

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Pada bab ini akan dibahas mengenai hasil penelitian dan analisa data pada penelitian yang berjudul “Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Meningkatkan Jumlah *Fibroblast* Jaringan Luka Pada Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan Kondisi Hiperglikemia” yang telah dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang selama 14 hari. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel dengan hewan coba tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 sampel yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu: kelompok kontrol negatif dengan tikus kondisi tidak hiperglikemia yang diberi perawatan luka dengan *normal saline*, kelompok kontrol positif dengan tikus kondisi hiperglikemia yang diberi perawatan luka dengan *normal saline*, kelompok perlakuan standard dengan tikus kondisi hiperglikemia yang diberi perawatan luka dengan *normal saline* dan diberi suplemen *chitosan*, kelompok perlakuan 1 dengan tikus kondisi hiperglikemia yang diberi perawatan luka dengan *normal saline* dan diberi ekstrak cumi-cumi 450mg/200grBB dua hari sekali, kelompok perlakuan 2 dengan tikus kondisi hiperglikemia yang diberi perawatan luka dengan *normal saline* dan diberi ekstrak cumi-cumi 450mg/200grBB satu hari sekali, dan kelompok perlakuan 3 dengan tikus kondisi hiperglikemia yang diberi perawatan luka dengan *normal saline* dan diberi ekstrak cumi-cumi 450mg/200grBB satu hari dua kali.

Hasil penelitian diperoleh dengan melakukan pemeriksaan histologi jaringan kulit untuk mengetahui sel *fibroblast* dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE).

### 5.1 Hasil Penelitian

Bab ini membahas hasil penelitian dengan menganalisa data univariat dan data bivariat. Analisa data univariat menjelaskan hasil rerata jumlah *fibroblast* jaringan luka, sedangkan analisa data bivariat menjelaskan pengaruh kelompok kontrol dan perlakuan terhadap jumlah *fibroblast* jaringan luka yang ditentukan melalui uji statistika yaitu uji normalitas dengan Shapiro Wilk, uji homogenitas dengan uji *Homogeneity of Variance*, dan uji *one-way ANOVA*, serta apabila terdapat signifikansi  $p < 0,05$  (*Confidence interval 95%*) dapat dilanjutkan dengan uji *Post hoc* dengan uji Tukey.

#### 5.1.1 Hasil Ekstraksi Cumi-Cumi (*Loligo sp*) dan Persiapan Dosis

Pembuatan ekstrak cumi-cumi dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Ekstrak cumi-cumi yang digunakan adalah ekstrak dalam bentuk ekstrak kasar yang diperoleh dari seluruh bagian cumi-cumi berupa daging dan *viscera*. Proses ekstraksi cumi-cumi dilakukan dalam beberapa tahap. Tahap pengeringan dilakukan dengan oven bersuhu  $45^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 2$  hari dan kemudian diproses sehingga 10 kg cumi-cumi segar menghasilkan  $\pm 1$  kg tepung, dan diproses kembali menghasilkan  $\pm 140$  gram ekstrak kasar cumi-cumi dalam bentuk pasta. Pembuatan dosis ekstrak untuk perlakuan dilakukan dengan menimbang 2,225 gr ekstrak cumi dan dicampur dengan 10 ml akuades lalu dikocok hingga homogen. Pemberian ekstrak untuk tikus dengan berat badan 200 gram adalah 450 mg. Jumlah pemberian ekstrak setelah diencerkan adalah 450

$\text{mg}/2225 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$ . Sehingga setiap subjek diberikan 2 ml suspensi ekstrak peroral, dimana diasumsikan di dalam 2 ml terkandung 450 mg ekstrak cumi-cumi.

