

## **BAB III METODE PENELITIAN**

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

#### **1. Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah daun alpukat dari tanaman alpukat yang berasal dari Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat dari tanaman alpukat yang diambil di Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Juli 2022.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi Variabel Utama**

**1.1 Variabel Bebas.** Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau menyebabkan adanya variabel terikat. Dalam penelitian ini yang bertindak sebagai variabel bebas adalah ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, air daun alpukat.

**1.2 Variabel Terikat.** Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Dalam penelitian ini yang bertindak sebagai variabel terikat adalah proses pengurangan volume udem pada kaki tikus yang diinduksi karagenin 1%.

**1.3 Variabel Kontrol.** Variabel kontrol merupakan variabel terikat yang tidak terpengaruh oleh faktor luar sehingga hubungan variabel bebas terhadap variabel terikat tidak terpengaruh oleh faktor luar yang tidak diteliti. Dalam penelitian ini yang bertindak sebagai variabel kontrol adalah jenis hewan uji, berat hewan uji, umur hewan uji, pemeliharaan dan perlakuan hewan uji, makanan dan minuman hewan uji, suhu ruangan, serta kondisi kandang.

#### **2. Definisi Operasional Variabel Utama**

Pertama, daun alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah daun tunggal yang letaknya berdesakan di ujung ranting. Ciri-ciri daun alpukat yaitu berbentuk lonjong atau bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, bertulang menyirip, ujung dan pangkal runcing, daun muda berwarna kemerahan berambut rapat, dan daun tua berwarna hijau gundul.

Kedua, serbuk daun alpukat diperoleh dari seluruh bagian daun alpukat dengan kualitas baik dicuci bersih lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 54°C. Setelah kering, dihaluskan dengan blender dan diayak dengan mesh no. 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun alpukat adalah ekstrak yang didapatkan dari ekstrak serbuk daun alpukat menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% lalu dilanjutkan dengan metode remaserasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Keempat, etanol 96% adalah pelarut yang melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar serta lebih selektif.

Kelima, maserasi adalah proses mengekstraksi dengan cara merendam serbuk simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengojogan pada suhu kamar (ruang). Remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

Keenam, fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran, dimulai dari pelarut non polar, semi polar dan polar. Fraksi adalah hasil pemisahan dalam jumlah yang lebih kecil dengan kandungan zat target (senyawa kimia).

Ketujuh, fraksi n-heksan adalah lapisan n-heksan yang diambil dari hasil fraksinasi dengan pelarut n-heksan dari ekstrak daun alpukat yang dipekatkan sampai kering.

Kedelapan, fraksi etil asetat adalah lapisan etil asetat yang diambil dari hasil fraksinasi dengan pelarut etil asetat dari ekstrak daun alpukat yang dipekatkan sampai kering.

Kesembilan, fraksi air adalah lapisan air yang diambil dari hasil fraksinasi dengan pelarut air dari ekstrak daun alpukat yang dipekatkan sampai kering.

Kesepuluh, hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-250 gram dan dalam keadaan sehat.

Kesebelas, aktivitas antiinflamasi adalah daya antiinflamasi terhadap udem pada kaki tikus yang diinduksi karagenin 1%.

### **C. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun alpukat, etanol 96%, penginduksi lamda karagenin 1%, Na Diklofenak,

CMC Na 1%, pelarut N-heksan, pelarut etil asetat, akuades. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang telah di aklimatisasikan selama satu minggu.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, botol kaca coklat, *rotary evaporator*, *beaker glass*, erlenmeyer, corong, blender, cawan porselen, gelas ukur, batang pengaduk, kertas saring, tabung reaksi, rak tabung reaksi, ayakan mesh 40, timbangan neraca analitik, stamper, mortar, *plestimograph*, penangas air, lampu spiritus, kandang tikus.

#### **D. Metode Percobaan**

##### **1. Determinasi Tanaman**

Proses penelitian dimulai dengan menentukan kebenaran sampel tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) ditinjau dari ciri makroskopis dan mencocokkan morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi. Tanaman alpukat dideterminasi di Laboratorium Morfologi Universitas Setia Budi Surakarta.

