

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap jumlah sel limfosit pada penyembuhan ulkus traumatik tikus *Sprague dawley* betina yang mengalami defisiensi estrogen. Penelitian ini dilakukan dengan uji ELISA untuk melihat kadar estrgen serum dan pengamatan mikroskopis untuk melihat jumlah sel limfosit.

Tabel 1. Rata Rata Konsentrasi Estrogen Uji ELISA

	Rata Rata Konsentrasi Estrogen		
	Pengambilan hari 8	Pengambilan hari 16	Pengambilan hari 47
Kel 1	16.0425		14.3625
Kel 2	11.1525	10.6425	10.4125
Kel 3	12.95	9.48	13.7975
Kel 4	11.5625	11.1975	6.42
Kel 5	15.0125		13.84

Keterangan:

Kelompok 1: Kelompok perlakuan Kenalog, Ulkus

Kelompok 2; Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Kenalog, Ulkus

Kelompok 3: Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Ulkus, Ekstrak

Kelompok 4: Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Ulkus

Kelompok 5: Kelompok dengan perlakuan Ulkus

Pada hasil uji ELISA pada tabel di atas didapatkan rata rata konsentrasi estrogen kelompok 1 pada pengambilan hari ke 8 sebesar 16.0425, pada pengambilan hari ke 47 14.3625. Rata konsentrasi estrogen kelompok 2 pada pengambilan hari ke 8 sebesar 11.1525, pada hari ke 16 sebesar 10.4625, pada hari ke 47 sebesar 10.4125. Rata konsentrasi estrogen kelompok 3 pada pengambilan hari ke 8 sebesar 12.95, pada hari ke 16 sebesar 9.48, pada hari ke 47 sebesar 13. 7975. Rata konsentrasi estrogen kelompok 4 pada pengambilan hari ke 8 sebesar 11.5625, pada hari ke 16 sebesar 11.1975, pada hari ke 47 sebesar 6.42. Rata konsentrasi estrogen kelompok 5 pada pengambilan hari ke 8 sebesar 15.0125, pada hari ke 47 sebesar 13.84.

Tabel 2. Rata Rata Jumlah Sel Limfosit

Kelompok	Rata rata jumlah sel hari ke-			
	1	3	5	7
Kelompok 1	0.25	0.25	1.25	1.25
Kelompok 2	0.25	0.25	0.25	1.00
Kelompok 3	1.50	0.25	0.25	1.00
Kelompok 4	0.50	4.00	4.00	0.50
Kelompok 5	0.50	0.25	0.50	0.75

Keterangan:

Kelompok 1: Kelompok perlakuan Kenalog, Ulkus

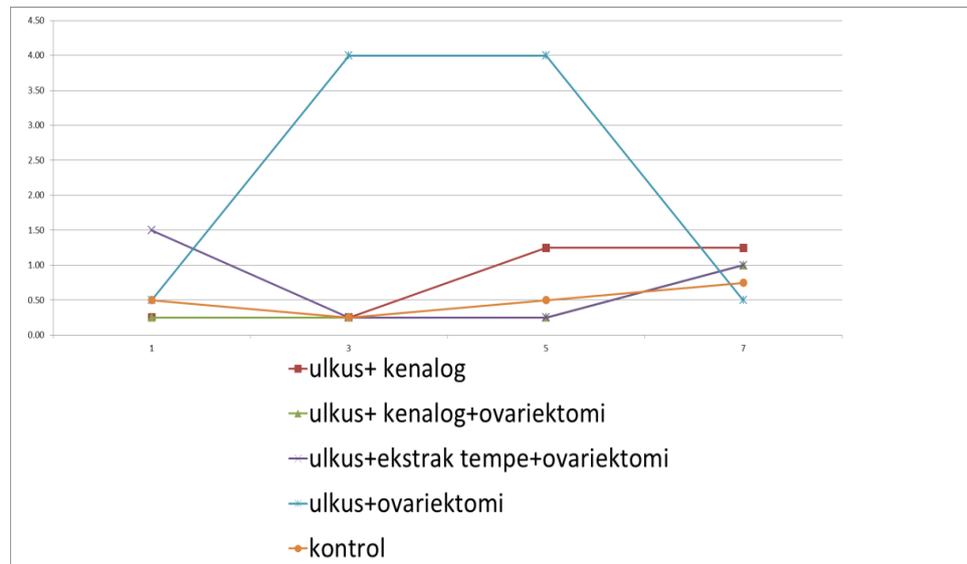
Kelompok 2; Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Kenalog, Ulkus

