

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Pendekatan yang digunakan untuk mencapai tujuan ini adalah rancangan eksperimental murni (*true experimental*) yang dikerjakan di laboratorium secara *in vivo*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design*, dimana subjek dibagi menjadi 4 kelompok (I sampai IV) secara random. Kelompok I adalah tikus yang tanpa pemberian ekstrak daun *Persea americana* Mill (kelompok kontrol) dan kelompok II sampai IV sebagai (kelompok perlakuan) diberi ekstrak daun *Persea Americana* Mill dengan dosis berbeda per oral dengan sonde gastic setiap hari sekali selama 3 hari dan 7 hari. Kemudian diobservasi dan dibandingkan pengaruh ekstrak etanol daun *Persea americana* Mill terhadap jumlah sel makrofag yang terbentuk.

4.2. Populasi dan Sampel

Tikus jenis *Rattus norvegicus* galur wistar dipilih sebagai populasi karena tikus merupakan hewan coba karena tergolong jinak, mudah perawatannya dan fungsi metabolismenya mirip dengan manusia. Lalu populasi dibagi kedalam empat kelompok dengan teknik *simple randon sampling*. Populasi hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* galur wistar yang dipelihara di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang yang bersih.

4.2.1. Pemilihan Hewan Coba dan Teknik Randomisasi

Sampel penelitian dipilih berdasarkan ketentuan

Kriteria Inklusi:

- a) Jenis kelamin jantan
- b) Usia 2,5 – 3 bulan
- c) Berat badan 250 – 350 gram
- d) Sehat, ditandai dengan gerakannya yang aktif, mata jernih, dan bulu yang tebal dan berwarna putih mengkilap.

Kriteria *Drop out*:

- a) Tikus yang selama penelitian tidak mau makan
- b) Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung
- c) Tikus yang mengalami infeksi paska pencabutan gigi insisivus kanan maksila

Teknik randomisasi untuk pengelompokan perlakuan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) mengingat baik hewan coba, bahan pakan, dan bahan penelitian lainnya adalah homogen. Pada rancangan ini dimungkinkan setiap hewan coba berpeluang sama untuk mendapat kesempatan sebagai sampel baik dalam kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

4.2.2. Estimasi Jumlah Pengulangan

Jumlah sampel pada penelitian, setiap tikus mendapatkan perlakuan berbeda dalam rongga mulut yaitu dibagi menjadi 4 perlakuan (kontrol positif, P1,

P2, dan P3. Penelitian ini menggunakan 2 *time series* yaitu hari ke 3 dan ke 7. Menurut Hanafiah tahun 2005, jumlah sampel tiap perlakuan didapatkan dari rumus $(t - 1) (r - 1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah perlakuan (P0, P1, P2, P3) dan r adalah jumlah sampel yang dibutuhkan setiap perlakuan. Dari rumus tersebut maka didapatkan hasil perhitungan:

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

$$(4 \text{ perlakuan} - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(4 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$3 (r - 1) \geq 15$$

$$3 r - 3 \geq 15$$

$$3 r \geq 18$$

$$r \geq 6$$

Sehingga sampel yang digunakan adalah 6 tikus untuk setiap kelompok perlakuan. Total tikus yang akan digunakan pada penelitian ini sejumlah 4 (perlakuan) x 6 (tikus yang dibedah setiap *time series*) = 24 tikus, Maka diperlukan sampel sejumlah 24 tikus dengan penambahan 4 tikus untuk mengantisipasi terjadinya tikus *drop out* sehingga total hewan coba yang diperlukan adalah 28 ekor.

4.3. Variabel penelitian

Variabel dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Variabel tergantung : Jumlah sel makrofag pada soket yang terlihat dalam preparat histologi
- b. Variabel bebas : Ekstrak Etanol Daun *Persea americana* Mill.
- c. Variabel Kendali : Makanan dan minuman sampel, lingkungan, dan kandang

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Faal dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam waktu 3 bulan (Oktober 2015 – Januari 2016).

