## BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true eksperimental*) yang di kerjakan di laboratorium secara *in vivo* dengan menggunakan rancangan percobaan *Randomized Group Post Test Control Only Design*. Rancangan ini memiliki dua kelompok yang ditentukan secara acak atau *random* yaitu kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Kelompok eksperimen yaitu merupakan kelompok yang diberi perlakuan khusus, sedangkan kelompok kontrol adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan (Sugiyono, 2009).

Subjek dibagi menjadi 8 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (P0) tidak diberi gel getah batang pisang, kelompok perlakuan 1 (P1) diberi gel getah batang pisang dengan konsentrasi 50%, kelompok perlakuan 2 (P2) diberi gel getah batang pisang dengan konsentrasi 75%, dan kelompok perlakuan 3 (P3) yaitu diberi gel getah batang pisang dengan konsentrasi 100%.

Pada kelompok kontrol dan perlakuan (P1, P2, dan P3) segera setelah dilakukan gingivektomi diberi gel getah batang pisang. Kemudian pada hari ke-1 dan ke-3 tiap kelompok dilakukan pengambilan jaringan gingiva untuk mengetahui perubahan jumlah sel neutrofil pada masing-masing kelompok.

#### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus jenis Rattus norvegicus strain wistar yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya Malang. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang yang bersih dengan sekam yang diganti setiap hari.

#### Kriteria Inklusi:

- 1. Tikus jantan
- 2. Usia 10 minggu
  3. Berat badan 250 300 gram

- 1) Tikus yang pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya.
- 2) Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung. Jumlah sampel pada penelitian, setiap tikus mendapatkan perlakuan berbeda dalam rongga mulut, yaitu dibagi menjadi 8 kelompok sampel dengan menggunakan 4 perlakuan (kontrol negatif, gel 50%, 75% dan 100%). Penelitian ini menggunakan 2 time series yaitu hari ke 1 dan 3. Menurut Hanafiah tahun 2005, jumlah sampel tiap perlakuan didapatkan dari rumus : (t - 1) (r - 1) 15, dengan t adalah jumlah perlakuan (P0, P1, P2, P3), dan r adalah jumlah sampel yang dibutuhkan di setiap perlakuan. Dari rumus tersebut maka didapatkan hasil perhitungan:

$$(t-1)(r-1)$$
 15

(4 perlakuan x 2 time series - 1) (r - 1) 15

$$(8-1)(r-1)$$
 15

$$7r - 7$$
 15

Sehingga, sampel yang digunakan adalah 3 tikus untuk setiap kelompok perlakuan. Total tikus yang akan digunakan pada penelitan ini adalah 24 tikus. Maka diperlukan sampel sejumlah 24 tikus dengan pembedahan 12 tikus setiap time series nya.

#### 4.3 Variabel Penelitian

BRAWIUA Terdapat 3 variabel dalam penelitian ini, yaitu:

a. Variabel tergantung:

Perubahan jumlah sel neutrofil

b. Variabel bebas:

Gel getah batang pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. Sapientum)

c. Variabel kendali:

Variabel kendali pada penelitian ini adalah jenis tikus, jenis kelamin tikus, berat badan tikus, terdiri dari nutrisi makanan dan minuman hewan coba, kebersihan kandang, jenis, umur dan berat badan hewan coba.

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi, dan Laboratorium Histologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam jangka waktu ± 2 bulan.

#### 4.5 Alat dan Bahan

#### 4.5.1 Perawatan Hewan Coba

Alat yang dibutuhkan untuk perawatan hewan coba adalah bak plastik ukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm sejumlah 12 buah, tutup kandang dari

anyaman kawat, tempat makan, botol air minum. Bahan yang dibutuhkan untuk hewan coba adalah pakan tikus (pellet), sekam, air mineral.

