

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan *Randomized Only Post Test Controlled Group Design* secara *in vivo* pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* betina dan jantan. Pedoman penelitian ini menggunakan OECD 423 (*Organisation for Economic Cooperation and Development* Nomer 423) *Acute Toxic Class Method*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek paparan ekstrak kulit tomat (*Solanum lycopersicum*) dosis tinggi terhadap kadar SGOT dan SGPT tikus betina dan jantan.

#### **4.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **4.2.1 Populasi Penelitian**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit tomat (*Solanum lycopersicum*) dan menggunakan tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina dan jantan yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.

##### **4.2.2 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* strain wistar. Pemilihan sampel penelitian untuk pengelompokan perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) mengingat baik hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian lainnya dapat dikatakan homogen.

#### **4.2.2.1 Kriteria Sampel Penelitian**

##### **4.2.2.1.1 Kriteria Inklusi**

- a. Tikus *Rattus norvegicus* strain wistar berjenis kelamin betina dan jantan.

Terdapat sedikit perbedaan sensitivitas antara tikus betina dan jantan.

Pada uji LD50 tikus betina lebih sensitif daripada tikus jantan. Tikus jantan sensitif untuk uji toksikologi atau toksikokinetik.

- b. Usia dewasa (3 bulan)
- c. Berat badan 100-160 gram
- d. Kondisi sehat, aktif, dan tidak ada kelainan anatomi

##### **4.2.2.1.2 Kriteria Eksklusi**

- a. Tikus tidak mau makan seterusnya selama masa penelitian
- b. Tikus yang sakit dan mati selama masa perlakuan

#### **4.2.3 Jumlah Sampel Penelitian**

Berdasarkan Rumus Ferederer (1977), besar sampel untuk penelitian ini menggunakan rumus:  $(n - 1) \times (t - 1) \geq 15$ , dimana n (besar sampel tiap kelompok) = x dan t (banyaknya kelompok) = 8, yaitu 4 kontrol dan 4 perlakuan ekstrak kulit tomat, didapatkan nilai n sebagai berikut :

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

$$(n-1)(8-1) \geq 15$$

$$(n-1)(7) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$n \geq 3$$

Dibutuhkan sampel sebanyak 3 ekor tikus pada tiap kelompok. Sehingga jumlah tikus yang digunakan untuk penelitian ini adalah sebanyak 24 ekor, dengan pembagian sebagai berikut :

**Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Hewan Coba**

| No | Kelompok   | Jumlah                            | Diet dan Perlakuan  |
|----|--|-----------------------------------|---|
| 1  | Kontrol 24 jam   | 3 tikus betina dan 3 tikus jantan | Diet : normal<br>Perlakuan : pemberian aquades 2 ml secara oral                           |
| 2  | Kontrol 14 hari  | 3 tikus betina dan 3 tikus jantan | Diet : normal<br>Perlakuan : pemberian aquades 2 ml secara oral                           |
| 3  | Perlakuan ekstrak kulit tomat 2000 mg/kgBB (pengamatan selama 24 jam)  | 3 tikus betina dan 3 tikus jantan | Diet : normal<br>Perlakuan : pemberian ekstrak kulit tomat 2000 mg/kgBB secara sonde oral |
| 4  | Perlakuan ekstrak kulit tomat 2000 mg/kgBB (pengamatan selama 14 hari) | 3 tikus betina dan 3 tikus jantan | Diet : normal<br>Perlakuan : pemberian ekstrak kulit tomat 2000 mg/kgBB secara sonde oral |

### 4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

#### 4.3.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 23 hari dan mulai dilaksanakan pada tanggal 11 Agustus 2017 hingga tanggal 8 september 2017.

#### 4.3.2 Tempat Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan hewan uji serta pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Analisis serum SGOT dan SGPT dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Brawijaya Malang.

