



**STRUKTUR HISTOLOGI GINJAL DAN KADAR KALSIMUM DARAH
MENCIT (*Mus musculus*) STRAIN SWISS WEBSTER
OVARIEKTOMI PASCA PEMBERIAN EKSTRAK
TEPUNG TEMPE KEDELAI**

SKRIPSI

Oleh:

**Nurul Aini Afifatus Solehah
NIM 121810401033**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**STRUKTUR HISTOLOGI GINJAL DAN KADAR KALSIMUM DARAH
MENCIT (*Mus musculus*) STRAIN SWISS WEBSTER
OVARIEKTOMI PASCA PEMBERIAN EKSTRAK
TEPUNG TEMPE KEDELAI**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Nurul Aini Afifatus Solehah
NIM 121810401033**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Dengan sepenuh hati, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Ibunda Mutmainah, Ayahanda Zainudin, nenek Nasrifah, dan kakek Muhammad Ali (Alm) tercinta, yang telah mendidik, menjaga dan mengiringi langkah saya dengan limpahan doa, dukungan serta kasih sayang sepanjang masa;
2. kedua saudari saya Risalatul Muawanah dan Maidatul Hasanah yang selalu memberi motivasi dan inspirasi;
3. keluarga besar tercinta yang telah memberi kasih sayang, doa, saran dan semangat luar biasa;
4. guru-guru dan dosen-dosen yang telah mendidik, memberikan ilmu dan membimbing saya dengan penuh kesabaran;
5. Almamater tercinta Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

“Sesungguhnya hanya orang-orang yang bersabarlah yang dicukupkan pahala mereka
tanpa batas”

(QS.Az- Zumar 39: 10)^{*)}

“Sampaikanlah dariku walau hanya satu ayat”

(HR. Bukhari)^{**)}

“Kita hidup untuk saat ini, kita bermimpi untuk masa depan, dan kita belajar untuk
kebenaran abadi”

(Chiang Kai Shek)^{***)}

^{*)} Kementerian Agama Republik Indonesia, Yayasan Penyelenggara Penerjemah/Penafsiran Al Qur'an. 2009. *Mushaf Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bogor: Nur Publishing.

^{**)} Almath, M. F. 2003. *1100 Hadist Terpilih*. Jakarta: Gema Insani Press.

^{***)} Encyclopedia Britannica. 2014. *Chiang Kai-shek Chinese Statesman*.
www.britannica.com/biography/Chiang-Kai-shek [31 Maret 2016].

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nurul Aini Afifatus Solehah

NIM : 121810401033

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Struktur Histologi Ginjal Dan Kadar Kalsium Darah Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai" adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Penelitian ini didanai sepenuhnya oleh Dra. Mahriani, M.Si. dan tidak dapat dipublikasikan tanpa ijin dari pihak yang mendanai. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 01 Juni 2016

Yang Menyatakan,

Nurul Aini Afifatus Solehah
NIM 121810401033

SKRIPSI

**STRUKTUR HISTOLOGI GINJAL DAN KADAR KALSIUM DARAH
MENCIT (*Mus musculus*) STRAIN SWISS WEBSTER
OVARIEKTOMI PASCA PEMBERIAN EKSTRAK
TEPUNG TEMPE KEDELAI**

Oleh

Nurul Aini Afifatus Solehah
NIM 121810401033

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Mahriani, M.Si.
Dosen Pembimbing Anggota : Dra. Susantin Fajariyah, M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Struktur Histologi Ginjal dan Kadar Kalsium Darah Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai**”, telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji,

Ketua,

Sekretaris,

Dra. Mahriani, M.Si.
NIP 195703151987022001

Dra. Susantin Fajariyah, M.Si.
NIP 196411051989022001

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd.
NIP 195805281988021002

Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si.
NIP 197306012000032001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Struktur Histologi Ginjal dan Kadar Kalsium Darah Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariektomi pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai; Nurul Aini Afifatus Solehah, 121810401033; 2016: 35 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Ginjal disusun oleh unit fungsional (nefron) yang berperan dalam proses osmoregulasi dan ekskresi. Beberapa proses yang terjadi dalam ginjal dipengaruhi oleh estrogen. Rendahnya hormon estrogen dapat meningkatkan inflamasi glomerulus ginjal karena berkurangnya inhibitor TGF- 1 serta menurunkan proses reabsorpsi kalsium dan meningkatkan ekskresi kalsium melalui ginjal. Penelitian tentang fitoestrogen telah banyak dilakukan untuk mengatasi permasalahan yang disebabkan oleh rendahnya kadar estrogen. Tempe berpotensi sebagai pengganti estrogen endogen karena mengandung fitoestrogen. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap struktur histologi ginjal dan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster yang diovariektomi.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*) betina strain Swiss Webster sebanyak 45 ekor. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (mencit normal tanpa ovariektomi dan tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai), kontrol positif (mencit ovariektomi tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai), Dosis 1 (0,21 g/ml/hari), Dosis 2 (0,42 g/ml/hari), Dosis 3 (0,63 g/ml/hari). Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dilakukan selama 10, 20 dan 30 hari secara *gavage*. Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi persentase inflamasi glomerulus ditandai dengan infiltrasi eritrosit ke dalam glomerulus pada preparat penampang melintang ginjal dan rata-rata kadar kalsium serum darah mencit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dapat menurunkan persentase inflamasi glomerulus ginjal dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit pasca ovariektomi. Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai

dosis 0,63 g/ml/hari selama 30 hari merupakan dosis dan lama perlakuan yang mampu menurunkan persentase inflamasi glomerulus paling rendah. Sedangkan Dosis 0,63 g/ml/hari selama 20 hari adalah dosis dan lama perlakuan yang mampu meningkatkan kadar kalsium darah paling tinggi pada mencit betina strain Swiss Webster ovariektomi.



PRAKATA

Puji Syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Struktur Histologi Ginjal dan Kadar Kalsium Darah Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster Ovariektomi pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena, itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dra. Mahriani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dra. Susantin Fajariyah, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian untuk memberikan bimbingan, pengarahan serta motivasi dalam penulisan skripsi ini;
2. Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd., selaku Dosen Penguji I dan Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji II, yang telah memberi saran serta kritik dalam penulisan skripsi ini;
3. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis selama menjadi mahasiswa;
4. segenap dosen, staff akademik, dan teknisi laboratorium Jurusan Biologi yang telah banyak membantu saya selama masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini;
5. staff teknisi laboratorium Patologi dan Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada dan staff teknisi laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu saya dalam penyelesaian penelitian ini;
6. rekan kerja penelitian dan sahabat tercinta Nur Fadilah, Riza Oktaviana, Dita Ayu Faradila, Azizatul Hikmah, Qonita Arifiana, Dewi Lina Suryani, Antin Siti Anisa,

Dwi Erlinda, Nindita Fitria Primasari, Fita Aprilia dan Yurinda Maria Ulfa atas kerjasama, semangat dan kebersamaannya dalam suka maupun duka;

