

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan *post test only control group design* yang terdiri dari enam macam perlakuan, pertama kelompok normal diet yaitu tikus diberi diet normal saja tanpa diet aterogenik dan tanpa ekstrak kulit manggis (K-), kelompok kedua tikus diberi diet aterogenik saja selama 12 minggu (K+), ketiga adalah kelompok dengan diet aterogenik 4 minggu (HFD 4 minggu), kelompok ini dibuat bertujuan untuk mengetahui apakah setelah pemberian diet aterogenik pada 4 minggu pertama akan mempengaruhi kadar NO, yang selanjutnya akan diberikan perlakuan terapi ekstrak kulit manggis pada minggu kelima hingga keduabelas. Kelompok HFD 4 minggu tidak dimasukkan kedalam perhitungan analisa statistik (SPSS) karena kelompok ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan kadar NO pada 4 minggu pertama, tidak untuk membandingkan pada kelompok perlakuan yang diterapi dengan ekstrak kulit manggis karena durasi paparan diet aterogenik yang diberikan pada HFD 4 minggu dengan kelompok perlakuan EKM tidak sama, pada HFD 4 minggu hanya dipapar diet aterogenik selama 4 minggu, sedangkan pada kelompok perlakuan EKM dipapar diet aterogenik selama 12 minggu.

Kelompok perlakuan yang diterapi dengan ekstrak kulit manggis (EKM B) terdiri dari tiga kelompok perlakuan yang diberi diet aterogenik selama 12 minggu, pada minggu pertama hingga minggu keempat hanya diberi diet aterogenik, memasuki minggu kelima hingga minggu kedua belas diberi diet aterogenik dan ekstrak kulit manggis. Pemberian diet aterogenik selama 5 minggu pertama bermaksud menginduksi lesi aterosklerosis. Ekstrak kulit manggis yang diberikan menggunakan sonde sekali sehari sebanyak 1cc, dibagi menjadi 3 jenis terdiri dari EKM B1 dengan

dosis 200 mg/kg BB/hari, EKM B2 dengan dosis 400 mg/kg BB/hari, dan EKM B3 dengan dosis 800 mg/kg BB/hari.

Pembedahan dilakukan secara bertahap untuk menghindari jika ada sampel yang lisis nantinya, akan bisa digantikan dengan sampel yang sejenis dari kelompok yang sama dengan tetap memperhatikan $n \geq 3$. Pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif dan kelompok perlakuan ekstrak kulit manggis dengan berbagai dosis, pembedahan dilakukan setelah 12 minggu penelitian. Tikus dibius menggunakan eter, kemudian pengambilan sampel serum darah diambil melalui jantung tikus, dan disentrifuge untuk diambil serumnya. Serum disimpan dilemari pendingin dengan suhu -20°C . Pengukuran kadar NO menggunakan KIT : *Total NO /Nitrite/Nitrate Assay KGE 001 R&D system*. Test NO menggunakan ELISA dan pembacaan menggunakan *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 540 nm /690 nm.

5.1 HASIL PENELITIAN

Setelah dilakukan penelitian, satu ekor tikus sebagai model hewan coba masuk sebagai kriteria eksklusi karena tikus ini mati ditengah penelitian yaitu satu ekor tikus pada kelompok EKM B2 dengan nomor ulangan 2, tetapi tidak mempengaruhi jumlah n minimal karena jumlah n perlakuan dari awal penelitian dibuat lebih dari n minimal.

Penyajian data hasil pengukuran kadar NO ditulis dengan format mean \pm standar deviasi. Hasil pengukuran NO yang didapatkan pada tikus *Rattus norvegicus* kontrol dan perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 5.1 Perbandingan Rerata Kadar NO Serum pada Setiap Kelompok Perlakuan

Kelompok	Keterangan	Rerata (pg/ml) \pm Standar deviasi
K-	Diet Normal	53,53 \pm 30,91
K+	Diet Aterogenik 12 minggu	191,13 \pm 63,88
HFD 4 minggu	Diet aterogenik 4 minggu	95,90 \pm 3,52
EKMB1	Diet aterogenik 12 minggu + Ekstrak kulit manggis 200 mg/kg BB *	132,05 \pm 55,68
EKMB2	Diet aterogenik 12 minggu + Ekstrak kulit manggis 400 mg/kg BB *	33,62 \pm 28,84
EKMB3	Diet aterogenik 12 minggu + Ekstrak kulit manggis 800 mg/kg BB *	152,15 \pm 100,01