#### 4.5.2 Prosedur Gingivektomi

Untuk melakukan prosedur gingivektomi, dibutuhkan alat-alat seperti kaca mulut, pinset, sonde halfmoon, gunting bedah, jarum pentul, steroform, round diamond bur, micromotor, handpiece low speed contra angle, pinset bedah, dipen glass, tempat antiseptik, syringe irigasi 3 ml, syringe anestesi 1 ml, petrie dish. Bahan yang dibutuhkan adalah handschoon, masker, obat anestesi (Ketamin 0,2 ml), cotton roll, cotton pellet, povidon iodine 3%, alkohol 70%, kasa steril, aquades, obat analgesic metampiron 0,2 ml intramucularly dan formalin 10% (Neutral Buffer Formalin).

#### 4.5.3 Penghitungan Luas Penampang Luka

Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk menghitung luas penampang luka adalah jangka sorong, periodontal probe, kaca mulut, kapas, alkohol 70%.

### 4.5.4 Pembuatan Gel Getah Batang Pisang

Pembuatan gel getah batang pisang menggunakan alat-alat seperti pisau anti karat (stainless steel), corong plastik, timbangan gram, timbangan milligram, cawan porselen, gelas ukur, pengaduk kayu, pengaduk kaca, tabung kaca dan tutupnya, mortar pestle, kertas, plastik, gunting, sudip, sendok porselen, water heater, pot untuk menyimpan gel. Untuk bahan yang dibutuhkan adalah getah batang pisang Ambon, Natrium Benzoat, Prophylen glicol, Trietanolamin, Carbomer.

#### 4.5.5 Pembedahan Hewan Coba

Alat dan bahan untuk pembedahan hewan coba adalah gunting bedah, pinset, papan bedah, jarum pentul, dietil eter 10%, toples, kamera digital (untuk foto organ), handscoon, masker, NaCl 0,9% fisiologis (untuk mencuci organ), formalin buffer 10%, alcohol 70%, tabung organ 24 buah.

#### 4.5.6 Pembuatan Preparat Jaringan

Pembuatan preparat jaringan membutuhkan bahan utama berupa potongan jaringan hewan yang telah difiksasi dengan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%, ethanol absolute, xylol, parafin, glyserin 99,5 %, ewit (albumin), larutan hematoksilin, lithium carbonat, larutan eosin, dan larutan dekalsifikasi EDTA. Untuk alat yang dibutuhkan adalah telenan, pisau scalpel, pinset, saringan, tissue casset, mesin processor otomatis, mesin vaccum, mesin bloking, freezer (-20°C), mesin microtome, pisau microtome, water bath 46 °C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, oven 60°C (Muntiha, 2001).

#### 4.5.7 Penghitungan Sel dan Jaringan

Penghitungan sel dan jaringan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus tipe BH-2, Olympus corp. Jepang) dan preparat jaringan dan dapat pula ditambahkan minyak emersi untuk meningkatkan indeks bias pada perbesaran 400x dengan 10 lapang pandang.

#### 4.6 Definisi Operasional

#### 4.6.1 Gel Getah Batang Pisang Ambon

Gel getah batang pisang Ambon (*Musa Paradisiaca var sapientum*) dibuat dari getah batang pohon pisang Ambon yang berumur sekitar 1 tahun dengan mengambil inti batang semu yang tumbuh dipermukaan tanah, batang pohon pisang dipotong miring, kemudian batang pohon pisang yang sudah dipotong miring, ditampung getahnya ke dalam suatu wadah steril tertutup aluminium foil agar terhindar dari paparan sinar matahari serta disimpan dalam suhu ruangan (Febram, 2010). Lalu dibuat dalam sediaan gel agar mudah dalam penggunaannya, serta secara estetik lebih baik daripada periodontal pack.

#### 4.6.2 Jumlah Sel Neutrofil Gingiva

Jumlah sel neutrofil gingiva adalah jumlah sel neutrofil pada gingiva tikus yang inti umumnya terdiri atas 3 sampai 5 lobus berbentuk lonjong yang tak teratur, yang saling dihubungkan oleh benang-benang kromatin yang halus. Dilihat per lapang pandang pada sediaan preparat sampel gingiva pasca gingivektomi pada tikus *Rattus norvegicus*. Sediaan diambil pada hari ke 1 dan 3 pasca gingivektomi. Sel neutrofil yang terlihat pada preparat diambil dari gingiva tikus yang dipotong secara melintang dan dapat dilihat dengan teknik pewarnaan Hematoxilen-Eosin (HE).