##### **2. Pengambilan Bahan**

Bahan baku daun alpukat (*Persea americana* Mill.) didapatkan dari tanaman alpukat di daerah Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan September 2022. Daun alpukat yang diambil adalah daun alpukat yang tua nomor 2-5 dengan kualitas yang baik (tidak bolong, tidak rusak).

##### **3. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Alpukat**

Daun alpukat dilakukan sortasi basah, dibersihkan dengan air mengalir, lalu dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran setelah itu dikeringkan dibawah sinar matahari, dan setelah kering dilakukan sortasi kering. Selanjutnya simplisia daun alpukat kering dibuat serbuk dengan dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan nomor 40 sampai didapatkan serbuk halus.

##### **4. Penetapan Susut Pengerinan**

Penetapan susut pengerinan serbuk daun alpukat dilakukan menurut analisis gravimetri. Pengujian ini menggunakan alat moisture balance pada temperatur 105°C. Timbang serbuk daun alpukat sebanyak 2 gram, setelah itu masukkan ke dalam alat moisture balance. Jika alat telah berbunyi menunjukkan bahwa alat telah selesai bekerja. Catat hasilnya dalam satuan persen dan ulangi sebanyak tiga kali. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) edisi III halaman 32,

syarat susut pengeringan pada serbuk daun alpukat tidak lebih dari 10%.

### 5. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Alpukat

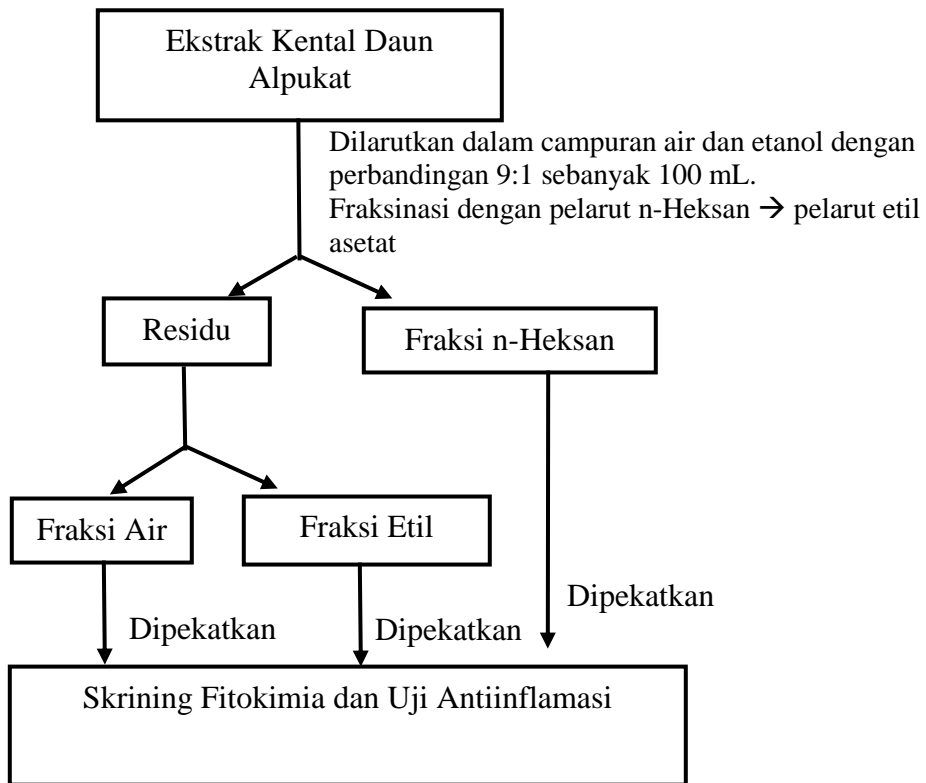
Pembuatan ekstrak etanol serbuk daun alpukat dengan metode maserasi. Pertama-tama, timbang serbuk simplisia daun alpukat sebanyak 1000 gram lalu dimasukkan ke dalam botol kaca kemudian tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 10 L. Rendam serbuk simplisia selama 3 hari dan dilakukan pengadukan sesering mungkin. Hasil ekstrak cair disaring menggunakan kertas corong yang diberi kertas saring dan ditampung dalam sebuah wadah kaca. Kemudian sisa ampas dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali dengan masing-masing pelarut sebanyak 1 L. Setelah itu, semua ekstrak cair yang didapatkan dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental etanol 96% ditimbang. Rendemen dapat dihitung sebagai persen berat (b/b) antara berat ekstrak dan berat simplisia awal (Sentat dan Permatasari, 2015). Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100\%$$

