

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Deskripsi Penelitian

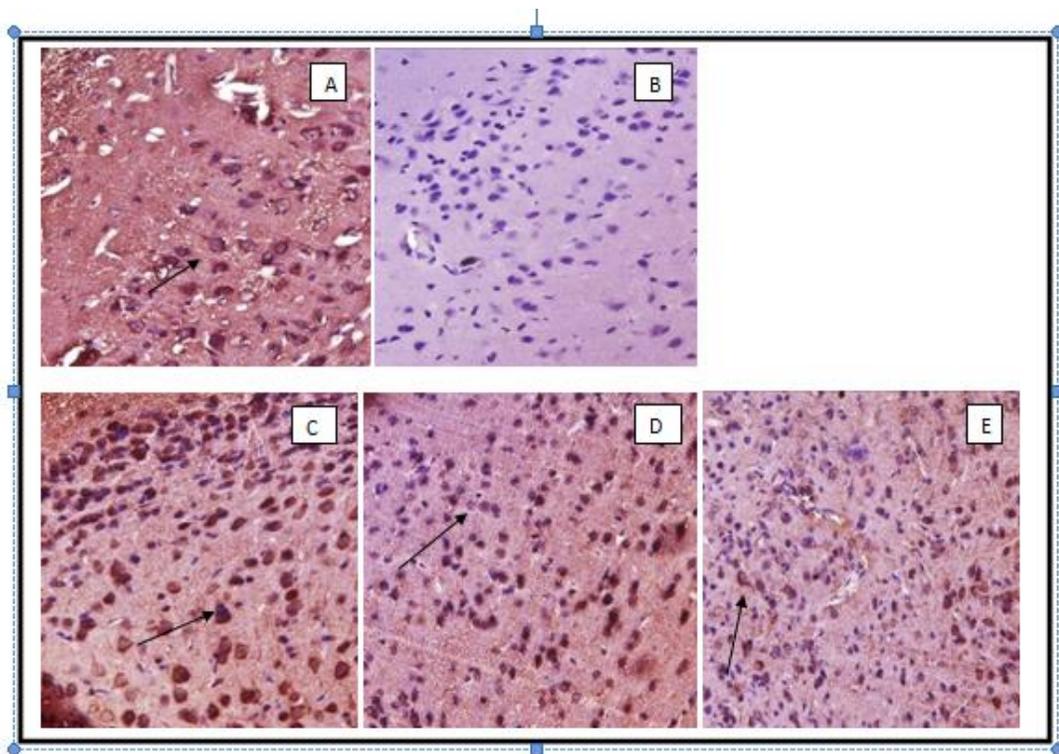
Penelitian ini menggunakan desain penelitian sebenarnya (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* dengan *randomized post test only controlled group design* pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Penelitian ini menggunakan strategi penelitian berupa penjatuhan beban pada jaringan otak tikus model cedera otak traumatik, selanjutnya dilakukan pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$  dan sel apoptosis pada jaringan serta status fungsional tikus model cedera otak traumatik. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk tempat pemeliharaan hewan coba dan pembedahan, Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya untuk tempat pembuatan slide imunohistokimia dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk tempat pengecatan imunohistokimia, pada bulan April hingga Agustus 2016.

Penelitian ini menggunakan 40 ekor hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Yang terbagi menjadi 2 kelompok hari dan 5 kelompok perlakuan, sehingga total ada 10 kelompok. Kelompok hari terbagi menjadi 2, yaitu kelompok hari 3 (tiga) dan kelompok hari 7 (tujuh). Masing-masing terdiri dari 5 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelima kelompok tersebut adalah kelompok A atau kelompok kontrol negatif yaitu tikus yang tidak diberikan perlakuan cedera otak traumatik maupun *catechins*, kelompok B atau kelompok kontrol positif yang menjadi model cedera otak traumatik tanpa diberi *catechins*, kelompok C yaitu kelompok perlakuan yang menjadi model cedera otak traumatik dan diberi *catechins*

513 mg/kg bb perhari secara peroral selama 3 dan 7 hari, kelompok D yaitu kelompok perlakuan yang menjadi model cedera otak traumatik dan diberi *catechins* 926 mg/kg bb perhari secara peroral selama 3 dan 7 hari, kelompok E yaitu kelompok perlakuan yang menjadi model cedera otak traumatik dan diberi *catechins* 1113 mg/kg bb perhari secara peroral selama 3 dan 7 hari. Pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$  dan sel apoptosis pada jaringan otak tikus wistar jaringan serta status fungsional tikus dilakukan setelah perlakuan selama 3 (tiga) dan 7 (tujuh) hari. Kemudian, setelah didapatkan data pengamatan, dilakukan uji analisa data. Hasil penelitian ini dianalisa menggunakan program analisis statistik, IBM SPSS (*Statistical Products and Service Solutions*) *Statistics, version 22.0 for windows*. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

## **5.2 Pengaruh Pemberin *Catechins* terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ Tikus Model Cedera Otak Traumatik pada Hari Ketiga**

Pemeriksaan ekspresi TNF- $\alpha$  menggunakan metode imunohistokimia, pada sampel otak tikus wistar menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x dan tanda sel yang positif terwarnai coklat. Metode pemeriksaan dilakukan dengan melakukan pengamatan pada 10 lapang pandang dari tiap sampel dan kelompok, sehingga total dilakukan pengamatan pada 400 lapang pandang ( $10 \times 4 \times 10 = 400$ ). Terdapat 2 (dua) kelompok hari untuk pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$ , yaitu pada hari ketiga dan ketujuh. Pada sub bab ini akan dibahas mengenai kelompok hari ketiga. Dokumentasi hasil pengamatan dibawah mikroskop dari tiap kelompok perlakuan ditampilkan sebagai berikut pada gambar 5.1

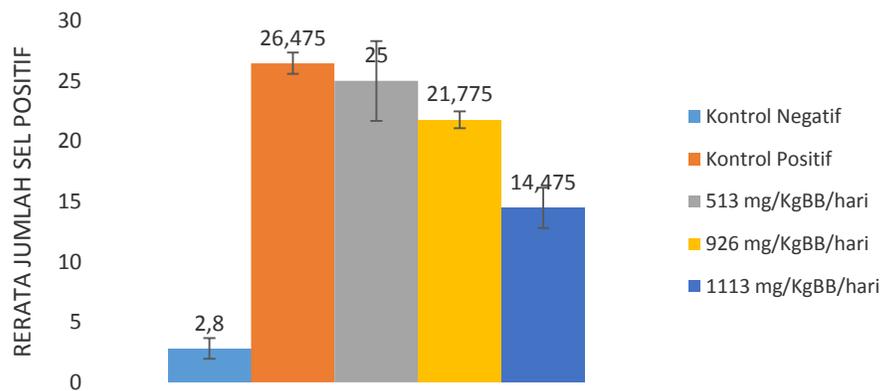


**Gambar 5.1 Hasil pengecatan Imunohistokimia TNF- $\alpha$  kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, pada Hari ke tiga.** Tanda panah menunjukkan sel dengan ekspresi TNF- $\alpha$  sitoplasma sel neuron terwarnai coklat sedangkan inti tetap biru. Dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x pada 10 lapang pandang. Pada gambar :

- A. Kontrol positif (+) hari ke 3 Terdapat 45 jumlah sel neuron dengan 35 sel neuron positif
- B. Kontrol negatif (-) hari ke 3 Terdapat 42 jumlah sel neuron dengan tidak ada sel neuron yang positif
- C. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 3** Terdapat 47 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 32
- D. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 3** Terdapat 42 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 28
- E. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 3** Terdapat 42 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 17

