

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Bab ini akan membahas mengenai hasil penelitian dan analisis data penelitian yang berjudul “Ekstrak Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) Meningkatkan Jumlah Pembuluh Darah Jaringan Luka pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar dengan Kondisi Hiperglikemia” yang dilakukan pada 30 ekor tikus putih galur wistar jantan selama 14 hari di laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Sebelum penelitian, dilakukan aklimatisasi hewan coba selama 7 hari dengan pemberian pakan standar. Setelah itu dilakukan pengukuran glukosa darah puasa tikus, lalu diinjeksikan *Streptozotocin* (STZ) untuk induksi Diabetes Mellitus intraperitoneal. Tiga hari setelah induksi glukosa darah puasa tikus diukur kembali untuk menentukan tikus dalam kondisi hiperglikemia. Pada hari yang sama tikus telah ditentukan dalam kondisi hiperglikemia, dilakukan pembuatan luka *full thickness* di bagian dorsal tikus dengan bentuk persegi berukuran 1,5 cm X 1,5 cm. Kemudian, luka tikus dirawat setiap hari dengan *normal salin*, serta perlakuan dengan pemberian diet ekstrak cumi-cumi. Randomisasi sampel dilakukan dengan cara penomoran dan pengundian ke dalam 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih. Semua kelompok dilakukan perawatan luka yang sama yakni perawatan setiap hari dan menggunakan normal salin. Pemberian diet untuk masing-masing kelompok dibedakan yakni, kelompok kontrol negatif berada dalam kondisi tidak diabetes mellitus dan pemberian diet standar, kelompok kontrol positif berada dalam kondisi diabetes mellitus dan pemberian diet standar, kelompok perlakuan standar berada dalam kondisi

diabetes mellitus dan pemberian tablet *Chitosan*, kelompok perlakuan 1 berada dalam kondisi diabetes mellitus dan pemberian ekstrak cumi-cumi 1 kali sehari, kelompok perlakuan 2 berada dalam kondisi diabetes mellitus dan pemberian ekstrak cumi-cumi 2 kali sehari, serta kelompok perlakuan 3 berada dalam kondisi diabetes mellitus dan pemberian ekstrak cumi-cumi 2 hari sekali. Terminasi subjek penelitian dilakukan pada hari ke-14 dengan pemberian kloroform berlebihan via inhalasi. Kemudian dilakukan pembedahan jaringan luka untuk dilakukan pengecatan *Hematoxylin & Eosin*, sehingga dapat mengidentifikasi serta menghitung jumlah pembuluh darah di jaringan luka.

5.1 Hasil Penelitian

Bab ini membahas hasil penelitian dengan menganalisa data univariat dan data bivariat. Analisa data univariat menjelaskan hasil rerata jumlah pembuluh darah jaringan luka, sedangkan analisa data bivariat menjelaskan pengaruh kelompok kontrol dan perlakuan terhadap jumlah pembuluh darah jaringan luka yang ditentukan melalui uji statistika yakni, 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 Ekstraksi Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) dan Persiapan Dosis

Ekstraksi cumi-cumi dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang dalam beberapa tahap. 10 kilogram Cumi-cumi segar dari nelayan dikirim ke laboratorium dengan menggunakan es, sehingga menjaga konsistensi daging cumi-cumi. Kemudian dilakukan proses pengeringan dengan oven dengan

suhu 45° C selama ± 48 jam, lalu setelah kering dilakukan proses penghalusan dengan akhir hasil berupa ± 1 kg tepung cumi-cumi. Proses selanjutnya dilakukan pencampuran tepung cumi-cumi dengan etanol, didiamkan selama 24 jam kemudian dilakukan proses evaporasi untuk membuang campuran etanol, sehingga menghasilkan hanya zat aktif yakni ekstrak cumi-cumi sebanyak ± 140 gram dalam bentuk pasta. Penelitian ini menggunakan 25 gram cumi-cumi dalam dosis manusia, kemudian dilakukan konversi ke dosis untuk tikus 200 gram yakni $25 \text{ gr} \times 0,018 = 0,45 \text{ gram} = 450 \text{ mg}/200 \text{ gram BB}$. Dosis untuk per kg BB tikus = $1000/200 \times 450 \text{ mg} = 2.225 \text{ mg} = 2,225 \text{ gr}/\text{kg bb}$. Setelah itu, 2.225 mg ekstrak cumi-cumi dicampur dengan akuades hingga 10 ml, kocok hingga homogen. Dosis pemakaian per 200 gram BB tikus adalah = $450 \text{ mg}/2.225 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$ per pemberian oral. Sehingga setiap subjek diberikan 2 ml suspensi ekstrak peroral per pemberian, dimana diasumsikan didalam 2 ml sudah terkandung 450 mg ekstrak cumi-cumi.

