

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Gambaran Umum Pelaksanaan Penelitian

Subyek penelitian berupa tikus *Sprague-Dawley* betina dengan kisaran umur 3 bulan dan berat badan  $\pm 170-200$  gram sebanyak 20 tikus. Tikus sejumlah 20 ekor tersebut dibagi kedalam lima kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor tikus. Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasi selama 7 hari dengan suhu ruangan di Laboratorium Fisiologis Universitas Gadjah Mada. Setiap kandang diberi nama sesuai kelompok dan setiap kelompok diisi empat ekor tikus. Kesamaan galur, berat, umur, dan jenis kelamin ditentukan untuk meminimalisir variasi dari faktor-faktor yang mungkin mempengaruhi dalam pelaksanaan penelitian ini. Pemilihan tikus berjenis kelamin betina didasarkan pada tujuan dari penelitian, oleh karena itu pengambilan serta pemeriksaan serum estrogen pada tikus juga dilakukan tepatnya pada hari ke-8, 16, dan 47 paska ovariektomi. Pemilihan galur *Sprague-Dawley* karena tikus jenis ini memiliki tubuh yang lebih besar sehingga lebih memudahkan dalam penginduksian ulkus. Penggunaan tikus *Sprague-Dawley* didasarkan pada persamaan karakteristik hewan uji dengan manusia terutama dalam aspek yang diteliti

dan hal-hal terkait dengan aspek tersebut, sehingga diharapkan penelitian ini dapat memberikan manfaat yang nyata bagi manusia.

Proses ovariektomi tikus dimulai dengan mencukur bulu tikus pada bagian abdomen dengan hati-hati. Tikus dianestesi menggunakan ketamin HCL 100 mg, selanjutnya disemprotkan alkohol 70% sebagai desinfektan dan dilakukan insisi dibagian perut untuk mengambil ovarium dari tikus. Setelah proses ovariektomi selesai, perut tikus langsung dijahit kembali dan diberi betadin agar tidak terjadi perdarahan yang berlebih. Selanjutnya tikus ditunggu selama 30 hari untuk dilakukan pemberian ekstrak.

Penelitian ini menggunakan ekstrak tepung tempe kedelai yang dibuat di Laboratorium Unit II Farmasi, FK Universitas Gajah Mada. Untuk mengurangi variasi zat-zat yang terkandung didalam bahan-bahan yang akan diekstrak yang mungkin dipengaruhi oleh geografis, pemilihan bahan ekstrak berupa tempe kedelai diperoleh dari satu lokasi yang sama yaitu Rumah Tempe Indonesia yang terletak di kabupaten Sleman, Yogyakarta. Pemberian ekstrak dilakukan secara oral satu kali sehari selama 30 hari. Hari ke-31 paska pemberian ekstrak dilakukan induksi ulkus pada tikus.

Sebelum diinduksi ulkus, tikus perlu diberi anestesi ketamin 10%. Selanjutnya gingiva tikus dilukai dengan cara di *scraping* menggunakan pisau bedah agar terjadi ulkus pada mukosa mulutnya. Pada hari pertama, ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah induksi ulkus, diambil 1 tikus dari setiap kelompok untuk diambil jaringan gingivanya. Selanjutnya jaringan gingiva yang sudah diinduksi ulkus tersebut dibuat preparat di Laboratorium Patologi Anatomi

FK UGM. Setelah itu pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Riset MMT FKIK UMY dengan perbesaran 100x untuk melihat ketebalan epitel.

