

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rokok merupakan hasil olahan tembakau, termasuk cerutu atau bentuk lainnya. Merokok rokok menghasilkan asap rokok yang sangat berbahaya bagi Kesehatan (Marieta & Lestari, 2021). Kebiasaan merokok telah menjadi permasalahan kesehatan utama yang menyebar luas di berbagai negara. Menurut *The Tobacco Atlas 3rd edition*. Data secara global menunjukkan angka bahwa sekitar 57% dari populasi di wilayah Asia dan Australia menggunakan produk tembakau khususnya rokok. (Salsabila et al., 2022). Jumlah perokok di seluruh dunia mencapai 1,3 milyar orang dengan 942 juta laki-laki dan 175 juta perempuan dengan persentase perokok usia antara 25-64 tahun (36,3%) dimana sebanyak 66% perokok laki-laki dan 6,7% perokok perempuan. Sedangkan di Indonesia merupakan negara ke-5 terbesar dalam produksi tembakau. Total produksi pada tahun 2011 sebanyak 258 juta batang tembakau dengan mayoritas perokok dewasa di Indonesia dengan rentan usia menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, sekitar 65,9% laki-laki dan 4,2% perempuan di atas umur 15 tahun merokok. Usia konsumsi rokok paling rendah terjadi pada kelompok umur 15-24 tahun dan kelompok umur 75 tahun ke atas khususnya para perokok konvensional (Simbolon et al., 2018); Akaputra & Prasanty, 2016).

Kandungan Asap dari rokok konvensional mengandung lebih dari 4.000 bahan kimia, termasuk karbon monoksida, hidrokarbon aromatik polisiklik, dan nikotin yang bersifat toksik dan berpotensi menyebabkan ketergantungan. Nikotin, sebagai senyawa adiktif yang terdapat dalam rokok, memiliki kapasitas untuk menginduksi kerusakan pada sistem saraf pusat serta menimbulkan kecanduan, baik pada perokok aktif maupun pasif (Dzaky & Sudibjo, 2021).

Rokok merupakan sebuah permasalahan Kesehatan global yang menyebabkan lebih dari 41.000 kematian di seluruh dunia. Hal ini disebabkan oleh sejumlah penyakit mematikan yang dapat disebabkan oleh asap rokok, antara lain penyakit jantung, kanker paru, stroke serta dapat menyebabkan penyakit di sistem saraf pusat atau otak. Ada Beberapa penyakit yang dapat disebabkan oleh penggunaan rokok. Merokok konvensional memiliki dampak negatif terhadap kesehatan otak umumnya pada neurokognitif dan penelitian (Budiman et al., 2018) Menunjukkan bahwa merokok mengganggu neurobiologi dan fungsi otak, ditemukan kelainan berupa atrofi yang signifikan pada beberapa bagian otak seperti ngulate posterior, dan precuneus. Nikotin dapat menghambat paparan beta amyloid pada mikroglia. Dari beberapa faktor tersebut dapat menimbulkan beberapa dampak penyakit dari sistem saraf pusat.



Rokok elektrik merupakan perangkat berdaya baterai yang menghasilkan uap untuk dihirup, menggunakan semprotan dari kartrid yang berisi humektan (seperti propilen glikol atau gliserol), rasa, nikotin, dan kadang-kadang juga obat-obatan lain seperti rimonabant dan aminotadalafil (Sriyanto *et al.*, 2022). Selama beberapa tahun terakhir, popularitas rokok elektrik mengalami peningkatan yang signifikan di kalangan generasi muda, sebagian karena daya tariknya sebagai perangkat yang trendi dan sebagai “rokok yang aman” dengan klaim memiliki lebih sedikit racun sehingga dianggap memiliki kemungkinan rendah dibandingkan dengan rokok konvensional. Rokok elektrik dipromosikan sebagai alat bantu untuk berhenti merokok dan otoritas kesehatan juga sangat merekomendasikannya untuk tujuan tersebut, penggunaan utamanya adalah rekreasi di kalangan sebagian besar pengguna, terutama kaum muda. Penggunaan ini didorong oleh ketersediaan berbagai rasa dan adanya kandungan nikotin yang mengakibatkan kecanduan (Feng *et al.*, 2023). Namun menurut penelitian (Seiler *et al.*, 2019), menemukan bahwa sebagian besar produk rokok elektrik mengandung zat yang berpotensi menjadi racun, partikel ultrahalus, dan karsinogen juga ditemukan dalam solusi dan emisi rokok elektrik, banyak di antaranya diketahui menyebabkan dampak buruk terhadap Kesehatan. Saat ini penelitian tentang bahaya rokok elektrik terkait dampak-dampak yang bisa terjadi di sistem saraf pusat sangat terbatas. Bahkan belum yang melihat secara mendalam. Sampai saat ini, belum ada bukti konklusif yang menghubungkan penggunaan rokok elektrik terhadap Kesehatan otak. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan efek rokok elektrik dan rokok konvensional kadar BDNF serta gambaran histopatologi otak pada mencit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana efek paparan asap rokok elektrik terhadap hispatologi terhadap otak ?
2. Bagaimana efek paparan asap rokok konvensional terhadap hispatologi terhadap otak ?
3. Bagaimana pengaruh paparan asap rokok elektrik terhadap kadar BDNF pada otak?