5.1.2 Pembuatan Dosis Chitosan

Dosis tablet **CHITOSAN®** untuk manusia dewasa perhari adalah 600 mg, maka dikonversi ke dosis tikus per 200 gram bb adalah 10,8 mg. Dosis untuk perkg BB tikus adalah = $1000/200 \times 10,8 \text{ mg} = 54 \text{ mg}/\text{kg bb}$. Kemudian 54 mg tablet chitosan yang sudah digerus disuspensikan dengan akuades hingga 10 ml, kocok homogen. Dosis pemakaian pada tikus adalah = $10,8 \text{ mg}/54 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$ per pemberian oral. Sehingga setiap subjek diberikan 2 ml suspense tablet chitosan peroral, dimana diasumsikan didalam 2 ml suspense sudah terdapat 10,8 mg kandungan tablet chitosan.

5.1.3 Induksi Diabetes Mellitus dengan Injeksi Streptozotocin (STZ)

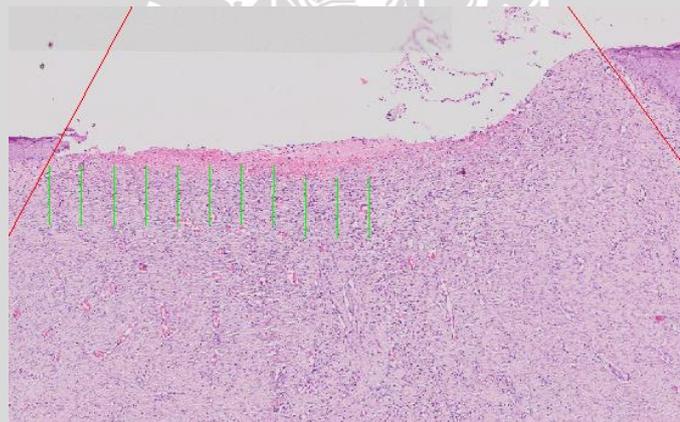
Induksi Diabetes Mellitus pada subjek penelitian dilakukan dengan menggunakan injeksi Streptozotocin dosis tunggal 45 mg/kg BB yang dilarutkan dalam 0,1 Molar sitrat dengan pH 4,5. Dosis STZ yang dibutuhkan setiap subjek adalah 9 mg/200 gr BB. Sebelum induksi dilakukan, dilakukan pengukuran glukosa darah puasa pada masing-masing subjek. Kemudian, masing-masing subjek penelitian mendapatkan 0,2 ml suspensi STZ, dimana didalam 0,1 ml suspensi terkandung 4,5 mg STZ. Kemudian, setelah 5 kelompok dilakukan injeksi STZ intraperitoneal, minum subjek diganti dengan larutan sukrosa 10% dalam 24 jam pertama untuk mencegah kematian subjek. Hari ketiga dilakukan pengukuran glukosa darah puasa tikus dengan menggunakan glukometer digital NESCO®. Subjek dengan glukosa darah puasa ≥ 150 mg/dL dianggap sudah berada dalam kondisi Diabetes Mellitus. Data rerata berat badan tikus setelah aklimatisasi 7 hari dan kadar glukosa darah sebelum dan setelah injeksi STZ terdapat 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	227,6 \pm 22,7772	87 \pm 3,9370	389,2 \pm 90,0428
Perlakuan 2	230,6 \pm 13,6125	92,6 \pm 12,4619	448,6 \pm 141,0720
Perlakuan 3	243,8 \pm 25,0938	98 \pm 6,8557	483,2 \pm 80,8066

