

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap jumlah sel makrofag pada ulkus traumatik tikus *sprague dawley* betina yang mengalami defisiensi estrogen. Kadar estrogen serum dalam darah tikus didapatkan dengan melakukan uji *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) yang diambil pada sampel darah tikus sebelum ovariektomi, hari ke-7 paska ovariektomi dan hari ke-47 paska pemberian ekstrak tepung tempe kedelai.

Tabel 1. Rata-rata konsentrasi estrogen darah hewan uji.

Kelompok	Rata-rata konsentrasi estrogen dalam darah (ng/L)		
	Hari ke-8 (sebelum ovx)	Hari ke-16 (7 hari paska ovx)	Hari ke-47 (30 hari paska pemberian ekstrak)
Kelompok 1	16.04	-	14.36
Kelompok 2	11.15	10.64	10.41
Kelompok 3	12.95	9.48	13.80
Kelompok 4	11.56	11.20	6.42
Kelompok 5	15.01	-	13.84

Keterangan:

Kelompok 1 : Tidak dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog, tanpa diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

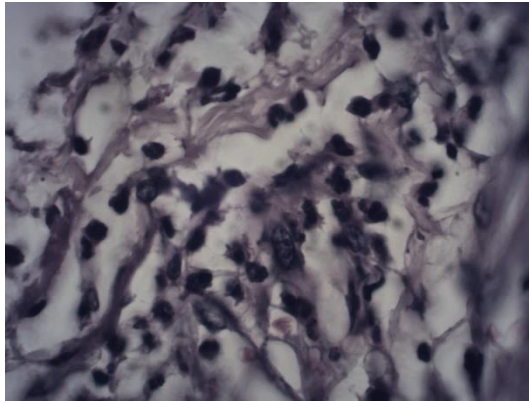
Kelompok 2 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog dan tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.

- Kelompok 3 : Dilakukan ovariectomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 4 : Dilakukan ovariectomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 5 : Hanya induksi ulkus traumatik.

Pada Tabel diatas, kelompok yang diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog (kelompok 1) pada hari ke-8 memiliki konsentrasi estrogen berjumlah 16.04 kemudian menurun menjadi 14.36 pada hari ke-47 (30 hari paska pemberian ekstrak kelompok 3). Kelompok yang diovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog (kelompok 2) pada hari ke-8 sebelum dilakukan ovariectomi. memiliki konsentrasi estrogen berjumlah 11.15 kemudian 7 hari paska ovariectomi konsentrasi estrogen menurun menjadi 10.64 dan pada hari ke-47 paska ovariectomi menurun menjadi 10.41. Kelompok yang di ovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai (kelompok 3) pada hari ke-8 sebelum ovariectomi konsentrasi estrogen nya berjumlah 12.95 lalu 7 hari paska ovariectomi mengalami penurunan menjadi 9.48 dan kembali meningkat menjadi 13.80 paska pemberian ekstrak selama 30 hari. Kelompok yang diovariectomi dan diinduksi ulkus traumatik, pada hari ke-7 sebelum ovariectomi konsesntrasi estrogen nya berjumlah 11.56 dan menurun menjadi 11.20 7 hari paska ovariectomi kemudian hari ke-47 paska ovariectomi semakin menurun menjadi 6.42. Kelompok yang hanya diinduksi ulkus traumatik, konsentrasi estrogen pada hari ke-7 berjumlah 15.01 dan menurun menjadi 13.84 pada hari ke-47.

Pengamatan dan perhitungan jumlah sel makrofag dilakukan pada hari ke-1, 3, 5 dan 7 paska ulkus traumatik secara mikroskopis dengan perbesaran 100x menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin* (HE) dengan 4 lapang pandang pada semua kelompok. Perhitungan jumlah sel makrofag pada 4 lapang pandang yang dilakukan didapatkan hasil rata-rata.