#### **4.4 Variabel Penelitian**

##### **4.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas (*independent variable*) dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit tomat (*Solanum lycopersicum*) dengan dosis 2000 mg/KgBB .

##### **4.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat (*dependent variable*) pada penelitian ini adalah kadar serum darah SGOT dan SGPT.

#### **4.5 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus**

Alat yang digunakan adalah kandang dari kotak berukuran 45 cm x 36,5 cm x 14,5 cm, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat meletakkan kandang, timbangan dengan neraca digital. Adapun bahan yang digunakan adalah sekam, air, dan pakan tikus.

##### **4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Makanan Tikus**

Pembuatan makanan tikus menggunakan alat berupa baskom plastik, timbangan, dan pengaduk. Sedangkan untuk bahan menggunakan bekatul, tepung terigu, dan air. Berat pakan per tikus adalah 40 gram.

##### **4.5.3 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kulit Tomat**

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan, oven, gelas Erlenmeyer, pendingin, corong gelas, kertas saring, labu penampang etanol, labu evaporator dan vacuum pump. Sedangkan untuk bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstraksi adalah kulit tomat (*Solanum lycopersicum*), etanol 96%, dan aquades.

#### **4.5.4 Alat dan Bahan Uji Toksisitas**

##### **4.5.4.1 Uji Toksisitas Akut Oral**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kapsul, spuit 5cc digunakan untuk mengambil sampel darah, *vacutainer no addition* sebagai penyimpan sampel darah, spuit 3cc untuk injeksi ketamine (bius tikus), timbangan hewan, kandang tikus beserta tempat makanan dan minuman, sonde oral, *syringe*, wadah pembiusan, alat bedah minor. Bahan yang digunakan adalah ekstrak kulit tomat, aquades, dan ketamin 30 mg/kgBB untuk membius tikus..

##### **4.5.4.2 Pengukuran Kadar Serum SGOT**

Alat yang digunakan yaitu kapas alkohol, spuit, tabung penampung, sentrifuge, mikropipet, vortex-mixer, dan spektrofotometer MICROLAB 340 nm. Adapun bahan yang digunakan yaitu serum, aspartate aminotransferase pada serum yang stabil untuk 7 hari pada suhu 2-8°C, reagen A (tris 121mmol/L, L-aspartate 362 mmol/L, malate dehydrogenase > 460 U/L, lactate dehydrogenase > 660 U/L, Sodium hydroxide 255 mmol/L, pH 7,8), reagen B (NADH 1,9 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L, sodium azide 9,5 g/L), dan reagen C (pyridoxal phosphate 10 mmol/L 5 mL).

##### **4.5.4.3 Pengukuran Kadar Serum SGPT**

Alat yang digunakan yaitu kapas alkohol, spuit, tabung penampung, sentrifuge, mikropipet, vortex-mixer, dan spektrofotometer MICROLAB 340 nm. Adapun bahan yang digunakan yaitu serum, aspartate aminotransferase pada serum yang stabil untuk 7 hari pada suhu 2-8°C, reagen A (tris 150 mmol, L-alanine 750 mmol/L, lactate dehydrogenase > 1350 U/L, pH 7.3) dan reagen B (NADH 1.9 mmol/L, 2-oxoglutarate 75 mmol/L, Sodium hydroxide 148 mmol/L sodium azide 9.5 g/L), dan reagen C (pyridoxal phosphate 10 mmol/L 5 mL).