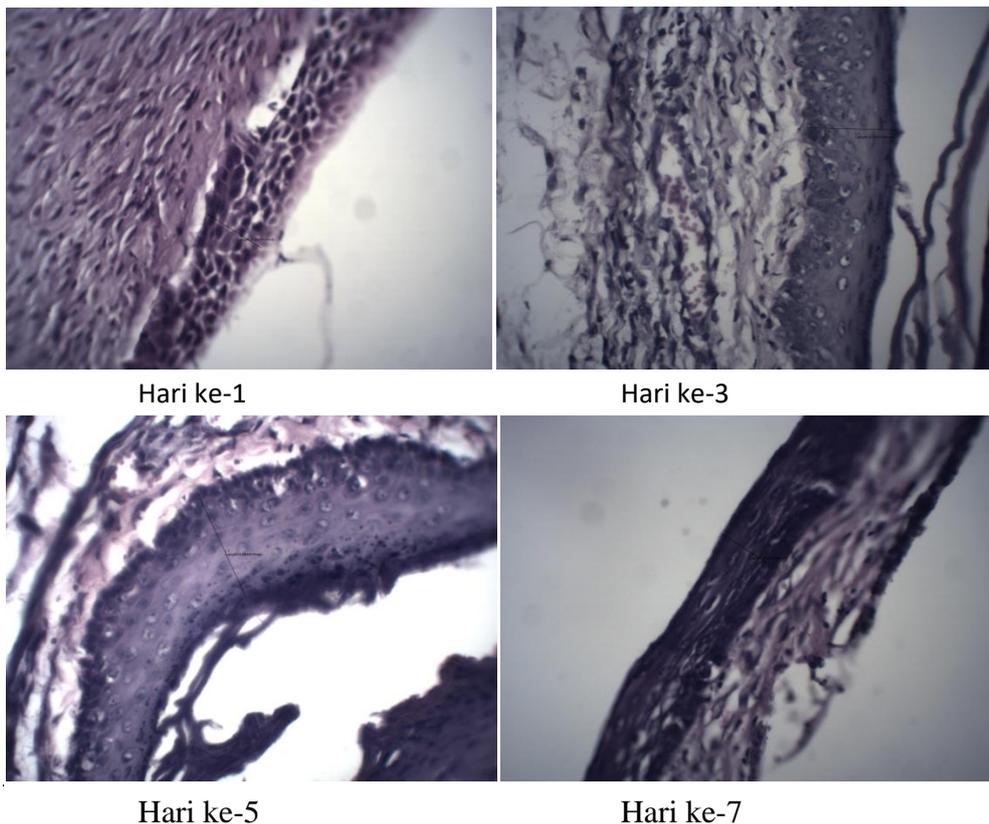
## B. Hasil Penelitian

Tabel 1. Rata-rata kandungan estrogen pada hari ke-8, 16, 47 paska ovariektomi

Kelompok	Rata-rata konsentrasi estrogen dalam darah (ng/L)		
	Hari ke-8 (sebelum ovariektomi)	Hari ke-16 (7 hari paska ovariektomi)	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

Tabel diatas menunjukkan bahwa kadar estrogen tikus hari ke-8 pada kelompok 1 (ulkus+kenalog) sebesar 16,04 ng/L dan mengalami penurunan pada hari ke-47 menjadi 14,36 ng/L. Kadar estrogen tikus hari ke-8 sebelum ovariektomi pada kelompok 2 (ovariektomi+ulkus+kenalog) sebesar 11,15 ng/L, 7 hari paska ovariektomi mengalami penurunan menjadi 10,64 ng/L. Pada hari ke-47 kadar estrogen mengalami penurunan lagi menjadi 10,41 ng/L. Kadar estrogen tikus hari ke-8 sebelum ovariektomi pada kelompok 3 (ovariektomi+ulkus+ekstrak) sebesar 12,95 ng/L, 7 hari paska ovariektomi mengalami penurunan menjadi 9,48 ng/L. Pada hari ke-47 atau 30 hari paska

pemberian ekstrak, kadar estrogen mengalami kenaikan lagi menjadi 13,80 ng/L. Kadar estrogen tikus hari ke-8 sebelum ovariectomi pada kelompok 4 (ovariectomi+ulkus) sebesar 11,56 ng/L, 7 hari paska ovariectomi mengalami penurunan menjadi 11,20 ng/L. Pada hari ke-47 kadar estrogen mengalami penurunan lagi menjadi 6,42 ng/L. Kadar estrogen tikus hari ke-8 pada kelompok 5 (ulkus) sebesar 15,01 ng/L. Pada hari ke-47 kadar estrogen mengalami penurunan menjadi 13,84 ng/L. Dari hasil yang telah didapatkan, dapat diketahui bahwa kelompok yang mengalami kenaikan kadar estrogen yaitu kelompok 3 sebesar 0,85 ng/L.