#### 4.6.3 Gingivektomi

Gingivektomi akan dilakukan pada regio anterior rahang bawah yang memiliki ketebalan gingiva paling baik dan kontur paling sehat dengan membuat sayatan pada gingiva tikus *Rattus norvegicus* 0,75 cm x 0,5 cm dengan

ketebalan 0,5-1 mm. Gingivektomi tersebut dilakukan dengan tujuan membuat luka terbuka pada gingiva yang nantinya akan diaplikasikan gel getah batang pisang dengan dosis 50%, 75% dan 100%. Untuk mengurangi rasa nyeri pasca gingivektomi, hewan coba akan diberikan analgesik (metampiron 0,2 ml intramuscularly).

#### 4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

Pada penelitian ini, akan dibuat sediaan gel getah batang pisang ambon dengan dosis 50%, 75%, dan 100%. Pada hewan coba dilakukan aklimatisasi selama 7 hari.Setelah itu, dilakukan prosedur gingivektomi pada seluruh hewan coba, pengelompokan perlakuan dan sampel, pemberian gel getah batang pisang pada masing-masing kelompok perlakuan dengan dosis 50%, 75% dan 100%.

Hewan coba dikelompokkan dalam kandang yang sudah diberi label sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Masing-masing kandang terdapat 4 ekor tikus dengan perlakuan yang sama. Kemudian, dilakukan pembedahan pada 12 hewan coba 3 tikus kelompok kontrol positif (P0), 3 tikus kelompok perlakuan I (P1), 3 tikus kelompok perlakuan II (P2) dan 3 tikus kelompok perlakuan III (P3) pada setiap *time series* yaitu pada hari ke-1 dan hari ke-3. Selanjutnya, dilakukan pembuatan preparat, penghitungan jumlah neutrofil analisis data, dan pembuatan kesimpulan.

#### 4.7.1 Perawatan Hewan Coba

Tikus *Rattus norvegicus* dipelihara di kandang yang terbuat dari bak plastik bersih ukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan tutup kandang dibuat dari anyaman kawat. Hewan coba dipelihara di suhu ruangan yang berkisar antara 18°C–27°C, ventilasi kandang harus baik. Satu kandang berisi 2 ekor tikus.Setiap hari dilakukan penggantian sekam, pemberian minum dengan air mineral (15-30 ml/hari), dan pemberian makan dengan pellet (10%-15% dari berat badannya/hari).

#### 4.7.2 Pengambilan Getah Batang Pisang Ambon

Kriteria pohon pisang Ambon yang digunakan adalah pohon pisang Ambon yang berumur 1 tahun yang tumbuh di daerah Malang dengan iklim tropis. Pohon pisang yang baik tumbuh di daerah yang memiliki kecepatan angin tidak terlalu tinggi. Curah hujan optimal adalah 1.520-3.800 mm/tahun dengan 2 bulan kering atau 2000-2500 mm/tahun dengan paling tidak 100 mm/bulan. Suhu udara berkisar antara 15-35°C. Media tanam pisang adalah tanah dengan pH antara 4,5-7,5 dengan ketinggian air yang tidak menggenang (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2008).

Untuk memperoleh batang pohon pisang Ambon, dilakukan pemotongan secara miring pada batang pohon pisang Ambon hingga mencapai umbi batang bagian bawah. Penebangan dilakukan pada pagi hari pada pukul 8.00-11.00 yang merupakan waktu aktif tanaman pisang. Selanjutnya, diambil bagian hati atau bagian tengah batang (Yosaphat *dkk.*, 2010). Batang inti yang didapat dipotong miring dan ditampung getahnya dalam wadah steril.

#### 4.7.3 Pembuatan Gel Getah Batang Pisang Ambon

Gel merupakan koloid yang bersifat setengah kaku (antara padat dan cair). Keuntungan bahan semi solid tersebut adalah praktis dan mudah

digunakan atau diaplikasikan serta tahan lama. Getah batang pisang Ambon yang sudah disimpan dalam wadah steril

Pembuatan gel dilakukan di ruang farmasetik dengan suhu ruang stabil. Diawali dengan persiapan alat dan bahan yang dibutuhkan. Pembuatan basis gel diawali dengan mendidihkan air dengan water heater, ketika menunggu air mendidih, timbang semua bahan dengan takaran Carbomer 0,519 gr, Propylen glicol 3,825 gr, Trietanolamin 1,275 ml, dan Na-benzoat 0,1275 gr dilarutkan dalam 3 tetes air panas.

