 Perbesaran 400 kali. Lingkaran berwarna merah atau anak panah menunjukkan makrofag.



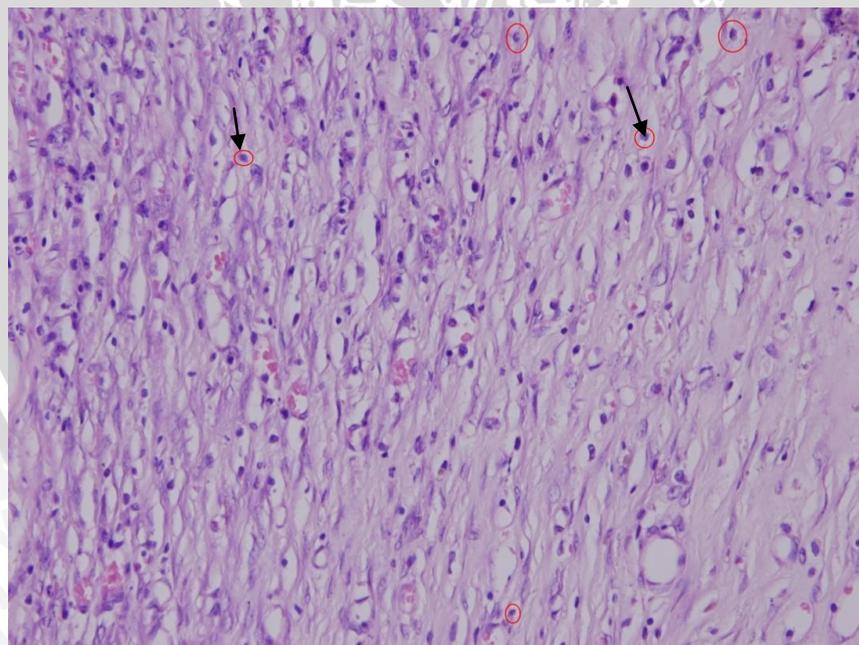
Gambar 5.4 Tampilan Slide Histologi Kelompok Perlakuan ke-1 (Tikus Kondisi Hiperglikemia dengan Perawatan Luka Menggunakan Basis Hidrogel) dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* Menggunakan Mikroskop OLYMPUS XC10 Perbesaran 400 kali. Lingkaran berwarna merah atau anak panah menunjukkan makrofag.



Gambar 5.5 Tampilan Slide Histologi Kelompok Perlakuan ke-2 (Tikus Kondisi Hiperglikemia dengan Perawatan Luka Menggunakan Hidrogel Binahong 2,5%) dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* Menggunakan Mikroskop OLYMPUS XC10 Perbesaran 400 kali. Lingkaran berwarna merah atau anak panah menunjukkan makrofag.



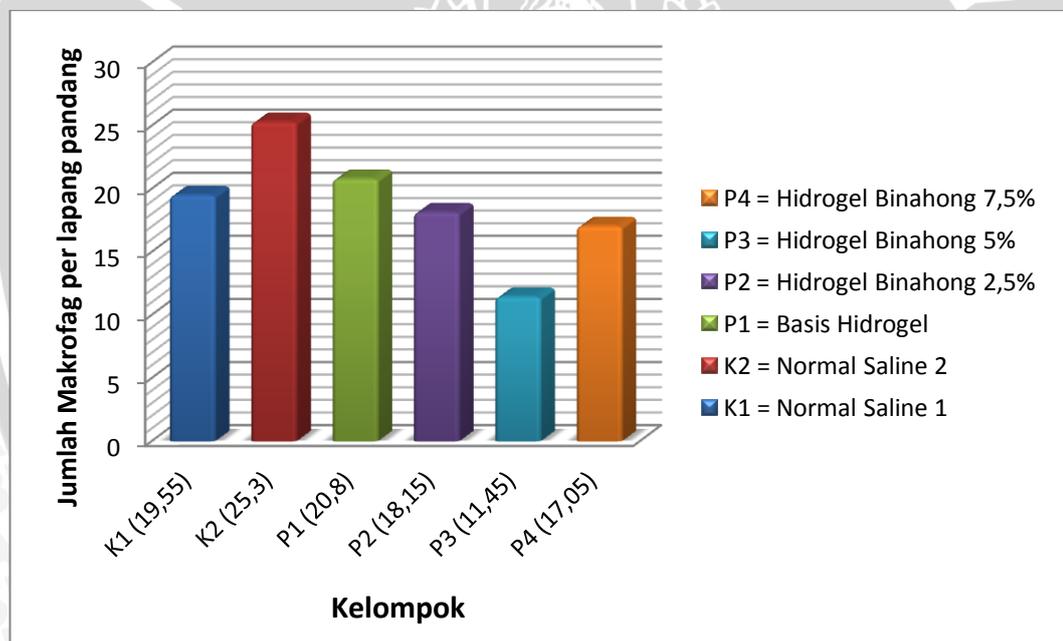
Gambar 5.6 Tampilan Slide Histologi Kelompok Perlakuan ke-3 (Tikus Kondisi Hiperglikemia dengan Perawatan Luka Menggunakan Hidrogel Binahong 5%) dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* Menggunakan Mikroskop OLYMPUS XC10 Perbesaran 400 kali. Lingkaran berwarna merah atau anak panah menunjukkan makrofag.