Kelompok 3: Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Ulkus, Ekstrak

Kelompok 4: Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Ulkus

Kelompok 5: Kelompok dengan perlakuan Ulkus

Gambar 1. Grafik Rata Rata Jumlah Sel Limfosit



Pada Tabel 1, kelompok 3 memiliki pola terjadi peningkatan jumlah rata rata sel limfosit pada hari ke-1 lalu mengalami penurunan pada hari ke 3 dan peningkatan pada hari ke 5. Pola kelompok 4 menunjukkan peningkatan yang drastis pada hari ke-3 lalu menurun dimulai pada hari ke 5. Pada kelompok 5 menunjukkan pola jumlah rata rata sel limfosit yang mirip dengan kelompok 3, mengalami kenaikan pada hari ke-1 lalu menurun dan mulai meningkat lagi pada hari ke 5.

Tabel 3. Jumlah Rata rata Sel Limfosit Hari ke-7

	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4	Kelompok 5
LP 1	0	0	1	0	1
LP 2	0	1	1	0	0
LP 3	0	0	1	1	2
LP 4	2	0	0	1	1
Rata-rata	0.5	0.25	0.75	4	1

Keterangan:

Kelompok 1: Kelompok perlakuan Kenalog, Ulkus

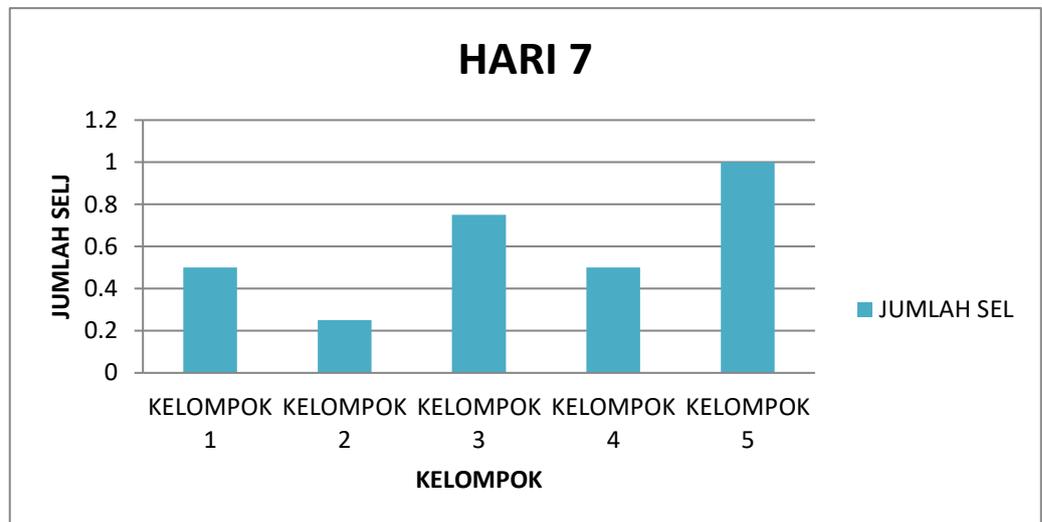
Kelompok 2; Kelompok dengan perlakuan Ovariektomi, Kenalog, Ulkus

Kelompok 3: Kelompok dengan perlakuan Ovariektomi, Ulkus, Ekstrak

Kelompok 4: Kelompok dengan perlakuan Ovariektomi, Ulkus

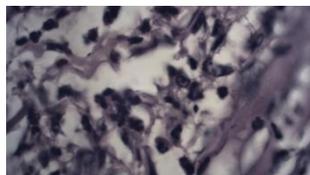
Kelompok 5: Kelompok dengan perlakuan Ulkus

