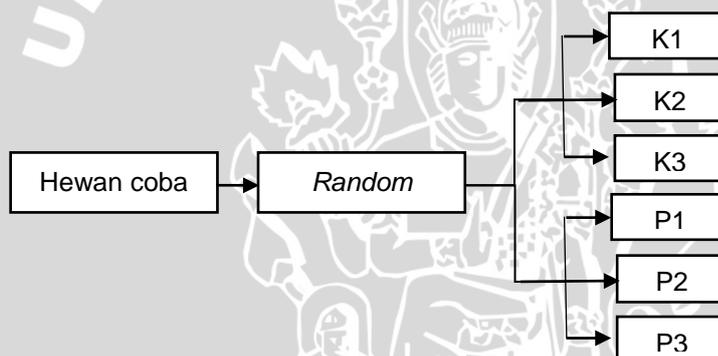


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah Eksperimental Laboratoris (Notoatmodjo, 2002). Desain penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post-Test Only Control Group Design* dimana subyek dibagi menjadi 6 kelompok secara *random* (Tjokronegoro, dkk, 1999).



Sampel dipilih dengan *Simple Random Sampling* kemudian ditempatkan pada :

- Kelompok Kontrol 1 (K1) : adalah kelompok yang tidak diberikan lendir bekicot pada soket gigi pasca pencabutan gigi yang akan dideterminasi pada hari ke-3 pasca pencabutan gigi.
- Kelompok Kontrol 2 (K2) : adalah kelompok yang tidak diberikan lendir bekicot pada sokte gigi pasca pencabutan gigi yang akan dideterminasi pada hari ke-5 pasca pencabutan gigi.

- c. Kelompok Kontrol 3 (K3) : adalah kelompok yang tidak diberikan lendir bekicot pada soket gigi pasca pencabutan gigi yang akan dideterminasi pada hari ke-7 pasca pencabutan gigi.
- d. Kelompok Perlakuan 1 (P1) : adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa pemberian lendir bekicot pada soket gigi pasca pencabutan gigi yang akan dideterminasi pada hari ke-3 pasca pencabutan gigi.
- e. Kelompok Perlakuan 2 (P2) : adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa pemberian lendir bekicot pada soket gigi pasca pencabutan gigi yang akan dideterminasi pada hari ke-5 pasca pencabutan gigi.
- f. Kelompok Perlakuan 3 (P3) : adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa pemberian lendir bekicot pada soket gigi pasca pencabutan gigi yang akan dideterminasi pada hari ke-7 pasca pencabutan gigi.

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah hewan percobaan berupa tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tikus galur Wistar dipilih sebagai populasi karena merupakan hewan coba yang tergolong jinak, mudah perawatannya, dan fungsi metabolismenya mirip dengan manusia.



Gambar 4.1 Tikus jantan *Rattus norvegicus* galur Wistar (Estina, 2010)

4.2.2. Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria inklusi sampel penelitian yang digunakan yaitu :

- a. Jenis kelamin jantan (untuk menghindari efek hormonal yang lebih dominan pada tikus betina)
- b. Berat badan tikus 200-350 gram
- c. Usia 2-3 bulan
- d. Keadaan umum tikus sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif, mata jernih, dan bulu mata tebal dan berwarna putih mengkilap.

Kriteria eksklusi sampel penelitian yang digunakan yaitu:

- a. Keadaan umum tikus tidak sehat yang ditandai dengan penurunan aktivitas tikus, mata tidak jernih dan berwarna kemerahan, keluar lender dari hidung, dan mengeluarkan air liur terus-menerus.
- b. Tikus yang mengalami diare pada saat penelitian ditandai dengan feses tikus yang tidak berbentuk.
- c. Tikus yang mengalami tanda-tanda infeksi pada soket gigi.
- d. Gigi yang patah saat pencabutan.
- e. Tikus mati selama penelitian

4.2.3. Jumlah Sampel Penelitian

Teknik randomisasi untuk pengelompokan perlakuan menggunakan *Simple Random Sampling* mengingat baik hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian lainnya adalah homogen. Pada rancangan ini dimungkinkan setiap hewan coba mempunyai kesempatan menjadi sampel dalam kelompok perlakuan atau kelompok kontrol.

Besar sampel yang digunakan pada penelitian berdasarkan rumus

Federer (1963), yaitu :

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

Keterangan :

n = jumlah pengulangan penelitian

t = jumlah kelompok

Oleh karena itu, perhitungan menjadi :

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

$$(n - 1) (6 - 1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Jadi, jumlah sampel minimum yang digunakan adalah 4 ekor tikus sebagai sampel untuk masing-masing kelompok. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus sebagai sampel, yang terbagi kedalam 6 kelompok. Namun, untuk menghindari *loss of sample* akan diberikan 1 ekor tikus cadangan.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas/Independen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lendir bekicot (*Achatina fulica*).