Keterangan : *Pemberian ekstrak kulit manggis dimulai sejak minggu ke-5 pemberian diet tinggi lemak

Kelompok kontrol negatif yang dijadikan acuan sebagai kelompok yang sehat, dimana rerata hasil kadar NO serum kelompok ini dikatakan sebagai nilai normal. Pada kelompok kontrol negatif didapatkan kadar NO serum 53,53 \pm 30,91 pg/ml. Kelompok kontrol negatif jika dibandingkan dengan kelompok HFD 4 minggu, kadar NO serum yang lebih tinggi didapatkan pada kelompok HFD 4 minggu, sebesar 95,90 \pm 3,52 pg/ml. Tetapi, jika kedua kelompok tersebut dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, kadar NO serum kontrol positif memiliki rerata tertinggi dibandingkan kedua kelompok tersebut yaitu 191,13 \pm 63,88 pg/ml. Dapat dikatakan bahwa semakin lamanya waktu pemberian diet aterogenik, akan mempengaruhi kadar NO serum lebih banyak, dalam penelitian ini kadar NO serum meningkat seiring dengan lamanya pemberian

diet atherogenik. Sehingga dapat dikatakan pengaruh durasi waktu terhadap kadar NO serum bersifat positif.

Pemberian ekstrak kulit manggis dengan berbagai dosis memiliki pengaruh berbeda pula pada kadar NO serum. Pada dosis ekstrak kulit manggis terendah yaitu 200mg/kgBB/hari kadar NO serum memiliki kadar yang tinggi sebesar $132,05 \pm 55,68$ pg/ml, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu sebesar $53,53 \pm 30,91$ pg/ml, tetapi kadar NO serum pada dosis ini lebih rendah daripada kelompok kontrol positif yang memiliki rerata kadar NO serum kelompok sebesar $191,13 \pm 63,88$ pg/ml, walaupun selisih perbedaan kadar NO serum tersebut tidak berbeda jauh.

Sedangkan pada peningkatan dosis berikutnya yaitu 400 mg/kgBB/hari kadar NO serum mengalami penurunan yaitu $33,62 \pm 28,84$ pg/ml. Kadar ini mendekati kadar normal yang dimiliki oleh kelompok kontrol negatif yaitu sebesar $53,53 \pm 30,91$ pg/ml, sedangkan jika dibandingkan dengan rerata kadar NO serum pada kelompok kontrol positif yaitu sebesar $191,13 \pm 63,88$ pg/ml, kelompok dengan dosis 400mg/kg BB/hari ini memiliki selisih perbedaan yang signifikan.

Rerata kadar NO serum kelompok pada dosis ekstrak kulit manggis tertinggi yaitu 800mg/kgBB/hari yaitu $152,15 \pm 100,01$ pg/ml jika dibandingkan dengan rerata pada kelompok lain yang diberikan ekstrak kulit manggis dengan dosis yang berbeda. Rerata kadar NO serum pada dosis 800mg/kgBB/hari ini memiliki selisih perbedaan yang cukup jauh dengan kelompok kontrol negatif yang memiliki rerata sebesar $53,53 \pm 30,91$ pg/ml, tetapi tidak berbeda jauh dengan kelompok kontrol positif yang memiliki rerata NO sebesar $191,13 \pm 63,88$ pg/ml.

Peningkatan kadar NO serum dapat dikatakan tidak berbanding lurus dengan peningkatan dosis ekstrak kulit manggis, hal ini terlihat pada pada dosis ekstrak kulit manggis 400mg/kgBB kadar NO mengalami penurunan yang signifikan sedangkan pada dosis yang lebih rendah dibawahnya yaitu 200mg/kgBB/hari dan dosis yang lebih tinggi diatasnya yaitu 800mg/kgBB/ hari kadar NO serum mengalami peningkatan.