**Tabel 5.1 Nilai Rerata dan Standar Deviasi Ekspresi TNF- $\alpha$  Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Hari Ketiga**

Kelompok	Rerata $\pm$ St.Dev	Signifikansi (p)
Kontrol Negatif	2.8 $\pm$ 0.85	0.002*
Kontrol Positif	26.475 $\pm$ 0.88	
<i>Catechins</i> 513 mg/kgBB/hari	25 $\pm$ 3.31	
<i>Catechins</i> 926mg/kgBB/hari	21.775 $\pm$ 0.69	
<i>Catechins</i> 1113 mg/kgBB/hari	14.475 $\pm$ 1.67	



**Gambar 5.2 Grafik Histogram Rerata dan Standar deviasi Ekspresi TNF- $\alpha$  Hari ke-3**

Dari tabel dan grafik diatas, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol negatif memiliki ekspresi TNF- $\alpha$  yang paling kecil dan kelompok kontrol positif sebaliknya, yang paling besar. Sementara, kelompok yang diberikan *catechins*, menunjukkan gradasi terbalik, dengan kelompok diberikan *catechins* dengan dosis terbesar (1113 mg/kgBB/hari) menunjukkan ekspresi TNF- $\alpha$  yang paling kecil.

Selanjutnya, data tersebut dianalisa secara statistik untuk mengetahui komparasi dan korelasi nya. Sebelum dilakukan uji komparasi dan korelasi statistik, set data dilakukan uji asumsi data, yaitu uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas data menggunakan Saphiro Wilk, karena jumlah data < 50. Hasil uji

normalitas data,  $p = 0.010$  ( $p < 0.05$ ), kemudian dilakukan transformasi dengan metode Log10, akar kuadrat, arsin dan exp, namun tidak merubah nilai p, sehingga dapat dinyatakan bahwa data tidak terdistribusi normal. Karena uji asumsi data tidak terpenuhi, maka selanjutnya dilakukan uji non parametrik, Kruskal Wallis, Mann Whitney, dan Korelasi Spearman.

Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diamati secara keseluruhan. Hasil uji Krsukal Wallis menunjukkan nilai  $p = 0.002$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) antara kelompok perlakuan yang diamati terhadap TNF- $\alpha$  pada hari ketiga. Untuk mengetahui kelompok yang berbeda bermakna secara spesifik, dilakukan uji Mann Whitney, dengan hasil berikut

**Tabel 5.2 Hasil Uji Mann Whitney pada TNF- $\alpha$  Hari Ketiga**

<b>Kelompok Perlakuan 1</b>	<b>Kelompok Perlakuan 2</b>	<b>Signifikansi</b>
Kontrol -	Kontrol +	0.021*
	513 mg/kgbb	0.021*
	926 mg/kgbb	0.021*
	1113 mg/kgbb	0.020*
Kontrol +	513 mg/kgbb	0.248
	926 mg/kgbb	0.021*
	1113 mg/kgbb	0.020*
513 mg/kgbb	926 mg/kgbb	0.149
	1113 mg/kgbb	0.020*
926 mg/kgbb	1113 mg/kgbb	0.020*

\*kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan) ( $p < 0.05$ )

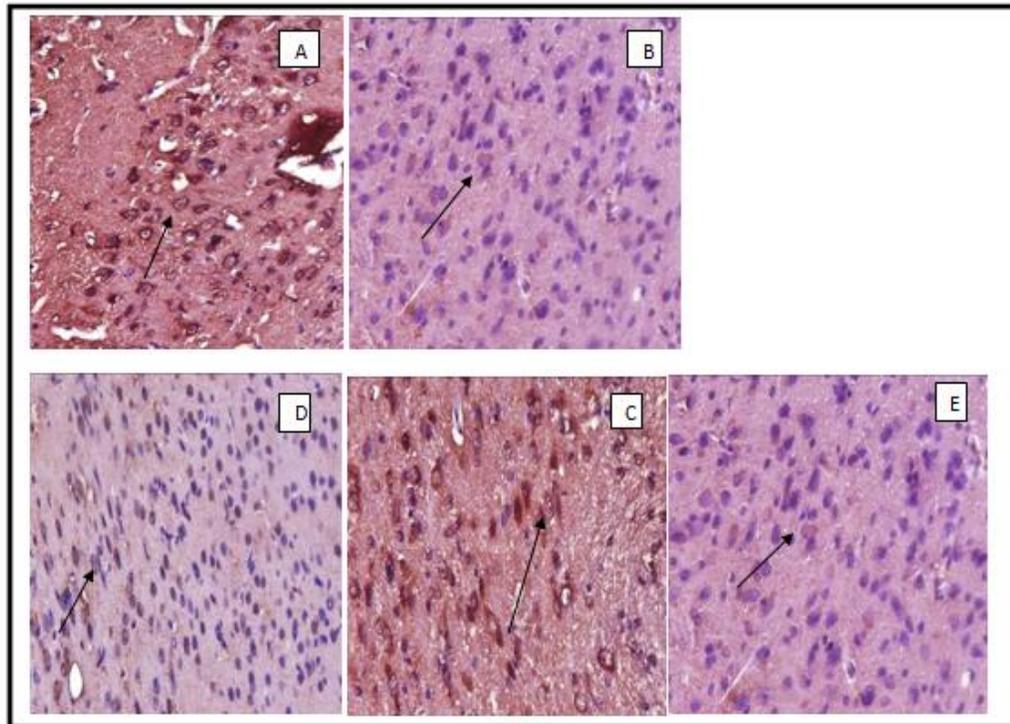
Dari tabel dapat diketahui bahwa Kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan lainnya. Kontrol positif memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok perlakuan dosis 926 dan 1113

mg/kgBB/hari. Dan kelompok dosis terbesar, 1113 mg/kgBB/hari memiliki perbedaan yang bermakna dengan kedua dosis lainnya.

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi data Spearman, untuk mengetahui hubungan antara dosis pemberian *catechins* dengan ekspresi TNF- $\alpha$ . Hasil uji korelasi Spearman, menunjukkan nilai  $p = 0.000$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (signifikan) antara ekspresi TNF- $\alpha$  dengan dosis pemberian *catechins* pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi Pearson,  $(R) = -0.886$ , artinya hubungan antara ekspresi TNF- $\alpha$  dengan dosis pemberian *catechins* memiliki arah negatif dan kekuatan sebesar 0.886. Arah negatif berarti, semakin tinggi dosis *catechins*, maka semakin rendah ekspresi TNF- $\alpha$  pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi 0.886, berarti kekuatan korelasi nya sangat kuat.