4.3.2. Variabel Terikat/Dependen

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel pada proses penyembuhan luka soket gigi pasca pencabutan gigi tikus Wistar (*Rattus novogicus*).

4.3.3. Variabel Kendali

- a. Hewan coba (Jenis kelamin, berat badan, usia, makan dan minum).
- b. Teknik pencabutan gigi hewan coba
- c. Jumlah sampel bahan percobaan yang dimasukkan kealam soket gigi tikus pasca pencabutan gigi

4.3.4. Variabel Tidak Terkendali

- a. Pengiriman bahan coba
- b. Keterampilan operator

4.4. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Faal, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Oktober sampai bulan Desember tahun 2016.

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

Setiap perlakuan menggunakan sarung tangan dan masker.

4.5.1 Alat dan Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

Enam buah box plastik berukuran 15x30x42 cm³ yang diisi 4 ekor tikus Wistar dengan kawat kasa sebagai sebagai tutup box dan sekam sebagai dasar box, dan tempat minum hewan coba.

4.5.2. Alat Penimbang Berat Badan Tikus

Neraca Ohaus (Sartorius).

4.5.3. Alat dan Bahan untuk Pencabutan

Pinset, pinset chirurgis, *ekscavator*, sonde setengah lingkaran, *blade* dan *scalpel*, anestesi (eter/ketamin), *Disposable syringe* (1ml) (Terumo, Japan), kapas, kassa, cawan, alkohol 70%.

4.5.4. Alat dan Bahan untuk Pengambilan Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Bekicot (*Achatina fulica*), alkohol 70%, tabung steril.

4.5.5. Bahan dan Alat Perlakuan

Lendir bekicot, pakan hewan coba.

4.5.6. Bahan dan Alat Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Preparat

Scalpel no.11, pinset, tabung fiksasi berlabel, gelas ukur, *object glass* dan *deck glass*, *counter*, mikroskop binokuler, alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 95%, 96%, 100%, albumin, formalin 10%, EDTA 14%, xylol, paraffin, alat cetak paraffin, *water-bath*, pewarna hematoksilin dan eosin, aquades, eter klorida dosis letal, *disposable syringe* (1ml), rotari mikrotom.

4.6. Definisi Operasional

a. Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Lendir Bekicot adalah lendir yang didapatkan langsung dari pemecahan cangkang bekicot yang telah disterilkan sebelumnya dengan alkohol 70% . Bekicot (*Achatina fulica*) diperoleh dari salah satu peternak bekicot di daerah Kesamben, Blitar. Kriteria bekicot berusia ± 5 bulan dengan berat 45 ± 5 gr. Lendir bekicot ditetaskan kedalam soket sampai soket terisi penuh, diaplikasikan 1 kali

sehari sampai determinasi tikus dilakukan (Cooling, 2005; Prasad *et al.*, 2004; Upatham *et al.*, 1988). Alat ukur : *Syringe disposable* (cc)

b. Makrofag

Makrofag adalah salah satu sel radang yang dilihat secara mikroskopis dengan pewarnaan *hematoxylyne-eosine* berbentuk bulat yang tidak beraturan, ukuran besar antara 60-80 μm , inti sel berwarna keunguan lonjong atau berbentuk seperti ginjal. Makrofag mempunyai ciri ciri sel yang sitoplasmanya berkembang begitu banyak lisosom dan mitokondria sehingga sitoplasmanya tampak seperti sebuah kantong yang penuh dengan granula-granula (Guyton, 2008). Alat ukur : *Counter*.

c. Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi dari alveolus gigi insisivus kiri rahang bawah kiri tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang dilakukan dengan menggunakan pinset dan ekskavator yang telah disterilkan (Harty dan Ogston, 1995).

d. Soket Gigi

Soket gigi yang dimaksud dalam penelitian ini adalah soket gigi mandibula *Rattus novegicus*. Soket gigi adalah lubang dalam tulang alveolar pada rahang yang memberikan tempat untuk melekatnya akar gigi.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. *Ethical Clearance*

Penelitian ini menggunakan *Ethical clearance* yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.7.2. Alur Penelitian

Tahapan-tahapan yang akan ditempuh dalam penelitian ini tersaji dalam akhir bab IV.