### 6. Pembuatan Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat

Sebanyak 10 gram ekstrak kental daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dilarutkan dalam campuran air dan etanol dengan perbandingan 9:1 sebanyak 75 mL. Selanjutnya, campuran ekstrak yang telah dilarutkan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang didapatkan difraksinasi menggunakan corong pisah berturut-turut dengan pelarut n-heksan sampai didapatkan hasil yang jernih kemudian dengan pelarut etil asetat sampai didapatkan hasil yang jernih. Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan jumlah air-etanol yang ditambah ke dalam ekstrak kental dengan perbandingan 1:1 (Kusmita et al., 2014). Setelah campuran ekstrak dan pelarut dimasukkan ke dalam corong pisah, tutup corong pisah. Kocok selama 15 menit dengan arah kocokan ke arah badan, sesekali buka tutup corong pisah untuk mengeluarkan gas yang terbentuk selama pengocokan. Biarkan sampai terjadi pemisahan. Kedua fase dipisahkan ke dalam wadah yang berbeda. Lapisan air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan lakukan seperti langkah semula sampai didapatkan hasil yang jernih. Proses keseluruhan fraksinasi dilakukan 3 kali karena menggunakan ekstrak sebanyak 30 gram. Ketiga fraksi

ditampung lalu dipekatkan dengan oven dan didapatkan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun alpukat.



Gambar 6. Skema pembuatan fraksi

## 7. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan destilasi *Sterling-Bidwell*. Serbuk atau ekstrak daun alpukat sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell*. Masukkan  $\pm 100$  ml toluen jenuh air ke dalam labu, pasang dan rangkai alat *Sterling-Bidwell*. Toluene jenuh air dimasukkan melalui pendingin hingga leher alat penampung. Panaskan labu selama 15 menit dengan api bunsen. Setelah mendidih, penyulingan diatur dengan kecepatan  $\pm 4$  tetes per detik hingga sebagian air tersuling lalu kecepatannya dinaikkan hingga 2 tetes per detik. Penyulingan dilakukan hingga tidak ada tetesan air yang jatuh. Kadar air dihitung dalam %v/b. Menurut FHI (2017) kadar air tidak lebih dari 14,0%.

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

## 8. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat

Identifikasi golongan senyawa kimia dilakukan dengan prosedur cara sebagai berikut :

**8.1 Uji Flavonoid.** Dimasukkan 1 ml ekstrak daun alpukat ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 tetes HCL pekat, serbuk Mg, dan 2 tetes amil alkohol. Hasil positif alkaloid jika terbentuk warna kuning jingga, atau merah pada lapisan amil alkohol.

**8.2 Uji Alkaloid.** Dimasukkan 1 ml ekstrak daun alpukat masukkan ke dalam 3 tabung reaksi dan masing-masing ditambahkan 2 tetes pereaksi *Mayer*, pereaksi *Bouchardat*, dan pereaksi *Dragendrof*. Hasil yang terbentuk berturut-turut adalah terbentuk endapan putih/kuning, terbentuk endapan coklat sampai hitam, terbentuk endapan jingga sampai merah coklat. Hasil positif alkaloid jika sedikitnya 2 dari 3 pereaksi menghasilkan endapan yang sama.

**8.3 Uji Saponin.** Dimasukkan 1 ml ekstrak daun alpukat ke dalam tabung reaksi. Tambahkan air panas secukupnya lalu kocok selama 15 menit. Ditambahkan 2 tetes HCL 2 N, bila terbentuk busa permanen selama 10 menit maka ekstrak positif mengandung saponin.

