

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap jumlah leukosit polimorfonuklear (PMN) pada penyembuhan ulkus traumatik tikus putih (*Rattus novogicus*), galur *Sprague dawley* betina yang mengalami defisiensi estrogen.

Penelitian ini mendapatkan dua hasil. Hasil penelitian ini didapatkan dengan melalui uji *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan pengamatan mikroskopis jumlah sel PMN dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin eosin* (HE) pada hari ke-1, ke-3, 5 dan ke-7 paska induksi ulkus.

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

Kelompok	Rata-rata konsentrasi estrogen dalam darah (ng/L)		
	Hari ke-7 (sebelum ovx)	Hari ke-16 (7 hari paska ovx)	Hari ke-47 (37 hari paska ovx)
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 : Kelompok perlakuan Ulkus, Kenalog

Kelompok 2 : Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Kenalog, Ulkus

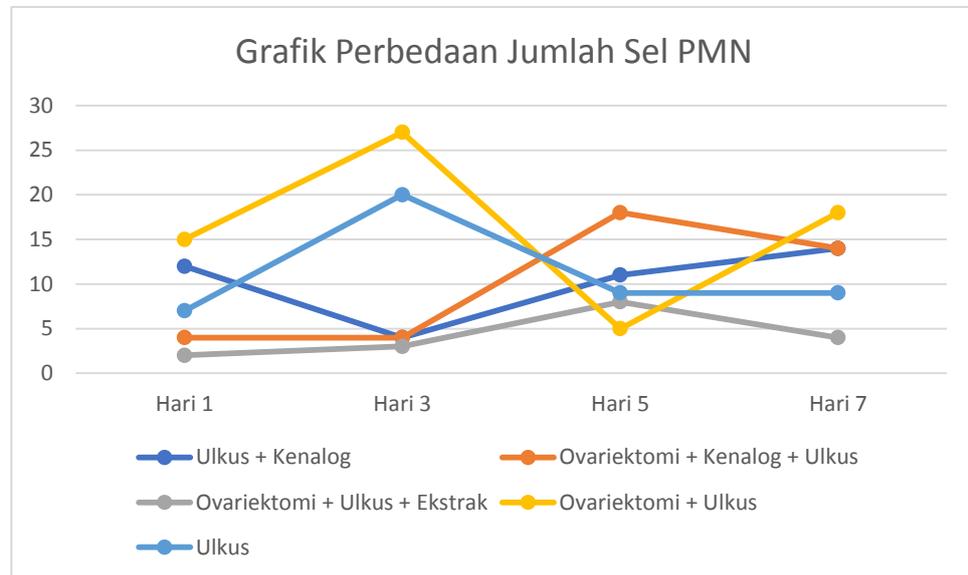
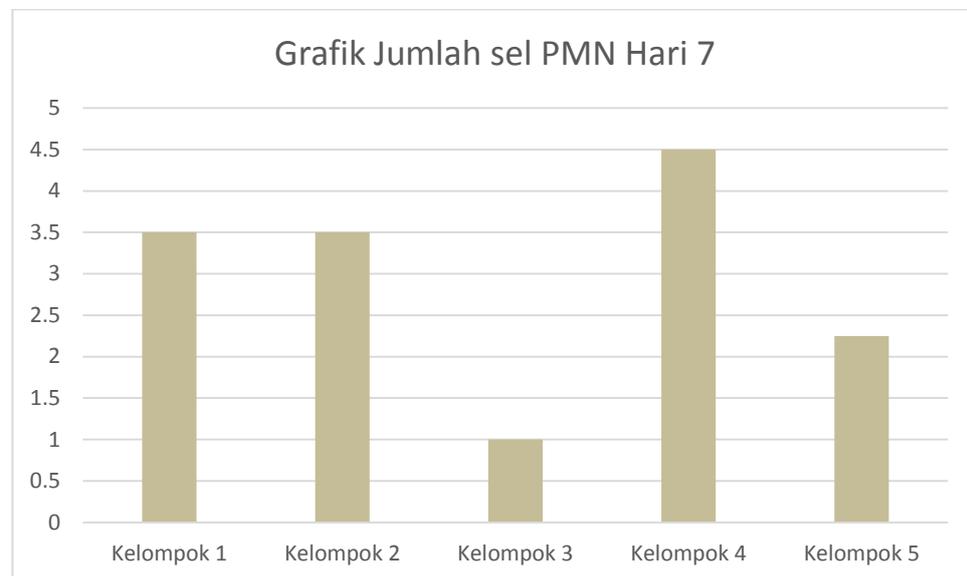
Kelompok 3 : Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Ulkus, Ekstrak