7. kakak angkatan Dia Qori Yaswinda, Arlina Mustika Sari, dan Nida'ul Hikmah yang telah memberi masukan, bantuan dan dukungannya selama penelitian berlangsung;
8. saudara-saudari tercinta angkatan 2012 “Biozva” Jurusan Biologi Universitas Jember terimakasih atas kebersamaan, kenangan dan semangatnya yang tak terlupakan;
9. semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu per satu

Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 01 Juni 2016

Penulis

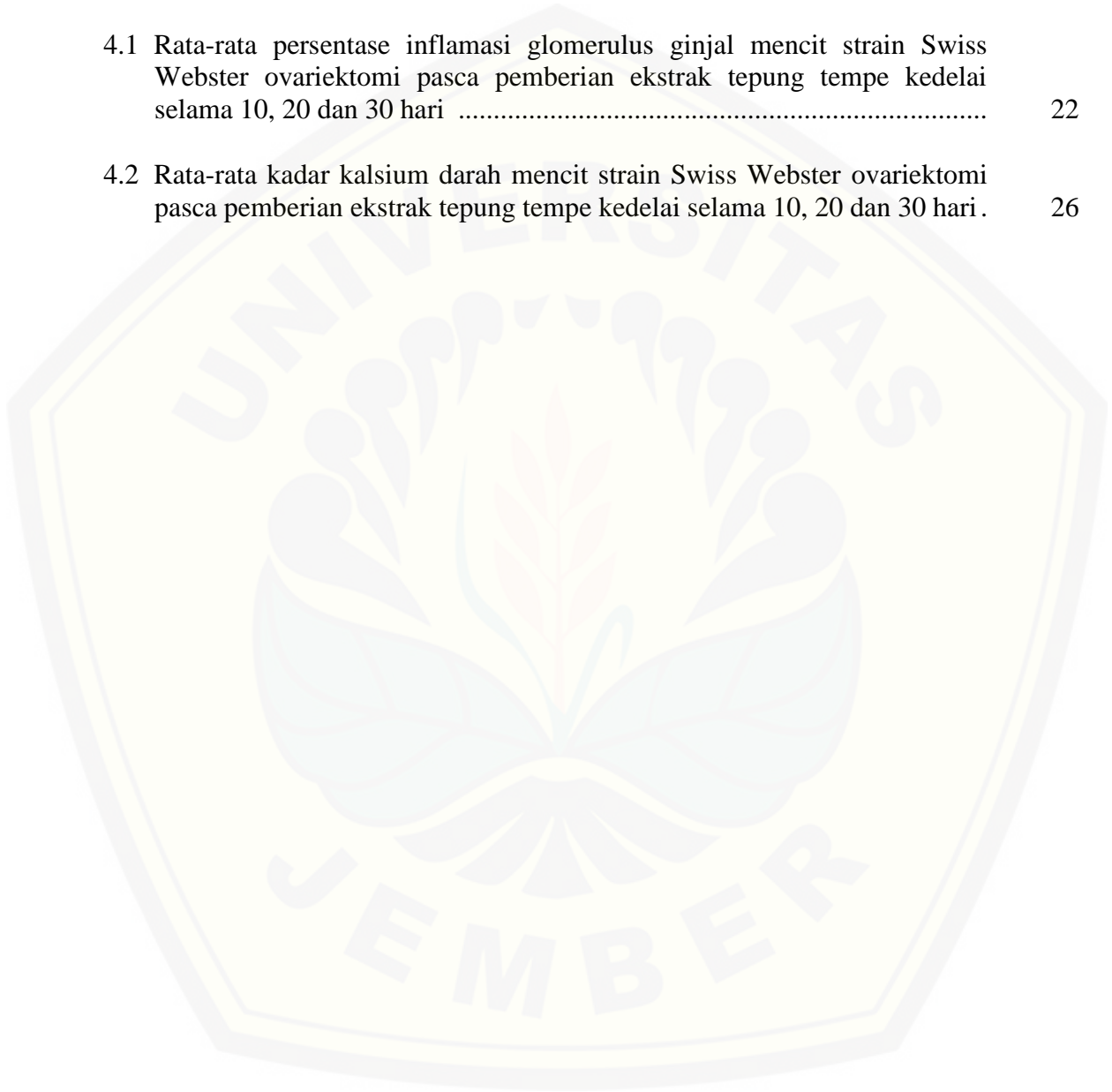
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Struktur Histologi dan Fungsi Ginjal	4
2.2 Pengaturan Kadar Kalsium Darah	6
2.3 Sintesis dan Struktur Kimia Hormon Estrogen	8
2.4 Efek Defisiensi Estrogen terhadap Struktur Histologi Ginjal	9
2.5 Efek Defisiensi Estrogen terhadap Kadar Kalsium Darah	10
2.6 Struktur Kimia dan Kandungan Fitoestrogen Tempe Kedelai	11

2.7 Hipotesis	12
BAB 3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.2.1 Alat	13
3.2.2 Bahan	14
3.3 Rancangan Penelitian	15
3.4 Tahapan Penelitian	17
3.4.1 Pemeliharaan Hewan Uji	17
3.4.2 Pembuatan Mencit Ovariectomi (OVX).....	17
3.4.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Tempe Kedelai.....	17
3.4.4 Perlakuan Hewan Uji	18
3.4.5 Pengukuran Kadar Kalsium Darah	18
3.4.6 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal	19
3.5 Parameter Uji	20
3.6 Analisis Data	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Struktur Histologi Ginjal Mencit pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai	22
4.2 Kadar Kalsium Darah Mencit pasca Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai	26
BAB 5. PENUTUP.....	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-rata persentase inflamasi glomerulus ginjal mencit strain Swiss Webster ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20 dan 30 hari	22
4.2 Rata-rata kadar kalsium darah mencit strain Swiss Webster ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20 dan 30 hari .	26



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur anatomi ginjal	4
2.2 Struktur histologi penampang melintang korteks ginjal	6
2.3 Pengaturan homeostatis kadar kalsium di dalam tubuh oleh hormon paratiroid dan kalsitonin	8
2.4 Struktur kimia senyawa-senyawa estrogen	9
2.5 Struktur histologi glomerulus yang mengalami inflamasi	10
2.6 Struktur kimia estrogen dan fitoestrogen yang memiliki kesamaan pada gugus fenol dan hidroksil	11
3.1 Diagram rancangan penelitian	16
4.1 Penampang melintang ginjal mencit pengecatan HE (Haematoxilin-Eosin)	23