4.7.3. Pengambilan Lendir Bekicot (*Achatina fulica*)

Bekicot (*Achatina fulica*) hidup dibersihkan dengan air mengalir kemudian ditempatkan dalam kotak plastik (75 x 40 x 30 cm) selama 3 hari untuk mencegah kontaminasi material biological. Lendir bekicot dihasilkan dari glandula podal yang terletak di otot perut bekicot. Pengambilan lendir dilakukan setiap hari untuk menjaga kesegaran bahan lendir saat aplikasi lendir kedalam soket gigi.

Pengumpulan lendir dapat dilakukan dengan cara : Lendir dapat dikumpulkan dengan cara memecahkan ujung cangkang bekicot yang sebelumnya telah disterilkan dengan alkohol 70% kemudian lendir ditampung dalam wadah steril (Purnasari, 2012).

4.7.4. Persiapan Hewan Coba

- a. Tikus diadaptasikan dalam kandang kurang lebih selama 1 minggu pada temperatur konstan (20– 25°C) dengan 12-12 jam atau 14-10 jam siklus terang gelap dengan intensitas cahaya sebesar 75-125 fc untuk proses aklimatisasi. Tikus dipelihara dalam box plastik berukuran 15x30x42 cm³ yang ditutup dengan kawat kassa dengan dasar sekam yang diganti setiap 2-3 hari.

Selama proses tersebut, dijaga agar kebutuhan makan dan air minum tetap terpenuhi. Tikus Wistar memerlukan 5 gr/100grBB dan konsumsi cairan 8-11 ml/grBB selama 24 jam. Makanan diberikan 2 kali sehari saat

pagi dan sore hari. Makanan berupa diet normal terdiri dari 67% *Comfeed* PAR-S, 33% terigu, dan air secukupnya (Tsalissavrina, dkk., 2013).

- b. Tikus dipuasakan selama (12-18) jam sebelum perlakuan, namun air minum tetap diberikan (*ad libitum*) (Parveen *et al*,2007; Rajavel, et al, 2007).
- c. Berat badan tiap tikus ditimbang dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok secara acak dengan jumlah masing-masing kelompok adalah 4 ekor.

4.7.5. Pencabutan Gigi Tikus

Pencabutan gigi tikus dilakukan pada gigi insisivus kiri mandibula dikarenakan tidak ada perbedaan morfologi dari struktur dan jaringan anatara gigi insisivus dengan gigi tikus yang lainnya. Proses pencabutan :

- a. Anestesi dilakukan dengan cara anestesi intra-muscular dengan ketamin 40 mg/kgBB. Cara : Kaki dan ekor tikus dijepit agar tidak dapat bergerak. Lalu, ketamine dimasukkan kedalam *disposable syringe* dengan jarum nomor 24 sesuai dengan dosis (40 mg/kgBB). Kulit dibagian tengkuk tikus diangkat dan ditahan diantara dua jari. Lalu jarum dimasukkan dibawah kulit tengkuk kemudian cairan anestesi diinjeksikan dengan pelan-pelan. Kemudian, tikus akan menunjukkan gejala tidak sadarkan diri yang ditandai dengan reflek kumis dan bulu mata yang menghilang.
- b. Lalu gigi insisivus kiri mandibular dibersihkan dari makanan dengan semprotan air menggunakan *disposable syringe*, lalu dikeringkan.
- c. Dilakukan pencabutan gigi tikus dengan pinset dan ekskavator yang telah steril dengan arah sejajar dengan soket giginya secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalkan risiko patahnya gigi tikus.

- d. Soket diirigasi dengan aquades steril dan dikeringkan dengan kapas secara hati-hati (Fitriani, 2011).

4.7.6. Perawatan *Rattus norvegicus* Pasca Pencabutan Gigi

Pemberian makan dilakukan dengan cara mengencerkan makanan dan dilakukan dengan cara sondasi lambung tanpa melewati mulut tikus untuk mencegah gangguan penyembuhan luka pada soket gigi pasca pencabutan gigi. Pemberian makan dan minum dilakukan 2 kali sehari setiap pagi dan sore hari.

4.7.7. Tahap Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 24 ekor tikus dengan berat badan 200-350 gram dibagi kedalam 6 kelompok sebagai berikut :

a. Kelompok Kontrol

Kelompok kontrol diberikan perlakuan berupa dilakukannya pencabutan gigi insisivus kiri bawah kirinya pada hari ke nol, diberikan diet normal dan aquadest, tetapi tidak diberi perlakuan berupa pemberian lendir bekicot pada soket giginya.