4.5. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan alat secara keseluruhan yang digunakan selama penelitian diantaranya yaitu, pakan hewan coba *comfeed*, air PDAM, anestesi ketamin 60 ml/kgBB, aquades steril, eter dosis lethal, EDTA 14 %, larutan formalin 10 %, HCL 5%, amonium oksalat 1 %, alkohol dengan konsentrasi 70 %, 80 %, 95 %, dan 96 %, 96 % + prusi, xylol dan paraffin, hetoksilin, air, eosin serta balsem kanada, etanol 96 %, aquades murni, kertas saring, daun buah alpukat, blender, 1 set alat evaporasi, gelas erlenmeyer, tabung steril, masker dan sarung tangan, lima buah box plastic berukuran 15 x 30 x 42 cm³, kawat kasa sebagai tutup box, sekam sebagai dasar box, tempat minum, neraca ohaus merk Sartorius untuk menimbang berat badan tikus, pisau, *needle holder* modifikasi, lecron modifikasi,

kapas, cawan, spuit injeksi ukuran 2,5 ml dan sondegrastic, scalpel no. 11, pinset, gunting bedah, dan tabung fiksasi yang sudah diberi label, oven, wadah plastik untuk membuang zat-zat pewarnaan, object glass, cover glass, mikroskop cahaya, kamera digital untuk foto histologi.

4.5.1. Bahan Penelitian

4.5.1.1. Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

Makanan hewan coba adalah pakan hewan coba *comfeed* dan minuman hewan coba adalah air PDAM yang diberikan *ad libitum* atau seperlunya.

4.5.1.2. Bahan Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan yang dilakukan terhadap hewan coba meliputi pemberian ekstrak daun *Persea americana* per oral yang langsung ke lambung dan pencabutan gigi insisivus pada rahang atas tikus. Bahan-bahan yang digunakan adalah ketamin 60 ml/kgBB untuk anestesi secara intramuscular, alkohol 70% untuk sterilisasi pada saat pencabutan gigi tikus, aquades steril untuk irigasi soket dan novalgin 500 mg/kgBB dengan dosis 0,1 ml secara *intra muscular* perhari untuk analgesik.

4.5.1.3. Bahan Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dimulai dengan larutan eter dosis lethal. Kemudian alkohol 70% untuk sterilisasi scalpel dan larutan formalin 10% untuk fiksasi setelah rahang bawah tikus diambil dan EDTA 14% untuk dekalsifikasi.

4.5.1.4. Bahan Persiapan Pembuatan Preparat Histologi

Persiapan analisis histologi meliputi fiksasi, dekalsifikasi, dehidrasi, bloking, pewarnaan, dan analisis mikroskop. Tahap fiksasi menggunakan formalin 10%, kemudian tahap dekalsifikasi menggunakan bahan HCL 5% dan ammonium oksalat 1 % sebagai indikator selesainya proses dekalsifikasi. Alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 95% dan 96%, 96% + prusi digunakan dalam proses dehidrasi. Selanjutnya proses clearing dan impregnansi menggunakan larutan xylol dan paraffin; untuk proses pewarnaan menggunakan xylol, hematoksilin, air, aquades dan eosin serta balsem kanada.

4.5.1.5. Bahan Pembuatan Ekstrak Daun *Persea americana*

Bahan untuk men ekstrak daun *Persea americana* adalah etanol 96%, aquades murni, kertas saring yang didapatkan dari apotek dan daun buah alpukat yang didapatkan dari Dinas kesehatan Propinsi jawa Timur UPT Materia Medica Batu.

4.5.2. Alat Penelitian

Setiap prosedur diharuskan menggunakan masker dan sarung tangan.

4.5.2.1. Tempat Pemeliharaan Hewan Coba

Lima buah *box plastic* berukuran 15 x 30 x 42 cm³ yang diisi 5 ekor tikus *Rattus norvegicus*, kawat kasa sebagai tutup box, sekam sebagai dasar box, dan tempat minum.