Bagaimana pengaruh paparan asap rokok konvensional terhadap kadar BDNF pada otak?

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek paparan asap rokok konvensional dan rokok elektrik terhadap kerusakan otak dengan

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek paparan asap rokok konvensional dan rokok elektrik terhadap kerusakan otak dengan

mengukur kadar BDNF pada otak dan gambaran histopatologi otak pada tikus Wistar jantan

- 2) Tujuan khusus
 - a) Untuk mengetahui perbandingan kadar BDNF pada tikus Wistar jantan setelah terpapar asap rokok elektrik
 - b) Untuk mengetahui perbandingan kadar BDNF pada tikus Wistar jantan setelah terpapar asap rokok konvensional
 - c) Untuk mengetahui gambaran histopatologi otak pada tikus Wistar jantan setelah terpapar asap rokok elektrik
 - d) Untuk mengetahui gambaran histopatologi otak pada tikus Wistar jantan setelah terpapar asap rokok konvensional

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi Instansi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan yang lebih mendalam kepada instansi kesehatan masyarakat, termasuk lembaga pemerintah dan organisasi kesehatan, mengenai dampak paparan asap rokok elektrik dan rokok konvensional terhadap kesehatan tubuh, khususnya pada gambaran histopatologi dan kadar BDNF. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat menjadi dasar untuk mengembangkan kebijakan dan program-program pencegahan dan pengendalian tembakau yang lebih efektif. Selain itu, instansi kesehatan juga dapat menggunakan temuan penelitian ini dalam upaya penyuluhan dan advokasi kepada masyarakat untuk meningkatkan kesadaran akan bahaya merokok dan mendorong perilaku hidup sehat.

2. Manfaat bagi Keilmuan

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi signifikan terhadap pemahaman ilmiah tentang dampak paparan asap rokok, baik rokok elektrik maupun konvensional, terhadap kesehatan manusia, terutama pada gambaran histopatologi dan perubahan kadar BDNF. Temuan ini diharapkan dapat membuka wawasan baru dalam bidang kedokteran, patologi, dan toksikologi, serta memberikan landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme biologis efek toksik asap rokok pada tubuh manusia. Selain itu, penelitian ini juga dapat memperkuat pemahaman tentang pengaruh rokok terhadap kesehatan otak, yang dapat menjadi dasar untuk pengembangan strategi intervensi dan penanganan yang lebih efektif.



Manfaat bagi Peneliti Kedepan

Manfaat bagi peneliti kedepan dari penelitian ini adalah sebagai dasar yang kuat untuk penelitian lanjutan mengenai dampak paparan rokok terhadap kesehatan, terutama dalam hal gambaran histopatologi dan perubahan kadar BDNF. Temuan dan metodologi yang diperoleh dapat menjadi landasan bagi penelitian-penelitian mendatang

dalam mengembangkan strategi intervensi yang lebih efektif terhadap dampak merokok pada kesehatan masyarakat.