- i. Kelompok K1 hari ke-3 : Pada hari ke-3, 4 ekor tikus dideterminasi dan diambil sampel rahang mandibula.
- ii. Kelompok K2 hari ke-5 : Pada hari ke-5, 4 ekor tikus dideterminasi dan diambil sampel rahang mandibula.
- iii. Kelompok K3 hari ke-7 : Pada hari ke-7, 4 ekor tikus dideterminasi dan diambil sampel rahang mandibula.

b. Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan diberikan perlakuan berupa dilakukannya pencabutan gigi insisivus kiri bawah kirinya pada hari ke nol, diberikan diet

normal dan aquadest, dan diberi perlakuan berupa pemberian lendir bekicot kedalam soket. Soket yang telah diirigasi, kemudian ditetesi lendir bekicot dengan menggunakan *disposable syringe* yang dimasukkan sampai kedalam dasar soket untuk mencegah terjebaknya gelembung udara dalam soket. Lendir ditetaskan sampai soket terisi penuh $\pm 0,1$ ml lendir untuk setiap soket gigi. Pemberian lendir bekicot dilakukan 1 kali sehari mulai hari ke-0 pasca pencabutan sampai dilakukannya determinasi tikus.

- i. Kelompok P1 hari ke-3 : Pada hari ke-3, 4 ekor tikus dideterminasi dan diambil sampel rahang mandibula.
- ii. Kelompok P2 hari ke-5 : Pada hari ke-5, 4 ekor tikus dideterminasi dan diambil sampel rahang mandibula.
- iii. Kelompok P3 hari ke-7 : Pada hari ke-7, 4 ekor tikus dideterminasi dan diambil sampel rahang mandibula.

4.7.8. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-3, 5, dan 7 untuk melihat jumlah infiltrasi sel makrofag pada soket gigi hewan coba.

- a. Dilakukan anestesi secara inhalasi dengan larutan eter klorida dosis letal. Cara : Menyediakan toples yang dapat ditutup rapat. Lalu, memasukkan kapas atau kain sampai menutupi dasar toples. Diberikan cairan eter klorida dosis letal sebanyak $\pm 0,70$ ml didasar toples, lalu ditutup rapat dan ditunggu sampai cairan eter menguap. Kemudian, tikus akan menunjukkan gejala tidak sadarkan diri yang ditandai dengan reflek kumis dan bulu mata yang menghilang.
- b. Tikus dideterminasi menggunakan scalpel no.11 dan diambil rahang bawahnya dimana terdapat soket bekas pencabutan gigi sebelumnya.

- c. Rahang bawah kemudian dimasukkan kedalam tabung berisi larutan formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label.
- d. Jasad tikus kemudian dikuburkan dalam tanah dengan kedalaman 40 cm.

4.7.9. Teknik Pemrosesan Jaringan

- a. Dilakukan proses dekalsifikasi dengan cara direndam dalam larutan EDTA 14%. Proses dekalsifikasi ini dilakukan selama 30 hari untuk menunggu jaringan tulang mandibula menjadi lunak dan dapat dipotong kecil. Larutan dekalsifikasi ini harus diganti setiap hari untuk mendapatkan hasil yang baik. Setelah proses dekalsifikasi selesai, maka dilakukan pencucian pada air mengalir selama 3-8 jam untuk menghilangkan sisa dari bahan dekalsifikasi.
- b. Melakukan proses fiksasi, dehidrasi, dan *clearing* dengan cara mencelupkan jaringan kedalam larutan seperti tabel dibawah ini sesuai dengan waktu yang telah ditentukan.

Tabel 4.1 Cairan Fiksasi, Dehidrasi, dan *Clearing*

Tabung	Larutan	Waktu	Proses
1	Formalin	2 jam	<i>Clearing</i>
2	Alkohol 70%	1 jam	Dehidrasi
3	Alkohol 80%	2 jam	Dehidrasi
4	Alkohol 95%	2 jam	Dehidrasi
5	Alkohol 96% + Prusi	2 jam	Dehidrasi
6	Alkohol 96% + Prusi	1 jam	Dehidrasi
7	Alkohol 96% + Prusi	2 jam	Dehidrasi
8	Xylol	1 jam	<i>Clearing</i>
9	Xylol	2 jam	<i>Clearing</i>
10	Xylol	2 jam	<i>Clearing</i>

4.7.10. Penanaman Dalam Paraffin (*embedding*) dan Penyayatan Jaringan

Kemudian melakukan *embedding* dan penyayatan jaringan dengan mikrotom dengan cara :