4.5.2.2. Alat Penimbang Berat Badan Tikus

Neraca Ohaus merek Sartorius.

4.5.2.3. Alat Pembuat Ekstrak daun *Persea americana*

Alat untuk pembuatan ekstrak *Persea americana* adalah pisau, timbangan, blender, 1 set alat evaporasi, gelas Erlenmeyer, oven, dan tabung steril.

4.5.2.4. Alat Pencabutan Gigi Tikus

Alat yang digunakan untuk mencabut gigi tikus adalah *needle holder modifikasi*, lecron modifikasi, kapas, dan cawan.

4.5.2.5. Alat Pemberian Ekstrak *Persea americana* Pada Tikus Secara per Oral

Sprit injeksi ukuran 2,5 ml dan sonde.

4.5.2.6. Alat Pengambilan Sampel

Alat yang diperlukan dalam pengambilan sampel yaitu scalpel no.11, pinset, gunting, bedah, dan tabung fiksasi yang sudah diberi label.

4.5.2.7. Alat Pembuatan Preparat Histologi

Alat yang digunakan untuk pembuatan sediaan diantaranya adalah *rotary mikrotom*, objek glass, *cover glass*, *wather bath*, dan oven.

4.5.2.8. Alat Pemeriksaan Histologi

Alat yang digunakan untuk pemeriksaaan histologi diantaranya adalah mikroskop cahaya, dan kamera digital untuk foto histologi.

4.6. Definisi Operasional

a. Ekstraksi gigi

Ekstraksi gigi adalah proses pencabutan gigi dari soket dan tulang alveolar. Dalam penelitian ini ekstraksi gigi dilakukan pada gigi insisivus rahang atas kiri tikus *Rattus novergicus*.

b. Soket Gigi

Soket yang dimaksud dalam penelitian ini adalah lubang pada tulang alveolar rahang atas tempat melekatnya akar gigi tikus. Bagian tengah dari soket maksilla dipotong secara sagital untuk pembuatan sediaan histologi.

c. Sel makrofag

Sel makrofag merupakan sel-sel yang memiliki bentuk tidak beraturan, berukuran 10-30 μm , dan umumnya memiliki inti yang lonjong atau berbentuk ginjal. Permukaan sel makrofag tidak rata dan bervariasi (memiliki cabang pendek atau memiliki filopodia). Sel makrofag yang dimaksud adalah sel makrofag yang terdapat pada mukosa puncak soket. Sediaan yang sebelumnya telah diberi pewarnaan HE, dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dan dengan meletakkan skala pada hasil foto yang terlihat pada mikroskop. Gambaran HPA yang telah diberi pewarnaan HE (Hemaktosilin Eosin) dihitung jumlah sel makrofag yang ada pada pengamatan 5 lapang pandang.

d. Daun alpukat (*Persea americana.mills*)

Daun alpukat (*Persea americana.mills*) yang digunakan didapatkan dari Dinas kesehatan Propinsi Jawa Timur UPT Materia Medica Batu. Daun alpukat yang dipilih adalah daun alpukat yang berwarna hijau dengan tulang yang menyirip, daun alpukat harus bebas dari hama. Dalam

pembuatan ekstrak, tulang daun diikut sertakan. Daun alpukat kemudian di ekstrak menggunakan etanol 96% dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Dengan metode ini, zat-zat aktif yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan dapat ditarik sehingga mendapatkan hasil berupa ekstrak kental. Teknik yang digunakan adalah teknik maserasi. Ekstrak etanol daun alpukat diberikan per oral satu kali sehari pada jam 04.00 sore sebanyak 1 ml menggunakan sonde gastic. Pemberian dilakukan selama 7 hari pasca pencabutan gigi insisivus kanan maksila.

4.7. Pendekatan Penelitian

4.7.1. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diseleksi berdasarkan kriteria sampel, kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus yang dipelihara dalam tempat pemeliharaan hewan coba.