#### **4.6 Definisi Operasional**

1. Ekstrak kulit tomat (*Solanum lycopersicum*) yang digunakan adalah hasil ekstraksi kulit tomat yang berasal dari Pasar Tradisional Gadang dan Merjosari, Malang, Jawa Timur dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.
2. Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Rattus norvegicus* strain wistar betina dan jantan sejumlah 24 ekor, usia 3 bulan dan berat badan 100-160 gram yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya Malang.
3. Uji toksisitas akut oral digunakan untuk menetapkan potensi toksisitas akut dari pemberian dosis 2000 mg/kgBB secara tunggal tikus putih betina dan jantan. Pengamatan efek toksitas dilakukan selama 24 jam dan 14 hari pasca pemberian ekstrak kulit tomat.
4. Pengukuran kadar SGOT : Aktivitas enzim SGOT ditetapkan berdasarkan metode enzimatik menggunakan spektrofotometer. Kadar serum SGOT

yang meningkat menandakan adanya gangguan pada fungsi hati. Kadar normal SGOT untuk tikus antara 39 – 111 IU/L (Maciej et al., 2013).

5. Pengukuran kadar SGPT : Aktivitas enzim SGPT ditetapkan berdasarkan metode enzimatik menggunakan spektrofotometer. Kadar serum SGPT yang meningkat menandakan adanya gangguan pada fungsi hati. Kadar normal SGPT untuk tikus antara 20 – 61 IU/L (Maciej et al., 2013).
6. Tanda-tanda toksisitas yang diamati setiap hari selama 14 hari meliputi perilaku tikus, pernafasan, somatomotor, kulit dan bulu, mukosa, mata dsb. Perhatian khusus diberikan akan adanya tremor, kejang, adanya air liur berlebihan, diare, letargi, lemah, tidur dan koma (BPOM, 2014).

## **4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data**

### **4.7.1 Persiapan Hewan Uji**

Persiapan hewan uji sesuai dengan aturan OECD 2001 a, b, c yaitu sebagai berikut:

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar didapatkan dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Menimbang berat badan semua tikus kemudian dilakukan pengacakan atau randomisasi agar setiap tikus mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan. Tikus yang diikutsertakan dalam percobaan adalah tikus yang sehat dengan ciri-ciri mata merah, bulu tidak berdiri, bertingkah laku normal, mengalami peningkatan berat badan dalam batas tertentu.

3. Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu dengan tujuan mengadaptasikan tikus dengan lingkungan yang baru dan meminimalisir efek stres pada tikus.
4. Memasukkan tikus kedalam kandang (bak plastik) dengan penutup kawat ram yang dibingkai dengan kayu. Berat badan tikus ditimbang setiap hari untuk pemantauan tikus bahwa berat badan tikus tidak mengalami penurunan dan berada dalam kondisi baik. Suhu ruangan diatur pada kisaran 22 °C ( $\pm 3$  °C), kelembaban ruangan berada pada kisaran 50 – 70 % serta pencahayaan diatur pada 12 jam diberikan cahaya terang dan 12 jam diberikan cahaya gelap.
5. Memberi label pada kandang tikus betina dan jantan sesuai dengan perlakuan yaitu label kontrol 24 jam, kontrol 14 hari, perlakuan 1, dan perlakuan 2 dengan setiap kelompok berisi 3 tikus.
6. Memberi alas pada kandang, alas kandang tikus yaitu sekam dengan ketebalan secukupnya dan melakukan pergantian sekam dua kali satu minggu.
7. Memberikan minum dengan air setiap hari, satu botol minum ukuran 80 mL untuk setiap tikus dan terdapat pipa dengan bola katup tempat keluarnya air minum. Botol diletakkan diatas kawat penutup kandang.
8. Memberikan pakan setiap hari yang ditimbang sebanyak 40 gram setiap tikus perhari.

#### **4.7.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Tomat**

Buah tomat dibersihkan dari kotorannya dengan cara dicuci, kemudian direbus kurang lebih 30 menit. Kulit tomat dipisahkan dari daging buah dan dihaluskan dengan blender. Jus kulit tomat dimasukkan kedalam gelas beaker

500 mL dan ditambah dengan aseton. Campuran diaduk selama 5 menit. Selanjutnya, campuran disaring, endapan dengan kuantitas yang sama dimasukkan ke dalam empat erlenmeyer 1000 mL bertutup yang dilapisi dengan kertas karbon pada bagian luar. Campuran pelarut aseton dengan perbandingan 3:1 kemudian di kocok dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit. Campuran dipindahkan ke dalam corong pisah, ditambah 10 mL aquades, dikocok kembali kemudian didiamkan selama 15 menit (sampai terbentuk dua fase). Lapisan atas (non polar) diambil dan diuapkan menggunakan rotavapor. Ekstrak pekat hasil rotavapor dimasukkan ke dalam botol kaca dan diukur volumenya.