Pada hari ke-7 rata rata jumlah sel limfosit kelompok 1 yaitu tikus yang diberikan kenalog dan dilukai sebanyak 0.5; rata rata jumlah sel kelompok 2 yaitu tikus yang diovariektomi, diberikan kenalog dan dilukai sebanyak 0.25; rata rata jumlah sel limfosit kelompok 3 yaitu tikus yang diovariektomi, diberikan ekstrak tepung tempe dan dilukai sebanyak 0.75; pada kelompok 4 yaitu tikus yang diovariektomi dan dilukai didapatkan rata rata jumlah sel limfosit sebanyak 0.5; sedangkan kelompok 5 yaitu tikus yang hanya dilukai sebanyak 1.



Gambar 2. Gambar Sel Limfosit Pada Hari ke-7

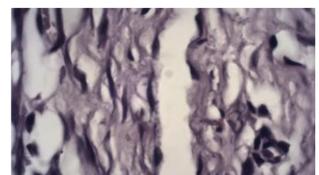
kelompok 1



• kelompok 2



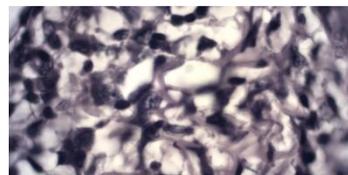
kelompok 3



kelompok 4



kelompok 5



Tabel 4. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Hari ke-7

Kelompok		<i>Shapiro-Wilk</i>		
		.statistic	df	sig
Jumlah sel	Kelompok 1	.630	4	.001
	Kelompok 2	.630	4	.001
	Kelompok 3	.630	4	.001
	Kelompok 4	.729	4	.024
	Kelompok 5	.945	4	.683

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: Ovariektomi, induksi ulkus traumatik, tanpa kenalog, tanpa ekstrak tepung tempe kedelai.

Kelompok 5: Kelompok kontrol, hanya diindukis ulkus traumatik.

Berdasarkan data pada Tabel, menunjukkan bahwa hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai signifikansi terhadap jumlah limfosit pada kelompok perlakuan sebesar $< 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa data jumlah sel limfosit hari ke-7 memiliki distribusi data yang tidak normal. Pengujian data dilanjutkan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* Test karena distribusi data tidak normal.

Tabel 5. Uji *Kruskal-Wallis* Kelompok 3, 4, 5 Hari ke-7

	Kelompok	N	Mean
			Rank
Jumlah_Sel	Kelompok 3	4	6.63
	Kelompok 4	4	5.25
	Kelompok 5	4	7.63
	Total	12	

Jumlah_Sel	
Chi-Square	1.138
Df	2
Asymp. Sig.	.566

Berdasarkan data pada Tabel hasil uji *Kruskal-Wallis* kelompok 3, 4 dan 5 pada hari ke 7, menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0.566 atau ($p > 0.05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya perbedaan jumlah sel limfosit hari ke-7 pada kelompok 3, 4, dan 5.

Tabel 6. Uji *Mann-Whitney* Kelompok 3 dan 4 Hari ke-7

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum Of Ranks
Jumlah_Sel	Kelompok 3	4	5.00	20.00
	Kelompok 4	4	4.00	16.00
	Total	8		

	Jumlah_Sel
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.683
Asymp. Sig. (2-Tailed)	.495
Exact Sig. [2*(1-Tailed Sig.)]	.686(A)

Keterangan:

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

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

Berdasarkan data pada Tabel hasil uji *Mann-Whitney* kelompok 3 dan 4 pada hari ke 7, menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0.495 atau ($p > 0.05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya perbedaan jumlah sel limfosit hari ke-7 pada kelompok 3, dan 4.