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penentuan Dosis.....	36
B. Hasil uji normalitas data pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap persentase inflamasi glomerulus ginjal mencit	37
C. Hasil analisis <i>One Way</i> ANOVA dan uji <i>Duncan</i> pengaruh dosis ekstrak tepung tempe kedelai terhadap persentase inflamasi glomerulus ginjal mencit.....	38
D. Hasil analisis <i>One Way</i> ANOVA dan uji <i>Duncan</i> pengaruh lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap persentase inflamasi glomerulus ginjal	41
E. Hasil analisis <i>General Linear Means (GLM) Repeated Measures</i> pengaruh korelasi dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap persentase inflamasi glomerulus ginjal mencit	43
F. Hasil Uji Normalitas data pengaruh ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar kalsium serum darah mencit.....	44
G. Hasil analisis <i>One Way</i> ANOVA dan Uji <i>Duncan</i> pengaruh dosis ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar kalsium serum darah mencit.....	45
H. Hasil analisis <i>One way</i> ANOVA pengaruh lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar kalsium serum darah mencit	48
I. Hasil analisis <i>General Linear Means (GLM) Repeated Measures</i> pengaruh korelasi dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar kalsium darah mencit.....	50
J. Preparat Penampang Melintang Ginjal Mencit (<i>Mus musculus</i>) Strain Swiss Webster	51
K. Hasil uji normalitas data berat badan mencit	54
L. Hasil uji statistik data berat badan mencit	55

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ginjal disusun oleh unit struktural dan fungsional yang disebut nefron. Salah satu penyusun nefron adalah glomerulus yang berperan dalam proses filtrasi (Junqueira dan Carneiro, 2007). Beberapa proses yang terjadi dalam ginjal dipengaruhi oleh estrogen. Estrogen merupakan hormon steroid yang dihasilkan oleh sel teka interna folikel ovarium, korpus luteum, dan plasenta (Ganong, 1995). Negulescu *et al.* (2002), menyatakan bahwa estrogen berperan dalam menghambat peran *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF- 1) yang dapat menyebabkan inflamasi glomerulus ginjal. Kondisi defisiensi estrogen dapat menimbulkan risiko inflamasi glomerulus karena berkurangnya inhibitor TGF- 1.

Hoenderop *et al.* (2005), menyatakan defisiensi estrogen dapat menurunkan proses reabsorpsi kalsium dan meningkatkan ekskresi kalsium melalui ginjal. Hal tersebut akan mengakibatkan banyak kalsium terbuang dari tubuh, sehingga dapat meningkatkan risiko *hypocalsemia* (kadar kalsium darah berada dalam kondisi rendah). Abel *et al.* (2002), mengemukakan bahwa estrogen berperan dalam meningkatkan regulasi ekspresi protein *Epithelial Calcium Chanel* (ECaCl) di ginjal agar reabsorpsi kalsium meningkat. ECaCl merupakan protein kanal epitelial yang berfungsi sebagai saluran transpor transseluler reabsorpsi kalsium di tubulus distal dan tubulus proksimal.

Fitoestrogen merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki aktivitas biologi serupa dengan estrogen. Pada tanaman dikenal beberapa senyawa fitoestrogen antara lain isoflavon (Herman *et al.*, 1995). Penelitian tentang fitoestrogen telah banyak dilakukan untuk mengatasi permasalahan yang disebabkan oleh rendahnya kadar estrogen. Maulana (2010), menyebutkan bahwa ekstrak tauge yang mengandung fitoestrogen dengan dosis 0,2 ml/20 gBB selama 15 hari pada

mencit jantan strain Swiss Webster dapat mengurangi kerusakan glomerulus ginjal. Menurut Sabri (2011), fitoestrogen dalam ekstrak etanol batang sipatah-patah (*Cissus quadrangula* L.) dengan dosis 750 mg/kgBB/24 jam/oral selama 6 bulan pada tikus ovariektomi dapat meningkatkan kadar mineral kalsium darah.

Tempe merupakan makanan yang terbuat dari olahan biji kedelai dan banyak diminati sebagai lauk-pauk harian masyarakat Indonesia. Nakajima *et al.* (2005), menyatakan bahwa tempe berpotensi sebagai pengganti estrogen endogen dan menurut Unitley (2008), di dalam tempe terdapat kandungan fitoestrogen isoflavon genistein, daidzein, glisitein serta faktor II. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang efek pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap struktur histologi ginjal dan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster pasca ovariektomi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- a. Apakah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai mampu menurunkan presentase inflamasi glomerulus dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi?
- b. Berapakah dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai yang paling berpengaruh menurunkan presentase inflamasi glomerulus dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi?

1.3 Batasan Masalah

Struktur histologi ginjal yang diamati dalam penelitian ini adalah glomerulus yang mengalami inflamasi ditandai oleh infiltrasi eritrosit.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui apakah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai mampu menurunkan presentase inflamasi glomerulus dan meningkatkan kadar kalsium darah (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi.
- b. Mengetahui dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai yang paling berpengaruh menurunkan presentase inflamasi glomerulus dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi.

1.5 Manfaat

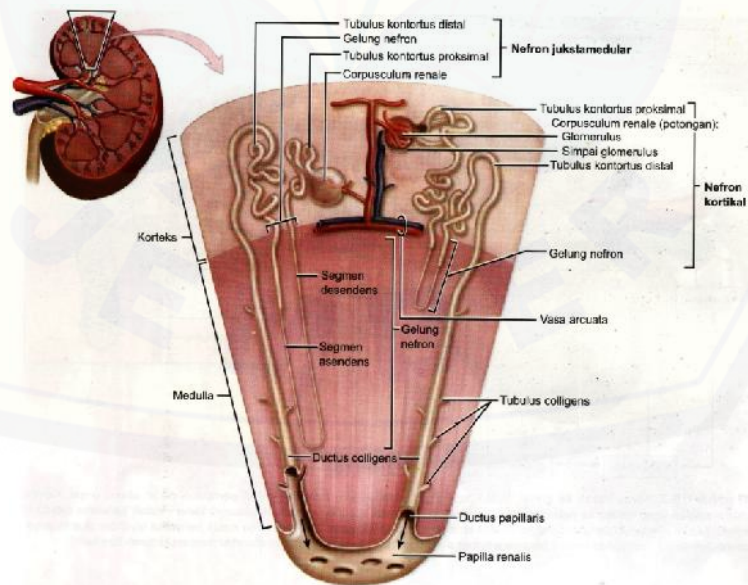
Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat berupa informasi ilmiah mengenai dosis dan lama ekstrak tepung tempe kedelai yang mampu menurunkan inflamasi glomerulus ginjal dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster pasca ovariektomi sehingga dapat dijadikan alternatif sumber estrogen eksogen alami.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur Histologi dan Fungsi Ginjal

Ginjal merupakan organ vital dalam tubuh yang terletak di dinding posterior abdomen. Ginjal memiliki sisi medial cekung dengan permukaan lateral yang cembung. Peran ginjal secara umum adalah untuk osmoregulasi dan ekskresi (Hickman *et al.*, 2008).

Ginjal terbagi menjadi korteks dan medula. Di bagian korteks terdapat nefron yang tersusun atas glomerulus, tubulus proksimal, gelung nefron, dan tubulus distal yang strukturnya berbelit membentuk pars convoluta (Gambar 2.1). Selain terdapat pars convoluta, di area ini juga terdapat arteri dan vena interlobular. Medula terdiri atas piramida-piramida ginjal yang dipisahkan oleh penjururan korteks yaitu columna renalis. Setiap piramida medula dengan jaringan korteks di dasarnya dan di sepanjang sisinya membentuk suatu lobus ginjal (Junqueira dan Carneiro, 2007).