**8.4 Uji Tanin.** Dimasukkan 1 ml ekstrak daun alpukat ke dalam tabung reaksi tambah 10 mL aquadest, lalu disaring. Filtrat diencerkan dengan air suling sampai tidak berwarna. Ambil 2 mL filtrat tambahkan 1-2 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Bila terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman mengindikasikan adanya tanin.

## 9. Uji Organoleptik Ekstrak dan Fraksi Daun Alpukat

Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk memastikan ekstrak dan fraksi daun alpukat memiliki kualitas bentuk, warna, dan bau yang baik. Pemeriksaan dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau dari masing-masing sampel.

## 10. Identifikasi Senyawa Aktif Dengan Metode KLT

Kromatografi Lapis Tipis dilakukan dengan fase diam Silika Gel GF 254 dan beberapa fase gerak untuk menentukan fase gerak terbaik. Sampel yang diuji adalah ekstrak etanol 96%, fraksi etil asetat, dan perbandingan.

**10.1 Flavonoid.** Flavonoid diidentifikasi dengan KLT menggunakan fase gerak Kloroform : etil asetat (6:4) dengan pereaksi sitroborat menghasilkan warna kuning kecoklatan. Baku perbandingan yang digunakan adalah kuersetin (Koeriwa et al., 2010; Latifah, 2015; Yuda et al., 2017).

**10.2 Tanin.** Tanin diidentifikasi dengan KLT menggunakan fase gerak Toluena : aseton : asam formiat (3:3:0,5). Kemudian dilihat dibawah sinar UV 254 nm berwarna hijau gelap dan pada sinar UV 366 nm berwarna ungu kemerahan. Baku pembandingan yang digunakan adalah asam galat (Hayati, 2010; Yuda et al., 2017).

**10.3 Saponin.** Identifikasi senyawa saponin menggunakan KLT dengan fase gerak  $\text{CHCl}_3$  : metanol : etil asetat (6:3:1). Baku pembandingnya adalah sapogenin dan penampak noda dengan *Lieberman Bouchardat*. Jika timbul warna hijau setelah penyemprotan LB, menunjukkan adanya senyawa saponin jenis steroid (Yanti, 2019).

**10.4 Alkaloid.** Alkaloid diidentifikasi dengan KLT menggunakan fase gerak Toluena : Etil Asetat : dietilamin (7:2:1) dengan penampak noda pereaksi *Dragendoff*. Baku pembandingnya adalah piperin. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi *Dragendoff* menunjukkan adanya alkaloid. Bila tanpa pereaksi kimia akan berfluoresensi biru, biru-kehijauan, atau ungu pada sinar UV 366 nm (Yanti, 2019).

**10.5 Steroid.** Senyawa steroid diidentifikasi menggunakan KLT dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (1:1). Dengan baku pembandingan  $\beta$ -sitosterol. Hasilnya dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm serta setelah disemprot dengan penampak bercak LB timbul adanya bercak maka menunjukkan adanya steroid (Yanti, 2019).

## 11. Penentuan Dosis

**11.1 Dosis natrium diklofenak.** Penggunaan natrium diklofenak pada dosis 50-75 mg qid. Pada penelitian ini menggunakan dosis 50 mg/ kg BB (Katzung *et al.*, 2012). Faktor konversi dari manusia dengan berat 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Dosis Na diklofenak untuk tikus dengan berat badan 200 gram adalah 50mg dikali 0,018 diperoleh hasil 0,9 mg/200 gram BB tikus atau 4,5 mg/ kg BB tikus.

**11.2 Dosis karagenin.** Berdasarkan hasil penelitian Fitriyani et al. (2011) dosis karagenin 1% yang digunakan sebagai penginduksi pada penelitian ini adalah 0,05 mL.

**11.3 Dosis Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Alpukat.** Pada penelitian ini dosis ekstrak etanol daun alpukat adalah 560 mg/kg BB tikus dari konversi dosis ekstrak daun alpukat sebesar 800 mg/kg BB mencit dalam jurnal *Elsevier* (2002). Untuk perhitungan dosis pada Lampiran.