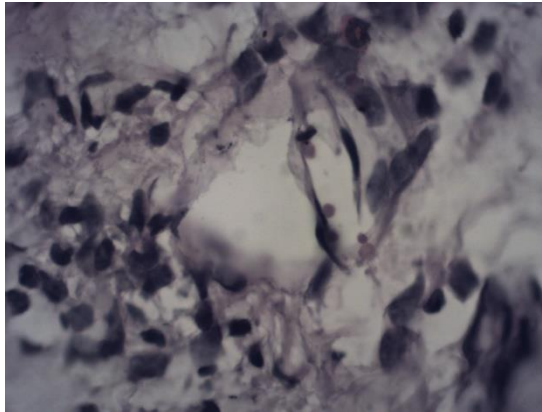
Kelompok 1
(Induksi ulkus traumatik dan diberi kenalog)



Gambar 3. Gambaran mikroskopis dengan perbesaran 100x menggunakan pewarnaan HE perlakuan pemberian kenalog pada ulkus traumatik tikus *sprague dawley* betina pada hari ke-7

Kelompok 2

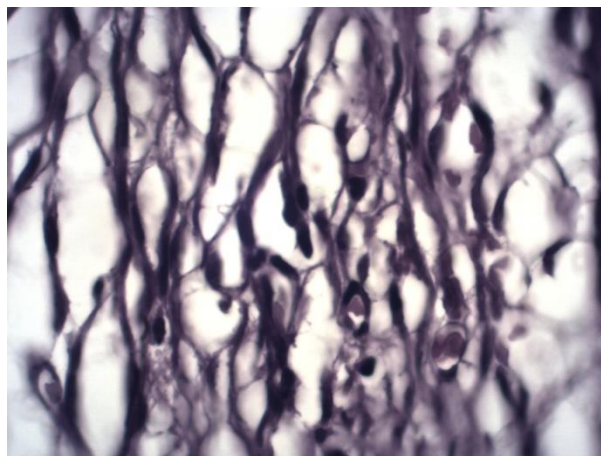
(kenalog in orabase pada ulkus traumatik tikus sprague dawley ovariektomi)



Gambar 4. Gambaran mikroskopis dengan perbesaran 100x menggunakan pewarnaan HE perlakuan pemberian kenalog pada ulkus traumatik tikus sprague dawley betina ovariektomi pada hari ke-7.

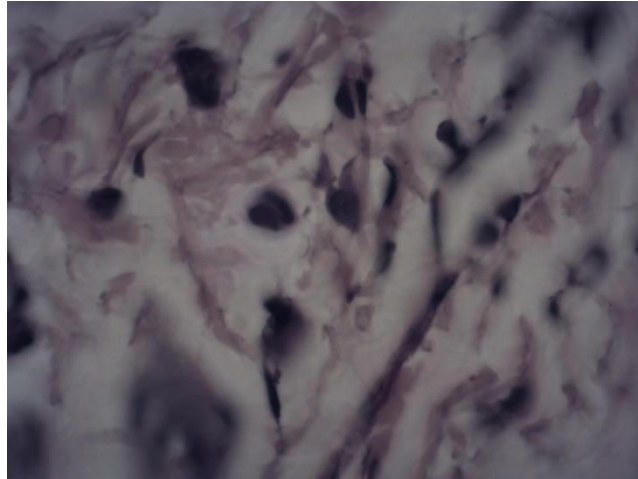
Kelompok 3

(Tikus sprague dawley betina ovariektomi yang diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai)