Tabel 7. Uji *Mann-Whitney* Kelompok 3 dan 5 Hari ke-7

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum Of Ranks
Jumlah_Sel	Kelompok 3	4	4.13	16.50
	Kelompok 5	4	4.88	19.50
	Total	8		

	Jumlah_Sel
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-.500
Asymp. Sig. (2-tailed)	.617
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686(A)

Keterangan:

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

Kelompok 5: Kelompok kontrol, hanya diinduksi ulkus traumatik.

Berdasarkan data pada Tabel hasil uji *Mann-Whitney* kelompok 3 dan 5 pada hari ke 7, menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0.617 atau ($p > 0.05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya perbedaan jumlah sel limfosit hari ke-7 pada kelompok 3, dan 5.

Tabel 8. Uji Mann-Whitney Kelompok 3 dan 2 Hari ke-7

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah_Sel	Kelompok 2	4	3.50	14.00
	Kelompok 3	4	5.50	22.00
	Total	8		

	Jumlah_Sel
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.186
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343(A)

Keterangan:

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.

Berdasarkan data pada Tabel hasil uji *Mann-Whitney* kelompok 3 dan 2 pada hari ke 7, menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0.186 atau ($p > 0.05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya perbedaan jumlah sel limfosit hari ke-7 pada kelompok 3, dan 2.

B. Pembahasan

Limfosit bermigrasi karena yang mengalami peradangan setelah hari pertama dan dapat mencapai pada jumlah maksimum pada hari ke 3 sampai hari keenam, kemudian selanjutnya menurut Price dan Wilson

(2005) menyatakan bahwa jumlah sel limfosit akan meningkat pada fase peradangan menjadi peradangan yang kronis. Jaringan yang mengalami peradangan mulai memasuki tahap penyembuhan luka yang dimulai saat terjadinya luka dan hilangnya faktor yang mempengaruhi lamanya proses peradangan yaitu kurang lebih 3-7 hari.

Pada hasil uji *Kruskal-Wallis* pada kelompok 3 dan 5, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan jumlah sel limfosit antara kelompok tikus mengalami defisiensi estrogen dan diberikan ekstrak tempe dengan kelompok kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak tempe kedelai dapat mampu menggantikan estrogen yang hilang setelah ovariectomi, hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa Tikus yang diberikan ekstrak tempe tidak mengalami penurunan konsentrasi estrogen. Menurut teori, isoflavon adalah sejenis fitonutrien, yang kaya dalam kacang kedelai dan produk kacang kedelai itu sendiri. Isoflavon terdiri dari empat jenis, yaitu daidzein, genestein, glisitein dan faktor II. Struktur dari isoflavon sama dengan struktur kimia dari estrogen.

Lalu, tempe juga isoflavon yang berperan sebagai anti oksidan yang mampu membatasi jumlah radikal bebas. Efek antiinflamasi yang didapat dari isoflavon juga mampu menghambat pengeluaran enzim degradatif dari neutrofil yang dapat menghambat pengikatan-silang kolagen (Musthapa, dkk. 2003). Sifat antiinflamasi dari isoflavon berasal dari mekanismenya yang menghambat pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosim dari sel neutrofil dan sel endotelial dan menghambat

fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses inflamasi. Terhambatnya pelepasan asam arakhidonat dari sel inflamasi akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakhidonat bagi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase yang pada akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, prostasiklin, endoperoksida, asam hidroksatetraenoat, dan leukotrin disisi lain. Penekanan jumlah tersebut mempengaruhi proses radang dan juga migrasi leukosit yang akan berpengaruh pada penekanan peningkatan jumlah limfosit (Sabir, 2005). Jadi dengan terhambatnya jalur prostaglandin oleh isoflavon dan saponin maka akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga emigrasi dari leukosit termasuk limfosit ke area radang juga menurun. Isoflavon merupakan antioksidan yang larut dalam air dan membersihkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan sel oksidatif dan mempunyai aktivitas antikanker yang kuat. Sebagai antioksidan, isoflavon memberikan aktivitas antiinflamasi (Harisaranraj, dkk., 2009). Isoflavon juga dapat digunakan sebagai *vasculoprotector agent* yang merupakan agen untuk memperbaiki peredaran darah vena dengan meningkatkan tonus pembuluh serta mengurangi edema. Sifat-sifat yang dimiliki oleh isoflavon ini dipertimbangkan memiliki peran dalam proses penyembuhan luka (Hasanoglu, dkk., 2001).