## 12. Pembuatan Larutan Uji

**12.1 Suspensi CMC-Na 1%.** Larutan CMC 1% digunakan sebagai control negatif. Cara pembuatan larutan stok adalah CMC-Na ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilebur ke dalam cawan penguap yang berisi sebagian air panas hingga mengembang. Masukkan dalam mortir, gerus *ad homogen* lalu ditambah akuades sampai 100 mL.

**12.2 Suspensi lamda karagenin 1%.** Suspensi lamda karagenin 1% didapatkan dengan mensuspensikan 1 gram karagenin, tambahkan suspensi CMC-Na 1% (qs). Tambahkan akuades sampai 100 mL.

**12.3 Pembuatan suspensi Natrium diklofenak 0,5%.** Natrium diklofenak disuspensikan dengan CMC-Na 1%. Natrium diklofenak ditimbang sebanyak 37,476 mg lalu dimasukkan ke dalam mortir, tambahkan suspensi CMC-Na 1% sebanyak 30 mL digerus *ad homogen*. Perhitungan dosis dan volum pemberian ada pada lampiran

**12.4 Pembuatan suspensi ekstrak etanol daun alpukat.** Ekstrak etanol daun alpukat disuspensikan dengan CMC-Na 1%. Ekstrak etanol daun alpukat ditimbang sebanyak 1,12 gram lalu masukkan ke dalam mortir dan ditambahkan suspense CMC-Na 1% sebanyak 30 mL digerus *ad homogen*. Perhitungan dosis dan volume pemberian ada pada lampiran

**12.5 Pembuatan suspensi fraksi n-heksan daun alpukat.** Ekstrak fraksi n-heksan daun alpukat disuspensikan dengan CMC-Na 1%. Fraksi n-heksan daun alpukat ditimbang sebanyak 0,112 gram lalu masukkan ke dalam mortir dan ditambahkan suspense CMC-Na 1% sebanyak 30 mL digerus *ad homogen*. Perhitungan dosis dan volume pemberian ada pada lampiran

**12.6 Pembuatan suspensi fraksi etil asetat daun alpukat.** Fraksi etil asetat daun alpukat disuspensikan dengan CMC-Na 1%. Fraksi etil asetat daun alpukat ditimbang sebanyak 0,112 gram lalu masukkan ke dalam mortir dan ditambahkan suspense CMC-Na 1% sebanyak 30 mL digerus *ad homogen*. Perhitungan dosis dan volume pemberian ada pada lampiran

**12.7 Pembuatan suspensi fraksi air daun alpukat.** Fraksi air daun alpukat disuspensikan dengan CMC-Na 1%. Fraksi air daun alpukat ditimbang sebanyak 0,112 gram lalu masukkan ke dalam mortir dan ditambahkan suspense CMC-Na 1% sebanyak 30 mL digerus *ad homogen*. Perhitungan dosis dan volume pemberian ada pada lampiran



### 13. Pengujian Antiinflamasi Ekstrak Dan Fraksi Daun Alpukat

**13.1 Penyiapan Hewan Uji.** Sebanyak tiga puluh ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 140-250 gram. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama kurang lebih 18 jam sebelum perlakuan namun air minum tetap diberikan. Tikus dibagi menjadi lima kelompok secara acak dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Sebelum tikus mendapat perlakuan, tikus sudah diadaptasikan dengan lingkungan penelitian.