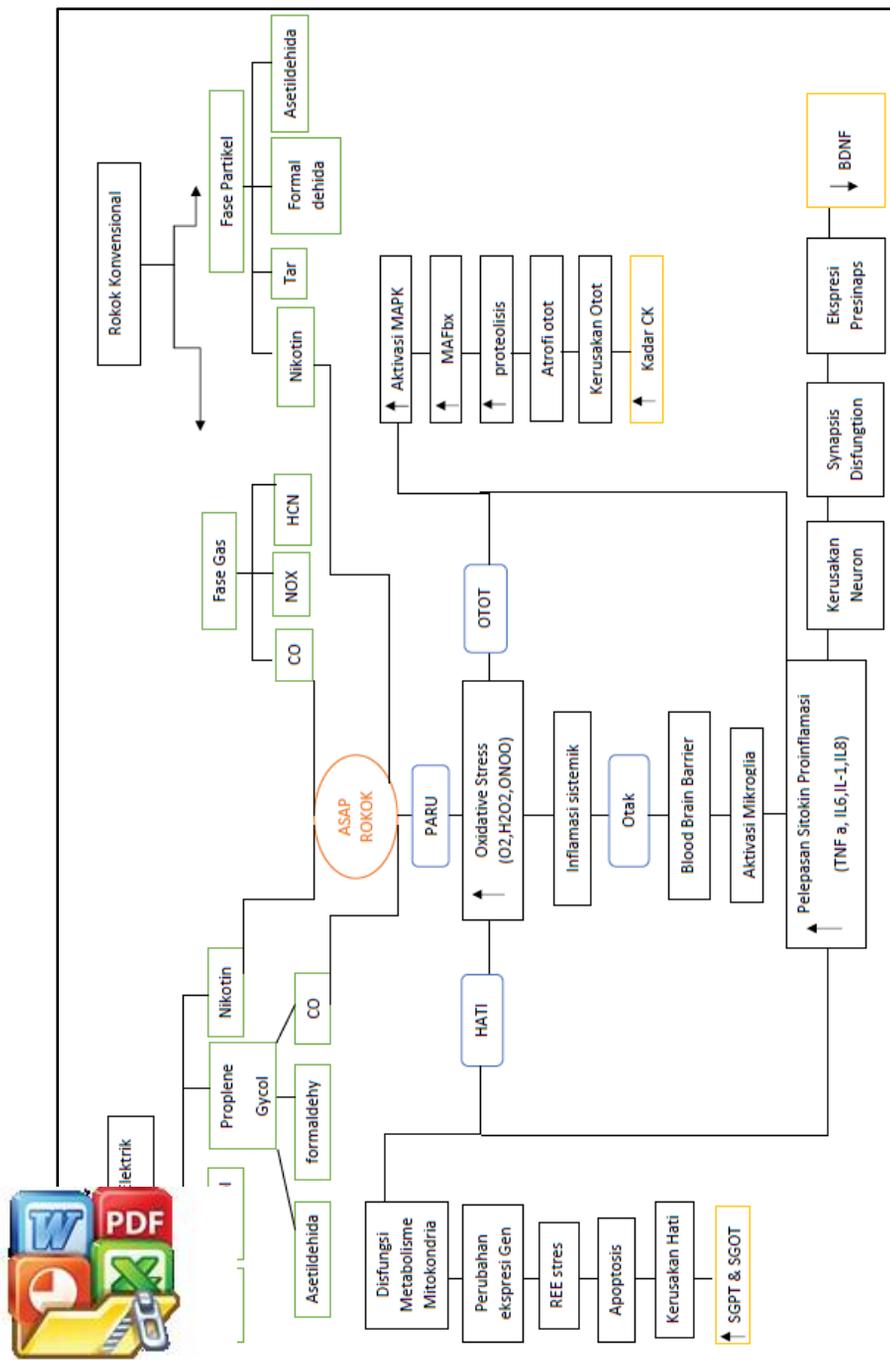
1.5 Novelty Penelitian

Beberapa teori pendukung dalam penelitian ini yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya, yaitu:

1. Penelitian Moshensky et al., (2022) yang berjudul "*The Toxic Effects of Electronic Cigarette Aerosol and Cigarette Smoke on the Cardiovascular, Gastrointestinal, and Renal Systems in Mice*". Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi dampak rokok elektrik terhadap kerusakan jaringan otak, paru-paru, dan organ lainnya, serta perubahan respons inflamasi yang terjadi. Persamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh penulis adalah sama-sama meneliti tentang rokok elektrik dengan fokus pada kerusakan organ, khususnya otak. Nilai kebaruan dari penelitian penulis adalah membandingkan dampak rokok elektrik dan rokok konvensional terhadap kerusakan jaringan otak.
2. Penelitian Oyem et al., (2018) yang berjudul "*Histomorphological Effects of Nicotine on Selected Parts of the Brain of Adult Wistar Rats*". Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek histopatologi dari nikotin pada struktur otak, khususnya pada jumlah sel neuron di berbagai bagian otak seperti cerebellum dan substantia nigra, serta untuk memahami perubahan yang terjadi akibat paparan nikotin dalam jangka waktu tertentu dan dosis yang berbeda. Persamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh penulis adalah sama-sama ingin melihat gambaran histopatologi organ yang terpapar bahan yang berpotensi merusak. Nilai kebaruan dari penelitian ini adalah melihat gambaran histopatologi otak akibat paparan rokok elektrik dan rokok konvensional, serta membandingkan tingkat kerusakan yang terjadi.



