

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus putih *Sprague Dawley* yang belum pernah mendapat perlakuan, usia 4-5 bulan, sehat, siap kawin dan bunting. Tikus dipelihara dengan pemberian makanan berupa pelet AD2 dan minuman dengan air. Pencahayaan diberikan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Temperatur tempat pemeliharaan tikus dibiarkan alami sesuai suhu ruangan. Tikus akan dieksklusi jika mengalami sakit selama penelitian.

Tikus betina dikawinkan dengan pejantan dan dicatat hari kebuntingannya. Induk tikus yang bunting dibagi menjadi 4 kelompok. 2 kelompok tikus diinduksi hipotiroid dengan diberi *prophylthiourasil* (PTU) dan 2 kelompok normal atau tanpa induksi hipotiroid. Pemberian PTU dilakukan sejak hari ke 15 kebuntingan hingga hari ke 21 laktasi sejumlah 0,025 %. Pemberian PTU ini dilakukan dengan cara dicampurkan ke dalam air minum tikus.

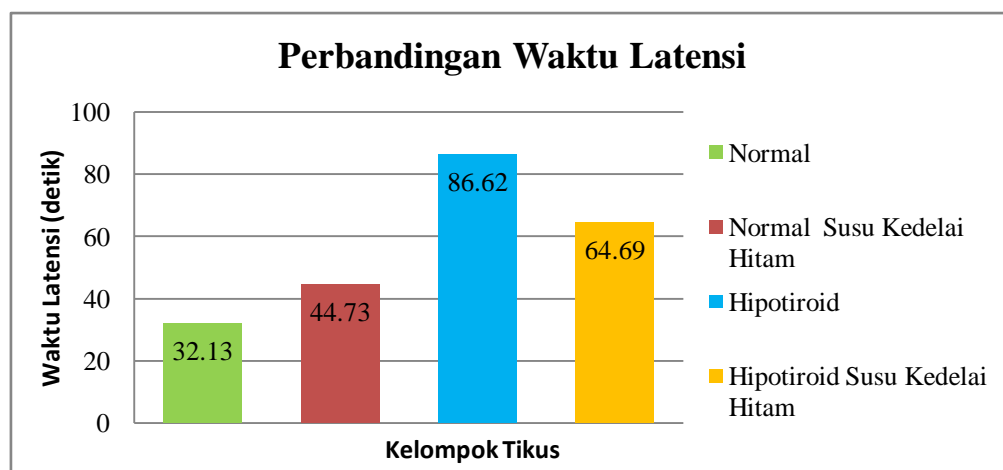
Penelitian ini menggunakan 28 ekor anak tikus dari induk yang telah diberi perlakuan sesuai kelompok. Terdapat perbedaan waktu dan iklim saat kelahiran anak-anak tikus. 28 ekor anak tikus ini terbagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok tikus normal, kelompok tikus normal diberi susu kedelai hitam, kelompok tikus hipotiroid, dan kelompok tikus hipotiroid diberi susu kedelai

hitam. Memori spasial tikus diukur dengan menggunakan metode *Morris Water Maze*. Rata-rata waktu yang dicapai tikus pada *Morris Water Maze* dapat dilihat pada tabel 1 dan 2

Tabel 4. 1. Rerata Waktu Latensi Pembelajaran

No.	Kelompok Tikus	n	Waktu Latensi \pm SD (detik)
1	Tikus Normal	7	32,13 \pm 7,96 ^a
2	Tikus Normal Diberi Susu Kedelai Hitam	7	44,73 \pm 25,80 ^{ac}
3	Tikus Hipotiroid	7	86,62 \pm 8,17 ^b
4	Tikus Hipotiroid Diberi Susu Kedelai Hitam	7	64,69 \pm 23,89 ^c
<i>Significancy Kruskal-Wallis</i>			<i>p = 0,001</i>

Keterangan: Pangkat huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p \leq 0,05$).



Gambar 4. Histogram Perbandingan Waktu Latensi Pembelajaran.