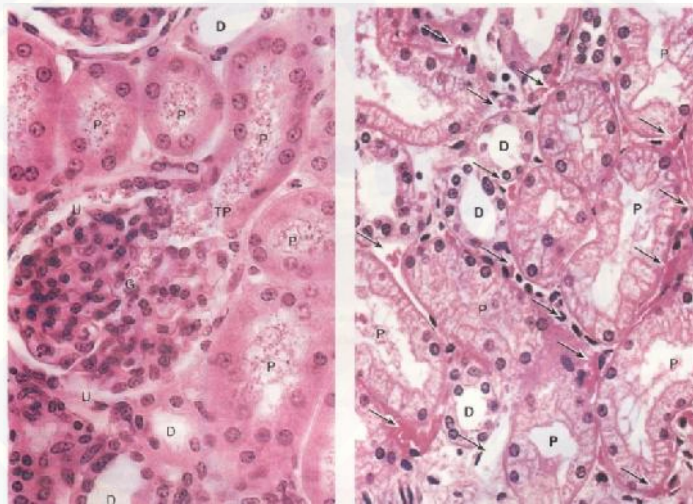
Gambar 2.1 Struktur anatomi ginjal (Sumber: Junqueira dan Carneiro, 2007)

Menurut Salim (2014), struktur histologi ginjal salah satunya ditunjukkan oleh struktur glomerulus dan sel-sel tubulus yang normal. Glomerulus dilapisi oleh kapsula Bowman, lapisan internal glomerulus (lapisan viseral) melapisi kapiler glomerulus, sedangkan lapisan parietal eksternal membentuk permukaan luar glomerulus. Di antara dua lapisan itu, terdapat ruang kapsular yang berfungsi sebagai tempat untuk menampung cairan yang disaring melalui dinding kapiler dan lapisan viseral.

Lapisan parietal kapsula Bowman tersusun oleh selapis sel epitel skuamosa yang ditunjang lamina basal dan selapis tipis serat retikular. Sel-sel lapisan viseral yaitu podosit, memiliki badan sel yang menjulur menjadi beberapa prosesus primer. Setiap prosesus primer menjulurkan banyak prosesus sekunder atau pedikel (kaki) yang mengelilingi kapiler glomerulus. Pedikel ini sering mengunci dan membentuk celah-celah yang disebut sebagai celah filtrasi. Membran basal glomerulus merupakan suatu membran makromolekul selektif sebagai penyaring fisis untuk molekul yang bermuatan negatif. Makromolekul seperti protein dan partikel lain yang berdiameter lebih besar dari 10 nm atau melebihi 70 kDa, seperti albumin tidak mudah menembus membran basal glomerulus ini. Glomerulus juga tersusun oleh sel mesangial. Sel mesangial dan matriks yang mengelilinginya membentuk mesangium yang berfungsi sebagai penyangga fisis dan kontraksi, fagositosis, serta sintesis dan sekresi beberapa sitokin yang penting untuk pertahanan imun dan perbaikan di glomerulus (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Di kutub tubular, epitel skuamosa pada lapisan parietal berhubungan langsung dengan epitel kuboid tubulus proksimal. Tubulus berlekuk panjang ini lebih panjang dari tubulus distal sehingga lebih banyak terlihat pada potongan sediaan histologi korteks ginjal (Gambar 2.2). Sel tubulus proksimal mereabsorpsi 60-65% air yang disaring dari glomerulus. Sel-sel tubulus proksimal memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya sejumlah besar mitokondria. Apeks sel memiliki banyak mikrovili panjang yang membentuk *brush border* untuk reabsorpsi. Sel epitel kuboid tubulus distal berbeda dengan sel epitel kuboid pada tubulus proksimal. Sel

epitel kuboid tubulus distal lebih kecil dan tidak memiliki *brush border*. Karena sel-sel tubulus distal lebih kecil dan pipih dari sel tubulus proksimal, maka terlihat lebih banyak inti di dinding tubulus distal tersebut. Sel-sel tubulus kontortus distal memiliki banyak invaginasi membran basal dan mitokondria yang serupa dengan mitokondria tubulus proksimal yang menunjukkan fungsi transpor ionnya (Junqueira dan Carneiro, 2007).



Gambar 2.2 Struktur Histologi penampang melintang korteks ginjal perbesaran 400x (HE), huruf D menunjukkan tubulus kontortus distal P= tubulus kontortus proksimal, G= glomerulus, U= ruang kapsular, Tp= polus tubularis, anak panah= kapiler peritubular (Sumber: Junqueira dan Carneiro, 2007)

2.2 Pengaturan Kadar Kalsium Darah

Kalsium adalah mineral yang penting untuk metabolisme tubuh, unsur pembentuk tulang, penghubung antar saraf, kerja jantung, pergerakan otot dan lain-lain. Menurut Cunningham (1992), kalsium menyusun 1,5% sampai 2% dari 39% keseluruhan mineral tubuh. Dalam keadaan seimbang konsentrasi kalsium di dalam darah kurang lebih 2,25-2,60 mmol/l (9-10,4 mg/dl). Kalsium plasma berada dalam kesetimbangan dengan kadar kalsium tulang yang siap melakukan pertukaran. Adanya perubahan 1-5% dari kalsium darah menyebabkan mekanisme homeostasis mulai berperan untuk mengembalikan kadar kalsium pada kadar normal.

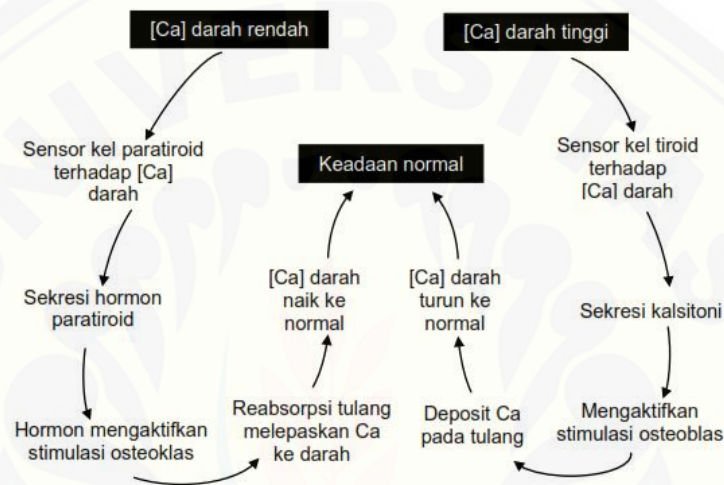
Penyerapan kalsium sebagian besar terjadi di duodenum dan jejunum bagian proksimal, sedangkan proses filtrasi kalsium sebagian besar terjadi di dalam ginjal. Sebanyak 98-99% dari jumlah kalsium yang difiltrasi akan diserap kembali (Cunningham, 1992). Penyerapan kembali kalsium 65% terjadi di tubulus proksimal, sedangkan sisanya sebagian besar diserap kembali melalui tubulus distal dan sebagian kecil melalui bagian asendens jerat Henle. Penyerapan kembali kalsium melalui tubulus distal dan asendens jerat henle merupakan proses transpor aktif (Ganong, 1995).