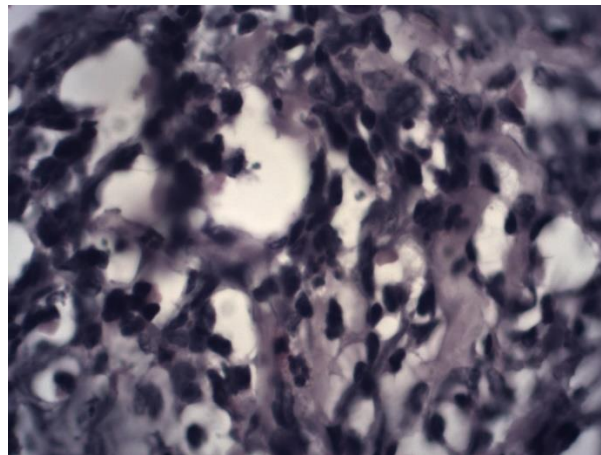
Gambar 5. Gambaran mikroskopis dengan perbesaran 100x menggunakan pewarnaan HE perlakuan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 pada tikus sprague dawley betina yang diinduksi ulkus traumatik hari pada hari ke-7.

Kelompok 4
(ovariektomi)



Gambar 6. Gambaran mikroskopis dengan perbesaran 100x menggunakan pewarnaan HE perlakuan ulkus traumatik tikus sprague dawley betina ovariektomi hari ke-7.

Kelompok 5
(Ulkus traumatik)



Gambar 7. Gambaran mikroskopis dengan perbesaran 100x menggunakan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan yang hanya diinduksi ulkus traumatik pada tikus sprague dawley betina hari ke-7.

Tabel 2. Rata-rata jumlah sel makrofag hari ke-1, 3 5 dan 7 pada semua kelompok.

Perlakuan	Hari Dekapitulasi	L.P 1	L.P 2	L.P 3	L.P 4	Rata-rata
Kelompok 1	1	0	0	0	1	0,25
	3	0	0	0	1	0,25
	5	1	2	1	1	1,25
	7	3	1	1	0	1,25
Kelompok 2	1	1	0	0	0	0,25
	3	1	0	0	0	0,25
	5	0	1	0	0	0,25
	7	1	2	1	0	1
Kelompok 3	1	1	1	1	3	1,50
	3	0	0	0	1	0,25
	5	0	0	1	0	0,25
	7	1	0	2	1	1
Kelompok 4	1	0	0	0	1	0,25
	3	0	1	0	0	0,25
	5	1	1	0	1	0,75
	7	1	2	1	2	1,50
Kelompok 5	1	1	1	0	0	0,50
	3	0	0	1	0	0,25
	5	0	0	1	1	0,50
	7	0	1	1	1	0,75

Keterangan:

Kelompok 1 : Tidak dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog, tanpa diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

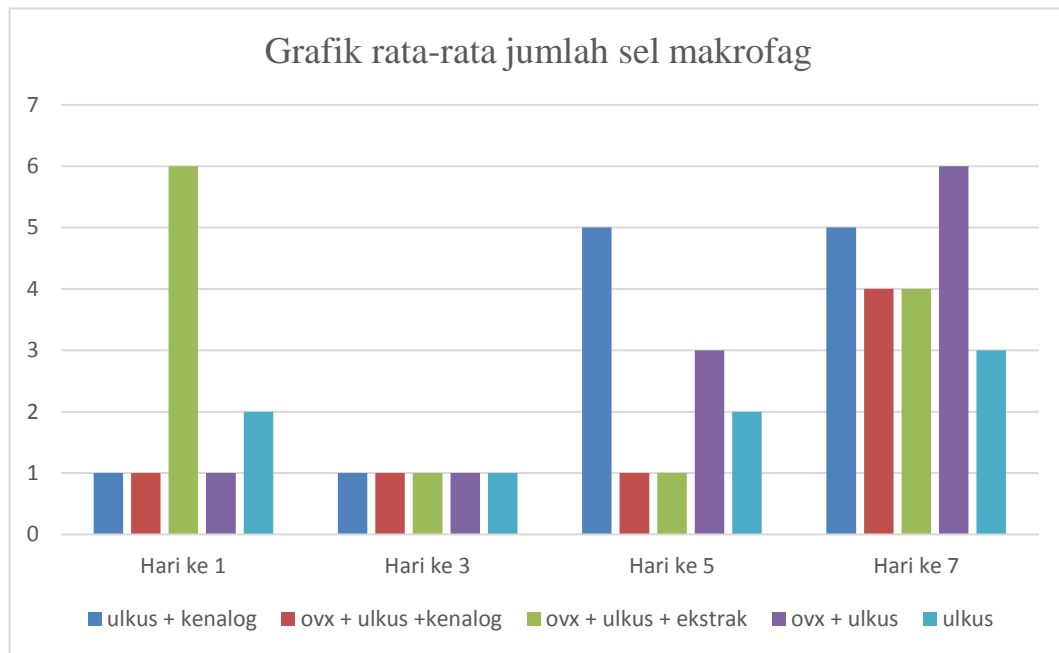
Kelompok 2 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog dan tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 3 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