Kelompok 4 : Kelompok dengan perlakuan Ovariectomi, Ulkus

Kelompok 5 : Kelompok dengan perlakuan Ulkus

Ovx : Ovariectomi

Kelompok 1 dan Kelompok 5 adalah kelompok tanpa perlakuan ovariectomi. Kelompok 2 dan 4 adalah kelompok dengan perlakuan ovariectomi tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai sedangkan Kelompok 3 adalah kelompok dengan perlakuan ovariectomi dan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai. Pada hari ke-7 penelitian ini (sebelum ovariectomi), kelompok 2 memiliki konsentrasi estrogen sebesar 11,15 ng/L kemudian pada hari ke-16 (7 hari paska ovariectomi) konsentrasi estrogen dalam darah tikus menjadi 10,64 ng/L dan menjadi 10,41 ng/L pada hari ke-47 (37 hari paska ovariectomi) penelitian ini. Kelompok 3 merupakan kelompok dengan perlakuan ovariectomi dan pemberian ekstrak tepung tempe selama 30 hari. Hari ke-7 (sebelum ovariectomi) Kelompok 3 memiliki konsentrasi estrogen sebesar 12,95 ng/L kemudian menurun pada hari ke-16 (7 hari setelah ovariectomi) menjadi 9,48 ng/L dan kembali meningkat pada hari ke-47 (37 hari paska ovariectomi) penelitian ini menjadi 13,80 ng/L. Kelompok 4 memiliki konsentrasi estrogen sebesar 11,56 ng/L pada hari ke-7 (sebelum ovariectomi) kemudian terjadi penurunan pada hari ke-16 penelitian ini menjadi 11,20 ng/L, dan kembali menurun pada hari ke-47 (37 hari paska ovariectomi) menjadi 6,42 ng/L.

Grafik 1. Perbedaan jumlah sel PMN.**Grafik 2.** Perbedaan rata-rata jumlah sel PMN pada hari ke-7 paska induksi ulkus traumatik.

Keterangan :

Kelompok 1 : Kelompok perlakuan Ulkus, Kenalog

Kelompok 2 : Kelompok dengan perlakuan Ovariektomi, Kenalog, Ulkus

Kelompok 3 : Kelompok dengan perlakuan Ovariektomi, Ulkus, Ekstrak

Kelompok 4 : Kelompok dengan perlakuan Ovariektomi, Ulkus

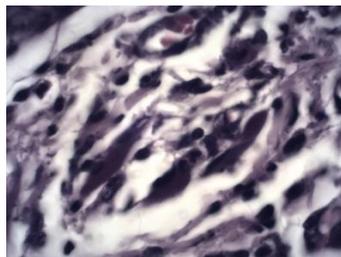
Kelompok 5 : Kelompok dengan perlakuan Ulkus