1.6 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

1.7 Kerangka Konsep



KETERANGAN



Variabel Independen



Variabel Dependen



Variabel Kontrol



1.8 Hipotesis Penelitian

H_0 : efek asap rokok konvensional dan rokok elektrik memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kerusakan otak (efek yang berbeda)

H_1 : efek asap rokok konvensional dan rokok elektrik tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kerusakan otak (efek yang hampir sama)

1.9 Definisi Operasional Dan Kriteria Objektif

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Kriteria Objektif	Skala
Variabel Independen			
Asap rokok konvensional	Asap rokok konvensional adalah asap yang dihasilkan dari pembakaran olahan tembakau dengan komponen utama nikotin dan tar. Jenis rokok yang digunakan adalah Djarum Super 12 dengan kandungan nikotin 1,8 mg dan tar 32 mg per batang.	Pemberian paparan asap rokok konvensional pada kelompok perlakuan V di dalam sebuah <i>smoking box</i> dengan dosis 1 batang rokok / tikus / hari selama 30 hari.	Rasio
Asap rokok elektrik	Asap rokok elektrik adalah hasil proses penguapan liquid oleh kawat listrik yang dipanaskan dalam rokok elektrik. Jenis rokok elektrik yang akan digunakan adalah Argus Pro dan liquid foam varian <i>fresh cola</i> dengan kandungan nikotin 1 mg/ml.	Pemberian paparan asap rokok elektrik pada kelompok perlakuan E di dalam sebuah <i>smoking box</i> dengan dosis liquid 1,8 ml / tikus / hari selama 30 hari.	Rasio
Variabel Dependen			
Kadar BDNF	BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) adalah protein yang mendukung kelangsungan hidup neuron, plastisitas sinaptik di otak. pengukuran kadar BDNF dapat dilakukan melalui jaringan otak menggunakan metode zyme-Linked immunosorbent Assay (ELISA).	Kadar dihitung dalam satu ng/mg . Referensi interval kadar CK normal pada tikus adalah 1–20 ng/mg protein	Nominal
	stomatologi otot sekeletal tu untuk gambaran untuk lihat stuktur jaringan otot	Analisis dilakukan menggunakan software ImageJ	Nominal



	<p>gastrocnemius sinistra tikus wistar jantan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x dan metode pewarnaan HE</p>	<p>pada pembesaran 40x. Gambar histologi dibagi menjadi 88 kotak kecil. Setiap kotak yang menunjukkan kerusakan jaringan diberi nilai 1. Persentase kerusakan dihitung menggunakan rumus berikut:</p> <p>Persentase Kerusakan = (jumlah kotak rusak / total kotak) × 100%</p>	
--	--	--	--





Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group*. Post test untuk melihat perbedaan kadar enzim CK di dalam darah dan gambaran histopatologi sel otot skeletal pada hewan coba. Hewan coba akan dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan. Pada kelompok kontrol tidak diberikan pemaparan asap rokok konvensional maupun rokok elektrik, sedangkan kedua kelompok lainnya masing-masing diberikan perlakuan berupa pemaparan rokok konvensional dan rokok elektrik.

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei hingga Juni 2024 Tempat Pelaksanaan Penelitian ini meliputi di Laboratorium Farmakologi Toksikologi Lantai 3 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin untuk melakukan perawatan dan Lantai 6 HUMRC untuk melakukan intervensi dan analisis uji kadar BDNF mencit menggunakan teknik uji ELISA. Serta di *Veterary Medicine Hasanuddin University* untuk melihat gambaran histopatologi otak mencit.