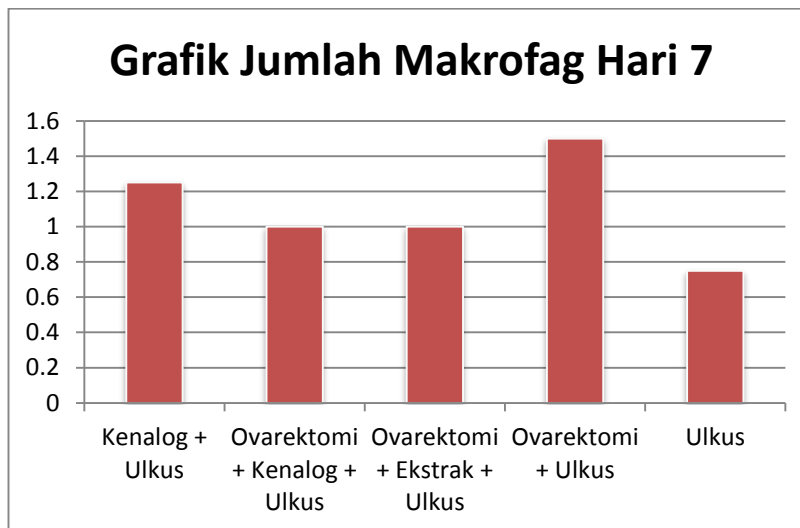
Kelompok 4 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 5 : Hanya induksi ulkus traumatik.

L.P : Lapang pandang



Gambar 8. Grafik rata-rata jumlah sel makrofag pada semua kelompok pada hari ke 1, 3, 5 dan 7.



Gambar 9. Grafik rata-rata jumlah sel makrofag pada semua kelompok hari ke-7

Keterangan:

Kelompok 1 : Tidak dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog, tanpa diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

- Kelompok 2 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog dan tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 3 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 4 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 5 : Hanya induksi ulkus traumatik.

Grafik di atas menunjukkan bahwa sel makrofag pada kelompok perlakuan dengan ovariektomi, ulkus dan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai (Kelompok 3) sudah mengalami peningkatan pada hari ke-1 dan terjadi penurunan pada hari ke-3 dan ke-5 lalu kembali meningkat pada hari ke-7. Kelompok yang hanya diovariektomi dan diinduksi ulkus traumatik (kelompok 4) pada hari ke-1 dan ke-3 belum mengalami peningkatan dan baru mengalami peningkatan pada hari ke-5 dan ke-7. Kelompok dengan perlakuan induksi ulkus traumatik (Kelompok 5) mengalami sedikit peningkatan pada hari ke-1 kemudian menurun dihari ke-3 dan kembali meningkat pada hari ke-3 dan ke-7.