Gambar 3. Gambaran epitel jaringan gingiva tikus kelompok 3 pada hari ke-1, 3, 5 dan 7 menggunakan pewarnaan HE dengan perbesaran 100x

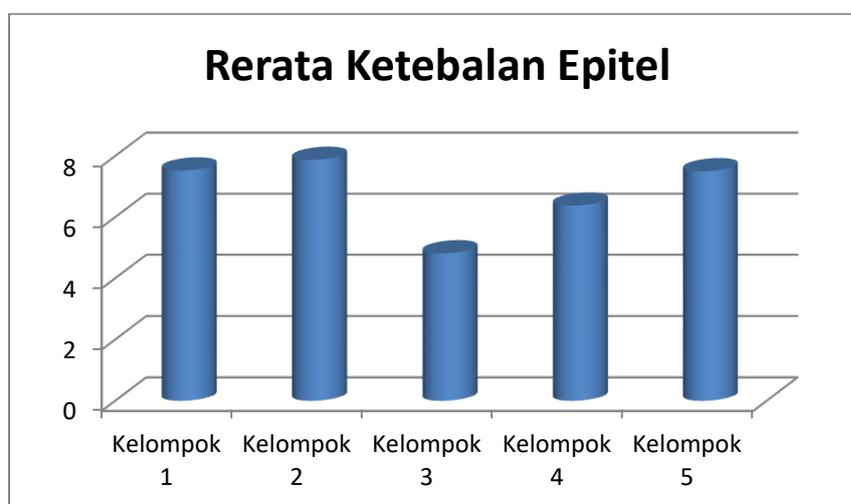
Pada hari ke-1 sudah terjadi penebalan lapisan epitel ditepi luka, ini merupakan aspek awal dari proses epitelisasi. Pada hari ke-3 epitel tampak

lebih tebal dari hari ke-1. Pada hari ke-5 sebagian besar lapisan epitel mengalami sedikit penebalan dari hari ke-3. Pada hari ke-7 sudah menunjukkan bahwa epitel telah terbentuk secara baik. Epitel mengalami penurunan ketebalan dari hari ke-5.

Hasil rata-rata ketebalan epitel pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 2. Tabel menunjukkan lapisan epitel pada masing-masing kelompok pada hari ke-1, ke-3, ke-5, dan ke-7.

Tabel 2. Rerata Ketebalan Epitel

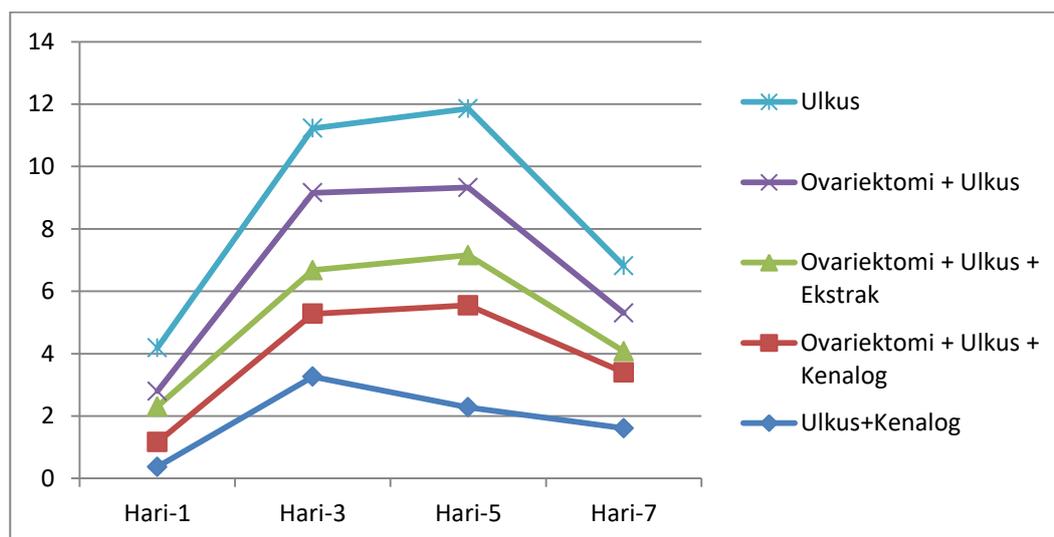
Kelompok Penelitian	Rerata $\pm$ Standar Deviasi ( $\mu\text{m}$ )
1 = Ulkus + Kenalog	7,523 $\pm$ 1,21511
2 = Ovariectomi + Ulkus + Kenalog	7,871 $\pm$ 1,0177
3 = Ovariectomi + Ulkus + Ekstrak	4,814 $\pm$ 0,40151
4 = Ovariectomi + Ulkus	6,376 $\pm$ 0,90648
5 = Ulkus	7,499 $\pm$ 0,52591