Homeostatis kadar kalsium sebagian besar dipengaruhi oleh hormon estrogen, hormon paratiroid, vitamin D, dan kalsitonin. Estrogen berperan dalam homeostatis kalsium melalui aktifitas osteoblas dan osteoklas tulang. Saat kadar kalsium darah berada dalam keadaan rendah, akan terjadi aktifitas osteoklas untuk melarutkan kalsium yang tersimpan dalam tulang dan melepaskannya ke dalam darah. Sebaliknya, saat kadar kalsium darah dalam keadaan berlebih, estrogen akan memicu aktifitas osteoblas dalam pembentukan tulang. Kelebihan kalsium darah akan disimpan ke dalam tulang sehingga kadar kalsium darah kembali normal (Sabri, 2011).

Rendahnya kadar kalsium darah akan memacu kelenjar paratiroid untuk meningkatkan sekresi hormon paratiroid. Hormon paratiroid ini mengikat reseptor khusus pada tulang dan sel tubulus ginjal. Pada ginjal, hormon paratiroid merangsang produksi vitamin D. Vitamin D bekerja pada usus halus untuk merangsang penyerapan kalsium makanan dan bersama dengan hormon paratiroid mendukung mobilisasi kalsium dari tulang. Pada saat yang sama, Vitamin D dan hormon paratiroid menyebabkan ginjal mereabsorpsi lebih banyak kalsium, sehingga kadar kalsium akan meningkat ke level normal (Guyton, 1996). Saat kalsium berada pada level normal akan terjadi umpan balik negatif untuk menghambat sekresi hormon paratiroid (Gambar 2.3).

Kalsitonin berpengaruh terhadap homeostatis kadar kalsium. Pengaruh kalsitonin bersifat antagonis dengan pengaruh hormon paratiroid. Pengaruh kalsitonin

pada ginjal mengimbangi aksi hormon paratiroid. Kalsitonin berperan menghambat absorpsi kalsium di usus. Kadar kalsium dalam darah yang tinggi akan menstimulus kelenjar tiroid untuk mensekresikan kalsitonin. Kalsitonin akan meningkatkan aktivitas penimbunan kalsium ke dalam tulang sehingga kadar kalsium dalam darah berkurang dan kembali pada level normal (Guyton, 1996).



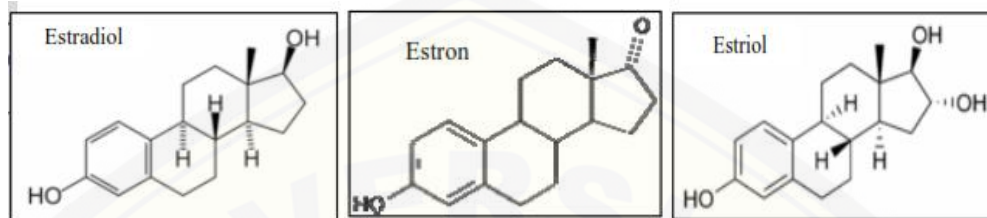
Gambar 2.3 Pengaturan homeostatis kadar kalsium di dalam tubuh oleh hormon paratiroid dan kalsitonin (Sumber: Sabri, 2011)

2.3 Sintesis dan Struktur Kimia Hormon Estrogen

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi primer pada wanita yang disintesis oleh organ reproduksi dan organ nonreproduksi. Menurut Cui *et al.* (2013), estrogen disintesis oleh organ reproduksi seperti ovarium, corpus luteum, dan plasenta. Estrogen juga disintesis oleh organ nonreproduksi seperti hati, jantung, otot, tulang dan otak. Sintesis estrogen oleh organ reproduksi dan nonreproduksi dikatalisis oleh aromatase yang berperan sebagai enzim utama dalam tahap akhir sintesis estrogen.

Di dalam tubuh, ditemui 3 jenis estrogen, yaitu estron (E1), estradiol (E2) dan estriol (E3) yang memiliki perbedaan struktur kimia seperti pada Gambar 2.4 (Rachman, 1999). Estradiol merupakan estrogen yang paling banyak disekresi dan

paling kuat sifat estrogeniknya. Kekuatan estrogenik estradiol adalah 12 kali dari kekuatan estrogenik estron dan 80 kali dari kekuatan estrogenik estriol. Oleh karenanya, estradiol disebut sebagai estrogen utama (Guyton, 1996).



Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa-senyawa estrogen (Sumber: Guyton, 1996)

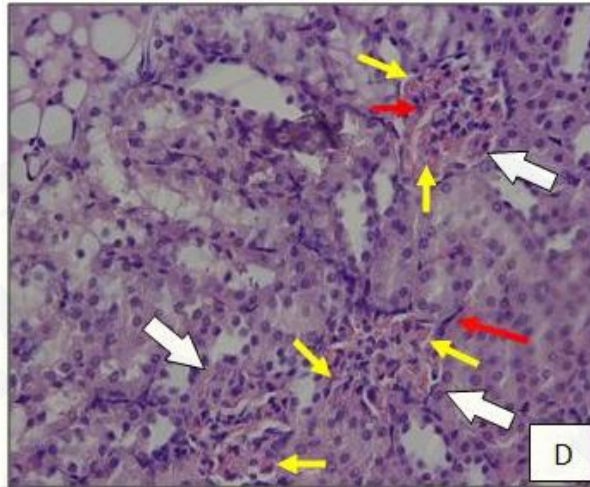
2.4 Efek Defisiensi Estrogen Terhadap Struktur Histologi Ginjal

Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, karena organ ini menerima 25-30% sirkulasi darah untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya kerusakan atau perubahan patologik sangat tinggi (Corwin, 2001). Menurut Salim (2014), rendahnya kadar estrogen akibat ovariectomi menyebabkan kerusakan struktur ginjal yang diindikasikan dengan perubahan histologi.

Reseptor estrogen alfa (ER) dan beta (ER) tersebar di dalam nefron ginjal sehingga ginjal menjadi salah satu organ target estrogen. Peran estrogen pada ginjal adalah menghambat peran *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF-1) sebagai faktor inflamasi. TGF-1 memicu inflamasi pada sel-sel mesangial glomerulus dengan mengaktifkan protein kinase CK2. Protein kinase CK2 yang aktif juga dapat mengaktifkan protein p53 yang lebih lanjut akan menyebabkan apoptosis sel. Estrogen berperan menghambat aktivasi protein CK2 oleh TGF-1, akibatnya aktivitas protein kinase CK2 dan protein p53 menjadi inaktif (Negulescu *et al.*, 2002).