Grafik di atas menunjukkan perbedaan jumlah sel PMN tiap kelompok pada hari ke-1, 3, 5, dan ke-7 paska induksi ulkus traumatik. Pada grafik diatas Kelompok 1 (induksi ulkus, pemberian Kenalog) jumlah sel PMN meningkat pada hari ke-1 paska induksi ulkus kemudian mengalami penurunan pada hari ke-3 dan kembali meningkat pada hari ke-5 dan ke-7 paska induksi ulkus. Kelompok 2 (ovariektomi, induksi ulkus, pemberian Kenalog) memiliki pola jumlah sel PMN yang meningkat pada hari ke-1 kemudian mengalami peningkatan pada hari ke-3 dan ke-5 dan mengalami penurunan penurunan pada hari ke-7 paska induksi ulkus. Kelompok 3 (ovariektomi, induksi ulkus, pemberian ekstrak tepung tempe kedelai) mengalami peningkatan jumlah sel PMN pada hari ke-1, kemudian jumlah sel PMN kembali meningkat pada hari ke-3 dan ke-5, dan terjadi penurunan jumlah sel PMN pada hari ke-7. Kelompok 4 (ovariektomi, induksi ulkus) memiliki pola yang fluktuatif, pada hari ke-1 dan hari ke-3 jumlah sel PMN mengalami peningkatan, pada hari ke-5 terjadi penurunan jumlah sel PMN dan kembali meningkat pada hari ke-7 paska induksi ulkus. Kelompok 5 (induksi ulkus) memiliki pola yang meningkat pada hari ke-1 dan ke-3 kemudian mengalami penurunan pada hari ke-5 dan ke-7 paska induksi ulkus.

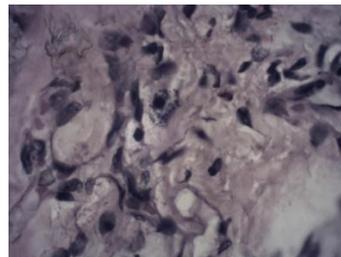
Grafik 2 menunjukkan perbedaan rerata sel PMN pada hari ke-7 paska induksi ulkus traumatik. Kelompok 4 (ovariektomi, ulkus) adalah kelompok dengan rata-rata jumlah sel PMN terbanyak yaitu sebesar 4,5.

Kelompok dengan rata-rata jumlah sel PMN terbanyak kedua dimiliki oleh Kelompok 1 (induksi ulkus, pemberian Kenalog) dan Kelompok 2 (ovariectomi, induksi ulkus, pengolesan Kenalog) sebesar 3,5. Kelompok dengan rata-rata jumlah sel PMN terbanyak ketiga dimiliki oleh Kelompok 5 (induksi ulkus) sebesar 2,25 dan Kelompok dengan rata-rata jumlah sel PMN paling sedikit dimiliki oleh Kelompok 3 (ovariectomi, induksi ulkus, pemberian ekstrak) yaitu sebesar 1.

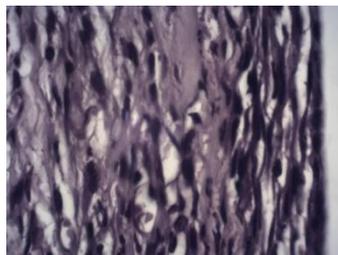
Gambar 1. Hasil preparat sel PMN perbesaran 100x pada hari ke-7 paska induksi ulkus.



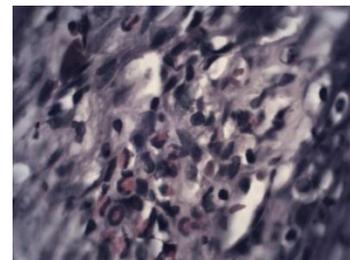
Ulkus, kenalog



Ovariectomi, ulkus,



Ovariectomi, ulkus,



Ovariectomi, ulkus



Ulkus

Selanjutnya, dilakukan uji normalitas untuk menentukan uji statistik yang digunakan untuk mengolah data. Jumlah sampel pada penelitian ini <50 sehingga uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk*.

Tabel 2. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* jumlah sel PMN pada hari ke-7 paska induksi ulkus traumatik.

Kelompok Perlakuan	Shapiro-Wilk		Keterangan
	df	Sig.	
Kelompok 1	4	.406	Normal
Kelompok 2	4	.024	Tidak Normal
Kelompok 3	4	.683	Normal
Kelompok 4	4	.171	Normal
Kelompok 5	4	.086	Normal

Jika nilai signifikansi > 0,05 maka data berdistribusi normal. Tabel diatas menunjukkan Kelompok 2 memiliki nilai signifikansi atau probabilitas < 0,05 yang menunjukkan data tidak berdistribusi normal, sedangkan Kelompok 1, 3, 4, dan 5 memiliki distribusi normal.