#### **4.7.3 Uji Toksisitas Akut Oral**

Metode uji toksisitas akut oral yang digunakan pada penelitian ekstrak kulit tomat adalah limit test dari OECD nomer 423. Ekstrak kulit tomat diberikan dalam dosis tunggal dengan menggunakan sonde oral. Pada limit test digunakan 3 ekor tikus sebagai kontrol dan 3 ekor tikus pada masing-masing kelompok uji. Sebelum perlakuan, tikus dipuasakan selama 4 jam kemudian dilakukan penimbangan berat badan masing-masing tikus. Setelah ditimbang, tikus kontrol diberikan akuades dengan volume administrasi 4ml secara oral. Pada kelompok uji, tikus diberikan ekstrak kulit tomat dengan dosis 2000 mg/kgBB (OECD, 2001a,b,c).

Penelitian ini menggunakan dosis 2000 mg/kgBB dengan pertimbangan tanaman ini sudah digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional sehingga diperkirakan tidak toksik dan juga belum ada informasi tentang ketoksikan tanaman tersebut. Setelah perlakuan masing-masing tikus diamatipada 30 menit pertama, secara periodik selama 24 jam, dimana diberikan perhatian khusus pada 4 jam yang pertama, kemudian pengamatan dilanjutkan sehari sekali

selama 14 hari (Nurlaila dkk., 2015). Pengamatan pada tikus meliputi perubahan kulit, mata, diare, kejang, lemah, dan koma (OECD 423).

#### **4.7.4 Jenis Data**

Berat badan tikus ditimbang setiap hari agar peneliti mengetahui perkembangan berat badan tikus. Datayang didapat pada uji ketoksisikan akut ini adalah data kuantitatif yaitu hasil pengukuran kadar serum SGOT dan SGPT. Data diperoleh melalui pembacaan hasil pemeriksaan laboratorium terhadap kadar serum SGOT dan SGPT tikus *Rattus norvegicus* betina dan jantan dari kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Paparan ekstrak kulit tomat dosis 2000 mg/KgBB diberikan pada hari pertama. Kemudian tikus dimatikan setelah pengamatan 24 jam dan 14 hari sesuai dengan *ethical clearance*, dibedah, dan diambildarah dari jantung untuh diambil serumnya.

#### **4.7.5 Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel pertama dilakukan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 24 jam setelah pemberian ekstrak kulit tomat. Pengambilan sampel kedua dilakukan pada kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-15. Darah ditampung dalam tube *vacutainerno addition*, lalu didiamkan selama 15 menit kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Serum yang sudah terpisah dari endapan diambil dengan pipet 100 mikroliter, kemudian dilakukan pengukuran kadar serum SGOT dan kadar serum SGPT.

#### **4.7.6 Pemeriksaan kadar serum SGOT dan SGPT**

Prosedur analisis SGOT dan SGPT mengikuti metode kinetik dari IFCC (*The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*) 2014. Penentuan kadar SGOT dan SGPT caranya sama hanya berbeda jenis reagen yang digunakan.

#### 4.7.6.1 Pemeriksaan kadar serum SGOT

##### Prinsip

Aminotransferase (AST) mengkatalis transaminasi dari L-aspartate dan  $\alpha$ -ketoglutarate membentuk L-glutamate dan oxaloacetate. Oxaloacetate direduksi menjadi malate oleh enzyme malate dehydrogenase (MDH) dan nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) teroksidasi menjadi NAD. Banyaknya NADH yang teroksidasi, berbanding langsung dengan aktivitas AST dan diukur secara fotometrik dengan panjang gelombang 340 nm.