5.2 ANALISIS DATA

Data yang didapatkan dari penelitian ini dianalisis dengan menggunakan metode uji statistika *Analysis of Variance* (ANOVA) Oneway. Sebelum melakukan analisa data dengan uji anova, maka harus dipenuhi syarat – syarat dalam melakukan uji One-way ANOVA untuk lebih dari 2 kelompok data tidak berpasangan. Syarat uji One-way ANOVA adalah sebaran data yang akan diuji terdistribusi normal, varian data tersebut adalah sama (homogen) dan sampel tidak berhubungan dengan yang lain.

Uji statistik pertama adalah untuk menentukan normalitas data , dilakukan untuk menguji perlakuan tiap parameter yang digunakan, di mana metode yang digunakan adalah *Kolmogorov Smirnov*. Dasar pengambilan keputusan adalah dengan menggunakan p-value, yaitu jika *p-value* $\alpha > 0,05$ maka perlakuan yang diamati berdistribusi normal, didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki sebaran yang tidak normal $p < 0,05$ ($p = 0,040$) (lampiran) sehingga p ditolak dan dapat disimpulkan data variabel tersebut menyebar mengikuti persebaran tidak normal. Dikarenakan data tidak normal, sehingga syarat dilakukan uji parametrik dalam hal ini One Way Anova tidak dapat terpenuhi, maka dilakukan uji non parametrik, dipilih uji *Kruskal Wallis* karena data yang dianalisa

<50 buah . Uji *Kruskal Wallis* bertujuan untuk menilai perbedaan rerata kadar NO tiap kelompok. Pada uji *Kruskal Wallis* dianggap bermakna jika nilai $p < 0,05$ atau dengan kata lain H_1 ditolak. Pada uji *Kruskal Wallis* ini H_0 yang diajukan adalah “Terdapat perbedaan ukuran kadar NO antar kelompok”. Dari hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p=0,020$, maka dapat diartikan bahwa H_0 diterima sehingga dapat disimpulkan bahwa “terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0.05$) pada rerata kadar NO *Rattus norvegicus*” (lampiran). Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan signifikan, dilakukan analisis Post Hoc yaitu uji non-parametrik *Mann-Whitney*. Pada uji Post Hoc dikatakan signifikan apabila nilai signifikansi $p<0.05$ dengan interval kepercayaan 95% (IK 95%). Hasil uji *Mann-Whitney* disajikan dalam Tabel 5.2

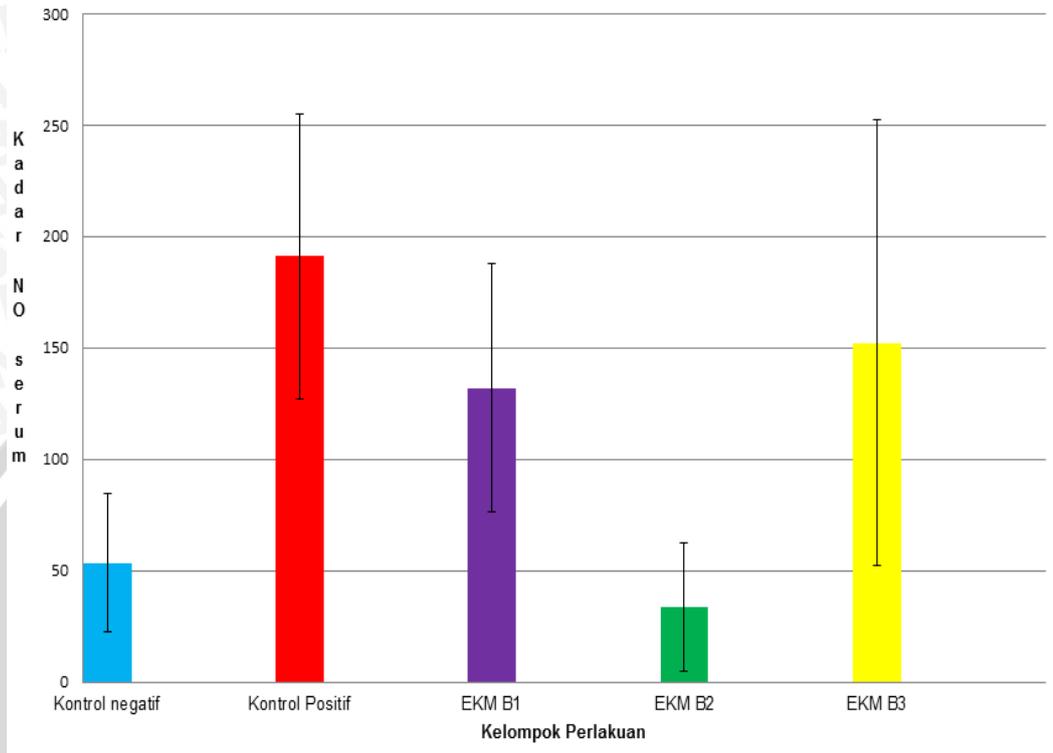
Tabel 5.2 Hasil Uji Post hoc *Mann-Whitney* NO serum