Pada hari ke-7 berdasarkan grafik pada Gambar 9 menunjukkan bahwa diantara kelompok 3, 4 dan 5, kelompok yang diovariektomi dan diinduksi ulkus traumatik (kelompok 4) memiliki rata-rata jumlah sel makrofag tertinggi kemudian tertinggi kedua adalah kelompok yang diovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai (kelompok 3). Kelompok yang hanya diinduksi ulkus traumatik

(kelompok 5) memiliki rata-rata jumlah sel makrofag terendah pada hari ke-7.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Saphiro-Wilk semua kelompok pada hari ke-7

	Kelompok	df	Sig.
jumlah_sel	kelompok 1	4	,406
	kelompok 2	4	,683
	kelompok 3	4	,683
	kelompok 4	4	,024
	kelompok 5	4	,001

Keterangan:

Kelompok 1 : Tidak dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog, tanpa diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 2 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog dan tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 3 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 4 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 5 : Hanya diindukis ulkus traumatik.

Berdasarkan data pada Tabel 3, menunjukkan bahwa hasil uji normalitas Shapiro-Wilk diperoleh nilai signifikansi terhadap jumlah makrofag pada kelompok yang diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog (kelompok 1), kelompok yang diovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog (kelompok 2) dan kelompok yang diovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelao (kelompok 3) sebesar (p -value > 0,05) yang

berarti bahwa jumlah sel makrofag pada kelompok 1, 2 dan 3 memiliki distribusi data yang normal. Hasil uji normalitas pada kelompok 4 dan 5 sebesar (p -value < 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa data jumlah sel makrofag hari ke-7 pada kelompok yang diinduksi ulkus traumatik (kelompok 5) dan kelompok yang di ovariektomi dan diinduksi ulkus traumatik (kelompok 4) memiliki distribusi data yang tidak normal. Pengujian data dilanjutkan menggunakan uji Kruskal-Wallis Test karena distribusi data tidak normal.

Tabel 4. Hasil Uji Krukal-Wallis kelompok 3, 4 dan 5 pada hari ke-7

	jumlah_makrofag
Chi-Square	2.652
df	2
Asymp. Sig.	.266

Keterangan:

- Kelompok 3 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 4 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 5 : Hanya diindukis ulkus traumatik.

Berdasarkan data pada Tabel 4, menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0.266 atau ($p > 0.05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya perbedaan jumlah sel makrofag yang signifikan pada kelompok 3, 4 dan 5 pada hari ke-7.

Tabel 5. Hasil Uji Mann Whitney antara kelompok 3 dan kelompok 5 pada hari ke-7

	jumlah_makrofag
Mann-Whitney U	6.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317

Keterangan:

- Kelompok 3 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 5 : Hanya diindukis ulkus traumatik.

Berdasarkan data pada Tabel 5, menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,317 atau ($p > 0,05$) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah sel makrofag yang signifikan antara kelompok 5 dan kelompok 3 pada hari ke-7.

Tabel 6. Hasil Uji Mann Whitney antara kelompok 3 dan kelompok 4 pada hari ke-7

	jumlah_makrofag
Mann-Whitney U	5.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.343

Keterangan:

- Kelompok 3 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tidak diberikan kenalog dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 4 : Dilakukan ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.
- Kelompok 5 : Hanya diindukis ulkus traumatik.

Berdasarkan data pada Tabel 6, menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,343 atau ($p > 0,05$) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah sel makrofag yang signifikan antara kelompok yang di ovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai (kelompok 3) dengan kelompok yang hanya dioavriektomi dan diinduksi ulkus traumatik (kelompok 4) pada hari ke-7.

Tabel 7. Hasil Uji Independent Sample T-Test pada kelompok 2 dan 3 pada hari ke-7

Independent Samples Test			
Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		Sig. (2-tailed)	Mean Difference
Jumlah_makofag	Equal variances assumed	1.000	.0000

Keterangan:

- Kelompok 2 : Ovariektomi, induksi ulkus traumatik, diberi kenalog
- Kelompok 3 : Ovariektomi, induksi ulus traumatik, diberi ekstrak tepung tempe kedelai

Berdasarkan data pada Tabel 7, menunjukkan bahwa nilai signifikansi 1,000 atau ($p>0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang di ovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog (kelompok 2) dengan kelompok yang diovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai (kelompok 3) pada hari ke-7.