##### Persiapan reagen

Reagen kerja : menuangkan dan mencampurkan isi tabung reagen B ke tabung reagen A. Perbandingan volume masing-masing reagen yaitu 4 ml reagen A + 1ml reagen B.

##### Prosedur pemeriksaan kadar serum SGOT sebagai berikut :

1. Membawa reagen kerja dan instrumen ke suhu reaksi.
2. Pipet kedalam kuvet :

| Suhu reaksi  | 37°C       | 30°C        |
|--------------|------------|-------------|
| Reagen kerja | 1.0 mL     | 1.0 mL      |
| Sampel       | 50 $\mu$ L | 100 $\mu$ L |

3. Mencampur dan memasukkan kuvet kedalam fotometer. Memulai menghitung dengan *stopwatch*.

4. Setelah 1 menit, mencatat absorbansi awal dan pada interval 1 menit kemudian selama 3 menit.
5. Menghitung perbedaan antara absorbansi berturut-turut, dan perbedaan absorbansi rata-rata setiap menit ( $\Delta A/\text{min}$ ).
6. Rumus perhitungan konsentrasi SGOT/AST pada sampel :

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^8}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Keterangan :

$\epsilon$  : molar absorbansi dari NADH pada 340 nm yaitu 6300

$l$  : *lightpath* 1 cm

$V_t$  : total volume reaksi yaitu 1.05 pada 37 °C dan 1.1 pada 30 °C

$V_s$  : volume sampel yaitu 0.05 pada 37 °C dan 0.1 pada 30 °C

1 U/L : 0.0166  $\mu\text{kat/L}$

Rumus berikut ini disimpulkan untuk perhitungan konsentrasi katalitik :

|                       | 37°C                       | 30°C                      |
|-----------------------|----------------------------|---------------------------|
| $\Delta A/\text{min}$ | x 3333 = U/L               | x 1746 = U/L              |
|                       | x55.55 = $\mu\text{kat/L}$ | x29.1 = $\mu\text{kat/L}$ |

#### 4.7.6.2 Pemeriksaan kadar serum SGPT

##### Prinsip

Alanine aminotransferase (AST) mengkatalis transaminasi dari L-alanine dan  $\alpha$ -ketoglutarate membentuk L-glutamate dan pyruvate. Pyruvate yang terbentuk direduksi menjadi laktat oleh enzyme laktat dehydrogenase (LDH) dan nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) teroksidasi menjadi NAD. Banyaknya NADH yang teroksidasi hasil penurunan serapan (absorbance) berbanding langsung dengan aktivitas ALT dan diukur secara fotometrik dengan panjang gelombang 340 nm.

### Persiapan reagen

Reagen kerja : menuangkan dan mencampurkan isi tabung reagen B ke tabung reagen A. Perbandingan volume masing-masing reagen yaitu 4 ml reagen A + 1ml reagen B.

### Prosedur pemeriksaan kadar serum SGPT sebagai berikut :

1. Membawa reagen kerja dan instrumen ke suhu reaksi.
2. Pipet kedalam kuvet :

| Suhu reaksi  | 37°C   | 30°C   |
|--------------|--------|--------|
| Reagen kerja | 1.0 mL | 1.0 mL |
| Sampel       | 50 µL  | 100 µL |

3. Mencampur dan memasukkan kuvet kedalam fotometer. Memulai menghitung dengan *stopwatch*.
4. Setelah 1 menit, mencatat absorbansi awal dan pada interval 1 menit kemudian selama 3 menit.
5. Menghitung perbedaan antara absorbansi berturut-turut, dan perbedaan absorbansi rata-rata setiap menit ( $\Delta A/\text{min}$ ).
6. Rumus perhitungan konsentrasi SGPT/ALT pada sampel :