**13.2 Pengelompokan Hewan Uji.** Semua hewan uji diberi perlakuan secara topical sesuai dengan kelompoknya.

- Kelompok I (K-) : kontrol negatif CMC-Na 1%
- Kelompok II (K+) : kontrol positif Na diklofenak dosis 4,5 mg/kgBB tikus
- Kelompok III : kontrol uji ekstrak etanol dosis 560 mg/kgBB tikus
- Kelompok IV : kontrol uji fraksi n-heksan dosis 56 mg/kgBB tikus
- Kelompok V : kontrol uji fraksi etil asetat 56 mg/kgBB tikus
- Kelompok VI : kontrol uji fraksi air 56 mg/kgBB tikus

**13.3 Perlakuan Hewan Uji.** Perlakuan awal setiap tikus diberi tanda batas pada sendi belakang kaki kiri agar pemasukan kaki ke dalam *plestimograph* selalu sama. Lalu ukur volume awal kaki tikus dicatat sebagai volume dasar untuk setiap tikus. Satu jam setelah pemberian obat uji atau larutan kontrol secara peroral, disuntikkan larutan karagenin 1% pada telapak kaki kiri tikus seb secara subplantar. Tiga puluh menit kemudian volume kaki yang disuntik karagenin 1% diukur pada alat *plestimograph* air raksa dengan mencelupkan telapak kaki kiri tikus ke dalam alat sampai tanda dan catat volume kakinya. Lakukan pengukuran setiap 1 jam yaitu pada jam ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, dan pada jam ke-24 setelah diinduksi karagenin 1%.

#### E. Analisis Data

Uji antiinflamasi data kuantitatif penelitian berupa volume inflamasi atau udem, persentase inflamasi dan persentase hambat inflamasi. Volume udem adalah selisih dari volume kaki sebelum dan sesudah diinduksi dengan karagenin 1%. Rumus perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\mathbf{Vu} = \mathbf{Vt} - \mathbf{V_0}$$

Keterangan :

Vu : volume udem kaki tikus tiap waktu t

Vt : volume kaki tikus setelah diradangkan dengan karagenin 1% pada waktu tertentu

V0 : volume awal kaki tikus sebelum diradangkan dengan karagenin 1%

Setelah dilakukan pengamatan maka persentase inflamasi kaki kiri tikus putih jantan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inflamasi} = \frac{Vt - V_0}{V_0} \times 100\%$$

Sedangkan persentase hambatan inflamasi dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan ;

a : Persen inflamasi rata-rata kelompok

b : Persen inflamasi kelompok perlakuan bahan uji atau obat pembanding

Data kuantitatif penelitian berupa AUC dari kurva udem rata-rata terhadap waktu dan persen efek antiinflamasi. Nilai AUC adalah luas daerah rata – rata di bawah kurva yang merupakan hubungan volume udem rata-rata tiap satuan waktu dengan rumus yaitu :

$$AUC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{Vt_{n-1} + Vt_n}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Keterangan :

V<sub>t<sub>n-1</sub></sub> : volume udem rata-rata pada t<sub>n-1</sub>

V<sub>t<sub>n</sub></sub> : volume udem rata-rata pada t<sub>n</sub>

Persentase daya antiinflamasi dihitung berdasarkan persen penurunan udem menggunakan rumus :

$$\% \text{ DAI} = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_p} \times 100\%$$

Keterangan :