Kusuma *et al.* (2014) menyatakan, inflamasi glomerulus ditandai dengan terjadinya kerusakan membran filtrasi glomerulus. Kerusakan membran filtrasi glomerulus mengakibatkan peningkatan permeabilitas pada membran tersebut,

sehingga memungkinkan molekul-molekul yang berukuran besar seperti sel darah merah atau eritrosit dapat ikut masuk ke dalam glomerulus (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Struktur histologi glomerulus yang mengalami inflamasi, panah kuning menunjukkan adanya infiltrasi eritrosit dalam glomerulus, panah putih menunjukkan glomerulus, dan panah merah menunjukkan glomerulus yang mengalami inflamasi (Sumber: Kusuma *et al.*, 2014)

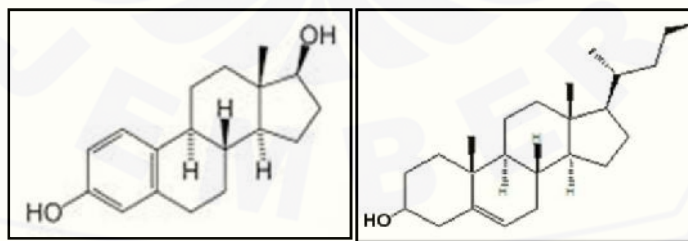
2.5 Efek Defisiensi Estrogen Terhadap Kadar Kalsium Darah

Estrogen merupakan salah satu hormon yang berperan dalam mengatur homeostatis kalsium. Estrogen mempengaruhi homeostatis kalsium dengan cara meningkatkan regulasi ekspresi protein *Epithelial Calcium Chanel* (ECaCl) di ginjal agar reabsorpsi kalsium meningkat. ECaCl adalah sebuah protein kanal kalsium (dikenal juga sebagai TRPV5) yang berfungsi sebagai saluran transpor transeluler reabsorpsi kalsium di epitel tubulus distal dan tubulus proksimal. Transpor kalsium masuk melalui ECaCl diikuti oleh difusi sitosolik dan difasilitasi oleh *Calcium Binding Protein* (Calbindin-D_{28K} atau Calbindin-D_{9K} atau oleh keduanya). Kalsium masuk ke membran basolateral oleh tekanan dari afinitas plasma membran Ca²⁺-ATPase (PMCA1b) dan Na⁺/Ca²⁺-*exchanger* (NCX1). Dari sinilah, ECaCl menjadi target estrogen dalam meningkatkan reabsorpsi kalsium di ginjal (Abel *et al.*, 2002).

Hoenderop *et al.* (2005), menyatakan bahwa penurunan estrogen mengakibatkan penurunan reabsorpsi kalsium dan peningkatan ekskresi kalsium melalui ginjal. Hal ini mengakibatkan banyak kalsium yang terbuang dari tubuh. Kekurangan asupan atau adanya gangguan penyerapan kalsium di dalam tubuh menurut Anderson *et al.* (2008), dapat memberi pengaruh berbeda pada berbagai tingkat usia. Jika terjadi pada usia anak-anak maka akan menimbulkan penyakit rakhitis dan osteomalasia pada orang dewasa serta meningkatkan risiko *hypocalsemia* (kadar kalsium darah dalam keadaan rendah).

2.6 Struktur Kimia dan Kandungan Fitoestrogen Tempe Kedelai

Fitoestrogen merupakan senyawa metabolit sekunder tanaman yang memiliki aktivitas biologi serupa dengan estrogen. Fitoestrogen dapat berikatan secara langsung dengan reseptor estrogen sehingga dapat menimbulkan respon seluler serupa dengan estrogen (Glover *and* Assinder, 2006). Ikatan antara fitoestrogen dengan reseptor estrogen dapat terjadi karena fitoestrogen memiliki persamaan struktur kimia dengan estrogen. Fitoestrogen memiliki gugus fenol dan gugus -OH (hidroksil) yang berjarak 1,0-11,5 Å pada intinya, sama dengan inti dari hormon estrogen (Gambar 2.6). Dengan struktur yang sama tersebut, fitoestrogen memiliki afinitas untuk dapat menduduki reseptor estrogen (Guyton, 1996).



a. Struktur kimia estrogen b. Struktur kimia fitoestrogen

Gambar 2.6 Struktur kimia estrogen dan fitoestrogen yang memiliki kesamaan pada gugus fenol dan hidroksil (Sumber: Guyton, 1996)

Menurut Arjmandi (2001), sumber makanan yang kaya fitoestrogen merupakan salah satu cara praktis dan aman untuk mengatasi masalah akibat defisiensi estrogen. Sumber makanan tersebut salah satunya adalah tempe. Tempe merupakan makanan dari biji kedelai yang dibuat dengan proses fermentasi. Menurut Unitley (2008), tempe mengandung fitoestrogen isoflavon dalam bentuk aglikon genistein, daidzein, glisitein dan faktor II. Haron *et al.* (2009), menyatakan bahwa proses fermentasi menyebabkan kandungan genistein dan daidzein dalam tempe lebih tinggi akibat aktifitas *Rhizopus oligosporus*. Mahriani dan Utami (2014), menyatakan bahwa kandungan genestein dari ekstrak tepung tempe kedelai kuning dengan fermentasi selama dua hari adalah 1542,39 ppm per gram.

2.7 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- a. Ekstrak tepung tempe kedelai mampu menurunkan inflamasi glomerulus dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi.
- b. Semakin tinggi dosis dan semakin lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai semakin menurunkan inflamasi glomerulus dan meningkatkan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2015 sampai Maret 2016. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Zoologi, Botani dan Biologi Dasar, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Penelitian juga dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi, Universitas Jember; serta di Laboratorium Patologi dan Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat pemeliharaan hewan uji, alat ovariektomi, alat ekstraksi tepung tempe, alat pengukuran kadar kalsium darah, serta alat pembuatan preparat histologi ginjal mencit. Alat pemeliharaan hewan uji di antaranya kandang mencit berukuran 34 x 25 x 12 cm (bak plastik dan penutup dari ram kawat besi), botol minum mencit, neraca analitik 200 x 0,1 g (*Ohaus*) dan jarum sonde lambung (20 gauge, 5 cm).

Alat Ovariektomi meliputi papan bedah, timbangan analitik 200 g (*Ohaus*), *sput injection* 1 cc/ml, *sput injection* 3 cc/ml, klem arteri, klem *kocher*, klem *masquito*, *needle holder*, pinset anatomi, pinset sirugis, gunting *metzenbaum*, gunting balutan, gunting runcing, eskavator, *paratus case*, silet, dan jarum sutura no. 2.

Alat ekstraksi tepung tempe kedelai yaitu *beaker glass* (1000 ml, 600 ml, dan 200 ml), gelas ukur 100 ml, botol *schott* (1000 ml dan 500 ml), corong plastik kecil, pipet tetes, spatula, cawan porselen 75 cc, *grinder*, saringan tepung, *rotary*

evaporator, waterbath, baki stainless steel, oven, pisau, baki plastik, talenan, sendok, dan cup ekstrak kecil.