Gambar 4. Rerata Ketebalan Epitel

Pada gambar terlihat bahwa rata-rata ketebalan epitel pada kelompok 1 (ulkus+kenalog) adalah 7,523  $\mu\text{m}$ ; rata-rata ketebalan epitel pada kelompok 2 (ovariektomi+ulkus+kenalog) adalah 7,871  $\mu\text{m}$ ; rata-rata ketebalan epitel pada kelompok 3 (ovariektomi+ulkus+ekstrak) adalah 4,814  $\mu\text{m}$ ; rata-rata ketebalan epitel pada kelompok 4 (ovariektomi+ulkus) adalah 6,376  $\mu\text{m}$ ; dan rata-rata ketebalan epitel pada kelompok 5 (ulkus) adalah 7,499  $\mu\text{m}$ .

Hasil data peningkatan ketebalan epitel pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 5. Pola Peningkatan Ketebalan Epitel Masing-Masing Kelompok

Pada grafik menunjukkan peningkatan ketebalan epitel memiliki pola yang sama, yaitu pada hari ke-3 mulai meningkat drastis dan pada hari ke-7 ketebalan epitel semakin menipis.

Data yang telah didapat tersebut kemudian diolah dengan menggunakan SPSS. Pertama dilakukan uji normalitas menggunakan

*Saphiro-Wilk* karena sampel  $<50$  untuk mengetahui apakah persebaran data pada masing-masing kelompok normal atau tidak.

Tabel 3. Uji Normalitas Ketebalan Epitel pada Hari Ke-7

<b>Tests of Normality</b>				
	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
ketebalan_epitel	kelompok 1	.919	3	.448
	kelompok 2	.883	3	.333
	kelompok 3	.844	3	.225
	kelompok 4	.961	3	.618
	kelompok 5	.935	3	.508

Tabel diatas adalah hasil uji normalitas ketebalan epitel pada tiap-tiap kelompok pada hari ke-7. Pada kelompok 1 nilai  $p=0,448$ ; pada kelompok 2 nilai  $p=0,333$ ; pada kelompok 3 nilai  $p=0,225$ ; pada kelompok 4 nilai  $p=0,618$ , pada kelompok 5 nilai  $p=0,508$ . Semua kelompok menunjukkan nilai signifikan  $p>0,05$  yang berarti sebaran data semua kelompok adalah normal.

Tabel 4. Uji hipotesis ketebalan epitel menggunakan *One-Way* Anova pada hari ke-7

<b>ANOVA</b>			
ketebalan_epitel			
	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.063	2.553	.105
Within Groups	.025		

Hasil signifikan yang didapatkan adalah  $p=0,105$  dimana nilai  $p>0,05$  berarti  $H_0$  diterima yang menunjukkan bahwa pada data tersebut tidak terdapat perbedaan ketebalan epitel yang signifikan diantara kelima

kelompok. Hal ini bisa disebabkan karena sistem imun dan *intake* makanan yang berbeda setiap tikus.

Tabel 5. Uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan ketebalan epitel tiap kelompok pada hari ke-7

<b>Multiple Comparisons</b>				
Dependent Variable: ketebalan_epitel				
LSD				
(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
kelompok 1	kelompok 2	-.060333	.128606	.649
	kelompok 3	.312000*	.128606	.036
	kelompok 4	.127333	.128606	.345
	kelompok 5	.032000	.128606	.809
kelompok 2	kelompok 1	.060333	.128606	.649
	kelompok 3	.372333*	.128606	.016
	kelompok 4	.187667	.128606	.175
	kelompok 5	.092333	.128606	.489
kelompok 3	kelompok 1	-.312000*	.128606	.036
	kelompok 2	-.372333*	.128606	.016
	kelompok 4	-.184667	.128606	.182
	kelompok 5	-.280000	.128606	.055
kelompok 4	kelompok 1	-.127333	.128606	.345
	kelompok 2	-.187667	.128606	.175
	kelompok 3	.184667	.128606	.182
	kelompok 5	-.095333	.128606	.476
kelompok 5	kelompok 1	-.032000	.128606	.809
	kelompok 2	-.092333	.128606	.489
	kelompok 3	.280000	.128606	.055
	kelompok 4	.095333	.128606	.476

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kelompok 3 (ovariektomi+ulkus+ekstrak) memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok 2 (ovariektomi+ulkus+kenalog), namun tidak memiliki perbedaan

yang signifikan terhadap kelompok 4 (ovariektomi+ulkus) dan kelompok 5 (ulkus).