4.7.2. Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus dipelihara dan diadaptasikan dalam laboratorium selama minggu pada temperature ruangan konstan (20-25°C) dengan 12 jam siklus terang-gelap (Gibson and Skett, 1994). Untuk tempat pemeliharaan diguakan *box plastic* berukuran 15 x 30 x 42 cm³, masing-masing untuk 4-5 ekor tikus, ditutup dengan kawat kasa, dan diberi alas sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Kebutuhan makanan tikus dewasa adalah 50 gr/hari/ekor. Diet normal terdiri dari 67% *Comfeed* PAR-S, 33% terigu dan air secukupnya (Anwari, 2003)

4.7.3. Pembuatan Ekstrak *Persean Americana*

4.7.3.1. Proses Ekstraksi

Daun alpukat dipilih sebanyak 100 gram diiris tipis lalu dikeringkan dibawah sinar matahari dengan tujuan menguapkan kandungan air dalam daun sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak daun maksimum, sedangkan zat aktif yang terkandung dalam daun akan menguap pada suhu yang lebih tinggi, sehingga diperkirakan tidak ikut menguap bersama pengeringan tersebut. Daun yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender. Setelah halus, ditimbang lalu dibungkus menggunakan kertas saring. Kertas saring yang berisi daun alpukat dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi. Tuang etanol ke dalam tabung ekstraksi sehingga daun alpukat terendam etanol 96%. Supaya etanol tercampur rata ke dalam bubuk ekstraksi sebaiknya larutan daun alpukat diaduk selama 15 menit. Diamkan larutan tersebut selama kurang lebih 12 jam. Setelah 12 jam, keluarkan etanol yang telah berisi zat aktif, kemudian ganti dengan satu liter etanol yang baru. Aduk selama 15 menit dan diamkan selama 12 jam. Ulangi langkah tersebut beberapa kali sampai air ekstrak jernih. Lalu hasil ekstraksi di evaporasi.

4.7.3.2. Proses Evaporasi

Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30° - 40° terhadap meja percobaan dengan susunan dari bawah ke atas alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin. Labu tabung pendingin dihubungkan dengan pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak penampung

air dingin melalui pipa plastik. Tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan.

Hasil ekstraksi dipindahkan ke labu penampung sedangkan *rotary evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan. Alat pemanas aquades juga dinyalakan sehingga hasil ekstraksi dalam labu penampung hasil evaporasi mendidih dengan suhu 80° (sesuai titik didih etanol) dan etanol menguap. Hasil penguapan etanol direkomendasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak bercampur dengan hasil evaporasi dan uap lain tersedot pompa vakum.

Evaporasi dilakukan hingga hasil evaporasi berkurang sampai kental. Setelah kental, evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil. Hasil evaporasi ditampung dalam cairan penguap dan dioven selama 2 jam pada suhu 80°C untuk menguapkan pelarut yang tersisa sehingga didapat hasil ekstraksi 100%. Hal ini bertujuan agar efek antibakteri ekstrak daun alpukat pada penelitian ini tidak dipengaruhi etanol, karena ekstrak sudah mengalami proses evaporasi pada suhu 80°C, sedangkan titik didih etanol pada suhu 78°C.

4.7.4. Pencabutan Gigi Tikus

Sebelum dilakukan pencabutan gigi insisivus kanan rahang atas, pada masing-masing tikus perlu dilakukan anestesi dengan ketamine 60 ml/Kg/BB secara *intramuskular* sehingga tikus menjadi tidak sadarkan diri. Tujuan dilakukannya anestesi general adalah mengkondisikan tikus agar tidak bergerak selama tindakan pencabutan sehingga dapat disamakan dengan keadaan normal saat pencabutan gigi. Sebelum dianestesi, dibagian yang akan dianestesi