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Penelitian ini menggunakan populasi dari tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*)

2. Sampel

Penetapan sampel didasarkan pada teknik *simple random sampling* yaitu pengambilan sampel dengan cara acak. Adapun kelompok sampel yaitu :

- K : Kelompok kontrol yang tidak diberikan pemaparan asap rokok
- V : Kelompok yang diberikan pemaparan asap rokok konvensional
- E : Kelompok yang diberikan pemaparan asap rokok elektrik

a. Jumlah Sampel

Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rumus Federer} = (n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :
n = besar sampel setiap kelompok
t = jumlah kelompok

Rumus Federer, banyaknya sampel yang diperlukan :

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

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

$$n-1 \geq 15 / 2$$

$$n-1 \geq 7.5$$

$$n \geq 8.5 \text{ menjadi } n \geq 8$$

$$\text{Besar sampel} = t \times n$$



$$= 3 \times 8$$

$$= 24$$

Jumlah sampel yang digunakan harus lebih besar atau sama dengan 8 ekor tiap kelompok. Hal ini dilakukan untuk memudahkan peneliti dalam perhitungan analisis data. Sehingga jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus.

- b. Kriteria Inklusi
 - 1) Tikus Wistar jantan
 - 2) Umur 6-8 minggu
 - 3) Berat badan 90-150 gram
 - 4) Tikus dalam keadaan sehat
- c. Kriteria Eksklusi
 - 1) Tikus yang terinfeksi penyakit tertentu
 - 2) Tikus yang stress saat perlakuan
- d. Kriteria *Drop Out*
 - 1) Tikus yang mati saat pemeliharaan
 - 2) sampel darah kurang atau rusak

2.4 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat :

- a) Smoking box
- b) Kandang mencit
- c) Tempat pakan mencit
- d) Botol Minum Mencit

2. Bahan

- a) Rokok Konvensional
- b) Rokok Elektrik
- c) Pakan mencit
- d) Air Minum Mencit
- e) Sekam Mencit
- f) Parafin
- g) Hematoxylin eosin (HE)
- h) Alkohol bertingkat
- i) Formalin 10%

3. Uji *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

- a) Microplate
- b) Mikropipet
 - tube
 - a Reader
 - ropipet single & tip
 - ropipet Multichannel 20-200 μ l
 - ibator
 - trifugasi
 - ung Ependof



- j) Vortex
- k) Timbangan analitik
- l) Refrigerator
- m) Cool Box

2.5 Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a) Melakukan permohonan persetujuan etik penelitian menggunakan subyek binatang di Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
- b) Setelah mendapat persetujuan etik, mengajukan surat izin penelitian di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
- c) Setelah izin disetujui, tikus akan ditempatkan di dalam kandang dan ruangan pemeliharaan
- d) Semua tikus akan diadaptasikan dengan lingkungan baru selama 7 hari dalam kandang standar yang steril dengan akses bebas terhadap makanan dan minuman. Jumlah tikus dalam satu kandang adalah 4 ekor. Adaptasi asap rokok juga dilakukan selama 3 hari.
- e) Tikus dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol yang tidak diberikan pemaparan asap rokok konvensional maupun rokok elektrik, sedangkan kedua kelompok lainnya masing-masing diberikan perlakuan berupa pemaparan rokok konvensional dan rokok elektrik. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus.
- f) Sebelum memulai perlakuan, semua tikus diukur berat badan dan panjang badan. Pengukuran juga dilakukan pada minggu ke 4.

2. Tahap Perlakuan

- a) Kelompok kontrol (K) : tikus hanya diberi akses bebas terhadap makanan dan minuman di dalam kandang ruangan pemeliharaan.
- b) Kelompok rokok konvensional (V) : tikus diberi akses bebas terhadap makanan dan minuman serta dipapari asap rokok konvensional merek Djarum Super 12 dengan kandungan nikotin 1,8 mg dan tar 32 mg per batang. Setiap tikus akan dipapari 1 batang rokok per hari selama 30 hari di dalam sebuah *smoking box* dengan durasi pemaparan sekitar 20-25 menit.
- c) Kelompok rokok elektrik (E) : tikus diberi akses bebas terhadap makanan dan minuman serta dipapari asap rokok elektrik jenis Argus pro, liquid foam varian fresh cola dengan kandungan nikotin 1 mg/ml.

is akan dipapari liquid 1,8 ml per hari selama 30 hari di dalam *smoking box* dengan durasi pemaparan sekitar 30-35 menit.

rasi Sampel

tikus dibius menggunakan eter yang dituang pada kapas lalu an ke dalam toples besar sekitar 30-60 detik