### C. Pembahasan

Pada tabel rata-rata ketebalan epitel menunjukkan kelompok dengan rata-rata epitel paling tipis adalah kelompok 3 (ovariektomi+ulkus+ekstrak) yaitu sebesar 4,814  $\mu\text{m}$ . Kenalog in Oral Base merupakan salah satu kortikosteroid topikal yang mengandung *triamcinolone acetonide* 0,1% untuk penanganan inflamasi mukosa oral. Menurut Skidmore–Roth (2014), *triamcinolone acetonide* memiliki kontraindikasi terhadap infeksi virus, jamur, atau bakteri pada mulut dan tenggorokan. Hal tersebut perlu diperhatikan karena penggunaan kortikosteroid pada masa infeksi aktif dapat menekan sistem imun tubuh (McGee dan Hirschmann, 2008). Efek samping kortikosteroid topikal pada mukosa oral salah satunya adalah meningkatkan pertumbuhan *Candida sp.* dalam rongga mulut yang dapat menyebabkan kandidiasis (Savage dan McCullough, 2005). Adanya kontraindikasi dan efek samping yang tinggi akibat penggunaan obat antiinflamasi golongan steroid, maka saat ini banyak dikembangkan pengobatan yang berasal dari bahan alami seperti suplemen dan obat herbal sebagai pereda rasa nyeri dan antiinflamasi (Maroon dkk., 2010).

Tempe merupakan makanan hasil fermentasi dari kedelai. Kedelai termasuk kelompok flavonoid, yaitu salah satu bahan pangan penghasil antioksidan alami. Salah satu komponen penting/senyawa bioaktif yang terdapat dalam kedelai dan bertindak sebagai antioksidan adalah

isoflavon(Saija dkk, 1995). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kosalec (2005), isoflavon dapat berperan dalam mengurangi pelepasan radikal bebas, mengatur respon kekebalan tubuh, dan menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Flavonoid dapat berfungsi sebagai anti-bakteri, antiinflamasi, dan *immunoregulatory* alami. Selain dapat digunakan sebagai antiinflamasi, kedelai juga berperan untuk kesehatan yang lain.

Pada pola peningkatan ketebalan epitel dapat dilihat bahwa hasil yang didapat memiliki rata-rata yang cukup berbeda tiap kelompok. Hal ini disebabkan karena pada saat penggoresan tidak diseragamkan diameter gingiva yang disayat, selain itu nutrisi yang didapat oleh tiap tikus berbeda. Dari perhitungan statistik diperoleh hasil bahwa antara kelompok 3 dan kelompok kontrol memiliki signifikansi  $>0,055$  yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok 3 (ovariektomi, ulkus, ekstrak) dengan kelompok kontrol (induksi ulkus) saja. Ini disebabkan karena tikus pada kelompok 3 yang sudah diovariektomi tetap diberi ekstrak sehingga penurunan estrogen dapat diatasi. Karena tidak ada perbedaan yang signifikan, maka dapat diartikan bahwa ekstrak tepung tempe kedelai bisa menaikkan estrogen dari tikus yang telah diovariektomi. Hal ini juga diperkuat dengan data estrogen yang diperoleh peneliti, yaitu kenaikan kadar estrogen pada kelompok 3 sebesar 0,85 ng/L. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sezer (2005), dijelaskan bahwa penyembuhan dengan epitel yang lebih tipis adalah yang lebih baik. Hal ini disebabkan karena epitel kulit akan terjadi perbaikan sel secara terus-menerus dan lapisan basal menuju ke superfisial. Pada epitel yang tebal masih terjadi proses stimulasi fibroblas,

sitokin, maupun sejumlah *growth factor*. Dengan demikian penyembuhan yang lebih baik adalah jaringan yang memiliki ketebalan epitel yang paling rendah. Penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan ekstrak tepung tempe kedelai memiliki rata-rata ketebalan epitel yang paling tipis jika dibandingkan kelompok lainnya. Hal tersebut mengandung makna bahwa ekstrak tepung tempe kedelai berpengaruh terhadap ketebalan epitel pada ulkus traumatik.