### 5.1.2 Hasil Pembuatan Dosis *Chitosan*

Pada kelompok perlakuan standard, dilakukan perawatan luka dengan *normal saline* dan diberi suplemen oral *chitosan*. Karena sediaan Chitosan berupa kapsul, maka serbuk *chitosan* perlu dihomogenkan dengan akuades agar mudah melakukan sonde. Penghitungan dosis untuk chitosan adalah sebagai berikut:

1. Dosis *chitosan* yang diperlukan adalah sebanyak 600mg yang dikonversi sesuai dosis untuk tikus dengan BB 200gr menjadi:  $600\text{mg} \times 0,018 = 10,8 \text{ mg}$
2. Untuk mengetahui dosis dalam kg/bb tikus:  $1000/200 \times 10,8 \text{ mg} = 54 \text{ mg/kg}$  bb.
3. Kemudian setiap 54 mg ekstrak dicampur dengan akuades hingga 10ml agar menjadi homogen sehingga mudah melakukan sonde pada hewan coba tikus. Sehingga, dengan menggunakan dosis 54 mg diperoleh penghitungan:  $10,8 \text{ mg}/54 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$  per pemberian oral. Setiap subjek diberikan 2 ml suspensi ekstrak peroral, dimana diasumsikan di dalam 2 ml terkandung 10,8 mg *chitosan*.

### 5.1.3 Hasil Induksi dengan Injeksi Streptozotocin (STZ)

Pada penelitian ini, hewan coba tikus yang diinduksi STZ hanya dilakukan pada kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan standard, dan kelompok perlakuan 1, 2, serta 3. Induksi DM dengan hiperglikemia dilakukan menggunakan STZ yang sebelumnya dicampur dengan *buffer* 0,1 M *citrate* dengan pH 4,5 dan diinjeksikan dengan dosis 45 mg/kgBB intraperitoneal. Rata-rata berat badan tikus

pada penelitian ini adalah 200 gr, sehingga setiap ekor tikus diberikan 9 mg STZ. Setiap 1 ml larutan sitrat mengandung 4,5 mg STZ, sehingga setiap subjek penelitian mendapatkan injeksi 2 ml larutan intraperitoneal. Hewan coba tikus dikatakan diabetes ketika dalam waktu 3 hari setelah injeksi STZ, kadar glukosa darah puasa  $\geq 150$  mg/dL. Data rerata berat badan tikus setelah aklimatisasi dan kadar glukosa darah pre dan post injeksi STZ ditunjukkan pada tabel 5.1.

**Tabel 5.1 Data Rerata (*Mean*  $\pm$  *SD*) Berat Badan Tikus dan Kadar Glukosa Darah Pre dan Post Injeksi STZ**

Kelompok Coba	Berat Badan	Glukosa Darah Puasa Pre Injeksi STZ	Glukosa Darah Puasa Post Injeksi STZ
Negatif (tanpa STZ)	228,6 $\pm$ 5,5946	78,4 $\pm$ 16,9499	110,8 $\pm$ 13,7186
Positif	230,8 $\pm$ 13,7732	85,6 $\pm$ 10,7378	453,8 $\pm$ 102,2751
Perlakuan Standar	219,4 $\pm$ 23,2659	93,2 $\pm$ 14,8223	520,6 $\pm$ 77,7612
Perlakuan 1	230,6 $\pm$ 13,6125	92,6 $\pm$ 12,4619	448,6 $\pm$ 141,0720
Perlakuan 2	243,8 $\pm$ 25,0938	98 $\pm$ 6,8557	483,2 $\pm$ 80,8066
Perlakuan 3	227,6 $\pm$ 22,7772	87 $\pm$ 3,9370	389,2 $\pm$ 90,0428

Berdasarkan tabel di atas, semua sampel tikus yang diinduksi diabetes telah mengalami diabetes mellitus yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia.