- b) Darah tikus diambil melalui vena orbitalis bagian mata menggunakan tabung mikrokapiler. Darah ditampung dalam tabung vaculab merah sebanyak 3-4 ml.
- c) Setelah mendapatkan darah yang cukup maka dilanjutkan dengan proses sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan serum sebagai sampel pemeriksaan
- d) Kemudian, serum akan dipindahkan ke tabung ependorff menggunakan mikropipet dan tip biru lalu dibawa ke laboratorium pemeriksaan
- e) Ketika tikus sudah mati, dilakukan pembedahan bagian kaki untuk mengambil jaringan otot gastrocnemius kiri dan bagian thoraks untuk mengambil jaringan otot pectoralis mayor kiri
- f) Jaringan otot dicuci menggunakan NaCl 0,9% lalu, jaringan direndam menggunakan formalin 10% di dalam pot sampel
- g) Setelah itu, sampel dibawa ke laboratorium untuk melihat gambaran histologi

4. Tahap Pemeriksaan Histopatologi Jaringan Otak

Pada uji histologi, preparat jaringan disiapkan sesuai dengan standar operasional prosedur menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Pewarnaan ini memberikan warna merah muda pada sitoplasma dan biru tua pada inti sel, sehingga mempermudah pengamatan struktur seluler. Dalam penelitian ini, pengamatan difokuskan pada area prefrontal otak, yang diketahui memiliki peran penting dalam fungsi kognitif dan emosional.

5. Pemeriksaan Kadar BDNF dengan Uji *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

- a) Semua reagen, larutan standar, dan sampel dipersiapkan sesuai dengan petunjuk yang berlaku. Reagen dibiarkan mencapai suhu ruang sebelum digunakan, dan pengujian dilakukan pada suhu ruang.
- b) Jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian ditentukan, kemudian strip tersebut dimasukkan ke dalam bingkai yang sesuai. Strip yang tidak digunakan disimpan pada suhu 2-8°C.
- c) Sebanyak 50 µl larutan standar ditambahkan ke dalam well standar. Biotinilasi antibodi tidak ditambahkan ke dalam well standar karena larutan standar sudah mengandung antibodi biotinilasi.
- d) Sebanyak 40 µl sampel ditambahkan ke dalam masing-masing well sampel, diikuti dengan 10 µl antibodi anti-BDNF.
- e) Sebanyak 50 µl streptavidin-HRP ditambahkan ke dalam well sampel dan well standar (kecuali well kontrol kosong). Setelah semua bahan siap, pelat ditutup dengan segel dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C.