- a. Alat cetak yang terbuat dari logam berbentuk siku-siku disusun diatas permukaan kaca. Alat dan alas diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dan kaca dengan blok paraffin yang sudah beku.
- b. Paraffin cair ditempatkan dalam dua wadah yaitu untuk bahan *embedding* dan paraffin sebagai media penyesuaian temperatur yang akan ditanam.
- c. Paraffin cair pada tempat pertama dituangkan ke dalam alat cetak hingga penuh permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dan bagian permukaan jaringan yang menempel pada kaca diusahakan rata.
- d. Bila paraffin sudah cukup keras, alat cetak dilepaskan dan blok paraffin diberi label dan siap disayat.
- e. Blok paraffin ditempatkan pada alat pemegangnya yang berupa lempengan logam yang sudah dipanasi. Perhatikan sisi blok mana yang akan dipotong, kemudian didinginkan sampai suhu kamar agar tidak melekat erat.
- f. Pisau mikrotom dipasang pada pegangannya, membentuk sudut 5° - 10° . Pisau harus tajam dan permukaannya harus benar-benar rata.
- g. Blok yang sudah menempel pada pemegangnya dipasang pada mikrotom dan siap dilakukan pemotongan tipis yaitu 6 mikron.
- h. Hasil pemotongan berupa pita tipis dengan hati-hati dipindahkan kedalam water-bath agar sayatan jaringan mengembang dengan baik.
- i. Hasil potongan dimasukkan dalam *water bath* yang berisi air dengan suhu dibawah titik leleh paraffin ($\pm 48^{\circ}\text{C}$).

- j. Potongan yang sudah diseleksi dipindahkan pada *object glass* yang telah diolesi dengan *egg albumin* atau polisin sebagai bahan perekatnya yang sudah diberi label lalu sediaan dibiarkan kering dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu optimum (5860°C) selama 30menit.

4.7.11. Pengecatan Preparat Jaringan

Menurut Ross (1985) dan Hammersen (1993) pengecatan preparat jaringan dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

- a. Deparafinisasi dengan menggunakan *xylol*.
- b. Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2 menit.
- c. Memasukkan kembali ke dalam *xylol* II dalam wadah yang berbeda selama 2 menit.
- d. Dilakukan dehidrasi dengan larutan alkohol 96%, 95% dan 80% masing-masing 1 menit.
- e. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan alkohol.
- f. Preparat diwarnai dengan zat warna *Hematoxilin Mayer*'s selama 15 menit.
- g. Dibilas kembali di air mengalir selama 20 menit.
- h. Preparat direndam *eosin* selama 15 detik sampai 2 menit.
- i. Dilakukan dehidrasi kembali dengan larutan alkohol konsentrasi meningkat 95% dan 96% masing-masing 2 menit sebanyak 2 kali dengan wadah yang berbeda, bak I dan II.
- j. Setelah melalui alkohol absolut, preparat dipindahkan ke *xylol*.
- k. *Mounting*.

- I. Beri setetes medium Entellan yang mempunyai indeks refraksi hampir sama dengan indeks refraksi kaca pada sediaan hapus. Kemudian sediaan itu ditutup dengan kaca penutup dan dibiarkan mengering.

4.7.12. Penghitungan Jumlah Makrofag

Sel makrofag pada sediaan preparat jaringan dihitung menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 40x. Setiap preparat diletakkan satu tetes minyak emersi. Tiap potongan jaringan jumlah makrofag dihitung secara sistematis mulai dari pojok kiri bawah kemudian digeser kekanan dan ditarik keatas demikian seterusnya sehingga semua lapang pandang terbaca. Kemudian dihitung jumlah rata-rata makrofag dari masing-masing kelompok potongan jaringan tersebut.

4.8. Analisis Data

Hasil pengukuran jumlah sel makrofag yang positif pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16.0 for Windows 7 dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah sebagai berikut :

- a. Uji Normalitas : bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran atau distribusi normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis bergantung dari normal tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang berdistribusi normal digunakan *mean* dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Sedangkan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi

normal menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametrik. Sedangkan, jika sebaran data tidak normal digunakan uji non-parametrik.

- b. Uji homogenitas : bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Uji menggunakan *Levene*, jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa selanjutnya dapat menggunakan uji ANOVA. Uji *One-way* ANOVA bertujuan untuk menguji berlaku untuk membandingkan nilai dari rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan.
- c. Data penelitian yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan *Oneway Anova* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significance Difference)* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Bila data penelitian tidak terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji nonparametrik dengan *Kruskal-Wallis* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan bila ada perbedaan nyata antara kelompok sampel, dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% dengan nilai $\alpha=0,05$ (Notoatmojo, 2002).
- d. *Post-Hoc Test (Uji Least Significant Difference)* : bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji *Post-Hoc* yang digunakan adalah uji *LSD* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

- e. Uji korelasi Pearson : untuk mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda secara signifikan, yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil uji Post Hoc (LSD).



4.9. Alur Penelitian