B. Pembahasan

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap jumlah sel makrofag pada ulkus traumatik tikus *sprague dawley* betina dengan defisiensi estrogen. Hasil penelitian berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok yang diovariektomi yaitu kelompok 2, 3 dan 4 mengalami penurunan konsentrasi estrogen pada hari ke-7 paska ovariektomi, namun kelompok 3 kembali mengalami peningkatan konsentrasi hormon estrogen setelah 30 hari diberikan ekstrak tepung tempe kedelai. Kelompok 2 dan 4 yang telah diovariektomi dan tidak diberikan ekstrak tepung tempe kedelai tetap mengalami penurunan konsentrasi estrogen pada hari ke-47.

Hasil penelitian berdasarkan grafik pada Gambar 8 menunjukkan bahwa pada kelompok 1 yang diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog terjadi peningkatan jumlah sel makrofag pada hari ke-5 dan ke-7. Kelompok 2 yang diovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog mengalami peningkatan jumlah sel makrofag pada hari ke-7, sedangkan kelompok 3 yang

diovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai mengalami peningkatan pada hari ke-1 lalu menurun pada hari ke-3 dan ke-5 kemudian kembali mengalami peningkatan pada hari ke-7. Kelompok 4 yang diovariectomi dan diinduksi ulkus traumatik mengalami peningkatan jumlah sel makrofag pada hari ke-5 dan ke-7. Kelompok 5 yang hanya diinduksi ulkus traumatik mengalami peningkatan pada hari ke-1 lalu menurun pada hari ke-3 dan kembali mengalami peningkatan pada hari ke-5 dan ke-7.

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa pada hari ke-7 semua kelompok mengalami peningkatan jumlah sel makrofag. Peningkatan jumlah sel makrofag yang terjadi pada hari ke-7 berdasarkan grafik pada Gambar 9 terlihat adanya perbedaan rata-rata jumlah sel makrofag, namun berdasarkan hasil analisis data menggunakan SPSS tidak terdapat adanya perbedaan yang signifikan. Peningkatan jumlah sel makrofag yang terjadi pada semua kelompok pada hari ke-7 dapat disebabkan karena monosit membutuhkan waktu 48-72 jam untuk berdiferensiasi menjadi makrofag pada area luka, sehingga baru terjadi peningkatan pada hari ke-7 (Hargreaves dan Goodis, 2002).

Berdasarkan uji Mann Whitney menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada kelompok yang hanya diberikan perlakuan induksi ulkus traumatik (kelompok 5), dibandingkan dengan kelompok yang diberikan perlakuan ovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberikan ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari (kelompok 3) pada hari ke-7. Grafik pada Gambar 9 juga menunjukkan bahwa tidak terlihat adanya perbedaan pola rata-rata jumlah sel makrofag yang jauh antara kelompok 5 yang

hanya diinduksi ulkus traumatik dengan kelompok 3 yang diovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai. Hal ini berarti bahwa proses penyembuhan luka yang terjadi pada kelompok 5 yang memiliki estrogen alami dalam tubuh tidak berbeda jauh dengan kelompok 3 yang diovariectomi dan memiliki estrogen yang berasal dari ekstrak tepung tempe kedelai sehingga ekstrak tepung tempe kedelai mampu meningkatkan konsentrasi estrogen dalam darah tikus yang di ovariektomi.