Setelah air mendidih masukkan sebagian air ke dalam mortar, dengan tujuan membuat mortal dalam keadaan hangat ketika digunakan untuk mengaduk gel. Pembuatan basis dengan menggunakan teknik basah, yaitu dengan memasukkan 10 tetes air panas lalu taburi carbomer perlahan-lahan sampai terdispersi seluruhnya. Setelah terdispersi secara keseluruhan, ditambahkan propylen glikol, trietanolamin, na-benzoat, secara perlahan-lahan sampai homogen. Setelah pembuatan basis selesai dilakukan pencampuran getah batang pisang untuk prosedur pembuatan gel getah batang pisang dengan dosis 50%, 75% dan 100%.

Langkah pertama pencampuran getah batang pisang adalah dengan penimbangan getah batang pisang yang disesuaikan dengan konsentrasi dosis, yaitu untuk gel dosis 50% membutuhkan getah batang pisang sebanyak 12,2 gram, dosis 75% membutuhkan getah batang pisang sebanyak 18,7 gram dan untuk gel dosis 100% membutuhkan getah batang pisang sebanyak 25 gram. Lakukan pencampuran getah batang pisang yang telah ditimbang kedalam basis secara perlahan.

Dilakukan pengujian untuk mengetahui keadaan gel getah pisang. Uji yang dilakukan adalah uji homogenitas yang bertujuan untuk melihat apakah gel benar-benar homogen antara basis dengan getah batang pisang. Uji ini dilakukan dengan meletakkan sedikit gel yang sudah diaduk di antara 2 kaca preparat lalu ditekan dan diamati homogenitasnya. Selain uji homogenitas juga dilakukan uji pH menggunakan elektroda dan pH-meter, dengan pH yang diharapkan adalah pH yang mendekati nilai normal atau netral, atau sedikit basa.

Setelah gel getah batang pisang selesai dibuat, dilakukan penimbangan kemudian gel disimpan dengan meletakkan dalam wadah berupa tube atau pot yang terlindung dari kontaminasi luar.

#### 4.7.4 Tindakan Gingivektomi

Tindakan gingivektomi yang dilakukan adalah dengan desain menyerupai persegi namun tidak menyudut di bagian tepinya. Ukuran luka gingiva kurang lebih antara 0,75 cm x 0,5 cm. Dilakukan pengukuran dengan menggunakan jangka sorong dan periodontal probe. Pengangkatan daerah gingiva yang di eliminasi digunakan round diamond bur low speed nomor 1/2.

Dalam penelitian ini, prosedur pembuatan luka gingiva dilakukan pada tikus Wistar *Rattus norvegicus* yang tidak mengalami hiperplasi gingiva, tahapan yang dilakukan yaitu :

- 1. Mengaplikasi antiseptik povidone iodine pada daerah operasi.
- Melakukan anasthesi intraperitoneal menggunakan obat anestesi Ketamine, perhitungan sediaan 50mg/ml dan kebutuhan dengan onset waktu 10-15 menit adalah 40mg/kg BB, maka dengan BB tikus ±250 mg memerlukan 0,2

- ml. Ketamine 0,2 ml secara intraperitoneal pada paha bagian atas untuk memberikan efek analgesik dan sedasi sebelum dilakukan gingivektomi.
- 3. Melakukan insisi gingiva di regio anterior rahang bawah. Penggunaan alat round diamond bur low speed nomor 1/2.
- 4. Melakukan kontrol perdarahan menggunakan kasa steril.
- 5. Melakukan irigasi dengan antiseptik povidone iodine.
- 6. Mengaplikasikan gel getah batang pisang dengan dosis 50%, 75% dan 100% pada kelompok perlakuan (P1), (P2), dan (P3). Untuk kelompok kontrol positif tidak diberikan gel getah batang pisang.
- 7. Melakukan perawatan pasca gingivektomi dengan pemberian pakan yang lunak dan pemberian analgesik metampiron 0,2 ml intra muscularly.