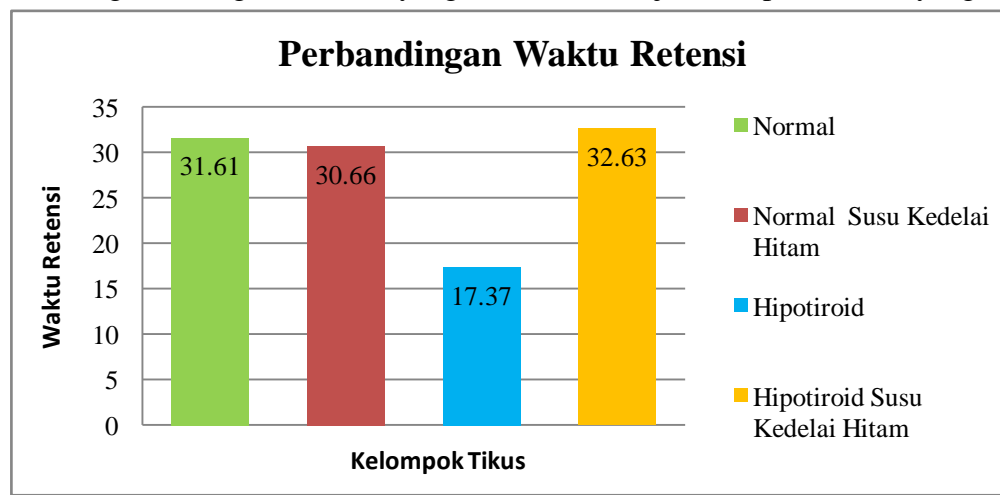
Rerata waktu latensi tikus dapat menemukan *platform* paling kecil ditemukan pada kelompok tikus normal dan paling besar pada tikus hipotiroid ($p < 0,05$). Kelompok tikus hipotiroid diberi susu kedelai hitam dan kelompok normal diberi susu kedelai hitam memperoleh rerata waktu latensi yang lebih kecil sehingga membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk menemukan *platform* dibandingkan kelompok tikus hipotiroid ($p < 0,05$). Rerata waktu latensi kelompok tikus hipotiroid yang diberi susu kedelai hitam menunjukkan bahwa tikus telah dapat menemukan *platform* kurang dari 90 detik, sedangkan kelompok hipotiroid masih mengalami kesulitan dalam menemukan *platform*.

Tabel 4. 2. Rerata Waktu Retensi Memori

No.	Kelompok Tikus	n	Waktu Retensi \pm SD (detik)	Persentase
1	Tikus Normal	7	31,61 \pm 8,91 ^a	35,12 %
2	Tikus Normal Diberi Susu Kedelai Hitam	7	30,66 \pm 8,97 ^a	34,07 %
3	Tikus Hipotiroid	7	17,37 \pm 6,09 ^b	19,3 %
4	Tikus Hipotiroid Diberi Susu Kedelai Hitam	7	32,63 \pm 3,90 ^a	36,26 %

Significancy Annova $p = 0,002$

Keterangan: Pangkat huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak



signifikan ($p \leq 0,05$).

Gambar 5. Histogram Perbandingan Waktu Retensi Memori

Rerata waktu tikus dapat bertahan di dalam kuadran *platform* paling kecil ditemukan pada kelompok tikus hipotiroid dan paling besar pada tikus hipotiroid diberi susu kedelai hitam ($p < 0,05$). Kelompok tikus normal dan kelompok tikus normal diberi susu kedelai hitam memiliki rerata waktu dan prestase lebih besar sehingga berada di kuadran *platform* lebih lama dari kelompok tikus hipotiroid ($p < 0,05$). Rerata waktu kelompok tikus hipotiroid yang diberi susu kedelai mampu menyamai kelompok normal dan kelompok tikus normal susu kedelai hitam ($p > 0,05$). Kelompok tikus normal susu kedelai hitam tidak mengalami peningkatan waktu yang signifikan jika dibandingkan dengan tikus normal ($p > 0,05$).

B. Pembahasan

Waktu latensi menunjukkan waktu yang diperoleh tikus selama pembelajaran. Diperoleh rerata waktu latensi paling besar pada kelompok tikus hipotiroid dengan rata-rata $86,62 \pm 8,17$ detik. Waktu paling kecil ditemukan pada kelompok tikus normal dengan rerata $32,63 \pm 3,90$ detik ($p < 0,05$). Rerata waktu kelompok tikus normal diberi susu kedelai hitam $44,73 \pm 25,80$ detik. Rerata waktu ini lebih baik dari kelompok tikus hipotiroid diberi susu kedelai dengan rerata waktu $64,69 \pm 23,89$ detik.

Rerata waktu retensi paling kecil ditemukan pada kelompok dengan perlakuan hipotiroid dengan rata-rata $17,37 \pm 6,09$ detik. Rerata waktu paling besar ditemukan pada kelompok hipotiroid dengan pemberian susu kedelai hitam dengan rata-rata $32,63 \pm 3,90$ detik ($p < 0,05$). Kelompok tikus hipotiroid susu kedelai hitam ini telah mampu menyamai rerata waktu kelompok tikus normal yang memiliki rerata waktu $31,61 \pm 8,91$ detik dan kelompok tikus normal yang diberi susu kedelai hitam dengan rerata waktu $30,66 \pm 8,97$ detik ($p > 0,05$). Rerata waktu retensi pada kelompok tikus normal dan tikus normal diberi susu kedelai hitam tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian susu kedelai hitam dapat meningkatkan memori spasial pada tikus hipotiroid kongenital. Hal ini dapat dikaji dari hasil penelitian dan dikaitkan dengan beberapa penelitian sebelumnya.