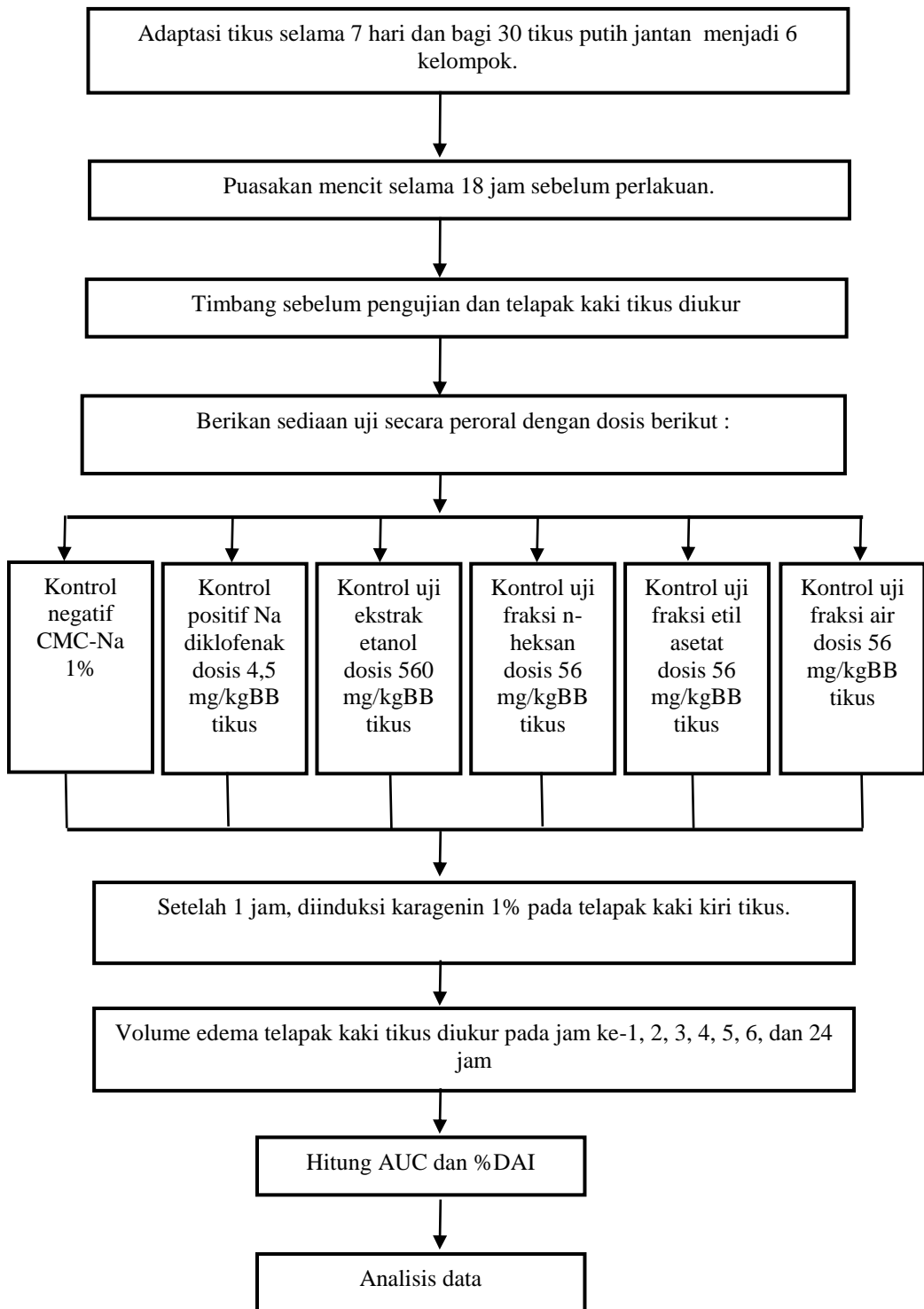
AUC<sub>k</sub> : AUC kurva volume udem rata-rata terhadap waktu untuk control negatif

AUC<sub>p</sub> : AUC kurva volume udem rata-rata terhadap waktu untuk control kelompok perlakuan pada tiap individu.

Data kuantitatif hasil penelitian dilakukan analisis statistika menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak menggunakan uji *Saphiro Wilk* ( $P > 0,05$ ). Jika hasil uji distribusi tidak normal ( $P < 0,05$ ), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann-Withney*. Jika hasil data terdistribusi normal ( $P > 0,05$ ), analisis dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu uji homogenitas varian (*Uji Levene Test*) untuk mengetahui ada tidaknya kesamaan varian data. Apabila varian data tidak sama ( $P < 0,05$ ) akan dilanjutkan dengan uji non parametrik. Tetapi jika varian data sama ( $P > 0,05$ ), uji dilanjutkan menggunakan uji parametrik dengan *One Way ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil signifikan ditunjukkan dengan nilai  $P < 0,05$ , kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Turkey* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perlakuan berbeda.

Syarat uji statistik parametrik adalah data yang digunakan harus terdistribusi normal dan homogen. Apabila data terdistribusi normal namun tidak homogen selanjutnya akan dilanjutkan dengan uji non parametrik.

## F. Skema Penelitian



Gambar 7. Skema jalannya penelitian