Tabel 3. Hasil uji *one way anova* jumlah sel PMN Kelompok 3, 4 dan 5 pada hari ke-7 paska induksi ulkus traumatik.

	Sig.	Keterangan
<i>Between Groups</i>	.283	Tidak signifikan

Hasil uji *one way anova* menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$ yaitu sebesar 0,283. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah sel PMN Kelompok 3 (ovariektomi, ulkus, ekstrak tepung tempe), 4 (ovariektomi, ulkus) dan 5 (ulkus).

Tabel 4. Hasil uji *mann-witney* jumlah sel PMN Kelompok 1 dan 2 pada hari ke-7 paska induksi ulkus traumatik.

Sig.	Keterangan
.078	Tidak signifikan

Hasil uji *mann-witney* pada table diatas menunjukkan signifikansi $> 0,05$ yaitu sebesar 0,078 sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada Kelompok 1 (ulkus, Kenalog) dan 2 (ovariektomi, ulkus, Kenalog).

Tabel 5. Hasil uji *mann-witney* jumlah sel PMN Kelompok 2 dan 3 pada hari ke-7 paska induksi ulkus traumatik.

Sig.	Keterangan
1.000	Tidak signifikan

Hasil uji *mann-witney* pada tabel diatas menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$ sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada Kelompok 2 (ovariektomi, ulkus, Kenalog) dan 3 (ovariektomi, ulkus, ekstrak tepung tempe).

B. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan Kelompok 2, Kelompok 3, dan Kelompok 4 mengalami penurunan konsentrasi estrogen pada hari ke-16 penelitian ini (7 hari paska ovariektomi). Kelompok 2, 3 dan 4 merupakan kelompok dengan perlakuan ovariektomi. Pada hari ke-47 penelitian ini (37 hari paska ovariektomi) Kelompok 3 mengalami peningkatan konsentrasi estrogen menjadi 13,80 ng/L sedangkan Kelompok 2 dan Kelompok 4 mengalami penurunan rata-rata konsentrasi estrogen menjadi 10,41 ng/L dan 6,42 ng/L. Kelompok 2 dan 4 merupakan kelompok perlakuan ovariektomi tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai sehingga terjadi penurunan konsentrasi estrogen dalam darah tikus. Kelompok 3 mengalami peningkatan rata-rata konsentrasi estrogen dan memiliki konsentrasi estrogen yang lebih tinggi dibandingkan dengan Kelompok 4 pada hari ke-47 (37 hari paska ovariektomi), peningkatan konsentrasi estrogen ini terjadi karena pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 30 hari pada hewan uji. Menurut (Primiani, 2013) tepung tempe kedelai merupakan bahan pangan kaya akan senyawa isoflavon yang berpotensi sebagai estrogen alami dan hal ini dibuktikan dengan meningkatnya proliferasi kelenjar uterina. Utami, Mahriani, dan Hikmah, (2015) dalam penelitiannya juga menemukan bahwa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dapat meningkatkan berat rata-rata uterus tikus.

Secara deskriptif melalui rata-rata jumlah sel PMN pada hari ke-7 dan pola perbedaan jumlah sel PMN ulkus, Kelompok 3 merupakan kelompok yang memiliki rata-rata jumlah sel PMN terendah sedangkan Kelompok 4 merupakan kelompok dengan rata-rata jumlah sel PMN terbanyak. Pola jumlah sel PMN Kelompok 3 cenderung mengalami penurunan dari hari ke-5 hingga hari ke-7 paska induksi ulkus, sedangkan kelompok 4 cenderung fluktuatif dengan jumlah sel PMN yang meningkat pada hari ke-7 paska induksi ulkus. Kelompok 3 dan 4 merupakan kelompok dengan perlakuan ovariectomi dan induksi ulkus, Kelompok 3 terlebih dahulu diberi ekstrak tepung tempe selama 30 hari sebelum induksi ulkus. Ekstrak tepung tempe kedelai mengandung genistein. Genistein merupakan derivat isoflavon yang dapat berperan sebagai anti-inflamasi (Xu dkk, 2016).