#### 4.7.5 Pembedahan Hewan Coba

Pada hari ke 1 dan 3 hewan coba dikorbankan dengan menggunakan anestesi inhalasi dietil eter 10% dengan cara memasukkan tikus ke dalam toples kemudian dimasukkan kapas yang telah dibasahi dengan eter. Setelah proses euthanasia selesai, dilakukan pembedahan untuk mengambilan jaringan gingiva pasca gingivektomi pada hewan coba beserta sedikit tulang rahang disekitarnya. Jaringan tersebut kemudian dibersihkan dengan NaCl 0,9% fisiologis dandimasukkan ke dalam botol organ yang sudah berisi larutan BNF (*Buffered Neutral Formalin*) 10% pH antara 6,5-7,5 (Yosaphat *dkk.*, 2010).

Larutan BNF 10% digunakan untuk menghindari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (autolisis) atau bakteri dan untuk melindungi strukturfisik sel. Agar fiksasi jaringan dengan larutan tersebut berlangsung sempurna, maka

perbandingan antara organ dan larutan yaitu 1:10, sedangkan lamanya fiksasi 2 hari (Muntiha, 2001).

#### 4.7.6 Sanitasi Hewan Coba

Semua sisa organ tikus yang sudah dibedah dan tidak terpakai dilakukan prosedur insinerasi secara layak. Sampah dari prosedur pembedahan yang tidak terpakai dibuang dalam satu kantong plastik, sampah medis dipisahkan tersendiri dan diserahkan ke Rumah Sakit Saiful Anwar untuk proses pembuangan (CCRC Farmasi UGM). Insinerasi dilakukan di halaman belakang laboratorium Farmakologi dengan membuat lubang sebesar 50 cm x 30 cm x 50 cm untuk 24 tikus.

#### 4.7.7 Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat dilakukan dengan estimasi setiap luka dengan 3 kali pembuatan preparat. Jika masing-masing diperlukan 3 preparat untuk setiap perlakuan, maka dengan 4 perlakuan, 3 sampel, dan 2 hari pengamatan, akan membutuhkan total 72 preparat.

Menurut Muntiha (2001), untuk pembuatan preparat jaringan maka sampel untuk pemeriksaan histopatologi harus segar, artinya jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan mati. Keterlambatan pengambilanjaringan, terlebih dalam suhu lapangan yang panas, mengakibatkanjaringan cepat menjadi busuk. Ukuran jaringan yang diambil sekitar 1 cm³. Jaringan tersebut harus segera difiksasi. Potongan jaringan yang terlalu besar mengakibatkan jaringan yang terletak di dalamnya tidak terfiksasi dengan sempurna, sehingga dapat membusuk. Jika jaringan berupa tulang, maka perlu dilunakkan terlebih dahulu

dalam larutan dekalsifikasi dengan perbandingan antara jaringan dan larutan 1:20 dengan waktu perendaman selama 24 jam. Proses pembuatan preparat histopatologi (Muntiha, 2001):

#### 1. Memotong jaringan organ

Setelah jaringan organ yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan scalpel dengan ketebalan 0,3 - 0,5 mm dan disusun ke dalam tissue cassette,kemudian sejumlah tissue cassette dimasukkan ke dalam keranjang khusus.

#### 2. Proses dehidrasi

Keranjang (basket) yang di dalamnya berisi jaringan organ,dimasukkan ke dalam mesin processor otomatis. Selanjutnya jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut: ethanol 70% (2 jam), ethanol 80% (2 jam), ethanol 90% (2 jam), ethanol absolute (2 jam), xylol (2 jam), parafin cair (2 jam). Selanjutnya keranjang yang berisi tissue cassette dikeluarkan untuk dilakukan proses berikutnya.