Kelompok tikus normal tidak mendapat perlakuan hipotiroid sehingga tidak terdapat gangguan pada hipokampusnya. Pertumbuhan dan perkembangan otaknya juga normal sehingga memori dan daya ingat tikus ini dalam keadaan baik. Kelompok ini mendapatkan nutrisi dari makanan dan minuman yang cukup sehingga nutrisinya terpenuhi selama masa kehamilan sampai waktu pengujian memori spasial.

Nutrisi secara jelas berperan langsung dalam neurobiologi sistem saraf pusat termasuk area hipokampus yang terlibat dalam proses pembelajaran dan

memori yaitu pada konstruksi peta spasial kognitif terhadap lingkungan sekitar (memori spasial). Peta ini mampu membuat hewan mengidentifikasi perbedaan tempat dan situasi. Jika terjadi gangguan pada area hipokampus yang diakibatkan kekurangan nutrisi, maka dapat berdampak pada memori spasial. Penelitian lain menunjukkan bahwa malnutrisi pada awal kehidupan menyebabkan penurunan progenitor neural hipokampus dan juga defisit terhadap pengenalan obyek saat dewasa (Yunanto, 2014).

Tikus normal yang saat latihan terbiasa dan ingat dengan pijakan di *platform* akan mencari *platform* yang telah diambil sebelum tes dilakukan. Tikus normal berenang di dalam dan di sekitar kuadran target untuk menemukan *platform*. Rerata waktu yang dibutuhkan tikus normal di dalam kuadran target lebih lama yaitu $31,61 \pm 8,91$ detik jika dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan tikus hipotiroid dengan rata-rata $17,37 \pm 6,09$ detik. Rerata waktu ini menunjukkan memori spasial tikus normal lebih baik dari tikus hipotiroid.

Tikus normal yang diberi susu kedelai hitam memiliki rerata waktu yang tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok normal. Penelitian yang dilakukan oleh Rendeiro *et al.* (2013) menunjukkan bahwa antosianin murni dengan kadar $179,0 \mu\text{g}$ dan flavonol $59,3 \mu\text{g}$ yang diekstrak dari *blueberry* diberikan pada tikus normal selama 6 minggu terbukti signifikan meningkatkan memori spasial. Penelitian yang dilakukan Shinomiya *et al.* (2005) menunjukkan bahwa pemberian 5 % ekstrak kulit biji kedelai hitam dari makanan bisa

meningkatkan memori tikus secara signifikan pada pada hari ke 30. Tapi setelah hari ke 35 pemberian, perbandingan memori pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi ekstrak kedelai hitam menjadi tidak signifikan lagi. Hal ini menunjukkan bahwa pada rentan waktu tertentu kedua kelompok tikus telah belajar untuk mengingat target yang dituju sehingga perbandingan memori tikus kelompok normal dan kelompok normal diberi ekstrak kedelai hitam menjadi tidak signifikan.

Tikus normal yang diberi susu kedelai hitam ini memiliki perbedaan rerata waktu yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok hipotiroid. Nutrisi yang optimal serta pemberian susu kedelai hitam akan memberikan dampak baik pada pertumbuhan dan perkembangan otak sehingga memori spasial pada tikus normal yang diberi susu kedelai hitam ini lebih tinggi.

Tikus hipotiroid tanpa pemberian susu kedelai memiliki rerata waktu tes memori spasial paling kecil dibanding kelompok lain. Penurunan memori pada tikus disebabkan karena pemberian PTU pada masa gestasi hingga laktasi sehingga tikus menjadi hipotiroid kongenital. Penelitian yang dilakukan kepada hewan uji tikus menunjukkan bahwa pemberian *Propylthiouracil* (PTU) menyebabkan tikus menjadi hipotiroid. PTU menghambat organifikasi iodium sehingga mencegah sintesis hormon tiroid. Obat PTU ini juga menghambat penggabungan iodotirosin dan menghambat deiodinasi T4 dan T3 di perifer. Hal ini sesuai dengan penelitian Hapon *et al.* (2003) menyatakan bahwa intervensi

PTU 0,1 g/L selama satu bulan dapat menjadikan tikus sudah hipotiroid (Sukandar, 2014). Penelitian Hardianto (2015) membuktikan pemberian PTU dosis 0,025 % dari hari ke 15 kebuntingan sampai hari ke 21 kelahiran tikus bisa membuat anak-anak tikus menjadi hipotiroid kongenital. Penelitian ini anak-anak tikus usia 3 minggu diukur kadar ft4 serumnya dan didapatkan hasil rerata $0,08 \pm 0,16$ ng/dl.