Schneider dkk, (2019) dalam penelitiannya menemukan bahwa kondisi defisiensi estrogen pada hewan uji akibat ovariectomi menyebabkan terjadinya peningkatan migrasi sel PMN, peningkatan TNF- α , dan dapat menyebabkan pembengkakan pada sendi. *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) merupakan salah satu mediator inflamasi yang dapat mempengaruhi banyaknya sel PMN yang bermigrasi (Enrico, Berry, & Pavord, 2007). Kondisi luka dengan masifnya jumlah sel PMN terutama neutrofil secara terus menerus akan menyebabkan terganggunya proses penyembuhan karena protease yang dihasilkan oleh neutrofil

menyebabkan tertundanya penyembuhan luka (McDaniel, Roy, & Wilgus, 2013).

Kelompok 1 dan 2 adalah kelompok dengan pengolesan Kenalog secara topikal pada ulkus. Kelompok 2 merupakan kelompok dengan perlakuan ovariektomi sebelum induksi ulkus sedangkan Kelompok 1 tanpa perlakuan ovariektomi. Kenalog adalah medikasi yang biasa digunakan untuk mengobati ulkus pada rongga mulut (Balaji, 2009). Kenalog mengandung bahan kortikosteroid berupa *Triamcinolone* yang dapat memberikan efek anti-inflamasi (Ganda, 2011). Pada penelitian ini, jumlah sel PMN Kelompok 2 mengalami peningkatan hingga hari ke-5 dan terjadi penurunan pada hari ke-7 paska induksi ulkus, sebaliknya pada Kelompok 1 mengalami peningkatan jumlah sel PMN bahkan hingga hari ke-7. Kelompok 5 adalah kelompok kontrol dengan perlakuan induksi ulkus. Jumlah sel PMN Kelompok 5 pada hari ke-3 paska induksi ulkus meningkat, namun Kelompok 4 masih memiliki jumlah sel PMN terbanyak, pada hari ke-5 jumlah sel PMN Kelompok 5 menurun.

Umumnya ulkus traumatik akan sembuh dalam 7-14 hari (Jordan & Michael, 2004). Proses penyembuhan ulkus ditandai dengan berkurangnya jumlah sel PMN dan terjadinya migrasi sel fibroblast pada ulkus (Cavalcante dkk, 2011). Hasil uji statistik pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap jumlah sel PMN ulkus tiap kelompok, pada hari ke-7 paska induksi ulkus. Hasil yang tidak signifikan pada penelitian ini dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut

Bratawidjaja, (2004) kondisi psikologis dan nutrisi dapat mempengaruhi kondisi imun. Banyaknya hewan uji yang dipelihara dalam satu kelompok menyebabkan peneliti tidak dapat mengontrol asupan makanan setiap individu hewan uji. Induksi ulkus pada gingiva hewan uji menyebabkan rasa sakit pada gingiva hewan uji dan membuat hewan uji kesulitan untuk makan. Hal ini dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji. Stress dapat mempengaruhi kondisi imun, sehingga luka menjadi lebih mudah terinfeksi dan proses penyembuhannya menjadi terhambat (Guo & Dipietro, 2010). Saat pengaplikasian Kenalog pada ulkus, hewan uji cenderung berontak dan menjilat Kenalog yang telah diberikan, hal ini menyebabkan kenalog tidak bekerja secara maksimal sebagai agen anti-inflamasi. Tidak adanya perbedaan yang bermakna melalui uji statistik menunjukkan bahwa pada penelitian ini, ekstrak tepung tempe kedelai tidak berpengaruh pada jumlah sel PMN ulkus traumatik hewan uji.