Terjadinya peningkatan konsentrasi estrogen didukung oleh hasil uji ELISA tikus *Spargue Dawley* pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa konsentrasi estrogen pada kelompok 3 yang diovariectomi mengalami peningkatan setelah diberikan ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari. Hasil ini sesuai dengan teori oleh Gilani dan Anderson (2002) bahwa tempe kedelai mengandung isoflavon yang memiliki struktur dan fungsi yang mirip dengan estrogen, yang dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen sehingga dapat meningkatkan konsentrasi estrogen. Peningkatan konsentrasi estrogen yang terjadi pada penelitian ini juga didukung oleh penelitian Utami dkk (2017) bahwa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 20 hari paling mempengaruhi bertambahnya berat uterus, ketebalan endometrial dan tebal miometrium pada tikus menopause.

Rata-rata jumlah sel makrofag pada hari ke-7 berdasarkan grafik pada Gambar 9 menunjukkan bahwa meskipun tidak ada nya perbedaan yang jauh antara kelompok 5 yang hanya diinduksi ulkus traumatik dengan kelompok 3 yang di ovariektomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe

kedelai, namun rata-rata jumlah sel makrofag pada kelompok 3 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok 5. Jumlah sel makrofag pada kelompok 3 lebih tinggi dapat disebabkan karena faktor mengkonsumsi ekstrak tepung tempe kedelai. Tempe mengandung Zn, Cu dan Fe yang dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, sehingga terjadi peningkatan kemampuan dalam menghambat reaksi oksidasi dan performance sel tubuh salah satunya adalah terjadinya peningkatan makrofag (Ramprasath dkk., 2005 dan Rimbach dkk., 2008).

Isoflavonoid, daidzein, fitosterol, genistein, saponin, asam fitat dan inhibitor protease merupakan zat aktif yang diduga mempengaruhi kemampuan fagositosis makrofag (Koswara, 2006). Hal tersebut didukung oleh penelitian Nurrahman (2015) yang menunjukkan bahwa saat diberikan stimulan, terjadi peningkatan aktivitas fagositosis sel makrofag pada tikus yang mengkonsumsi tempe kedelai hitam selama 30 hari dibandingkan dengan tikus yang tidak mengkonsumsi tempe kedelai hitam.

Pada hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan jumlah sel makrofag yang signifikan pada hari ke-7 antara kelompok 3 yang diovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai dengan kelompok 4 yang hanya diovariectomi dan diinduksi ulkus traumatik, namun rata-rata jumlah sel makrofag secara deskriptif pada kelompok 4 lebih tinggi dibandingkan kelompok 3.

Hasil uji Independent T-Test berdasarkan Tabel 7 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diovariectomi,

diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog (kelompok 2) dengan kelompok yang diovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi ekstrak tepung tempe kedelai (kelompok 3). Kelompok 2 pada penelitian ini menggunakan *kenalog in orabase*. *Kenalog in orabase* merupakan kortikosteroid topical yang mengandung *triamcinolone acetonide* 0,1 % yang berfungsi sebagai anti inflamasi (Thantawi dkk, 2014).

Tidak adanya perbedaan signifikan pada uji Mann whitney dan Independent T-Test tersebut dapat disebabkan karena faktor stress yang dialami tikus. Saat pemberian ekstrak tepung tempe kedelai menggunakan sonde lambung, ada beberapa tikus yang memuntahkan ekstrak tepung tempe kedelai tersebut dan cenderung memberontak saat ingin dilakukan pemberian ekstrak dengan sonde lambung. Stress yang dialami dapat memicu aktivasi dari HPA aksis (hipotalamus dan pituitary adrenocortical) yang menyebabkan terjadi peningkatan sekresi hormon kortisol yang diproduksi oleh korteks adrenal, sehingga menekan sistem imun tubuh yang berdampak pada penyembuhan luka yang lama (Boonen dkk., 2013). Saat pengolesan gel kenalog, hewan uji juga cenderung memberontak yang menyebabkan pengaplikasian kenalog pada ulkus yang berfungsi sebagai anti-inflamasi bekerja kurang maksimal, sehingga terjadi peningkatan jumlah sel makrofag pada kelompok 2 (ovariectomi, diinduksi ulkus traumatik dan diberi kenalog) pada hari ke-7.