#### 3. Vakum

Setelah proses dehidrasi dilakukan, kemudian dilanjutkan dengan penghilangan udara dari jaringan dengan menggunakan mesin vakum yang didalammya terdapat tabung untuk menyimpan keranjang yang diisi parafin cair dengan temperatur (59-60°C) di vakum selama 30 menit. Keranjang diangkat, tissue cassette dikeluarkan dan disimpan pada temperatur 60°C untuk sementara waktu sebelum pencetakan dilakukan dengan parafin cair.

#### 4. Mencetak blok paraffin

Cetakan dari bahan stainles steel dihangatkan di atas api bunsen, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara

ditempat lain telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus, sehingga dicapai suhu 60°C. Parafin cair tersebut dituangkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan difreezer (-20°C) sebelum dilakukan pemotongan.

#### 5. Memotong blok jaringan

Blok parafin yang mengandung jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan berkisar 3-4pm. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam waterbath bersuhu 46°C. Pada kesempatan ini bentuk irisan dirapikan, kemudian diletakkan di atas kaca obyek yang telah diolesi ewith, yang berfungsi sebagai bahan perekat. Kaca obyek dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60°C sampai preparat siap untuk diwamai.

#### 4.7.8 Pengecatan Hematoxilen-Eosin

Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dandicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut: xylol 3 menit, xylol 3 menit, ethanol absolute 3 menit, ethanol absolute 3 menit, ethanol 90% 3 menit, ethanol 80% 3 menit, bilas dengan air keran 1 menit, larutan hematoksilin 6-7 menit, bilas dengan air keran 1 menit, larutan pembiru 1 menit, air keran 1 menit, larutan eosin 1-5 menit, bilas dengan air keran 1 menit, ethanol 80 % 10 celupan, ethanol 90% 10 celupan, ethanol absolute 10 celupan, ethanol absolute 1 menit, xylol 3 menit, xylol 3 menit, xylol 3 menit. Setelah itu preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan

perekat dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan dapat dilihat di bawah mikroskop.

## 4.7.9 Pengukuran Jumlah Sel Neutrofil pada Daerah Luka dan Persentase Penyembuhan Luka

Pengukuran dihitung dalam 10 lapangan pandang dengan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus tipe BH-2, Olympus corp. Jepang) dan persentase percepatan penyembuhan luka didapatkan dari rata-rata 10 lapang pandang dengan 400X perbesaran dan jumlah masing-masing variabel antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

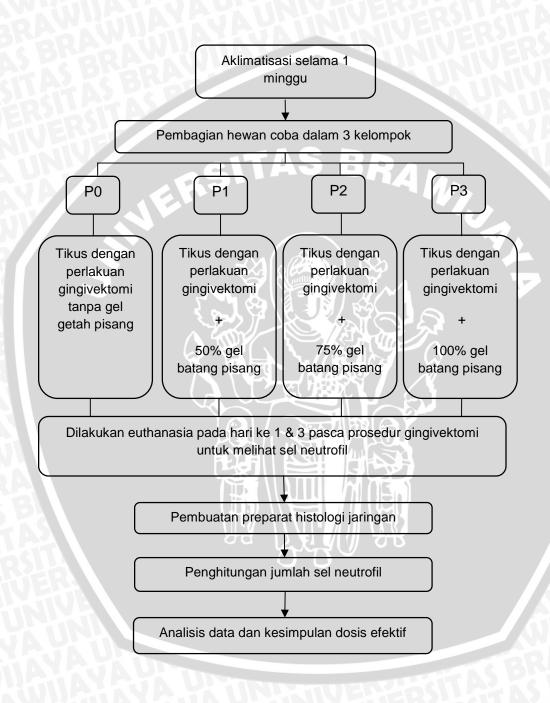
#### 4.8 Analisis Data

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

1) Uji normalitas data: bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung normal tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang terdistibusi normal, maka digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Sedangkan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal digunakan 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.
- 2) Uji homogenitas varian: bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang diperoleh dari setip perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.
- 3) Uji One-Way ANOVA: bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan.
- 4) Post Hoc Tes (Uji Least Significant Difference): bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji Post Hoc yang digunakan adalah uji Tukey dengan tingkat kemaknaan 95% (p=0,05).
- 5) Uji korelasi Pearson i 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



Gambar 4.1 Alur Penelitian