Alat pengukuran kadar kalsium darah antara lain *haematocrit, eppendorf, sentrifuge, spektrofotometer (Bioanalyzer 100), mikrotip dan pipet mikro.* Alat pembuatan preparat histologi ginjal yaitu, gelas benda, gelas penutup, pipet tetes, botol reagen, *rotary microtom, staining jar, botol flakon, holder, skalpel, oven, hot plate, mikroskop binokuler (Olympus)* dengan aplikasi Opti Lab.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan pemeliharaan hewan uji, bahan OVX (Ovariektomi), bahan ekstraksi tepung tempe kedelai, bahan pengukuran kadar kalsium darah dan bahan pembuatan preparat histologi ginjal. Bahan pemeliharaan hewan uji yaitu mencit betina (*Mus musculus*) strain Swiss Webster yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada (LPPT Unit 4 UGM), Yogyakarta, pakan pellet (Turbo), aquades steril, ekstrak tepung tempe kedelai, sekam padi, dan serbuk gergaji kayu.

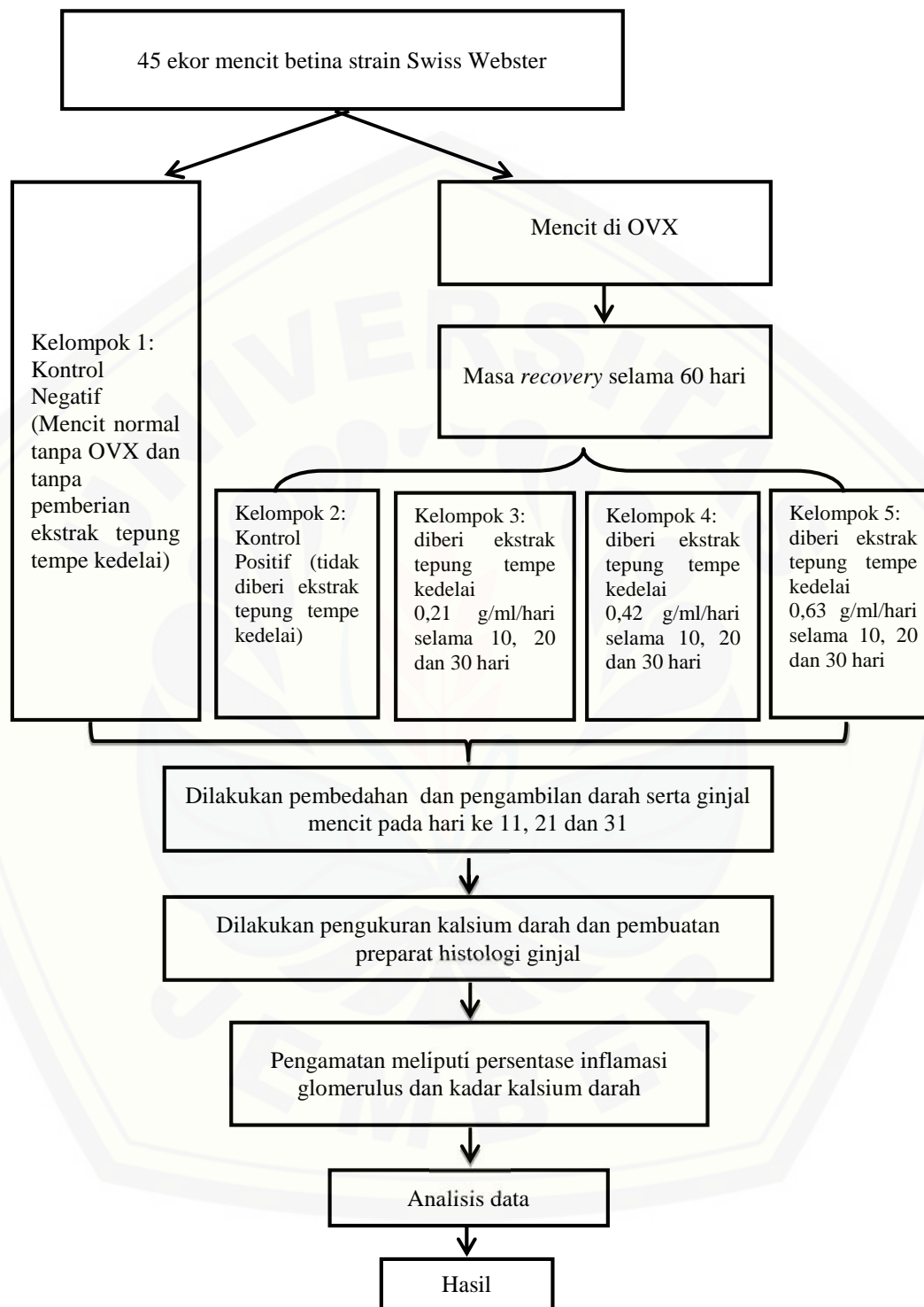
Bahan Ovariektomi meliputi paracetamol, *ketamine 10%, xylazine*, benang *silk no. 3*, benang *cat gut no. 3*, betadin 10%, alkohol 70%, antibiotik (*Levofloxacin*), sodium klorida 0,9%, kasa steril, *gloves*, masker, dan tisu. Bahan ekstraksi tepung tempe kedelai yaitu tepung tempe kedelai, alkohol 70%, kain saring, kertas saring, dan tisu. Bahan pengukuran kadar kalsium darah mencit adalah serum darah mencit, aquabides, reagen R1 dan reagen R2. Bahan pembuatan preparat histologi ginjal terdiri dari ginjal mencit, kloroform, natrium klorida (NaCl 0,9%), larutan fiksatif Bouin/formalin, alkohol bertingkat, alkohol absolut, parafin, gliserin, albumin, pewarna HE (Hematoxylin-eosin), xylol, entelan, kertas label, dan tisu.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pola RAL (Rancangan Acak Lengkap) faktorial *Posttest Only Control Group Design*. Tujuannya adalah untuk membandingkan pengaruh perlakuan pada kelompok uji dengan perlakuan pada kelompok kontrol di akhir perlakuan. Objek penelitian menggunakan 45 ekor mencit betina (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi. Pembagian kelompok dilakukan berdasarkan pemberian dosis yang disesuaikan dengan kebutuhan harian tikus ovariektomi yaitu pemberian tepung tempe kedelai 10 gBK/100 gBB. Dosis tersebut kemudian dikonversi menurut kebutuhan harian mencit dalam bentuk ekstrak (pasta) sesuai dengan masing-masing berat badan yang dirata-rata (Lampiran A). Berikut pembagian kelompok uji dari penelitian ini:

- Kelompok 1: Kelompok kontrol negatif (mencit tanpa ovariektomi dan tanpa perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai).
- Kelompok 2: Kelompok kontrol positif atau D0 (mencit ovariektomi, tanpa pemberian ekstrak tepung tempe kedelai).
- Kelompok 3: Kelompok perlakuan D1 (mencit ovariektomi, dengan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dengan dosis 0,21 g/ml setiap hari selama 10 hari, 20 hari dan 30 hari).
- Kelompok 4: Kelompok perlakuan D2 (mencit ovariektomi dengan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dengan dosis 0,42 g/ml setiap hari selama 10 hari, 20 hari dan 30 hari).
- Kelompok 5: Kelompok perlakuan D3 (mencit ovariektomi dengan pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dengan dosis 0,63 g/ml setiap hari selama 10 hari, 20 hari, dan 30 hari).