Perbandingan antar Kelompok		Nilai Signifikansi (p)	Keterangan
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,021 *	Perbedaan bermakna
	200 mg/kg BB	0,043 *	Perbedaan bermakna
	400 mg/kg BB	0,149	Perbedaan tidak bermakna
	800 mg/kg BB	0,149	Perbedaan tidak bermakna
Kontrol positif	200 mg/kg BB	0,248	Perbedaan tidak bermakna
	400 mg/kg BB	0,021 *	Perbedaan bermakna
	800 mg/kg BB	0,564	Perbedaan tidak bermakna
Dosis 200 mg/kg BB	400 mg/kg BB	0,043 *	Perbedaan bermakna
	800 mg/kg BB	0,773	Perbedaan tidak bermakna
Dosis 400 mg/kg BB	800mg/kg BB	0,043 *	Perbedaan bermakna

Keterangan:

*Nilai $p < 0,05$ = terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok

Kadar NO serum



Keterangan Diagram : Kontrol negatif kelompok tanpa perlakuan diet aterogenik maupun EKM dan diberi normal diet; Kontrol Positif: kelompok pemberian diet aterogenik saja tanpa pemberian EKM selama 12 minggu; HFD 4 Minggu: kelompok pemberian diet aterogenik saja tanpa pemberian EKM selama 4 minggu. EKM B1: kelompok 4 minggu pemberian diet aterogenik + EKM 200mg/kgBB pada minggu kelima hingga ke duabelas (8 minggu); EKM B2: kelompok 4 minggu pemberian diet aterogenik + EKM 400mg/kgBB pada minggu kelima hingga ke duabelas (8 minggu); EKM B3: kelompok 4 minggu pemberian diet aterogenik + EKM 800mg/kgBB pada minggu kelima hingga ke duabelas (8 minggu).

Diagram 5.1 Diagram perbandingan rerata kadar NO serum pada setiap kelompok perlakuan beserta standard deviasi

Dari hasil Uji *Mann Whitney* didapatkan bahwa :

1. Pemberian diet aterogenik pada tikus Wistar selama 12 minggu mempengaruhi kadar nitrit oksida serum kelompok kontrol positif

berbeda secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p=0,021$)

2. Pemberian ekstrak kulit manggis pada minggu kelima hingga keduabelas dengan dosis 200mg/kg BB bersamaan dengan pemberian diet aterogenik dari minggu pertama hingga keduabelas memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,043$) tetapi tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p=0,248$), berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang sama dengan perbedaan dosis 400 mg/kgBB ($p=0,043$) dan tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang sama dengan perbedaan dosis yaitu 800mg/kgBB ($p=0,773$)
3. Pada kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak kulit manggis 400mg/kg BB dari minggu kelima hingga minggu keduabelas yang sebelumnya diberikan diet aterogenik dari minggu pertama dilanjutkan hingga minggu keduabelas memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p=0,021$), kelompok ekstrak kulit manggis dosis 200mg/kg BB ($p=0,043$), dan kelompok ekstrak kulit manggis dosis 800mg/kg BB ($p=0,043$) tetapi tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,149$)
4. Pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 800 mg/kgBB pada minggu kelima hingga keduabelas dengan diberikan diet aterogenik sebelumnya pada minggu kesatu hingga keempat dan dilanjutkan diet aterogenik bersamaan pemberian ekstrak dari minggu kelima hingga keduabelas memiliki perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan

ekstrak kulit manggis dengan dosis 400mg/kg BB ($p=0,043$), tetapi tidak bermakna pada kelompok kontrol negatif (0,149), kelompok kontrol positif (0,564), kelompok perlakuan dengan dosis 200mg/kg BB ($p=0,773$)