### **5.3 Pengaruh Pemberin *Catechins* terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ Tikus Model Cedera Otak Traumatik pada Hari Ketujuh**

Sub bab ini merupakan lanjutan dari sub bab sebelumnya. Pada sub bab ini akan dibahas mengenai kelompok hari ketujuh. Dokumentasi hasil pengamatan dibawah mikroskop dari tiap kelompok perlakuan ditampilkan sebagai berikut pada gambar 5.3

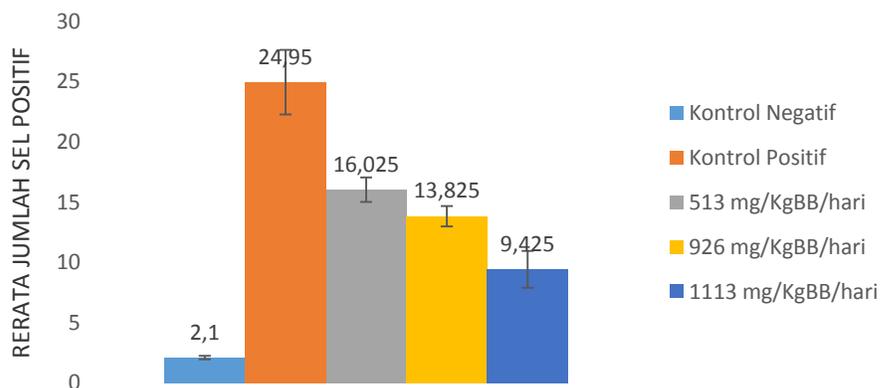


**Gambar 5.3 Hasil pengecatan Imunohistokimia TNF- $\alpha$  kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, pada hari ketiga.** Tanda panah menunjukkan sel dengan ekspresi TNF- $\alpha$  sitoplasma sel neuron terwarnai coklat sedangkan inti tetap biru. Dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x pada 10 lapang pandang. Pada gambar :

- A. Kontrol positif (+) hari ke 7 Terdapat 46 jumlah sel neuron dengan 38 sel neuron positif
- B. Kontrol negatif (-) hari ke 7 Terdapat 37 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 2
- C. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 7** Terdapat 45 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 25
- D. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 7** Terdapat 36 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 22
- E. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 7** Terdapat 38 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 14

**Tabel 5.3 Nilai Rerata dan Standar Deviasi Ekspresi TNF- $\alpha$  Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Hari Ketujuh**

Kelompok	Rerata $\pm$ St.Dev	Signifikansi (p)
Kontrol Negatif	2.1 $\pm$ 0.14	0.000
Kontrol Positif	24.95 $\pm$ 2.68	
<i>Catechins</i> 513 mg/kgBB/hari	16.025 $\pm$ 1	
<i>Catechins</i> 926mg/kgBB/hari	13.825 $\pm$ 0.85	
<i>Catechins</i> 1113 mg/kgBB/hari	9.425 $\pm$ 1.53	



**Gambar 5.4 Grafik Histogram Rerata dan Standar deviasi Ekspresi TNF- $\alpha$  Hari ke-7**

Dari tabel dan grafik diatas, dapat diketahui bahwa kelompok Kontrol negatif memiliki ekspresi TNF- $\alpha$  yang paling kecil dan kelompok kontrol positif sebaliknya, yang paling besar. Sementara, kelompok yang diberikan *catechins*, menunjukkan gradasi terbalik, dimana kelompok yang diberikan *catechins* dengan dosis terbesar (1113 mg/kgBB/hari) memiliki ekspresi TNF- $\alpha$  yang paling kecil. Selain itu, antara Kelompok Kontrol Positif dan dosis *catechins* terkecil, 513 mg/kgBB/hari, terlihat terdapat perbedaan yang sangat besar.

Selanjutnya, data tersebut dianalisa secara statistik untuk mengetahui komparasi dan korelasi nya. Sebelum dilakukan uji komparasi dan korelasi statistik,

set data dilakukan uji asumsi data, yaitu uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas data menggunakan Saphiro Wilk, karena jumlah data < 50. Hasil uji normalitas data,  $p = 0.301$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat dinyatakan bahwa data terdistribusi normal. Hasil pengujian homogenitas data Levene menunjukkan nilai  $p = 0.187$  ( $p > 0.05$ ), maka dapat diinterpretasikan bahwa variansi data homogen. Karena uji asumsi data telah terpenuhi, maka selanjutnya dilakukan uji parametrik, *one way ANOVA*, Post Hoc Tuckey, Korelasi Pearson dan Regresi Linier.

Uji ANOVA dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diamati secara keseluruhan. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) antara kelompok perlakuan yang diamati terhadap TNF- $\alpha$  pada hari ketujuh. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna (spesifik) secara spesifik, dilakukan uji Post Hoc Tukey. Hasil uji Post Hoc Tukey pada data TNF- $\alpha$  hari ketujuh, ditunjukkan pada tabel berikut

**Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc pada TNF- $\alpha$  Hari Ketujuh**

<b>Kelompok Perlakuan 1</b>	<b>Kelompok Perlakuan 2</b>	<b>Signifikansi</b>
Kontrol -	Kontrol +	0.000*
	513 mg/kgbb	0.000*
	926 mg/kgbb	0.000*
	1113 mg/kgbb	0.003*
Kontrol +	513 mg/kgbb	0.000*
	926 mg/kgbb	0.000*
	1113 mg/kgbb	0.000*
513 mg/kgbb	926 mg/kgbb	0.283
	1113 mg/kgbb	0.000*
926 mg/kgbb	1113 mg/kgbb	0.007*

\*kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan) ( $p < 0.05$ )

Dari tabel diatas, dapat diketahui bahwa kontrol negatif dan kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan lainnya. Dan dari kelompok dosis pemberian *catechins*, hanya antara dosis terkecil (513 mg/kgBB/hari) dan 926 mg/kgBB/hari yang memiliki perbedaan yang tidak bermakna (signifikan).

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi data Pearson, untuk mengetahui hubungan antara dosis pemberian *catechins* dengan ekspresi TNF- $\alpha$ .

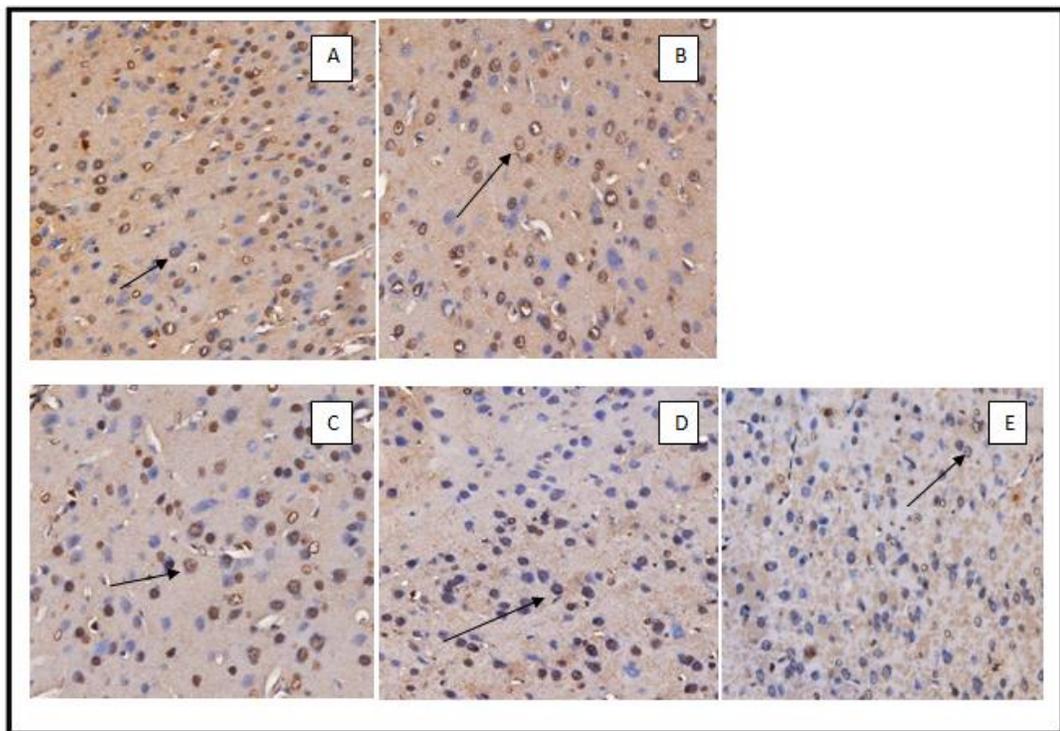
$$\text{TNF-}\alpha = -0.013 \text{ dosis} + 24.312$$

Hasil uji korelasi Pearson, menunjukkan nilai  $p = 0.000$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (signifikan) antara ekspresi TNF- $\alpha$  dengan dosis pemberian *catechins* pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi Pearson,  $(R) = 0.947$ , artinya hubungan antara ekspresi TNF- $\alpha$  dengan dosis pemberian *catechins* memiliki arah negatif dan kekuatan sebesar 0.947. Arah negatif berarti, semakin tinggi dosis *catechins*, maka semakin rendah ekspresi TNF- $\alpha$  pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi 0.947, berarti kekuatan korelasinya sangat kuat. Yang terakhir dilakukan uji regresi linier, dan didapatkan hasil nilai  $R^2 = 0.897$  dan persamaan garis

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) adalah ukuran ketepatan atau kecocokan garis regresi. Selain itu,  $R^2$  juga dapat digunakan untuk mengukur besar proporsi keragaman total yang dapat dijelaskan oleh garis regresi. Hasil pengujian nilai  $R^2 = 0.897$  menjelaskan bahwa sumbangan atau kontribusi dari variasi dosis *catechins* dalam menjelaskan keragaman variabel TNF- $\alpha$  sebesar 89.7%, sedangkan 10.3% lainnya disumbangkan oleh variabel lainnya yang tidak dimasukkan ke dalam persamaan ini.

#### 5.4 Pengaruh Pemberin *Catechins* terhadap Apoptosis Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Hari Ketiga

Pemeriksaan sel apoptosis jaringan otak tikus, dilakukan dengan teknik DNA terfragmentasi (TUNEL) dan diamati menggunakan mikroskop binokuler merk Olympus BxS1 dengan pembesaran 400x. Sel apoptosis ditunjukkan dengan warna coklat pada inti sel. Metode pemeriksaan yang dilakukan sama dengan sebelumnya, melakukan pengamatan pada 10 lapang pandang dari tiap sampel dan kelompok, sehingga total dilakukan pengamatan pada 400 lapang pandang ( $10 \times 4 \times 10 = 400$ ). Terdapat 2 (dua) kelompok hari untuk pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$ , yaitu pada hari ketiga dan ketujuh. Pada sub bab ini akan dibahas mengenai kelompok hari ketiga. Dokumentasi hasil pengamatan dibawah mikroskop dari tiap kelompok perlakuan ditampilkan sebagai berikut pada gambar 5.5

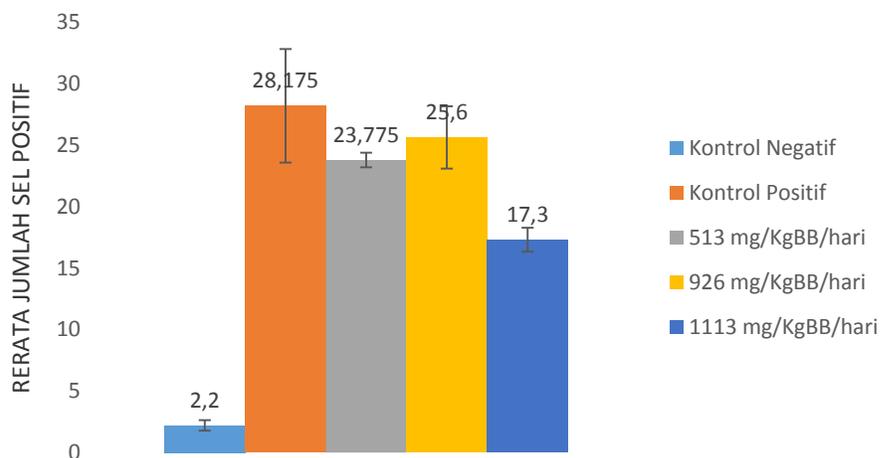


**Gambar 5.5 Hasil pengecatan Imunohistokimia kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.** Tanda panah menunjukkan sel dengan ekspresi DNA yang terfragmentasi dengan inti terwarnai coklat sitoplasma tetap biru. Dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x pada 10 lapang pandang. Pada Gambar :

- A. Kontrol negatif (-) hari ke 3 Terdapat 45 jumlah sel neuron dengan 4 sel neuron positif
- B. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 3** Terdapat 44 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 31
- C. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 3** Terdapat 45 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 25
- D. **Ekstrak catechins dosis 1 hari ke 3** Terdapat 40 jumlah sel neuron dengan sel neuron positif 15

**Tabel 5.5 Nilai Rerata dan Standar Deviasi Sel Apoptosis Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik**

Kelompok	Rerata ± St.Dev	Signifikansi (p.)
Kontrol Negatif	2.2 ± 0.43	0.004*
Kontrol Positif	28.18 ± 4.61	
<i>Catechins</i> 513 mg/kgBB/hari	23.78 ± 0.59	
<i>Catechins</i> 926mg/kgBB/hari	25.6 ± 2.53	
<i>Catechins</i> 1113 mg/kgBB/hari	17.3 ± 0.96	



**Gambar 5.6 Grafik Histogram Rerata dan Standar deviasi Sel Apoptosis Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik, Hari ke-3**

Dari tabel dan grafik diatas, dapat diketahui bahwa pada hari ketiga, kelompok kontrol negatif memiliki jumlah sel apoptosis yang paling kecil dan kelompok kontrol positif sebaliknya, yang paling besar. Sementara, kelompok yang diberikan *catechins*, menunjukkan bahwa kelompok dosis 1 (513 mg/kgBB/hari) dan dosis 2 (926 mg/kgBB/hari) tidak memiliki perbedaan yang nyata, walaupun demikian, rerata jumlah sel apoptosis pada kelompok dosis 2 lebih tinggi daripada kelompok dosis 1. Penurunan jumlah sel apoptosis terbesar ditunjukkan pada kelompok yang diberikan *catechins* dengan dosis terbesar (1113 mg/kgBB/hari).

Selanjutnya, data tersebut dianalisa secara statistik untuk mengetahui komparasi dan korelasi nya. Sebelum dilakukan uji komparasi dan korelasi statistik, set data dilakukan uji asumsi data, yaitu uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas data menggunakan Saphiro Wilk, karena jumlah data  $< 50$ . Hasil uji normalitas data,  $p = 0.007$  ( $p > 0.05$ ), kemudian dilakukan transformasi dengan metode Log10, akar kuadrat, arsin dan exp, namun tidak merubah nilai p, sehingga dapat dinyatakan bahwa data tidak terdistribusi normal. Karena uji asumsi data tidak terpenuhi, maka selanjutnya dilakukan uji non parametrik, Kruskal Wallis, Mann Whitney, dan Korelasi Spearman.

Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diamati secara keseluruhan. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai  $p = 0.004$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) antara kelompok perlakuan yang diamati terhadap Sel apoptosis (TUNEL) pada hari ketiga. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna (spesifik) secara spesifik, dilakukan uji Mann Whitney. Hasil uji Mann Whitney pada data TUNEL hari ketiga, ditunjukkan pada tabel 5.6

**Tabel 5.6 Hasil Uji Mann Whitney pada Sel Apoptosis Hari Ketiga**

<b>Kelompok Perlakuan 1</b>	<b>Kelompok Perlakuan 2</b>	<b>Signifikansi</b>
Kontrol -	Kontrol +	0.021*
	513 mg/kgbb	0.021*
	926 mg/kgbb	0.021*
	1113 mg/kgbb	0.021*
Kontrol +	513 mg/kgbb	0.248
	926 mg/kgbb	0.248
	1113 mg/kgbb	0.021*
513 mg/kgbb	926 mg/kgbb	0.248
	1113 mg/kgbb	0.021*
926 mg/kgbb	1113 mg/kgbb	0.021*

\*kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan) ( $p < 0.05$ )

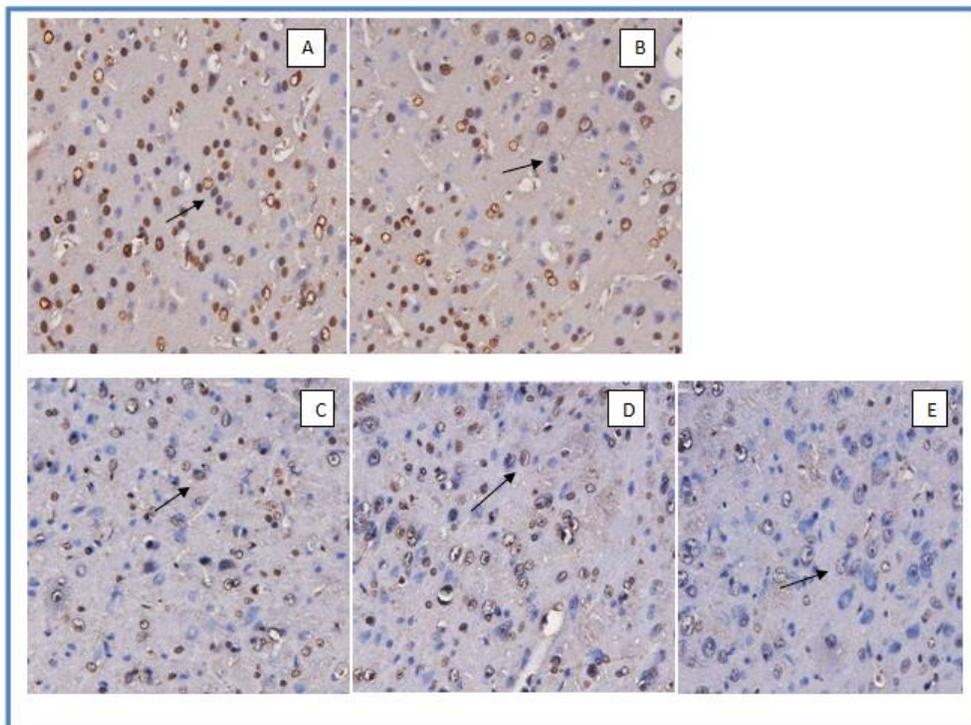
Dari tabel diatas, dapat diketahui bahwa Kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan lainnya. Kontrol positif hanya berbeda signifikan dengan kelompok dosis terbesar, 1113 mg/kgBB/hari. Dan dari kelompok dosis pemberian *catechins*, hanya perbandingan dengan dosis *catechins* terbesar (1113 mg/kgBB/hari) yang memiliki perbedaan yang bermakna.

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi data Spearmen, untuk mengetahui hubungan antara dosis pemberian *catechins* dengan sel apoptosis. Hasil uji korelasi Spearmen, menunjukkan nilai  $p = 0.004$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (signifikan) antara sel apoptosis dengan dosis pemberian *catechins* pada tikus model cedera otak traumatic. Besar koefisien korelasi Spearmen,  $(R) = -0.679$ , artinya hubungan antara sel apoptosis dengan dosis pemberian *catechins* memiliki arah negatif dan kekuatan sebesar 0.679. Arah negatif berarti, semakin tinggi dosis *catechins*, maka semakin rendah sel apoptosis pada

tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi 0.679, berarti kekuatan korelasi nya kuat.

### 5.5 Pengaruh Pemberin *Catechins* terhadap Apoptosis Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik pada Hari Ketujuh

Sub bab ini merupakan lanjutan dari sub bab sebelumnya. Pada sub bab ini akan dibahas mengenai kelompok hari ketujuh. Dokumentasi hasil pengamatan dibawah mikroskop dari tiap kelompok perlakuan ditampilkan sebagai berikut pada gambar 5.7



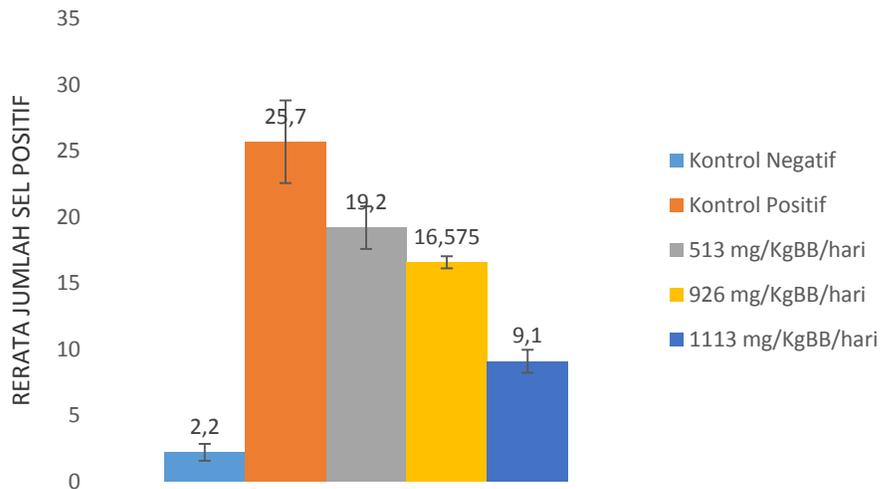
**Gambar 5.7 Hasil pengecatan Imunohistokimia kelompok kontrol dan kelompok perlakuan** Tanda panah menunjukkan sel dengan ekspresi DNA yang terfragmentasi dengan inti terwarnai coklat sitoplasma tetap biru. Dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x pada 10 lapang pandang. Pada gambar :

- A. Kontrol positif (+) hari ke 7. Terdapat 44 jumlah sel neuron dengan 32 sel neuron positif
- B. Kontrol negatif (-) hari ke 7 Terdapat 46 jumlah sel neuron dengan 3 sel neuron positif
- C. **Ekstrak *catechins* dosis 1 hari ke 7** Terdapat 42 jumlah sel neuron dengan 22 sel neuron positif

- D. Ekstrak *catechins* dosis 1 hari ke 7 Terdapat 42 jumlah sel neuron dengan 21 sel neuron positif
- E. Ekstrak *catechins* dosis 1 hari ke 7 Terdapat 44 jumlah sel neuron dengan 16 sel neuron positif

**Tabel 5.7 Nilai Rerata dan Standar Deviasi Sel Apoptosis Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Hari Ketujuh**

Kelompok	Rerata ± St.Dev	Signifikansi (p.)
Kontrol Negatif	2.2 ± 0.64	0.000*
Kontrol Positif	25.7 ± 3.14	
<i>Catechins</i> 513 mg/kgBB/hari	19.2 ± 1.61	
<i>Catechins</i> 926mg/kgBB/hari	16.575 ± 0.45	
<i>Catechins</i> 1113 mg/kgBB/hari	9.1 ± 0.86	



**Gambar 5.8 Grafik Histogram Rerata dan Standar deviasi Sel Apoptosis Jaringan Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik, Hari ke-7**

Dari tabel dan grafik diatas, dapat diketahui bahwa kelompok Kontrol negatif memiliki jumlah sel apoptosis yang paling kecil dan kelompok kontrol positif sebaliknya, yang paling besar. Sementara, kelompok yang diberikan *catechins*,

menunjukkan gradasi terbalik, dimana kelompok yang diberikan *catechins* dengan dosis terbesar (1113 mg/kgBB/hari) memiliki ekspresi TNF- $\alpha$  yang paling kecil.

Selanjutnya, data tersebut dianalisa secara statistik untuk mengetahui komparasi dan korelasi nya. Sebelum dilakukan uji komparasi dan korelasi statistik, set data dilakukan uji asumsi data, yaitu uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas data menggunakan Saphiro Wilk, karena jumlah data < 50. Hasil uji normalitas data,  $p = 0.303$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat dinyatakan bahwa data terdistribusi normal.

Hasil pengujian homogenitas data Levene menunjukkan nilai  $p = 0.126$  ( $p > 0.05$ ), maka dapat diinterpretasikan bahwa variansi data homogen. Karena uji asumsi data telah terpenuhi, maka selanjutnya dilakukan uji parametrik, *one way* ANOVA, Post Hoc Tuckey, Korelasi Pearson dan Regresi Linier.

Uji ANOVA dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diamati secara keseluruhan. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) antara kelompok perlakuan yang diamati terhadap sel apoptosis pada hari ketujuh. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna (spesifik) secara spesifik, dilakukan uji Post Hoc Tukey. Hasil uji Post Hoc Tukey pada data TNF- $\alpha$  hari ketujuh, ditunjukkan pada tabel 5.8

**Tabel 5.8 Hasil Uji Post Hoc pada Sel Apoptosis Hari Ketujuh**

Kelompok Perlakuan 1	Kelompok Perlakuan 2	Signifikansi
Kontrol -	Kontrol +	0.000*
	513 mg/kgbb	0.000*
	926 mg/kgbb	0.000*
	1113 mg/kgbb	0.000*
Kontrol +	513 mg/kgbb	0.000*
	926 mg/kgbb	0.000*
	1113 mg/kgbb	0.000*
513 mg/kgbb	926 mg/kgbb	0.219
	1113 mg/kgbb	0.000*
926 mg/kgbb	1113 mg/kgbb	0.000*

\*kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan) ( $p < 0.05$ )

Dari tabel diatas, dapat diketahui bahwa Kontrol negatif dan Kontrol Positif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan lainnya. Dan dari kelompok dosis pemberian *catechins*, hanya antara kelompok dosis 513 dan 926b mg/kgBB/hari yang memiliki perbedaan yang tidak bermakna (signifikan).

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi data Pearson, untuk mengetahui hubungan antara dosis pemberian *catechins* dengan sel apoptosis. Hasil uji korelasi Pearson, menunjukkan nilai  $p = 0.000$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (signifikan) antara apoptosis sel dengan dosis pemberian *catechins* pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi Pearson,  $(R) = -0.922$ , artinya hubungan antara apoptosis sel dengan dosis pemberian *catechins* memiliki arah negatif dan kekuatan sebesar 0.922 arah negatif berarti, semakin tinggi dosis *catechins*, maka semakin rendah sel apoptosis pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi 0.922, berarti kekuatan

korelasinya sangat kuat. Yang terakhir dilakukan uji regresi linier, dan didapatkan hasil nilai  $R^2 = 0.849$  dan persamaan garis

$$\text{TUNEL} = -0.013 \text{ dosis} + 26.107$$

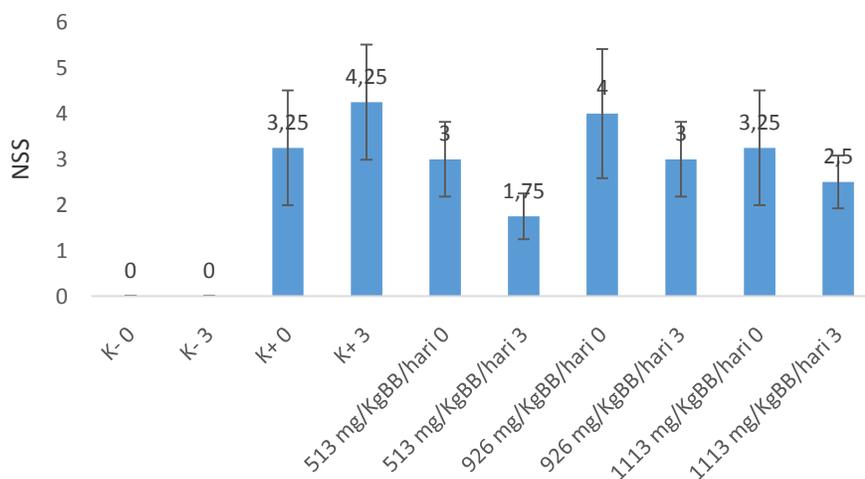
Koefisien determinasi ( $R^2$ ) adalah ukuran ketepatan atau kecocokan garis regresi. Selain itu,  $R^2$  juga dapat digunakan untuk mengukur besar proporsi keragaman total yang dapat dijelaskan oleh garis regresi. Hasil pengujian nilai  $R^2 = 0.849$  menjelaskan bahwa sumbangan atau kontribusi dari variasi dosis *catechins* dalam menjelaskan keragaman variabel apoptosis sel sebesar 84.9%, sedangkan 15.1% lainnya disumbangkan oleh variabel lainnya yang tidak dimasukkan ke dalam persamaan ini.

#### **5.6 Pengaruh Pemberin *Catechins* terhadap Status Fungsional Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Hari Ketiga**

Evaluasi status fungsional otak tikus dilakukan dengan menggunakan metode NSS (*Neurologic Severity Score*). Dilakukan evaluasi NSS sebanyak 4 kali, yaitu pada 1 jam sebelum perlakuan cedera otak traumatic, 1 jam setelah perlakuan, dan sebelum dikorbankan pada hari ke-3 (tiga) atau hari ke-7 (tujuh). NSS merupakan skala numerik, dengan 0 adalah nilai terendah (derajat keparahan terkecil) dan 10 adalah nilai tertinggi (derajat keparahan terbesar). Pada sub bab ini akan dibahas mengenai hasil penelitian pada kelompok hari ketiga. Hasil rerata tiap sampel ditunjukkan pada tabel 5.9

**Tabel 5.9 Nilai Rerata dan Standar Deviasi NSS Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Kelompok 3 Hari**

Kelompok	Hari Ke-0	Hari Ke-3	Sig. (p.)
Kontrol Negatif	0 ± 0	0 ± 0	0.000*
Kontrol Positif	3.25 ± 1.25	4.25 ± 1.25	
<i>Catechins</i> 513 mg/kgBB/hari	3 ± 0.82	1.75 ± 0.5	
<i>Catechins</i> 926mg/kgBB/hari	4 ± 1.41	3 ± 0.81	
<i>Catechins</i> 1113 mg/kgBB/hari	3.25 ± 1.25	2.5 ± 0.57	



**Gambar 5.9 Grafik Histogram Rerata dan Standar deviasi NSS Tikus Model Cedera Otak Traumatik, Hari ke-tiga**

Dari tabel dan grafik diatas, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol negatif memiliki rerata NSS terkecil, 0 (nol) dan kelompok kontrol positif memiliki rerata nilai tertinggi. Kontrol positif menunjukkan peningkatan NSS antara hari ke-0 dan hari ke-3. Sementara, semua kelompok perlakuan yang diberikan *catechins*, menunjukkan penurunan nilai NSS.

Selanjutnya, data tersebut dianalisa secara statistic untuk mengetahui komparasi dan korelasi nya. Sebelum dilakukan uji komparasi dan korelasi statistik, set data dilakukan uji asumsi data, yaitu uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas data menggunakan Saphiro Wilk, karena jumlah data < 50. Hasil uji

normalitas data,  $p = 0.112$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat dinyatakan bahwa data terdistribusi normal.

Hasil pengujian homogenitas data Levene, nilai  $p = 0.138$  ( $p > 0.05$ ), sehingga dapat diinterpretasikan bahwa variansi data homogen. Karena uji asumsi data telah terpenuhi, maka selanjutnya dilakukan uji parametric, one way ANOVA, post Hoc Tuckey, Korelasi Pearson dan Regresi Linier.

Uji ANOVA dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diamati secara keseluruhan. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) antara kelompok perlakuan yang diamati terhadap NSS pada hari ketiga. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna (spesifik) secara spesifik, dilakukan uji Post Hoc Tukey. Hasil uji Post Hoc Tukey pada data NSS hari ketiga, ditunjukkan pada tabel berikut

**Tabel 5.10 Hasil Uji Post Hoc pada NSS Hari Ketiga**

<b>Kelompok Perlakuan 1</b>	<b>Kelompok Perlakuan 2</b>	<b>Signifikansi</b>
Kontrol -	Kontrol +	0.000*
	513 mg/kgbb	0.034*
	926 mg/kgbb	0.000*
	1113 mg/kgbb	0.002*
Kontrol +	513 mg/kgbb	0.002*
	926 mg/kgbb	0.184
	1113 mg/kgbb	0.034*
513 mg/kgbb	926 mg/kgbb	0.184
	1113 mg/kgbb	0.632
926 mg/kgbb	1113 mg/kgbb	0.877

\*kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan) ( $p < 0.05$ )

Dari tabel dapat diketahui bahwa Kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan lainnya. Kontrol positif memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok perlakuan dosis 513 dan 1113 mg/kgBB/hari. Dan antar kelompok dosis pemberian *catechins*, tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi data Pearson, untuk mengetahui hubungan antara dosis pemberian *catechins* dengan NSS. Hasil uji korelasi Pearson, menunjukkan nilai  $p = 0.088$ , maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna (signifikan) antara NSS dengan dosis pemberian *catechins* pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi Pearson,  $(R) = -0.441$ , artinya hubungan antara NSS dengan dosis pemberian *catechins* memiliki arah negatif dan kekuatan 0.441 arah negatif berarti, semakin tinggi dosis *catechins*, maka semakin rendah NSS pada tikus model cedera otak traumatik. Besar koefisien korelasi 0.441, berarti kekuatan korelasi nya moderat. Yang terakhir dilakukan uji regresi linier, dan didapatkan hasil nilai  $R^2 = 0.194$  dan persamaan garis

$$\text{TNF-}\alpha = -0.001 \text{ dosis} + 3.642$$

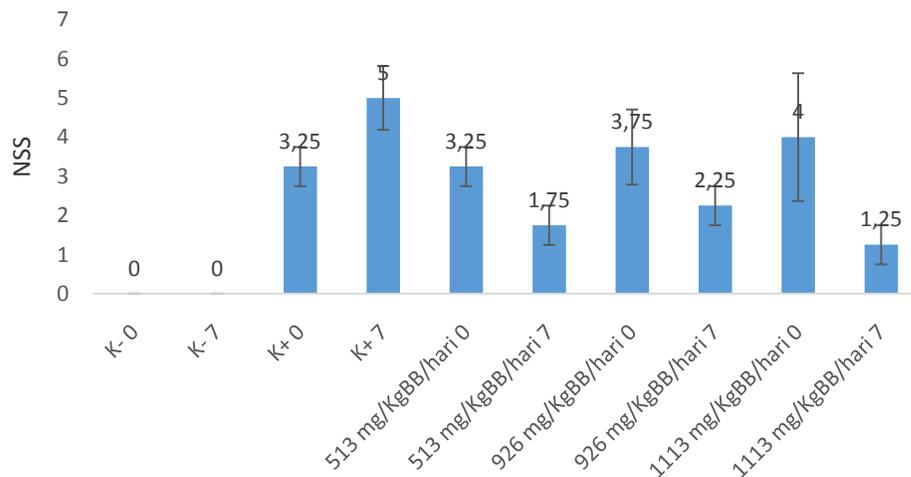
Koefisien determinasi ( $R^2$ ) adalah ukuran ketepatan atau kecocokan garis regresi. Selain itu,  $R^2$  juga dapat digunakan untuk mengukur besar proporsi keragaman total yang dapat dijelaskan oleh garis regresi. Hasil pengujian nilai  $R^2 = 0.194$  menjelaskan bahwa sumbangan atau kontribusi dari variasi dosis *catechins* dalam menjelaskan keragaman variabel NSS hanya sebesar 19.4%, sedangkan 80.6% lainnya disumbangkan oleh variabel lainnya yang tidak dimasukkan ke dalam persamaan ini.

## 5.7 Pengaruh Pemberin *Catechins* terhadap Status Fungsional Tikus Model Cedera Otak Traumatik pada Hari Ketujuh

Sub bab ini merupakan lanjutan dari sub bab sebelumnya. Pada sub bab ini akan dibahas mengenai kelompok hari ketujuh. Hasil rerata tiap sampel ditunjukkan pada tabel berikut

**Tabel 5.11 Nilai Rerata dan Standar Deviasi NSS Tikus Model Cedera Otak Traumatik, pada Kelompok 7 Hari**

Kelompok	Hari Ke-0	Hari Ke-7	Sig. (p.)
Kontrol Negatif	0 ± 0	0 ± 0	
Kontrol Positif	3.25 ± 0.5	5 ± 0.82	
<i>Catechins</i> 513 mg/kgBB/hari	3.25 ± 0.5	1.75 ± 0.5	0.002*
<i>Catechins</i> 926mg/kgBB/hari	3.75 ± 0.95	2.25 ± 0.5	
<i>Catechins</i> 1113 mg/kgBB/hari	4 ± 1.63	1.25 ± 0.5	



**Gambar 5.10 Grafik Histogram Rerata dan Standar deviasi NSS Tikus Model Cedera Otak Traumatik, Hari ke-tujuh**

Dari tabel dan grafik diatas, dapat diketahui bahwa pada hari ketujuh, kelompok kontrol negatif tetap memiliki status fungsional terbaik, dengan nilai 0 (nol). Pada hari ke-0 setelah dilakukan perlakuan cedera otak traumatic focal, nilai NSS terbesar ditunjukkan pada kelompok dengan dosis terbesar, namun hal ini tidak

bermakna apapun, karena pemberian dosis *catechins* belum dimulai. Pada hari ketujuh, Kontrol negatif menunjukkan peningkatan nilai NSS dan menjadi kelompok dengan status fungsional terburuk. Semua kelompok perlakuan yang diberikan dosis *catechins*, menunjukkan penurunan nilai NSS. Penurunan nilai NSS terbesar ditunjukkan pada kelompok yang diberikan *catechins* dengan dosis terbesar (1113 mg/kgBB/hari), dari nilai NSS terbesar pada hari ke-0 menjadi nilai NSS terkecil (selain kontrol negatif) pada hari ketujuh.

Selanjutnya, data tersebut dianalisa secara statistik untuk mengetahui komparasi dan korelasi nya. Sebelum dilakukan uji komparasi dan korelasi statistik, set data dilakukan uji asumsi data, yaitu uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas data menggunakan Saphiro Wilk, karena jumlah data  $< 50$ . Hasil uji normalitas data,  $p = 0.018$  ( $p > 0.05$ ), kemudian dilakukan transformasi dengan metode Log10, akar kuadrat, arsin dan exp, namun tidak merubah nilai p, sehingga dapat dinyatakan bahwa data tidak terdistribusi normal. Karena uji asumsi data tidak terpenuhi, maka selanjutnya dilakukan uji non parametrik, Kruskal Wallis, Mann Whitney, dan Korelasi Spearman.

Uji Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diamati secara keseluruhan. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai  $p = 0.002$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) antara kelompok perlakuan yang diamati terhadap NSS pada hari ketujuh. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda bermakna (spesifik) secara spesifik, dilakukan uji Mann Whitney. Hasil uji Mann Whitney pada data NSS hari ketujuh, ditunjukkan pada tabel 5.12

**Tabel 5.12 Hasil Uji Mann Whitney pada NSS Hari Ketujuh**

Kelompok Perlakuan 1	Kelompok Perlakuan 2	Signifikansi
Kontrol -	Kontrol +	0.013*
	513 mg/kgbb	0.011*
	926 mg/kgbb	0.011*
	1113 mg/kgbb	0.011*
Kontrol +	513 mg/kgbb	0.017*
	926 mg/kgbb	0.017*
	1113 mg/kgbb	0.017*
513 mg/kgbb	926 mg/kgbb	0.186
	1113 mg/kgbb	0.186
926 mg/kgbb	1113 mg/kgbb	0.040*

\*kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan) ( $p < 0.05$ )

Dari tabel diatas, dapat diketahui bahwa Kontrol negatif dan Kontrol Positif memiliki perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok perlakuan lainnya. Dan dari kelompok dosis pemberian *catechins*, hanya perbandingan antara dosis *catechins* terbesar (1113 mg/kgBB/hari) dengan 926 mg/kgBB/hari yang memiliki perbedaan yang bermakna (signifikan).

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi data Spearmen, untuk mengetahui hubungan antara dosis pemberian *catechins* dengan sel apoptosis. Hasil uji korelasi Spearmen, menunjukkan nilai  $p = 0.001$ , maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna (signifikan) antara NSS dengan dosis pemberian *catechins* pada tikus model cedera otak traumatic. Besar koefisien korelasi Spearmen,  $(R) = -0.754$ , artinya hubungan antara NSS dengan dosis pemberian *catechins* memiliki arah negatif dan kekuatan sebesar 0.754. Arah negatif berarti, semakin tinggi dosis *catechins*, maka semakin rendah NSS pada tikus model cedera

otak traumatik. Besar koefisien korelasi 0.754, berarti kekuatan korelasi nya sangat kuat.

Selanjutnya, subset homogen, alternatif output dari Post Hoc Tuckey, Karena hanya set data yang dianalisis dengan uji parametrik yang bisa dilakukan uji subset homogen, maka hanya data TNF- $\alpha$  3 dan 7 hari, TUNEL 7 hari dan NSS 3 hari. Hasilnya sebagai berikut, dengan interpretasi yang sama dengan Post Hoc Tuckey sebelumnya.

**Tabel 5.13 Hasil Subset Homogen untuk TNF- $\alpha$  3 dan 7 hari, TUNEL 7 hari dan NSS 3 hari**

Perlakuan	Parameter					
	TNF- $\alpha$ 7 hari		TUNEL 7 hari		NSS 3 hari	
Kontrol -	2.1000	a	2.2000	a	0.000	a
Kontrol +	9.4250	b	9.1000	b	4.25	c
513 mg/kgBB/hari	13.8250	c	16.5750	c	1.75	b
926 mg/kgBB/hari	16.0250	c	19.2000	c	3.00	bc
1113 mg/kgBB/hari	24.9500	d	25.7000	d	2.50	b

Keterangan:

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada uji Tukey, sedangkan angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

## 5.8 Uji Perbandingan 2 Variabel Bebas dan Berpasangan (Uji T-Test dan Wilcoxon)

Uji T-test merupakan uji parametrik perbandingan antara 2 variabel. Pada penelitian ini dilakukan uji bebas dan uji berpasangan. Uji independent t-test merupakan uji bebas perbandingan, dengan alternative uji non parametriknya adalah Mann Whitney. Dan uji paired t-test merupakan uji berpasangan, dengan alternative uji non paraetriknya adalah uji Wilcoxon.

Pada penelitian ini, untuk uji bebas dilakukan pada TNF-alpha dan TUNEL, sedangkan pada NSS dilakukan uji berpasangan. Sebelum dilakukan uji perbandingan, dilakukan uji normalitas untuk mengetahui penggunaan uji

statistik yang sesuai, dan didapatkan semua kelompok data pada TNF-alpha dan TUNEL memiliki distribusi yang normal (Lampiran V), sedangkan NSS sesuai dengan bagian yang telah ditulis sebelumnya. Hasil dari uji T-test dan Wilcoxon, ditunjukkan pada tabel berikut.

**Tabel 5.14 Hasil Uji 2 (dua) Variabel**

VARIABEL 1	VARIABEL 2	VARIABEL	SIGNIFIKANSI	UJI
<b>TNF-ALPHA 3 HARI</b>	TNF-alpha 7 hari	K-	0.156	Independent T-Test
		K+	0.322	
		513 mg/kgbb	0.003*	
		926 mg/kgbb	0.000*	
		1113 mg/kgbb	0.004*	
<b>TUNEL 3 HARI</b>	TUNEL 7 hari	K-	1.000	Independent T-Tes
		K+	0.409	
		513 mg/kgbb	0.002*	
		926 mg/kgbb	0.000*	
		1113 mg/kgbb	0.000*	
<b>NSS 3 HARI 0</b>	NSS 3 hari 3		0.006*	Wilcoxon
<b>NSS 7 HARI 0</b>	NSS 7 HARI 7		0.003*	Wilcoxon

Dari tabel tersebut, dapat diketahui bahwa pada set data kelompok TNF alpha dan TUNNEL antara 2 waktu pengamatan pada hari ketiga dan hari ketujuh memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kelompok perlakuan, kecuali antar kontrol, baik Kontrol positif maupun Kontrol Negatif. Yang terakhir, pada NSS, yang dilakukan analisa data uji berpasangan adalah kelompok yang diberikan *cathechins*. Hasil uji Wilcoxon, menunjukkan, perbandingan hari ke-0 dan akhir perlakuan (3 dan 7 hari) menunjukkan perbedaan yang bermakna (signifikan).

### 5.9 Uji Korelasi antar Variabel Bebas

Pada bagian ini dilakukan pengujian untuk mengetahui korelasi antara TNF- $\alpha$ , apoptosis sel (TUNNEL) dan status fungsional otak (NSS) pada tikus model cedera otak traumatik. Pada uji analisis statistic ini, data yang digunakan adalah data kontrol positif dan dipisahkan antara kedua waktu pengamatan, untuk meminimalisir bias sekecil mungkin. Sebelum dilakukan uji korelasi, dilakukan uji normalitas data dengan Saphiro Wilk, dan didapatkan semua set data memiliki distribusi yang normal (Lampiran 1), sehingga selanjutnya dilakukan uji korelasi parametrik, Pearson. Hasil uji Korelasi data antar variable adalah sebagai berikut,

**Tabel 5.15 Hasil Uji Korelasi Antar Variabel**

VARIABEL 1	VARIABEL 2	HARI 3		HARI 7	
		P.	R	P.	R
TNF- $\alpha$	TUNNEL	0.020*	0.574	0.000*	0.880
TNF- $\alpha$	NSS	0.317	0.267	0.001*	0.729
TUNNEL	NSS	0.206	0.334	0.000*	0.793

Dari table tersebut, dapat diketahui, bahwa pada hari pengamatan ke-7, semua variable saling berkorelasi signifikan dengan kekuatan “sangat kuat” dana rah positif. Dan pada hari pengamatan ke-3, hanya TNF- $\alpha$  dan NSS pada hari ketiga yang berkorelasi signifikan dengan kekuatan korelasi yang juga sangat kuat dan arah positif, yang berarti semakin tinggi TNF- $\alpha$ , maka NSS akan semakin rendah, begitu pula sebaliknya.