Gambar 5.7 Tampilan Slide Histologi Kelompok Perlakuan ke-4 (Tikus Kondisi Hiperglikemia dengan Perawatan Luka Menggunakan Hidrogel Binahong 7,5%) dengan Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* Menggunakan Mikroskop OLYMPUS XC10 Perbesaran 400 kali. Lingkaran berwarna merah atau anak panah menunjukkan makrofag.

Tabel 5.2 Hasil Rerata Jumlah Makrofag pada Masing-Masing Perlakuan Secara Kuantitatif

No.	Jumlah Makrofag Per Lapang Pandang					
	NS 1	NS 2	BH	HB 2,5%	HB 5%	HB 7,5%
1.	20,2	27,6	19,6	15,4	10	13,8
2.	22	28	18,2	20,4	12	18,8
3.	16	22,6	21,4	20,6	11,2	20,6
4.	19,8	23	24	16,2	12,6	15
Rata-rata \pm	19,50 \pm	25,30 \pm	20,80 \pm	18,15 \pm	11,45 \pm	17,05 \pm
Standar Deviasi	2,52190	2,89597	2,50333	2,73435	1,12398	3,18486



Gambar 5.8 Pengaruh Jenis Perlakuan terhadap Jumlah Makrofag

Tabel 5.2 dan gambar 5.8 memperlihatkan adanya perbedaan jumlah makrofag antara masing-masing kelompok perlakuan dengan basis hidrogel, hidrogel binahong konsentrasi 2,5%, konsentrasi 5%, dan konsentrasi 7,5% serta kontrol dengan *normal saline*. Pada kelompok perawatan luka kondisi sehat dengan *normal saline* didapatkan rata-rata jumlah makrofag sebesar 19,50 sel

per lapang pandang. Kelompok perawatan luka kondisi hiperglikemia dengan *normal saline* didapatkan rata-rata jumlah makrofag sebesar 25,30 sel per lapang pandang. Kelompok perawatan luka kondisi hiperglikemia dengan basis hidrogel didapatkan rata-rata jumlah makrofag sebesar 20,80 sel per lapang pandang. Kelompok perawatan luka kondisi hiperglikemia dengan hidrogel binahong 2,5% didapatkan rata-rata jumlah makrofag sebesar 18,15 sel per lapang pandang. Kelompok perawatan luka kondisi hiperglikemia dengan hidrogel binahong 5% didapatkan rata-rata jumlah makrofag sebesar 11,45 sel per lapang pandang. Kelompok perawatan luka kondisi hiperglikemia dengan hidrogel binahong 7,5% didapatkan rata-rata jumlah makrofag sebesar 17,05 sel per lapang pandang. Data yang didapatkan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa perawatan luka pada kondisi hiperglikemia dengan hidrogel binahong dapat menurunkan jumlah makrofag pada luka dari fase inflamasi ke fase proliferasi sebesar 18,15 sel per lapang pandang pada konsentrasi 2,5%, 11,45 sel per lapang pandang pada konsentrasi 5%, dan 17,05 sel per lapang pandang pada konsentrasi 7,5%.

5.2 Analisis Data

Setelah didapatkan data hasil penelitian, langkah selanjutnya adalah melakukan pengujian statistik untuk mengambil kesimpulan apakah hipotesis diterima atau ditolak. Hasil penelitian dianalisis dengan software *SPSS version 17.00 for windows* untuk kemudian dilakukan pembahasan. Data yang didapat dari penghitungan dilakukan analisis menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan (jelas) antara rata-rata hitung 6 kelompok data yaitu kelompok perlakuan dengan basis hidrogel, hidrogel binahong 2,5%, 5%, dan 7,5%, serta kelompok kontrol dengan *normal saline*.

Agar bisa diuji menggunakan uji *One-way ANOVA*, maka data harus memenuhi beberapa asumsi, diantaranya populasi-populasi yang akan diuji berdistribusi normal, varians dari populasi-populasi tersebut adalah sama, dan sampel tidak berhubungan satu dengan yang lain.

Uji statistik yang pertama yang harus dilakukan adalah uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas data menggunakan uji *Test of Homogeneity of Variance*. Setelah asumsi normalitas dan homogenitas data terpenuhi maka dapat dilanjutkan dengan uji statistik *One Way ANOVA* untuk mengetahui rata-rata jumlah makrofag pada masing-masing kelompok perlakuan, serta uji *Post Hoc* metode *Tukey* untuk menentukan kelompok mana yang memiliki rata-rata jumlah makrofag yang paling signifikan.