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

Keterangan :

$\epsilon$  : molar absorbansi dari NADH pada 340 nm yaitu 6300

$l$  : *lightpath* 1 cm

$V_t$  : total volume reaksi yaitu 1.05 pada 37 °C dan 1.1 pada 30 °C

$V_s$  : volume sampel yaitu 0.05 pada 37 °C dan 0.1 pada 30 °C

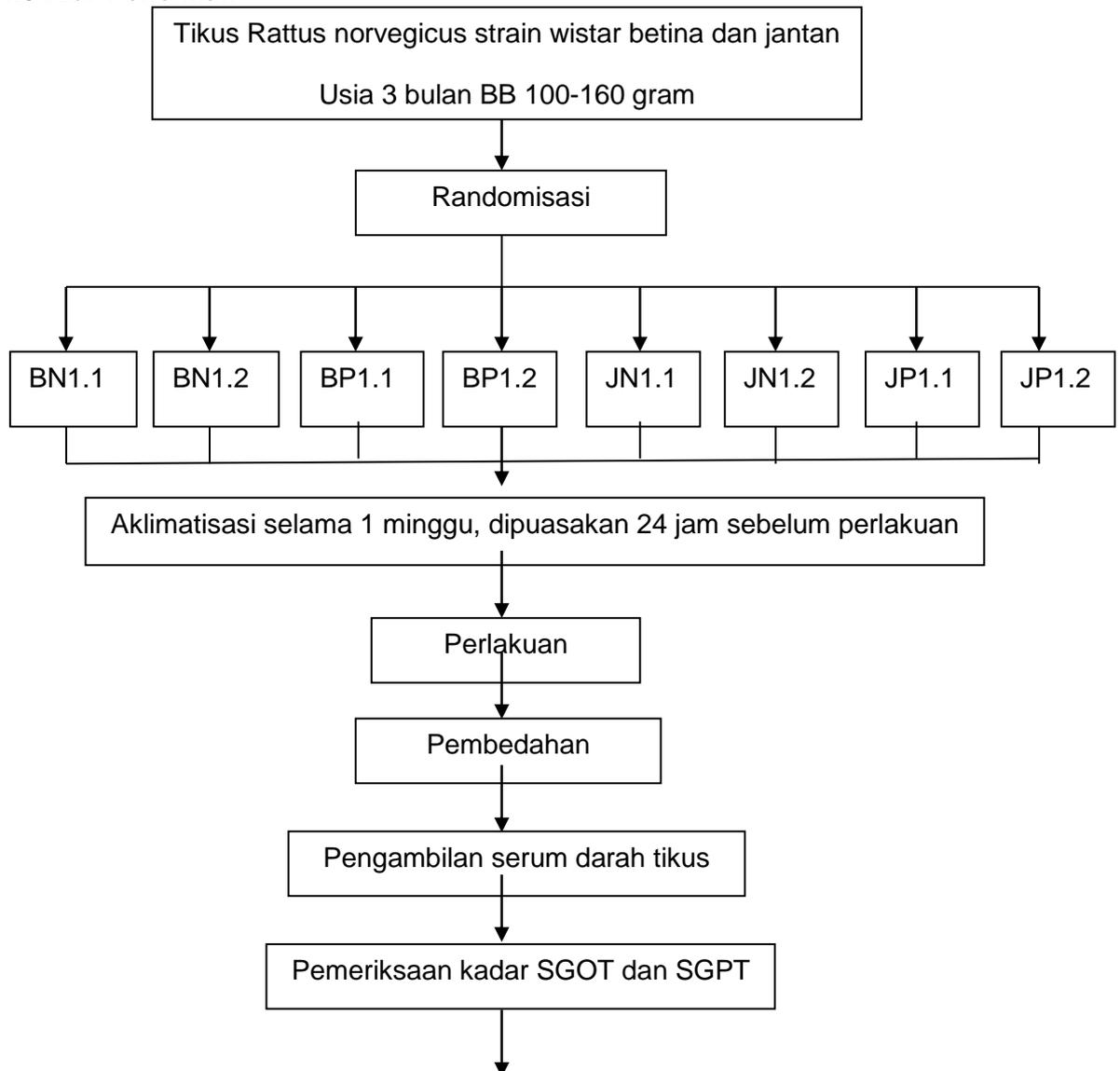
1 U/L : 0.0166 µkat/L

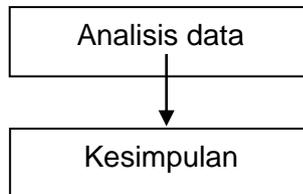
Rumus berikut ini disimpulkan untuk perhitungan konsentrasi katalitik :

| 37°C | 30°C |
|------|------|
|------|------|

|                       |  |   |
|-----------------------|--|---|
| $\Delta A/\text{min}$ | $\times 3333 = \text{U/L}$<br>$\times 55.55 = \mu\text{kal/L}$ | $\times 1746 = \text{U/L}$<br>$\times 29.1 = \mu\text{kal/L}$ |
|-----------------------|--|---|

#### 4.8 Alur Penelitian





**Keterangan :**

B : Tikus Betina

J : Tikus Jantan

N1.1 : Tikus kelompok normal 24 jam

N1.2 : Tikus kelompok normal 14 hari

P1.1 : Tikus kelompok perlakuan ekstrak kulit tomat 2000 mg/KgBB 24 jam

P1.2 : Tikus kelompok perlakuan ekstrak kulit tomat 2000 mg/KgBB 14 hari

kadar serum darah SGOT dan SGPT tikus wistar (*Rattus Norvegicus*) dianalisis dengan menggunakan analisis statistik SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 21.0 dengan metode *one-way ANOVA (Analysis of Variance Oneway)*. Syarat uji *One-way ANOVA* yaitu populasi data harus terdistribusi normal dan homogen atau varian dari populasi-populasi tersebut sama.