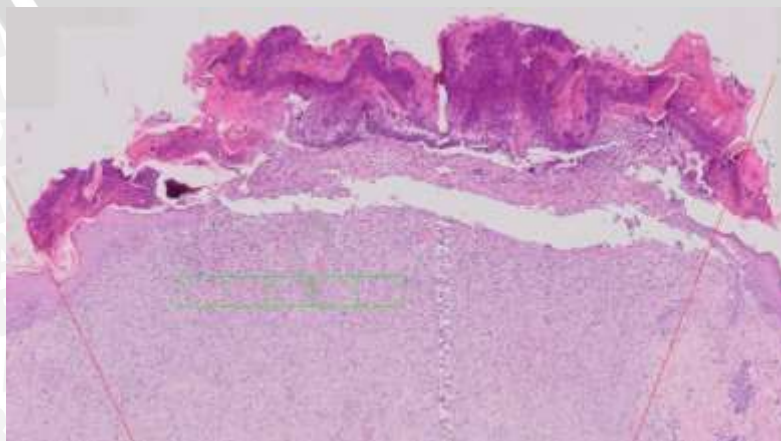
#### 5.1.4 Hasil Induksi Luka

Pada penelitian ini, perlakuan pada hewan coba dilakukan oleh petugas laboratorium yang sudah berpengalaman dan dilakukan oleh orang yang sama agar semua tikus memperoleh perlakuan yang sama. Perlakuan dilakukan setelah semua tikus yang mendapat induksi STZ telah dikonfirmasi menjadi hiperglikemia. Perlakuan dibuat menggunakan eksisi seluruh lapisan kulit dengan menghilangkan lapisan subkutan pada kulit berukuran standard 1,5 x 1,5 cm<sup>2</sup>.

Tikus dianastesi dengan *zoletil* 50mg/kgBB, sehingga setiap tikus dengan BB rata-rata 200 gr mendapat anastesi *zoletil* 10 mg. Pada hari pembuatan luka dianggap sebagai hari ke-0. Perawatan luka dilakukan setiap hari selama 14 hari. Semua sampel dirawat dengan menggunakan *normal saline*. Perawatan secara oral dengan memberikan ekstrak cumi-cumi pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3, sedangkan *chitosan* diberikan pada kelompok perlakuan standard.

### 5.1.5 Hasil Rerata Jumlah *Fibroblast* pada Jaringan Luka

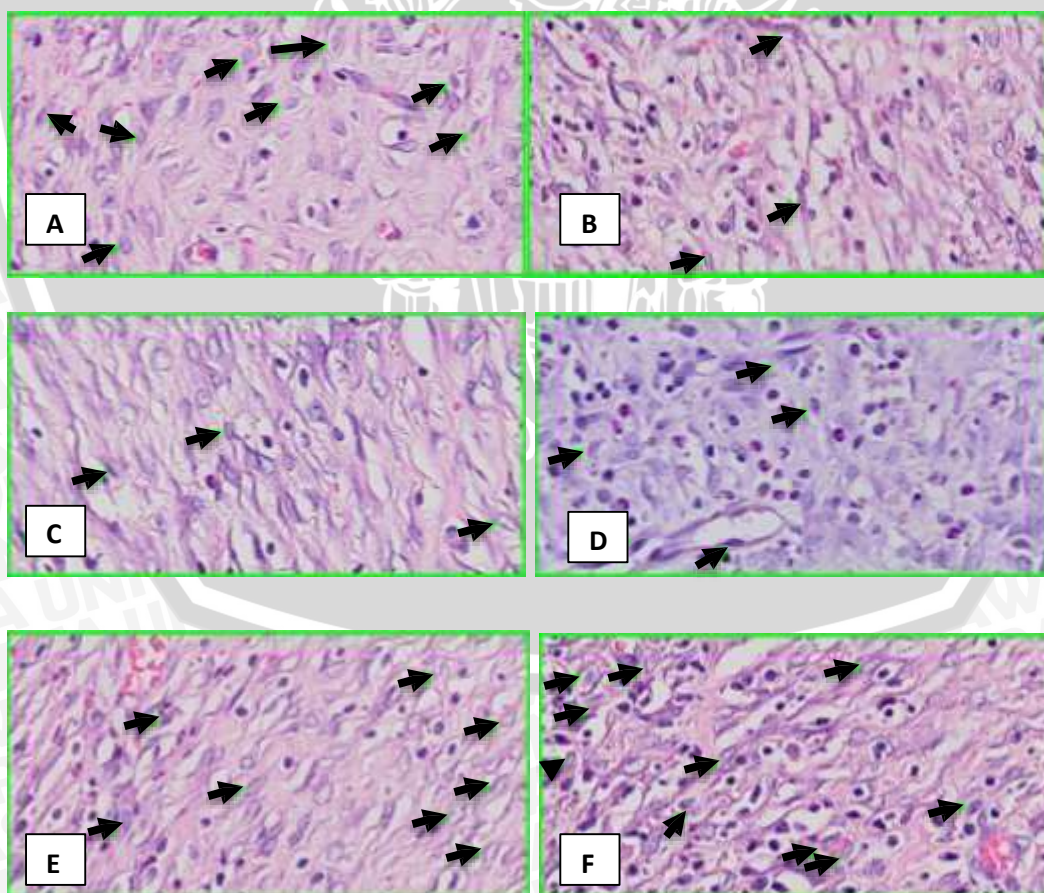
Penghitungan jumlah *fibroblast* dilakukan pada hasil *scan* preparat histologi yang telah didapat dari hasil perawatan luka selama 14 hari. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan fotomikroskop OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi software OlyVIA (Viewer for Imaging Applications) dengan pembesaran 400x pada tiap lapang pandang. Satu slide diambil 5 lapang pandang dan dihitung dengan penghitungan *counter* dimana sel-sel dari tiap lapang pandang dijumlah dan dibagi 5 sesuai jumlah lapang pandang. Lapang pandang ditentukan dengan menyusuri batas atas luka dimulai dari batas luka terhadap kulit normal pada gambar histologi. Semua sampel histologi jaringan luka pada semua kelompok diidentifikasi dan dihitung dengan teknik yang sama sehingga tidak terjadi bias. Gambar 5.1 menunjukkan pembagian lapang pandang untuk menentukan dan menghitung jumlah *fibroblast*.



### Gambar 5.1 Pembagian Lapang Pandang Area Luka untuk Perhitungan

**Jumlah Fibroblast** (Garis merah menunjukkan batas luka terhadap kulit normal, garis hijau menunjukkan 5 lapang pandang foto jaringan luka pada software olivia, pembesaran: 20x)

Pada penelitian ini didapatkan gambaran *fibroblast* berupa sel gepeng dengan inti lonjong, sedikit kromatin, dan satu atau dua nukleolus. Nukleus tampak berwarna ungu dan berbentuk lonjong, panjang, sitoplasma tampak bercabang dan tidak teratur. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa struktur dan bentuk *fibroblast* yang dijumpai pada penelitian ini sesuai dengan yang dideskripsikan dalam teori. Berikut ini merupakan gambar hasil identifikasi *fibroblast* pada masing-masing kelompok.



**Gambar 5.2** Penghitungan *fibroblast* (panah hitam) dengan perbesaran 400x pewarnaan H&E pada kelompok negatif (A), kelompok positif (B), kelompok perlakuan standar (C), kelompok perlakuan 1 (D), kelompok perlakuan 2 (E), dan kelompok perlakuan 3 (F)

Berikut ini merupakan hasil penghitungan jumlah *fibroblast* pada masing-masing kelompok.

**Tabel 5.2** Data Rerata (*Mean ± SD*) Jumlah *Fibroblast* Tiap Sampel

No	Kelompok	Kode Sampel	Rerata Jumlah <i>Fibroblast</i> Tiap Sampel	Rerata ( <i>Mean±SD</i> ) Jumlah <i>Fibroblast</i> Tiap Kelompok per Lapang Pandang
1.	Kontrol Negatif (N)	N1	8.0	11 ± 2.35
		N2	10.6	
		N3	13.6	
		N4	11.8	
2.	Kontrol Positif (Po)	Po1	4.6	4.6 ± 1.47
		Po2	2.8	
		Po3	4.6	
		Po4	6.4	
3.	Perlakuan Standard (PS)	PS1	5.6	5.8 ± 0.67
		PS2	5	
		PS3	6	
		PS4	6.6	
4.	Perlakuan 1 (P1)	P1.1	8.6	8.95 ± 0.25
		P1.2	9	
		P1.3	9	
		P1.4	9.2	
5.	Perlakuan 2 (P2)	P2.1	8.6	9.7 ± 0.90
		P2.2	9.6	
		P2.3	9.8	
		P2.3	10.8	
6.	Perlakuan 3 (P3)	P3.1	11.2	11.05 ± 0.19
		P3.2	11	
		P3.3	10.8	
		P3.4	11.2	

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah *fibroblast* pada tabel di atas, dapat diketahui bahwa terdapat hasil yang bervariasi terhadap jumlah *fibroblast* pada masing-masing kelompok. Hasil identifikasi *fibroblast* yang diperoleh pada kelompok kontrol negatif memiliki rerata jumlah *fibroblast* lebih besar dibandingkan kelompok kontrol positif. Selain itu, rerata jumlah *fibroblast* antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol juga memiliki perbedaan, dimana kelompok kontrol positif (Po) mempunyai rerata jumlah *fibroblast* yang lebih kecil dibandingkan dengan rerata jumlah *fibroblast* seluruh kelompok perlakuan (PS, P1, P2, P3). Hasil rerata jumlah *fibroblast* antar kelompok perlakuan juga memiliki perbedaan, dimana kelompok PS mempunyai rerata jumlah *fibroblast* yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok P1, P2, dan P3. Sementara hasil rerata jumlah *fibroblast* pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak cumi-cumi (Kelompok P1, P2, dan P3) diperoleh hasil rerata jumlah *fibroblast* terbanyak didapatkan pada kelompok perlakuan 3 (P3) dengan pemberian ekstrak cumi-cumi 450 mg/kgBB dengan pemberian dua kali sehari.

## 5.2 Analisa Data Hasil Identifikasi *Fibroblast*

### 5.2.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Uji normalitas dan homogenitas digunakan untuk mengetahui bahwa data yang didapat berdistribusi normal dan mempunyai data yang homogen, Data dengan distribusi normal dan homogen merupakan salah satu syarat dilakukannya uji parametrik. Pada penelitian ini, uji normalitas yang digunakan adalah uji Saphiro-wilk karena sampel yang digunakan pada penelitian ini berjumlah  $\leq 50$ . Uji homogenitas yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan Lavene-test.



Dari hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi  $p$  (value) tiap-tiap kelompok  $> 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang di dapat berdistribusi normal. Dan hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi  $p$  (value)  $> 0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh adalah homogen. Dengan mengetahui bahwa data berdistribusi normal dan homogen, maka selanjutnya dapat dilakukan uji statistik parametrik menggunakan uji One-Way Anova.

### 5.2.2 Hasil Uji One-Way Anova

Pada uji One-Way Anova, nilai  $p < 0,05$  dianggap signifikan. Apabila terdapat perbedaan nyata dilakukan uji lanjutan (*Post hoc Test*) menggunakan uji beda nyata jujur (BNJ) atau *Tukey Test* dengan taraf kepercayaan sebesar 95% dengan ( $\alpha=0,05$ ). Berikut ini merupakan hasil uji One-Way Anova dari data jumlah *fibroblast* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Berikut ini merupakan hasil uji One-Way Anova dari data jumlah *fibroblast* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

**Tabel 5.3 Hasil Pengujian One-Way ANOVA Data Jumlah *Fibroblast***

Variabel	df	F	p value
Jumlah <i>Fibroblast</i>	5	19.575	.000*

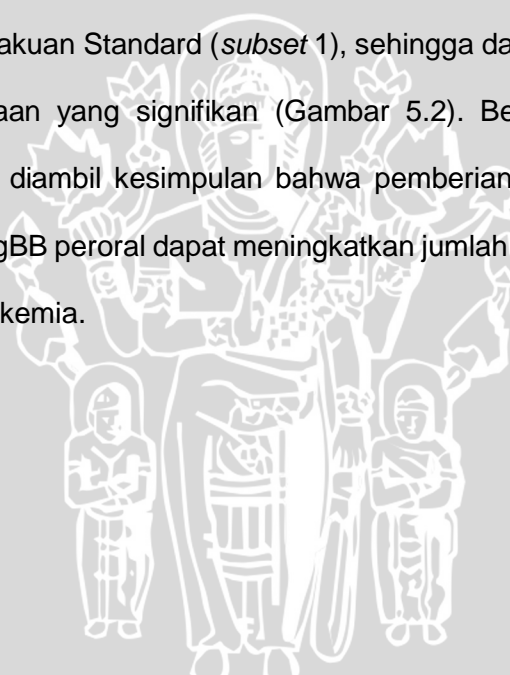
\*bermakna pada  $\alpha=0,05$

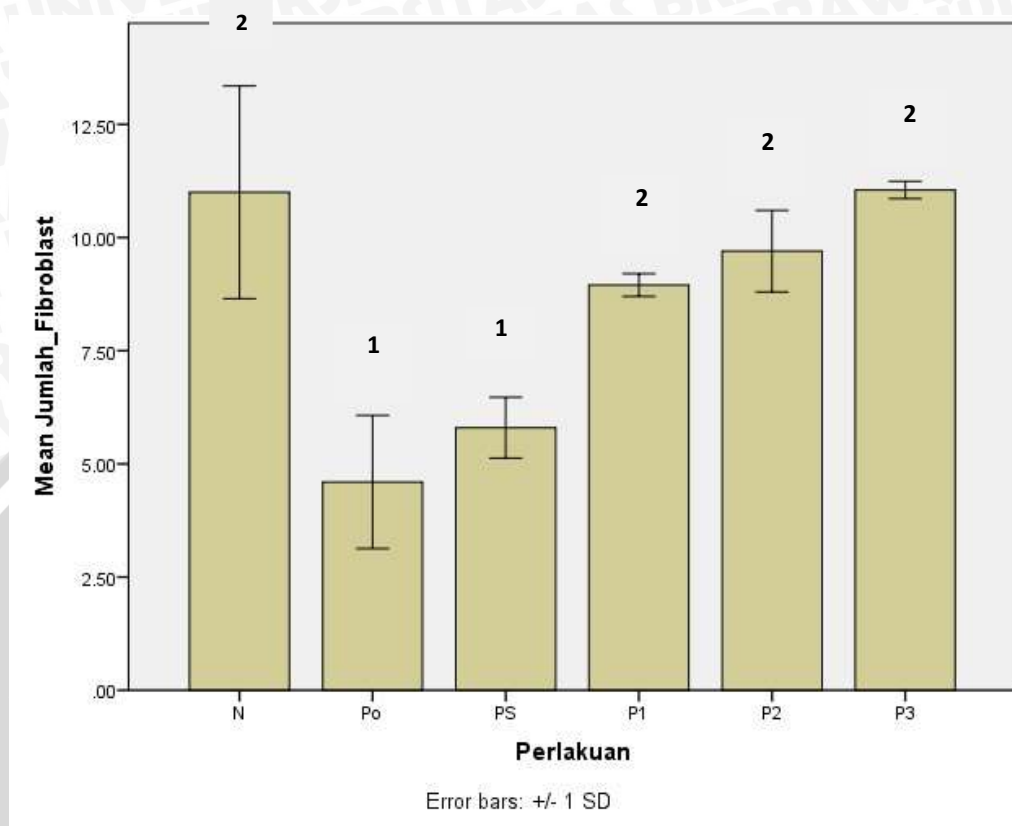
Berdasarkan hasil uji One-way Anova, didapatkan nilai signifikansi  $p$ -value (0.000)  $< \alpha$  (0.05), yang artinya bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi (*Loligo sp*) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel *fibroblast* jaringan luka dengan kondisi hiperglikemia pada tikus putih di hari ke 14. Karena hasil uji One-Way Anova signifikan, selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* dengan menggunakan

uji Tukey HSD untuk mengetahui adanya perbedaan rerata jumlah *fibroblast* jaringan luka pada kondisi hiperglikemia antar kelompok.

### 5.2.3 Hasil Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*)

Pada pengujian *Post-Hoc*, kelompok Positif (*subset 1*) berada pada kolom subset yang berbeda dengan kelompok Negatif (*subset 2*), kelompok Perlakuan 1 (*subset 2*), kelompok Perlakuan 2 (*subset 2*), dan kelompok Perlakuan 3 (*subset 2*), sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan Kelompok Positif (*subset 1*) berada pada kolom subset yang sama dengan Kelompok Perlakuan Standard (*subset 1*), sehingga dapat diartikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan (Gambar 5.2). Berdasarkan hasil uji statistik di atas, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak cumi-cumi dengan dosis 450mg/kgBB peroral dapat meningkatkan jumlah *fibroblast* pada luka dengan kondisi hiperglikemia.





Gambar 5.3 Grafik Pengaruh Ekstrak Cumi-Cumi terhadap Peningkatan Jumlah *Fibroblast* Jaringan Luka