5.1.4 Nilai Rata-Rata Jumlah Pembuluh Darah Jaringan Luka

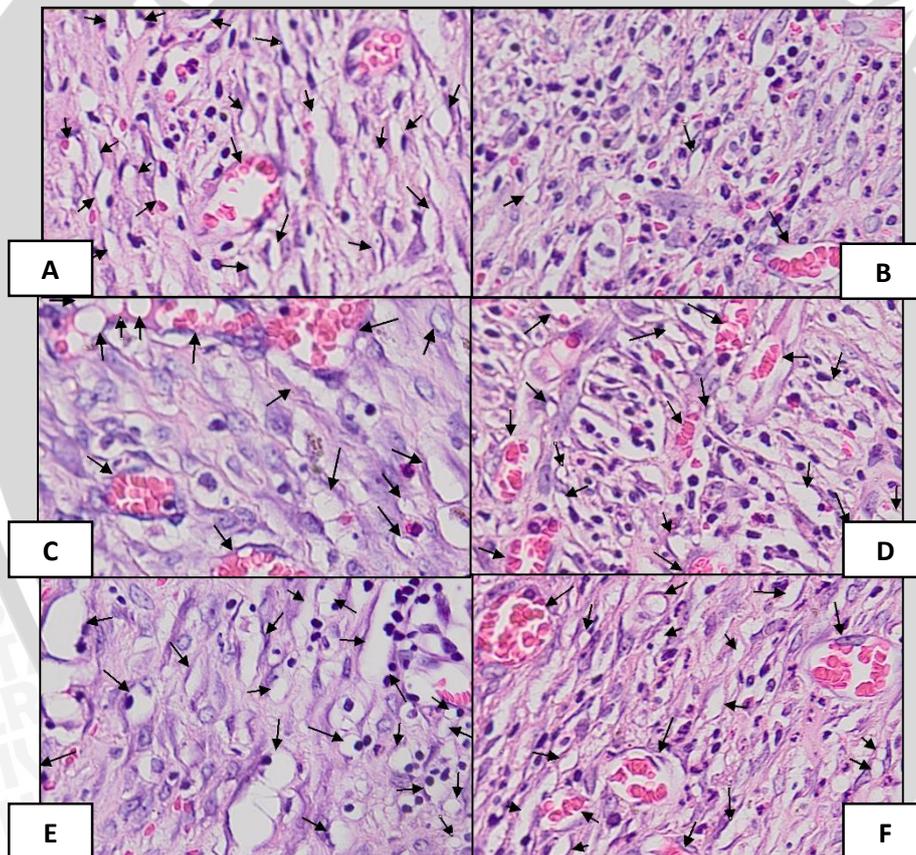
Perhitungan jumlah pembuluh darah dilakukan setelah pengecatan histologi dengan *Hematoxylin & Eosin* (H&E) dan diidentifikasi melalui software *olivia*. Identifikasi dan perhitungan jumlah pembuluh darah jaringan luka dilakukan pada 10 lapang pandang dengan pembesaran total 400X. Lapang pandang ditentukan 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 pembuluh darah.



Gambar 5.1 Pembagian Lapang Pandang Area Luka untuk Perhitungan Jumlah Pembuluh Darah (Garis merah menunjukkan batas luka terhadap kulit normal, garis hijau menunjukkan 10 lapang pandang foto jaringan luka pada software *olivia*, pembesaran: 16x)

Perhitungan jumlah pembuluh darah dilakukan pada setiap lapang pandang dengan menandai masing-masing pembuluh darah yang teridentifikasi sesuai morfologi pembuluh darah pada jaringan luka secara histologi. Kemudian

tanda yang menunjukkan pembuluh darah yang teridentifikasi, dihitung pada setiap foto jaringan luka. Identifikasi dan perhitungan jumlah pembuluh darah pada histologi jaringan luka ditunjukkan pada gambar 5.2. Rata-rata jumlah pembuluh darah pada setiap sampel jaringan luka ditentukan dengan membagi jumlah total pembuluh darah yang teridentifikasi dengan jumlah lapang pandang. Data hasil perhitungan jumlah pembuluh darah tiap kelompok perlakuan dimasukkan kedalam *SPSS for windows version 20* untuk melakukan uji univariat sehingga didapatkan data mean dan standar deviasi tiap kelompok.