**Uji normalitas data (uji kolmogorov-smirnoy dan uji Shapiro wilk) :** Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah populasi data berdistribusi normal atau tidak. Uji ini biasanya digunakan untuk mengukur data berskala ordinal, interval, ataupun rasio. Jika analisis menggunakan metode parametrik, maka persyaratan normalitas harus terpenuhi yaitu data berasal dari distribusi yang normal. Jika data tidak berdistribusi normal, atau jumlah sampel sedikit dan jenis data adalah nominal atau ordinal maka metode yang digunakan adalah statistik non parametrik. Data dinyatakan berdistribusi normal jika nilai signifikansi lebih besar dari 5% atau 0,05.

**Uji homogenitas varian** : Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui apakah beberapa varian populasi adalah sama atau tidak. Uji ini dilakukan sebagai prasyarat dalam analisis ANOVA. Varian dari dua atau lebih kelompok data dikatakan sama apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05.

**Uji *One-way ANOVA*** : Uji ini digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rerata untuk lebih dari dua kelompok sampel yang tidak berhubungan. Pada uji statistik ini, yang dievaluasi adalah perbedaan nilai kadar serum darah SGOT dan kadar serum darah SGPT antar kelompok. Jika  $p < 0,05$  maka perbedaan rerata kadar serum darah SGOT dan kadar serum darah SGPT dianggap bermakna atau dengan kata lain Hipotesis Null ( $H_0$ ) ditolak. Hipotesis Null yang diajukan untuk kadar serum darah SGOT dan kadar serum darah SGPT pada uji ANOVA ini adalah "Tidak terdapat perbedaan kadar serum darah SGOT dan kadar serum darah SGPT antar kelompok".

***Post Hoc Tukey Test*** : Uji ini digunakan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA.