

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi yaitu keseluruhan obyek penelitian (Sabar 2007). Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dan herba patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) yang diperoleh dari petani daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah dalam keadaan segar dan dipanen pada bulan November 2018.

Sampel merupakan sebagian dari subyek dalam populasi (Sabar 2007) atau jumlah/karakteristik yang dimiliki oleh populasi (Sugiyono 2011). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kastuba yang segar berbentuk elips memanjang, bertangkai panjang, agak berambut dibagian bawahnya, berwarna merah, berselang-seling, ujung daun lancip atau meruncing dan tepi daun rata. Herba patikan kebo segar yang tinggi 6 cm sampai 60 cm, batang berambut, daun letaknya berlawanan, berbentuk jorong meruncing sampai tumpul, terdapat noda yang berwarna ungu, biji kecil dan berambut yang diperoleh dari petani daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **B. Variabel penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kastuba dan ekstrak etanol herba patikan kebo, efek laktagogum ekstrak etanol daun kastuba dan ekstrak etanol herba patikan kebo pada tikus putih betina, kondisi peneliti, kondisi fisik hewan uji, kondisi laboratorium, dan metode uji.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung dan dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, terikat, dan kontrol (Sugiyono 2011).

Variabel bebas merupakan variabel *independent* yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol

daun kastuba dan ekstrak etanol herba patikan kebo serta variasi konsentrasi pemberian ekstrak etanol daun kastuba dan ekstrak etanol herba patikan kebo yang diinduksikan pada tikus putih betina.

Variabel terikat adalah variabel *dependent* yang dipengaruhi keberadaannya oleh variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah efek laktagogum ekstrak etanol daun kastuba dan herba patikan kebo terhadap volume ASI pada tikus putih betina.

Variabel kontrol adalah variabel yang membuat konstan hubungan variabel bebas dan variabel terikat, sehingga variabel bebas tidak langsung mempengaruhi variabel terikat. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah kondisi peneliti, kondisi hewan uji, perlakuan oleh peneliti, metode kerja, jaringan yang diamati.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Daun kastuba adalah daun yang dipetik dari tanaman kastuba di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah dalam keadaan segar, berwarna merah. Herba patikan kebo adalah semua bagian tanaman atas tanah dalam keadaan segar daun berwarna hijau tua terdapat noda berwarna ungu, batang hijau berambut halus pendek.

Serbuk daun kastuba dan herba patikan kebo adalah daun kastuba dan herba patikan kebo segar yang dicuci, ditiriskan airnya, ditimbang, dikeringkan dengan oven, dihaluskan dengan *toothed disc mill*, dan diayak dengan ayakan no 60.

Ekstrak etanol daun kastuba dan herba patikan kebo adalah kombinasi ekstrak daun kastuba dan herba patikan kebo yang diekstraksi dengan metode maserasi berdasarkan Kemenkes (2011) menggunakan pelarut etanol 96%.

Tikus wistar adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina melahirkan dengan berat badan 180-200 gram, dengan anak tikus berumur kurang lebih 1 minggu.

Berat badan bayi adalah berat badan bayi sebelum dan sesudah menyusui induknya yang diberi perlakuan, ditimbang selama 19 hari.

Histologi kelenjar *mammae* tikus adalah kelenjar ambing yang dimiliki oleh induk tikus betina menyusui yang tersusun dari jaringan parenkim dan stroma yang berbentuk *tulubo-alveolar* yang berfungsi untuk mensekresikan susu. Penyaluran susu dari alveolus sampai ke glandula sisterna.

### C. Alat, bahan dan hewan uji

#### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan simplisia kering, serbuk bahan ekstrak, dan ekstrak adalah pisau, oven, loyang, wadah penampung, *toothed disc mill*, ayakan nomor 60, neraca analitik, gelas beker, batang pengaduk, labu ukur, pipet volume, pipet tetes, pipet mikro, aluminium foil, kertas saring, tabung reaksi, corong gelas, botol vial, penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*).

Alat yang digunakan pada proses perlakuan terhadap hewan uji adalah timbangan tikus, sonde oral, scalpel, spuit *disposable*, mikropipet, pipet tetes, kandang tikus, alat pelindung diri meliputi masker dan sarung tangan.

Alat yang digunakan selama proses pembedahan dan pengambilan organ lambung adalah seperangkat alat bedah, mikroskop, botol dehidrasi, botol fiksasi, kantong kasa, kain kasa, alat dehidrasi otomatis/*tissue processor* (Leica TP 1020), *rotary microtom* (Leica RM2125RTS), *block Imbedding* (Leica 1105), alat potong beku (Leica), pisau set *microtom*, *waterbath* (Leica HI1210), pemanas (Leica), cooling plate (Leica EG1150C), mikroskop trinokuler (Leica), alat pewarna jaringan, *object glass*, dan *deck glass*.

#### 2. Bahan

Daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dan herba patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) berasal dari petani daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dikeringkan dengan suhu tidak lebih dari 50°C, kemudian digiling dan diayak sehingga menjadi serbuk. Penyiapan ekstrak daun kastuba dilakukan dengan maserasi menggunakan etanol 96% selama 1 hari. Pemisahan pelarut etanol dilakukan dengan *rotary vacuum evaporator*, selanjutnya ekstrak dimasukkan ke dalam oven 40°C hingga bebas etanol. Ekstrak daun kastuba, Na

CMC 0,5% sebagai kontrol negatif, dan tablet Moloco® dengan sebagai kontrol positif.

Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan histopatologi adalah larutan dapar formalin 10%, larutan etanol 70%, larutan etanol 80%, larutan 90%, parafin, larutan eosin alkohol, larutan etanol absolut, larutan hematoksilin Mayer, larutan xilen, CuSO<sub>4</sub>, dan aquadestilata.

### **3. Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih betina galur wistar, bobot kurang lebih 199-210 gram, diperoleh dari peternakan tikus percobaan Universitas Setia Budi Surakarta, untuk 7 tikus dikawinkan saat masa suburnya dan satu tikus diambil 1 tikus virgin sebagai pembanding. Tikus dewasa diberikan pakan standar dari laboratorium. Induk tikus menyusui dibagi dalam kelompok perlakuan masing-masing menyusukan anak tikus. Tikus beserta masing-masing anaknya dimasukkan ke dalam satu kandang. Kelompok ke-8 merupakan kelompok pembanding sebagai kontrol normal berupa tikus betina yang belum pernah dibuahi (virgin). Tiap tikus dan ditimbang dan diberikan tanda pengenal dan diadaptasi dengan lingkungan laboratorium selama satu minggu. Setelah semua dipersiapkan, hewan uji dapat segera diberi bahan uji. Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dengan cara *decapitation* (perusakan otak lewat leher). *Decapitation* dilakukan dengan jalan memotong kepala hewan dengan menggunakan peralatan tajam dengan tujuan untuk memutus kepekaan saraf tulang belakang. Setelah dikorbankan di ambil organ yang dibutuhkan dan masukan semua sisa organ tikus yang tidak terpakai kedalam kantong plastik, kemudian kantong plastik yang berisi organ tidak terpakai di serahkan ke bagian Farmakologi dan Toksikologi untuk dilakukan insinerasi. Kemudian bersihkan area kerja sisa pembedahan dengan sabun jika perlu di semprot dengan alkohol.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi**

Tahapan pertama penelitian ini adalah dengan melakukan determinasi di Laboratorium Universitas Setia Budi bagian determinasi tanaman dilakukan

dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran identitas dari daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dan herba patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) yang akan digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian.

## **2. Pembuatan simplisia**

Pencarian bahan baku serta menentukan kualitas bahan baku merupakan tahapan sebelum pembuatan simplisia. Bahan baku dicuci dengan air mengalir dan disortasi ketika masih dalam keadaan segar untuk menghilangkan pengotor yang ada pada permukaan daun dan juga herba. Daun kastuba dan herba patikan kebo ditiriskan dan kemudian ditimbang serta dipotong kecil-kecil ini bertujuan untuk memperkecil ukuran agar pada saat proses pengeringan bahan dapat dikeringkan dengan cepat dan sempurna. Proses pengeringan dilakukan pada suhu 40°C menggunakan oven. Selanjutnya dilakukan pembuatan serbuk dengan cara menghaluskan dengan *toothed disc mill* dan diayak dengan pengayak nomor 60 untuk memperoleh serbuk dengan derajat kehalusan yang seragam (Depkes 2008).

## **3. Penetapan kadar air serbuk daun kastuba dan serbuk herba patikan kebo**

Alat destilasi *Sterling-Bidwell* dan toluen jenuh air disiapkan. Tabung penerima dan pendingin dibersihkan dengan asam pencuci (natrium bikarbonat 200 g dalam air 100 mL, secara perlahan ditambahkan asam sulfat 1,5 L) dibilas dengan air kemudian biarkan mengering dalam lemari pengering. Ditimbang 30 gram untuk masing-masing serbuk, dimasukkan ke dalam labu kering. Dimasukkan  $\pm$  200 mL toluen jenuh air ke dalam labu, kemudian alat dirangkai. Dimasukkan toluen jenuh air ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Dipanaskan labu dengan hati-hati selama 15 menit. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % v/b (Kemenkes 2011).

## **4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kastuba dan serbuk herba patikan kebo**

Penetapan susut pengeringan dilakukan pada serbuk daun kastuba dan serbuk herba patikan kebo dengan cara menimbang serbuk masing-masing sebanyak 2 gram, kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Serbuk daun kastuba dan serbuk herba patikan kebo hasil

pengeringan kemudian ditimbang dan dihitung susut pengeringannya (Kemenkes 2011).

#### **5. Pembuatan ekstrak etanol daun kastuba dan ekstrak etanol herba patikan kebo**

Serbuk kering masing-masing simplisia baik daun kastuba dan herba patikan kebo sebanyak 700 g dimasukkan ke dalam bejana, ditambah 7 L pelarut etanol 96%. Direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, selama 18 jam. Maserat disaring menggunakan penyaringan. Proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali (3,5 L) jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Dikumpulkan semua maserat dan uapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental. Dihitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang diperoleh dengan bobot serbuk simplisia yang ditimbang (Kemenkes 2013).

#### **6. Penetapan kadar air ekstrak**

Penetapan kadar air daun kastuba dan herba patikan kebo dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya dengan menimbang ekstrak daun kastuba dan herba patikan kebo sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut toluen jenuh air sebanyak 200 ml (Toluen jenuh air dibuat dengan cara mengocok 200 ml toluen dengan 20 ml air, biarkan memisah dan buang lapisan air), kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, tahap selanjutnya dipanaskan dengan api kecil. Pemanas dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi, kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut dan dihitung persen kadar airnya (DepKes 1995).

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

#### **7. Identifikasi golongan senyawa**

**7.1 Identifikasi senyawa alkaloid.** Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan diatas cawan porselin hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Setelah dingin, larutan disaring. Larutan yang didapat dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama berfungsi sebagai kontrol. Tabung ke 2 ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff dan tabung ketiga

ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer (melalui dinding tabung). Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan kuning pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Putri *et al.* 2015).

**7.2 Identifikasi senyawa flavonoid.** Menggunakan metode uji Sianidin/Shibata/Shinoda atau sering disebut uji Willstatter. Sebanyak 1 gram masing-masing sampel dipanaskan dalam 100 ml air suling dan dididihkan selama 15 menit, kemudian disaring, dan diperoleh filtrat A. Sebanyak 5 ml filtrat A dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk magnesium, HCL pekat, dan amil alkohol. Campuran dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Putri *et al.* 2015).

**7.3 Identifikasi senyawa tanin.** Sebanyak 2 mL larutan uji dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi, tabung 1 sebagai kontrol dan tabung 2 ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 10%, tanda positif tanin jika terbentuk warna hijau gelap/biru (Putri *et al.* 2015).

**7.4 Identifikasi senyawa saponin.** 4 mL larutan uji ditambahkan dengan 5 mL aquadest, kocok, lihat adanya busa yang stabil. Sedikit ekstrak ditambahkan 5 mL air, kocok dalam tabung reaksi, terbentuk busa stabil (busa setinggi 1 cm dan stabil selama 30 menit). 4 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai kontrol (Putri *et al.* 2015).

**7.5 Identifikasi senyawa antosianin.** 2 ml larutan uji ditambahkan dengan HCl 2 M tetes demi tetes lihat warna merah berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan-lahan merupakan karakteristik dari antosianin (Harbone 1996).

## **8. Penentuan dosis**

**8.1 Dosis ekstrak daun kastuba.** Pada penelitian sebelumnya dosis ekstrak daun kastuba sudah ditemukan dosis efektif yaitu 200 mg/kgBB tikus. Disini akan digunakan kombinasi dosis yaitu 25%, 50%, 75% dengan perbandingan terhadap dosis ekstrak herba patikan kebo dan juga dosis tunggalnya yaitu . 200 mg/kgBB tikus.

**8.2 Dosis ekstrak herba patikan kebo.** Dosis ekstrak herba patikan kebo berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu dosis efektif 81,24 mg/kgBB tikus

(Mihardja *et al.* 2001). Akan digunakan kombinasi dosis yaitu 75%, 50%, 25% dengan perbandingan terhadap dosis ekstrak daun kastuba dan juga dosis tunggalnya yaitu 81,24 mg/kgBB tikus.

**8.3 Dosis Moloco®.** Dosis Moloco® yaitu 108 mg/kgBB tikus (Forinash *et al.* 2012).

## **9. Pembuatan larutan uji/suspensi**

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan 500 mg ekstrak dalam 50 mL pelarut yang sesuai.

## **10. Perlakuan hewan uji**

Tujuh kelompok induk diberi perlakuan secara peroral menggunakan sonde lambung satu kali sehari pada masing-masing induk tikus dalam masa laktasi mulai hari ke-1 sampai hari ke-19 setelah melahirkan. Metode penelitian yang digunakan adalah mengukur banyaknya air susu yang diminum oleh bayi tikus dengan *test wighting method*, yaitu menghitung jumlah air susu yang diperoleh dari selisih berat badan bayi sebelum dan sesudah menyusui induknya. Pencatatan hasil pengujian dilakukan setiap hari mulai hari ke-1 sampai 19 pasca melahirkan. Pada saat pengujian supaya bayi tikus berpuasa dan lambung dalam keadaan kosong. Setelah berpuasa bayi tikus ditimbang dan dimasukkan kembali ke dalam kandang induknya serta dibiarkan menyusui selama 7 jam dimana diperkirakan lambung dalam keadaan penuh, kemudian bayi tikus diambil untuk ditimbang kembali, dan selesai penimbangan dikumpulkan kembali dengan induknya.

Dosis yang diberikan adalah:

Kelompok 1 : Kontrol negatif (Na CMC 0,5%)

Kelompok 2 : Dosis tunggal ekstrak etanol daun kastuba 200 mg/kg BB tikus.

Kelompok 3 : Dosis tunggal ekstrak etanol herba patikan kebo 81,24 mg/kg BB.

Kelompok 4 : Kombinasi ekstrak etanol daun kastuba 50mg/kg BB tikus dan herba patikan kebo 60,93mg/kg BB tikus.



- Kelompok 5 : Kombinasi ekstrak etanol daun kastuba 100mg/kg BB tikus dan herba patikan kebo 40,62mg/kg BB tikus.
- Kelompok 6 : Kombinasi ekstrak etanol daun kastuba 150mg/kg BB tikus dan patikan kebo 20,31mg/kg BB tikus
- Kelompok 7 : Kontrol positif (Moloco<sup>®</sup>) 108 mg/kg BB tikus
- Kelompok 8 : Kontrol normal (Tikus virgin) dengan pakan standar

## 11. Pemeriksaan histopatologi organ kelenjar mammae

Pada hari ke-20 induk 7 kelompok dan 1 tikus betina yang belum pernah dibuahi dikorbankan dengan inhalasi kemudian di dislokasi leher, kemudian diambil masing-masing 1 kelenjar *mammae* dan dimasukkan ke dalam pot berisi formalin 10% kemudian diberi label untuk kemudian dilihat histopatologinya.

Prosedur pemeriksaan histopatologi menurut BPOM RI 2014 antara lain :

**11.1 Fiksasi pertama.** Semua organ direndam di dalam larutan dapar formalin 10% dan harus sering digoyang. Kemudian organ tersebut dibiarkan di dalam botol selama 1 minggu pada suhu kamar.

**11.2 Pemotongan kasar.** Formalin dari masing-masing botol dibuang, lalu organ dipotong secara kasar. Kemudian potongan organ dari setiap hewan uji dimasukkan ke dalam kantong tersendiri, sedangkan sisa potongan dibungkus dengan kain kassa untuk arsip.

**11.3 Fiksasi kedua.** Organ dimasukkan ke dalam botol berisi larutan dapar formalin untuk dilakukan fiksasi yang kedua paling sedikit selama 3 hari.

**11.4 Pencucian.** Setelah fiksasi kedua, untuk menghilangkan sisa formalin, kantong yang berisi organ dimasukkan ke dalam bak yang berisi air dan dialiri air ledeng secara terus menerus selama paling sedikit 6 jam.

**11.5 Proses dehidrasi.** Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi menggunakan alat dehidrasi otomatis dan perendaman di dalam parafin cair.

**11.6 Perendaman dalam parafin cair.** Proses pembersihan organ dilakukan dengan cara memasukkan kantong-kantong organ yang telah mengalami proses dehidrasi ke dalam bejana yang berisi parafin cair selama 60 menit.

**11.7 Pembuatan sediaan blok.** Pembuatan sediaan blok dilakukan dengan cara menyiapkan beberapa cawan porselin dan dipanaskan diatas api bunsen. Kedalam cawan dituangkan parafin cair. Kantong organ yang terendam dalam bejana yang berisi parafin cair dibuka dan organ segera dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah berisi parafin cair. Selanjutnya cawan yang berisi organ dibiarkan membeku. Kemudian cawan direndam dalam air kira-kira 60 menit lalu disimpan di dalam lemari es selama 12 jam. Setelah itu parafin yang berisi organ yang telah beku dikeluarkan dari cawan dan blok parafin dipotong berdasarkan kelompok organ. Selanjutnya potongan blok parafin dilekatkan pada permukaan blok kayu.

**11.8 Pemotongan organ.** Potongan-potongan organ yang sudah ditanam dalam blok parafin dan dilekatkan pada blok kayu, dipotong menjadi sayatan tipis menggunakan mikrotom. Setelah memperoleh potongan yang bagus, potongan tersebut dimasukkan bak yang berisi air sehingga mengambang dan selanjutnya ditempelkan pada kaca obyek. Selanjutnya sediaan/ preparat disimpan dalam suhu kamar untuk dilakukan pewarnaan.

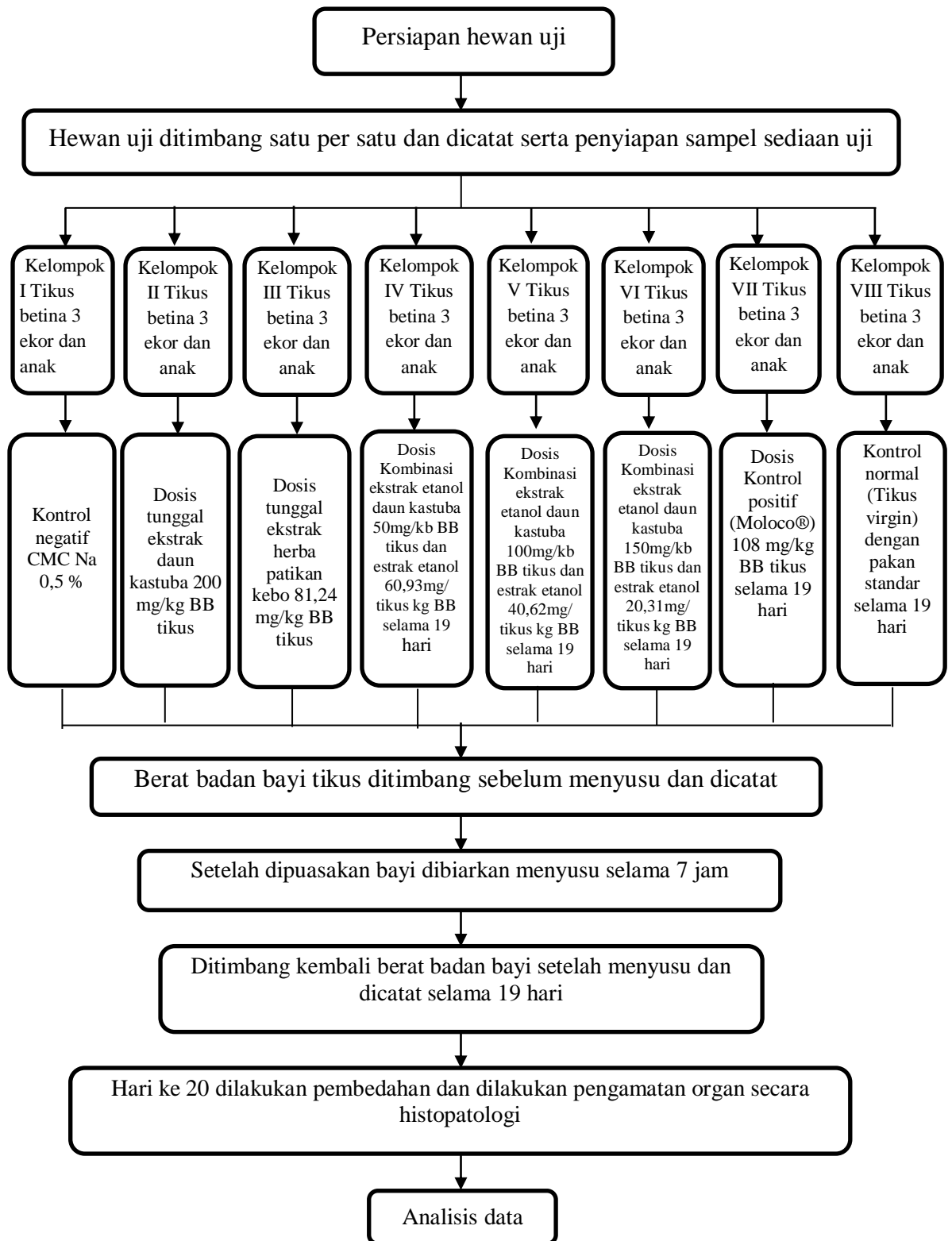
**11.9 Pewarnaan jaringan.** Pewarnaan jaringan dilakukan dengan metode Hematoksin-eusin. Pewarnaan dapat dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis sebagai berikut: pertama-tama bejana no.1 dan 2 masing-masing diisi dengan xilen 100%, bejana no.3 dan 4 dengan etanol absolut, bejana no.5 dengan etanol 90%, bejana no.6 dengan etanol 80% dan bejana no.7 dengan etanol 70%. Setelah itu tuas pengatur waktu diatur sesuai waktu dari masing-masing bejana. Selanjutnya sediaan histopatologi diletakkan dalam keranjang khusus, lalu mesin dihidupkan dan sediaan pertama-tama direndam didalam bejana no.1 dan 2 untuk proses deparafinasi masing-masing selama 12 menit sambil digoyang, dilakukan dehidrasi dengan merendam preparat dalam etanol absolut I dan II masing-masing selama 5 menit, dipindahkan ke dalam etanol 90; 80 dan 70% masing-masing selama 5 menit, dimasukkan dalam air mengalir selama 12 menit, direndam dalam larutan hematoksilin Mayer selama 5 menit, dicuci dalam air mengalir selama 2 x 12 menit, pewarnaan dengan eosin 0,25% selama 12 menit, dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan mencelupkan

dalam etanol 70% sebanyak 8 kali, dimasukkan dalam etanol 80; 90 % dan etanol absolut I dan II masing-masing selama 10 menit. Terakhir dimasukkan ke dalam xilen I, II, III masing-masing selama 12 menit. Kemudian kaca obyek ditutup dengan kaca penutup memakai perekat eukit. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran yang sesuai. Inti sel akan tampak berwarna biru kelabu dan sitoplasma merah muda (BPOM RI 2014).

## **12. Analisis Data**

Analisis hasil efek laktagogum berdasarkan pada pengamatan berat badan anak tikus sebelum dan sesudah menyusui induknya, dan data gambaran jumlah alveoli kelenjar *mammae* sesudah menyusui. Analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk, sebab metode ini merupakan metode yang efektif dan valid untuk sampel dalam jumlah kecil (< 50 sampel). Data terdistribusi normal jika  $p > 0,05$ . Dilanjutkan dengan metode One Way ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%. Menunjukkan hasil  $p > 0,05$  berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan. Dan jika hasilnya terdapat perbedaan bermakna maka uji dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* agar mengetahui kelompok yang terdapat perbedaan tersebut.

### E. Skema Penelitian



Gambar 5. Skema Penelitian