di sterilisasi dengan alkohol 70%. Dibawah efek anestesi, gigi tikus tersebut dicabut dengan menggunakan lecron dan *needle holder modifikasi*, lecron modifikasi dimasukkan ke soket dan digunakan untuk merusak stabilitas jaringan periodontal gigi tikus, kemudian menggunakan *needle holder* modifikasi untuk mengambil gigi dari dalam soket, dilakukan dengan gerakan searah dengan soket gigi dan dilakukan secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalisir patahnya gigi. Kemudian soket gigi diirigasi dengan larutan akuades steril. Setelah dilakukan pencabutan dan perlakuan, hewan coba diberi analgesik novalgin 500 mg/Kg/BB, 0.1 ml IM, 1 kali sehari jam 4 sore selama perlakuan untuk menghindari tikus mati dini dan diberi makanan secukupnya dengan menjaga kesehatan hewan coba.

4.7.5. Penentuan Dosis

Dosis yang digunakan untuk diuji adalah ekstrak etanol daun alpukat dengan teknik maserasi dengan etanol 96%. Rentangan dosis yang digunakan diambil dari penelitian sebelumnya oleh Aldhi Wimandra dkk yaitu 50-200 mg/KgBB/hari (Wimandra, *et.al*, 2013) Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah, dosis I (50 mg/KgBB/hari), dosis II (100 mg/KgBB/hari), dan dosis III (200 mg/KgBB/hari). Berat ekstrak yang digunakan adalah 10,5 gr dengan konsentrasi yang digunakan adalah 100% .

4.7.6. Pemberian Ekstrak Daun Alpukat

Ekstrak etanol daun alpukat diberikan sekali sehari setelah pencabutan gigi selama 7 hari. Pemberian pada kelompok perlakuan I (50 mg/KgBB /hari), dosis II (100 mg/KgBB /hari) dan dosis III (200 mg/KgBB /hari) per oral (p.o) dengan menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde *gastric* sehingga

dapat masuk ke mulut tikus hingga ke lambung. Pemberian dilakukan satu kali per hari pada jam 4 sore sebanyak 1 ml selama 7 hari.

4.7.7. Perawatan *Rattus norvegicus* Pasca Pencabutan Gigi

Sebelum dan sesudah pencabutan dilakukan cara pemberian makan yang berbeda, untuk menghindari gangguan penyembuhan luka pada soket dan rasa sakit pada soket karena makanan. Sebelum pencabutan, pemberian makanan berupa *Comfeed* tanpa pengenceran, sedangkan untuk pemberian makanan setelah pencabutan gigi dengan mengencerkan makanan tikus dan pemberiannya dilakukan secara per oral dengan *sonde gastic* yang langsung menuju lambung tanpa melewati mulut. Pemberian makan dilakukan secara rutin setiap jam makan tikus. Selain itu, diberikan pemberian air PDAM secukupnya.

4.7.8. Pegambilan Sampel

Pada hari ke-4 dan ke-8, tikus dikorbankan pada masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan inhalasi eter dosis lethal. Eter dosis lethal diletakkan pada kapas, lalu kapas dimasukkan ke dalam toples bersama dengan tikus dan ditutup rapat, sehingga tikus tidak sadarkan diri. Sebelum rahang atas diambil, tikus harus dipastikan mati dengan cara melihat respirasinya. Apabila sudah tidak ada aktifitas respirasi. Dilakukan pengambilan rahang atas tikus menggunakan scalpel no. 11. Rahang atas tikus kemudian dimasukan ke dalam tabung berisi larutan formalin 10% dan diberi label. Jasad hewan coba kemudian dikuburkan.

4.7.9. Perlakuan terhadap sampel

Hasil potongan maksilla didekalsifikasikan dengan direndam dalam larutan EDTA (*Etilen Diamin Tetraasetad Acid*) 14% selama 30 hari untuk menunggu jaringan tulang maksila menjadi lunak dan dapat dipotong kecil berbentuk persegi panjang.