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Data yang berdistribusi normal merupakan salah satu syarat dilakukannya *parametric test* (Bhinapatria, 2007). Untuk menguji apakah data yang didapat dari hasil penelitian mempunyai distribusi normal, dilakukan pengujian *one-Sample Shapiro-Wilk Test* (lampiran 4a) dengan kriteria pengujian:

1. Angka signifikansi $p > 0,05$ berarti data berdistribusi normal
2. Angka signifikansi $p < 0,05$ berarti data tidak berdistribusi normal

Dari data yang diolah didapatkan bahwa H_0 diterima, berarti jumlah makrofag baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol berdistribusi normal. Karena data sudah terdistribusi normal, maka pengujian dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas atau keragaman data untuk mengetahui apakah data jumlah makrofag pada kelompok yang diberikan hidrogel binahong (*Anredera*

cordifolia (Ten.) Steenis) dan kelompok kontrol *normal saline* memiliki variansi yang sama atau homogen menggunakan *Test of Homogeneity of Variance*. Pada *Test of Homogeneity of Variance* (lampiran 4b) didapat nilai signifikansi 0,111. Oleh karena signifikansi $> 0,05$ maka H_0 diterima atau berarti jumlah makrofag pada semua kelompok perlakuan memiliki variansi yang sama atau homogen. Dengan demikian, asumsi kesamaan varians untuk uji ANOVA sudah terpenuhi.

5.2.2 Uji One Way ANOVA

Untuk menguji perbedaan antar kelompok perlakuan dengan menggunakan perbandingan rata-rata antar kelompok yaitu kelompok yang diberikan hidrogel binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dan kelompok kontrol *normal saline* 0,9% digunakanlah uji One Way ANOVA. Pada uji ANOVA (lampiran 4c) terlihat bahwa F hitung adalah 12,536 dengan signifikansi 0,000. Oleh karena signifikansi $< 0,05$, maka H_0 ditolak, atau rata-rata jumlah makrofag antara empat kelompok tersebut memang berbeda.

5.2.3 Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test* metode *Tukey*)

Uji *Post Hoc* dilakukan untuk mengetahui kelompok sampel mana yang berbeda signifikan diantara kelompok-kelompok sampel lainnya. Nilai signifikansi antar kelompok dilihat dari tabel *Multiple Comparison* (lampiran 4d) dengan melihat ada tidaknya tanda bintang (*) pada kolom *Mean Difference* dan nilai signifikan $< 0,05$ adalah kelompok yang memiliki perbedaan paling signifikan. Pada tabel 5.2 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan hidrogel binahong konsentrasi 5% memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol 1 dengan *normal saline* kondisi sehat, kelompok kontrol 2 dengan *normal saline*

kondisi hiperglikemia, kelompok perlakuan dengan basis hidrogel, dan kelompok perlakuan dengan hidrogel binahong konsentrasi 2,5% yang masing-masing memiliki nilai signifikansi atau *p-value* sebesar 0,004, 0,000, 0,001, dan 0,018. Berdasarkan hasil uji *Post Hoc* (tabel 5.3) juga menunjukkan bahwa kelompok hidrogel binahong konsentrasi 5% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan hidrogel binahong konsentrasi 7,5% dengan *p value* sebesar 0,062.

Tabel 5.3 *Post Hoc Test*

Uji Tukey's								
	Probabilitas						Perbandingan	
	NS1	NS2	BH	HB 2,5%	HB 5%	HB 7,5%	Perlakuan	Rerata per lapang pandang
NS1		0.050*	0.978	0.974	0.004*	0.758	HB 5%	11.45
NS2	0.050*		0.186	0.011*	0.000*	0.003*	HB7,5%	17.05
BH	0.978	0.186		0.698	0.01*	0.351	HB2,5%	18.15
HB 2,5%	0.974	0.011*	0.696		0.018*	0.989	NS1	19.5
HB5%	0.004*	0.000*	0.001*	0.018*		0,062	BH	20.8
HB7,5%	0.758	0.003*	0.351	0.989	0.062		NS2	25.3

*berbeda signifikan

Selanjutnya pada tabel *Homogeneous Subsets* (lampiran 4d) menunjukkan urutan hasil rata-rata dari jumlah makrofag dimulai dari kelompok dari terendah hingga tertinggi dengan jumlah makrofag terendah didapat pada kelompok perlakuan dengan hidrogel binahong konsentrasi 5% dan jumlah makrofag terbanyak didapat pada kelompok kontrol 2 dengan *normal saline* pada luka tikus kondisi hiperglikemia.