Pengujian dengan *Morris Water Maze* menunjukkan bahwa tikus kelompok hipotiroid ini masih kesulitan dalam menemukan *platform*. Tikus berenang mengelilingi kolam dan sering menjauh dari kuadran target. Saat pengukuran waktu latensi, kelompok tikus hipotiroid ini menunjukkan waktu yang lebih lama dalam menemukan *platform* dibandingkan dengan kelompok tikus normal yang menandakan telah terjadi penurunan memori. Setelah diukur lagi dengan probe tes hasilnya tetap terjadi penurunan memori. Waktu yang dibutuhkan tikus hipotiroid di dalam kuadran target lebih kecil dibanding waktu yang didapat dari kelompok lain ($p < 0,05$).

Hormon tiroid sangat penting peranannya pada bayi dan anak yang sedang tumbuh. Apabila hipotiroidisme pada janin atau bayi baru lahir tidak diobati, dapat menyebabkan kelainan intelektual dan atau fungsi neurologik yang menetap, ini menunjukkan betapa pentingnya peran hormon tiroid dalam kehidupan pada perkembangan otak (Brown, 2007).

Tikus hipotiroid yang diberi susu kedelai hitam mengalami perbaikan memori spasial karena pemberian susu kedelai hitam yang mengandung nutrisi untuk meningkatkan kemampuan memori otak, mencegah penyakit neurologis, serta memperbaiki defisit memori (Jeong *et al.*, 2014). Saat pengukuran waktu latensi, kelompok tikus hipotiroid yang diberi susu kedelai hitam memiliki rerata waktu yang lebih besar dibanding kelompok tikus normal ($p > 0,05$). Tapi setelah dilakukan tes probe didapatkan peningkatan memori spasial sehingga rerata waktu tikus hipotiroid diberi yang susu kedelai dapat menyamai waktu tikus normal ($p > 0,05$).

Kedelai hitam meningkatkan memori spasial melalui jalur *Brain-Derived Neurotropic Factor* (BDNF). BDNF adalah suatu neurotropin yang berperan dalam perkembangan sinap, plastisitas sinap, menginduksi neurogenesis dan fungsi kognitif (Hermanto, 2004). BDNF mempunyai peranan mengatur *cell survival* dan kematian sel yang terprogram (apoptosis) pada masa perkembangan otak. BDNF berperan pada fungsi fisiologis sistem saraf pusat, perkembangan maturasi korteks dan plastisitas sinaps. Flavonoid dan metabolitnya termasuk antosianin dan isoflavon yang terdapat dalam kedelai hitam dapat melewati sawar darah otak dan bisa menunjukkan aksi neurofarmakologikal di tingkat molekuler, yang mempengaruhi jalur sinyal, ekspresi gen dan fungsi protein. Antosianin murni yang diekstrak dari *blueberry* terbukti signifikan meningkatkan ekspresi mRNA BDNF pada hipokampus (Rendeiro *et al.*, 2013). Anak yang

mendapatkan asupan nutrisi yang cukup membuat pertumbuhan dan perkembangan otaknya menjadi baik. Kelompok tikus yang dibuat hipotiroid kongenital dan mengalami kegagalan dalam pertumbuhan dan perkembangan otaknya, menunjukkan peningkatan memori spasial setelah diberikan susu kedelai hitam.

Selain antosianin, kedelai hitam juga memiliki kandungan lain yang juga menjadi nutrisi bagi otak, yakni isoflavon sebagai fitoestrogen. Isoflavon menunjukkan efek estrogenesis, dapat berikatan dengan reseptor estrogen dan menginduksi produk spesifik dari gen yang merespon estrogen. Estrogen dapat memunculkan beberapa efek pada saraf otak. Estrogen memfasilitasi pembentukan aksonal, perbaikan neuronal, dan induksi neurogenesis dan mungkin juga mengurangi *Reactive Oxygen Species* (ROS) terkait kerusakan neuronal dan melindungi asam nukleat neuronal terhadap konsekuensi merugikan dari stres oksidatif (Dong *et al.*, 2013). Penurunan produksi hormon estrogen dalam tubuh dapat mengakibatkan penurunan kadar neurotransmitter yang berperan dalam fungsi ingatan yaitu asetilkolin, glutamat, *neurotrophic*, dan endorfin yang berada di otak (Proverawati 2010).

Kedelai hitam tergolong bahan pangan yang bersifat fungsional dan memiliki nilai gizi yang tinggi. Kandungan antosianin dan isoflavon yang tinggi dalam kedelai hitam membuatnya menjadi makanan yang sangat esensial bagi

fungsi otak. Ketersediaan kedelai hitam cukup melimpah dan harganya relatif murah dan mudah didapat di pasaran.