Pada hasil uji *Kruskal-Wallis* antara kelompok 3 dan 4 pada hari ke-7 seperti pada tabel di atas menunjukkan terdapat perbedaan jumlah sel limfosit yang tidak signifikan. Hal ini tidak sesuai pada teori yang

menyatakan bahwa Estrogen meningkatkan imunitas humoral, sedangkan androgen dan progesteron sebagai immunosupresor. Beberapa kondisi fisiologis, patologis, dan terapeutik dapat mengubah kadar serum estrogen, seperti siklus menstruasi, menopause, penuaan, dan terapi pengganti hormon, yang dapat menginduksi perubahan imunitas. Perubahan respon imun tersebut terjadi berdasarkan fase siklus menstruasi, yang berhubungan dengan pengeluaran sel NK. Perubahan respon imun terjadi ketika fase folikular. Selama periode pre ovulasi terjadi penurunan aktivitas sitolitik sel NK, dan selama fase luteal terjadi perubahan respon imun seluler terhadap humoral. Perubahan sistem imun pada perempuan *post* menopause berkaitan dengan kekurangan estrogen. Peningkatan respon tubuh terhadap sitokin, limfosit B dan limfosit T menurun, dan aktivitas sitotoksik sel NK menurun. Peningkatan sitokin IL-1 dan IL-6 yang signifikan terjadi setelah defisiensi estrogen sehingga menyebabkan sistem imun menjadi lemah dan lebih rentan terhadap invasi mikroba dan infeksi. Sitokin juga berperan pada mekanisme hilangnya folikel ovarium yang akan menyebabkan ovarium prematur sehingga sel NK akan berkurang dan limfosit T dan limfosit B meningkat (Gameiro, dkk., 2010). Perbedaan pada teori yang terjadi pada penelitian ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor seperti Peneliti tidak menimbang berat badan akhir pada tikus, karena hal ini dapat dijadikan indikator untuk mengetahui apakah tikus menderita stres. Keadaan stres dapat mengurangi nafsu makan hewan coba, sehingga asupan nutrisi yang diperlukan pada saat penyembuhan

luka berkurang. Faktor lain yang dapat mengurangi nafsu makan bisa disebabkan karena tikus tidak merasa nyaman dengan perlukaan pada gingivanya karena perih saat digunakan untuk makan.

Pada kelompok 3 tikus diberikan ekstrak tepung tempe kedelai dibandingkan dengan kelompok 2 tikus yang diberikan kenalog tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Triamcinolone 0.1% adalah kandungan dari kenalog in orabase, yaitu kortikosteroid topikal yang secara umum mempunyai efek anti peradangan, anti gatal dan anti alergi. Istilah orabase adalah menunjukkan bahwa obat ini diaplikasikan ke dalam mulut Kenalog in orabase digunakan untuk pengobatan lesi akut dan kronis darimukosa mulut, obat ini direkomendasikan untuk digunakan pada stomatitis ulseratif, erosis *lichen planus*, *denture* stomatitis, gingivitis deskuamatif dan stomatitis aphthous (Balaji, dkk., 2009).

Sesuai pada tabel di atas tikus yang diberikan ekstrak tempe tidak mengalami penurunan konsentrasi estrogen. Sesuai pada teori, isoflavon adalah sejenis fitonutrien, yang kaya dalam kacang kedelai dan produk kacang kedelai itu sendiri. Isoflavon terdiri dari empat jenis, yaitu daidzein, genestein, glisitein dan faktor II. Struktur dari isoflavon sama dengan struktur kimia dari estrogen.

Pembahasan di atas membuktikan bahwa ekstrak tepung tempe kedelai dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka karena berbagai kandungan yang terdapat di dalamnya.