4.7.10. Teknik Pemrosesan Jaringan

Setelah proses dekalsifikasi, maka dilakukan pemrosesan jaringan yang berfungsi untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan mikrotom. Tahapannya adalah sebagai berikut:

a. Fiksasi

Berfungsi untuk mengawetkan agar terhindar dari pencemaran jaringan oleh enzim dan bakteri untuk melindungi struktur fisik sel. Dilakukan perendaman jaringan pada larutan formalin 10% selama 18-24 jam, kemudian jaringan dicuci dengan aquadest selama 15 menit. Kemudian jaringan ditiriskan pada saringan lalu dipotong menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 0,3-0,5 mm.

b. Dehidrasi

Merupakan proses penarikan air dalam jaringan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi (bertingkat). Jaringan dimasukkan ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi makin tinggi. Jaringan mengalami proses dehidrasi dengan tahapan: ethanol 70% (2 jam), ethanol 80% (2 jam), ethanol 90% (2 jam), ethanol absolute (2 jam).

c. Clearing

Perupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan *clearing*. Bahan-bahan yang dapat digunakan antara lain: xylol, toluene, dan benzen. Rendam jaringan ke dalam cairan Xylol yang diletakan dalam wadah kaca (karena wadah plastik dapat larut dalam Xylol), dilakukan 2 kali (Xylol I dan Xylol II) masing-masing selama 15 menit.

d. Embedding

Pembuatan blok dengan cara menggunakan paraffin yang dicairkan (dengan dipanaskan) dan jaringan dimasukkan ke dalam cetakan yang berisi paraffin cair.

e. Slicing

Blok yang sudah tertanam jaringan soket diletakan pada balok es selama kurang lebih 15 menit kemudian blok ditempatkan pada *cakram micromotor rotary* kemudian sayat jaringan mukosa secara vertical dengan ukuran 4 mikron. Sayatan jaringan mukosa yang berbentuk pita diambil dengan menggunakan kuas kecil, kemudian diletakan pada *water bath* yang mengandung gelatin dengan suhu 36°C. Setelah sayatan jaringan soket merentang, sayatan diambil dengan menggunakan *object glass* dan didiamkan selama 24 jam.

f. Stanning

Object glass dimasukkan kedalam Xylol selama 15 menit x 3, alcohol 96% selama 15 menit x 3, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 15 menit. *Object glass* dimasukkan kedalam *Lithium carbonat* selama 20

detik dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya object glass dimasukan dalam pewarnaan Hematoksilin Eosin selama 15 menit, alcohol 96% selama 15 menit x 3 dan Xylol selama 15 menit x 3. Dan yang terakhir, preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass entellan*.

4.7.13. Pengamatan Sediaan Histologi Soket *Rattus Norvegicus*

Pengamatan dilakukan setelah terbentuknya preparat dari jaringan soket tikus yang diamati secara histologis menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Penghitungan jumlah makrofag dilakukan dengan pengamatan 5 lapang pandang pada masing-masing kelompok, kemudian bandingkan jumlah makrofag yang terbentuk antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Setelah dilakukan penghitungan didokumentasikan dan dilakukan analisis data.

4.8. Analisis Data

Hasil pengukuran jumlah sel makrofag yang posistif pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistic dengan menggunakan program SPSS 16.0 Window dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Adapun tahapan analisis data sebagai berikut:

1. Uji normalitas data, bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran yang normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung dari normal tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang terdistribusi 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 parametric. Sedangkan jika sebaran data tidak normal digunakan uji non parametric.

2. Uji homogenitas varian, bertujuan untuk menguji berlaku tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan 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 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 tingkat kemaknaan 95% ($p < 0,005$).
5. Uji korelasi pearson, untuk mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda secara signifikan, yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil uji post hoc (LSD).
6. Uji korelasi-regresi, untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun alpukat terhadap jumlah makrofag.

4.9. Alur Prosedur Penelitian