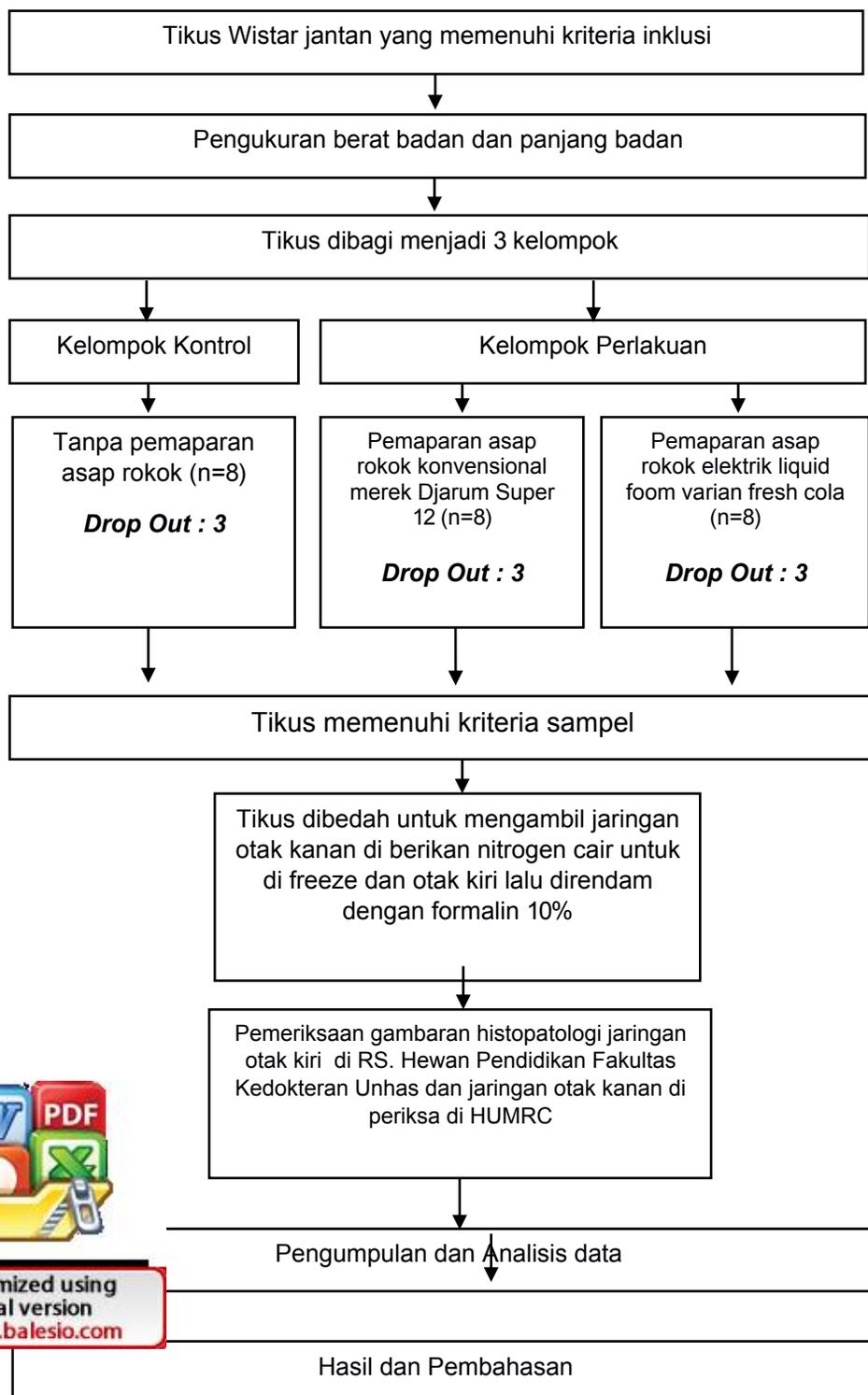


Setelah diinkubasi selesai, segel dilepaskan dan pelat dicuci sebanyak 5 kali menggunakan larutan pencuci. Setiap well direndam dengan larutan pencuci selama 30 detik hingga 1 menit per siklus. Pelat kemudian dikeringkan menggunakan tisu atau bahan lainnya.

- g) Sebanyak 50 μ l larutan substrat A ditambahkan ke dalam masing-masing well, diikuti dengan 50 μ l larutan substrat B. Pelat ditutup kembali dengan segel baru dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam kondisi gelap.
- h) Setelah inkubasi selesai, 50 μ l larutan penghenti ditambahkan ke dalam setiap well. Penambahan larutan penghenti menyebabkan perubahan warna dari biru menjadi kuning secara instan.
- i) Kepadatan optik (OD) dari masing-masing well diukur menggunakan pembaca mikroplate (microplate reader) yang telah diatur pada panjang gelombang 450 nm. Pengukuran dilakukan dalam waktu 10 menit setelah penambahan larutan penghenti.



2.6 Alur Penelitian



2.7 Etika Penelitian

Penelitian akan dilakukan setelah mendapatkan kelayakan etik (*Ethical clearance*) dan persetujuan etik (*exempted*) pada Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan nomor protocol (573/UN4.6.4.5.31/PP36/2024).

2.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 25.0 untuk Windows dengan beberapa tahapan. Pertama, analisis frekuensi dilakukan untuk berat badan dan panjang badan guna menghasilkan distribusi frekuensi dan persentase data, yang disajikan dalam bentuk mean, standar deviasi, nilai minimum, dan maksimum sebagai karakteristik sampel penelitian. Kedua, uji normalitas kadar BDNF dilakukan menggunakan analisis Shapiro-Wilk karena jumlah sampel ≤ 50 , untuk menentukan apakah data berdistribusi normal ($p > 0,05$). Data yang berdistribusi normal dianalisis menggunakan uji parametrik, sedangkan data yang tidak normal dianalisis secara non-parametrik. Hasil uji menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$). Ketiga, uji parametrik dilakukan dengan One-Way ANOVA Welch untuk membandingkan data numerik yang tidak berpasangan, lebih dari dua kelompok, dengan satu kali pengukuran yaitu post-test, dan variansi yang berbeda. Terakhir, analisis post hoc menggunakan metode TUKEY dilakukan untuk mengetahui perbedaan rerata kadar BDNF dan interval kepercayaan 95% antar kelompok.