Gambar 5.2 Perhitungan jumlah pembuluh darah (panah hitam) dengan perbesaran 400X pada 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).

Nilai rerata jumlah pembuluh darah pada kelompok Negatif adalah 27,77 dan standar deviasi sebesar 5,76. Nilai rerata pada kelompok positif adalah 11,97 dan standar deviasi sebesar 5,65. Nilai rerata pada kelompok perlakuan standar adalah 16,12 dan standar deviasi sebesar 3,36. Nilai rerata pada kelompok perlakuan 1 adalah 37,10 dan standar deviasi sebesar 5,60. Nilai rerata pada kelompok perlakuan 2 adalah 29,00 dan standar deviasi sebesar 14,61. Serta, Nilai rerata jumlah pembuluh darah pada kelompok perlakuan 3 adalah 40,82 dan standar deviasi sebesar 10,08. Nilai rata-rata hasil perhitungan jumlah pembuluh darah jaringan luka tiap kelompok disajikan dalam tabel 5.2.

5.2 Analisa Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Data Jumlah Pembuluh Darah Jaringan Luka

Pada tabel hasil uji normalitas data menghasilkan signifikansi $P > 0,05$ pada semua kelompok coba. Sehingga data jumlah pembuluh darah jaringan luka terdistribusi normal. Sedangkan, pada pengujian homogenitas didapatkan signifikansi $P = 0,017$ ($P < 0,05$), sehingga data memiliki varian yang tidak homogen. Oleh karena data tidak homogen, dilakukan transformasi data dengan bentuk transformasi yang ditentukan oleh besar faktor *slope* dan *power*. Tabel panduan bentuk transformasi terbaik berdasarkan faktor *slope* dan *power* terdapat pada lampiran 3.

Bentuk transformasi terbaik pada data jumlah pembuluh darah jaringan luka adalah bentuk *square-root* (Dahlan, 2011). Setelah dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas dengan data yang sudah ditransformasi didapatkan semua kelompok terdistribusi normal dengan signifikansi $P > 0,05$ pada uji Shapiro Wilk, dan data memiliki varians yang homogen dengan signifikansi $P=0,051$ ($P>0,05$). Tabel hasil uji normalitas dan homogenitas data dapat dilihat pada lampiran 3. Oleh karena data sudah memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, pengujian dapat dilanjutkan ke uji *one-way ANOVA*.

5.2.2 Uji One-Way ANOVA Jumlah Pembuluh Darah Jaringan luka

Pada uji *one-way ANOVA* data jumlah pembuluh darah jaringan luka menghasilkan signifikansi $P = 0,000$ ($P < 0,05$). Tabel hasil pengujian *One-Way ANOVA* data jumlah pembuluh darah jaringan luka terdapat pada lampiran 3. Sehingga, dapat disimpulkan terdapat perbedaan secara signifikan rata-rata jumlah pembuluh darah jaringan luka diantara kelompok percobaan. Oleh karena terdapat beda signifikan diantara kelompok percobaan, dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda (*Post Hoc Test*).

5.2.3 Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*)

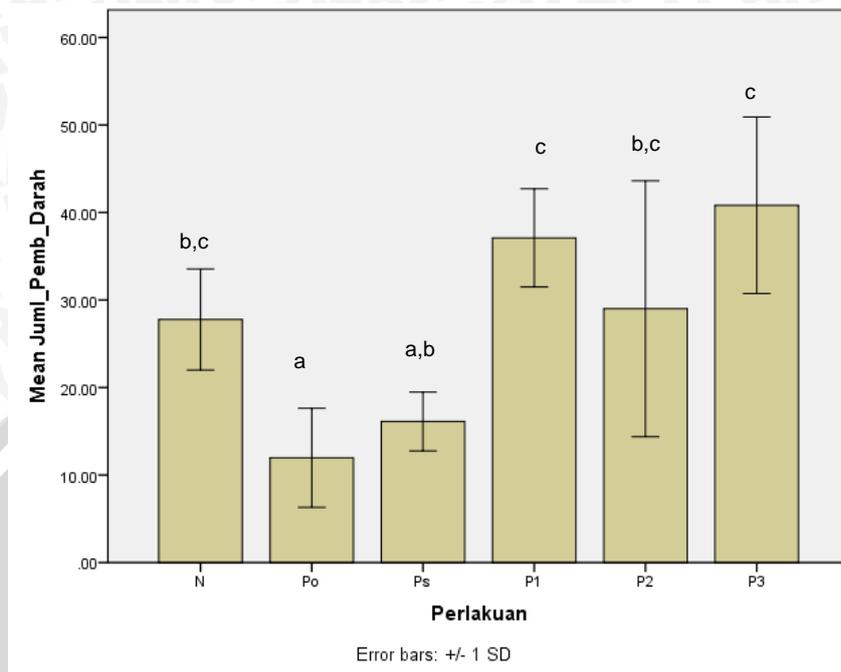
Pada pengujian *Post-Hoc*, kelompok Positif (*Subset a*) berada pada kolom subset yang berbeda dengan kelompok Negatif (*Subset b,c*), kelompok Perlakuan 1 (*Subset b,c*), kelompok Perlakuan 2 (*Subset c*), dan kelompok Perlakuan 3 (*Subset c*), sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan, kelompok Positif berada pada kolom subset yang sama dengan kelompok Perlakuan Standar (*Subset a,b*), sehingga dapat diartikan bahwa tidak

terdapat perbedaan yang signifikan (Gambar 5.3). Disamping itu, meskipun kelompok Perlakuan Standar berada pada satu subset yang sama (*subset b*) dengan kelompok Perlakuan 1 yang menandakan bahwa terdapat rerata jumlah pembuluh darah yang sama secara statistik ($P = 0,310$), tetapi kelompok Perlakuan Standar juga berada dalam satu kolom subset (*subset a*) dengan kelompok Positif, sehingga tidak dapat diambil kesimpulan bahwa kelompok dengan ekstrak cumi-cumi (Perlakuan 1) memiliki efektifitas yang sama dengan kelompok chitosan (Perlakuan Standar). Selain itu, kelompok Perlakuan 1, Perlakuan 2, dan Perlakuan 3 berada pada satu kolom subset yang sama (*subset c*) dengan kelompok Negatif yang menandakan bahwa luka tikus dalam kondisi hiperglikemia yang diberikan ekstrak cumi-cumi oral pada semua frekuensi pemberian menunjukkan rerata jumlah pembuluh darah yang sama secara statistik dengan kelompok tikus dalam kondisi sehat ($P = 0,440$). Sehingga, disimpulkan bahwa ekstrak cumi-cumi dapat mengembalikan homeostatis penyembuhan luka yang terbukti terlambat pada kondisi hiperglikemia pada indikator jumlah pembuluh darah jaringan luka.

Tabel 5.2 Hasil Nilai Rata-Rata (*Mean* \pm SD) Jumlah Pembuluh Darah Jaringan Luka

Kelompok Coba	N	Rata-Rata (<i>Mean</i>) \pm SD Jumlah Pembuluh Darah	<i>p Value</i>
Negatif (N)	4	27,7750 \pm 5,76910	0,000*
Positif (Po)	4	11,9750 \pm 5,65766	
Perlakuan Standar (Ps)	4	16,1250 \pm 3,36093	
Perlakuan 1 (P1)	4	37,1000 \pm 5,60892	
Perlakuan 2 (P2)	4	29,0000 \pm 14,61939	
Perlakuan 3 (P3)	4	40,8250 \pm 10,08807	

*bermakna pada $\alpha = 0,05$



Gambar 5.3 Grafik Pengaruh Ekstrak Cumi-Cumi terhadap Peningkatan Jumlah Pembuluh Darah Jaringan luka