Di akhir masing-masing perlakuan, mencit kemudian dibedah untuk pengambilan organ dan pengamatan. Secara garis besar, rancangan penelitian di atas dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut ini:



Gambar 3.1 Diagram rancangan penelitian

3.4 Tahapan penelitian

3.4.1 Pemeliharaan Hewan Uji

Hewan uji dipelihara dan diadaptasikan pada kandang yang terbuat dari plastik dan penutup ram kawat berukuran 34 x 25 x 12 cm beralas sekam padi dan serbuk gergaji kayu steril. Mencit diberi pakan standar berupa pellet (Turbo) dan diberi minum aquades steril secara *ad libitum*.

3.4.2 Pembuatan Mencit Ovariektomi (OVX)

Ovariektomi dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahapan pertama mencit dianestesi menggunakan ketamine 10% dan xylazine (1:1) sebanyak 0,05 ml per mencit secara intramuskular. Kemudian mencit direntangkan di atas papan bedah, diolesi air sabun anti bakteri dan dicukur rambut bagian medial perutnya. Selanjutnya diolesi betadin, kemudian dibedah kulit luar dan kulit dalam bagian medial perutnya (*musculus oblikus abdominis eksternus* dan *musculus oblikus abdominis internus*). Uterus diangkat dan diikat menggunakan benang *silk* pada bagian antara ovarium dan oviduk, selanjutnya kedua ovarium dipotong. Setelah ovarium dipotong, kemudian organ direposisi dan diberi cairan infus 0,5 ml.

Langkah terakhir yaitu penutupan bagian *musculus oblikus abdominis internus* dengan cara dijahit menggunakan benang *cut gut chromic* sedangkan bagian *musculus oblikus abdominis eksternus* dijahit menggunakan benang *silk* ukuran 3.0. Setelah itu dilakukan desinfeksi menggunakan betadin pada daerah insisi dan diinjeksi antibiotik *Levofloxacin* 0,05 ml. Perawatan luka pada masa penyembuhan setelah ovariektomi dilakukan dengan pemberian paracetamol sebanyak 1 sendok teh/200 ml aquades selama 2 hari secara *add libitum*.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Tempe Kedelai

Tempe kedelai murni fermentasi 2 hari dicacah dan ditimbang berat basahanya. Tempe kedelai yang telah dicacah kemudian dioven pada suhu 40-45°C selama 2 hari,

selanjutnya digiling dengan *grinder* dan diayak dengan ayakan. Tepung tempe halus kemudian ditimbang berat keringnya, selanjutnya dimaserasi dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:4, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 2 x 24 jam. Langkah berikutnya, supernatan disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* ± 4-5 jam dengan suhu 80°C hingga didapatkan filtrat murni tanpa etanol. Filtrat tersebut kemudian diletakkan dalam cawan porselen dan dimasukkan ke dalam *waterbath* bersuhu 70°C selama ± 8 jam untuk menghasilkan ekstrak tepung tempe dalam bentuk pasta dengan hasil konstan dan tidak mengandung air.

3.4.4 Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai secara oral (metode *gavage*) sesuai dosis kelompok hewan uji menggunakan jarum sonde lambung. Pemberian ekstrak dilakukan sehari sekali sesuai dosis masing-masing perlakuan pada waktu yang sama.

3.4.5 Pengukuran Kadar Kalsium Darah

Sampel darah diambil dari mata kanan mencit menggunakan *haematocrit*, darah yang keluar kemudian ditampung dalam tabung *eppendorf*. Darah yang telah tertampung kemudian *disentrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Selanjutnya serum darah dipindahkan ke *eppendorf* baru dan dibawa ke Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi, Universitas Jember untuk dilakukan pengukuran kadar kalsium darah dengan metode *Colorimetric Assay Complexometric* (CA CPC). Prinsip dari metode pengukuran ini adalah pengujian kadar kalsium yang ditunjukkan oleh perubahan warna ungu. Intensitas warna ungu yang terbentuk mengindikasikan konsentrasi kadar kalsium dalam sampel yang diukur secara fotometri.

3.4.6 Pembuatan Preparat Histologi Ginjal

Di setiap akhir perlakuan, tiga mencit dari masing-masing kelompok perlakuan *dieuthanasia* menggunakan kloroform, kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan ginjalnya. Ginjal tersebut selanjutnya dibuat preparat dengan prosedur sebagai berikut:

a. Pengambilan Organ

Mencit dibius dengan kloroform lalu direntangkan di atas papan bedah, kemudian mencit dibedah untuk diambil ginjalnya. Ginjal yang telah diambil selanjutnya dicuci dengan larutan NaCl 0,9%.

b. Fiksasi

Ginjal mencit yang telah dicuci dengan NaCl 0,9%, kemudian direndam dalam botol flakon berisi larutan fiksatif Bouin/formalin selama 3 jam lalu dicuci dengan alkohol 70%. Setelah itu, dimasukkan kembali ke dalam larutan fiksatif dan didiamkan minimal 2 jam (maksimal 72 jam) dengan seluruh organ harus terendam larutan fiksatif kemudian dicuci kembali dengan alkohol 70%.

c. Dehidrasi dan Penjernihan (*Clearing*)

Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam ginjal dalam alkohol bertingkat dengan konsentrasi 70%, 80%, 95% dan dalam alkohol absolut masing-masing selama 1-2 jam. Selanjutnya direndam dalam campuran alkohol absolut dan xylol dengan perbandingan 3:1, 1:1 dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. *Clearing* dilakukan dengan merendam organ dalam larutan xylol selama 2 jam sampai semalam.

d. Infiltrasi Parafin, Penanaman (*Embedding*), dan Pengirisan (*Sectioning*)

Infiltrasi parafin dilakukan dalam xylol dan parafin cair selama 30 menit, dilanjutkan ke dalam parafin I selama 30 menit, dan ke dalam parafin II dan III masing-masing selama 1 jam. Setelah itu, organ ditanam dalam blok berisi parafin yang telah dicairkan. Setelah beku, blok parafin berisi organ direkatkan pada *holder* menggunakan skalpel dan bunsen kemudian dilakukan pemotongan menggunakan *rotary microtom* dengan ketebalan $\pm 8-10 \mu\text{m}$. Selanjutnya, pita-pita

parafin berisi organ direkatkan pada gelas objek yang telah dilapisi gliserin dan albumin kemudian disimpan dalam inkubator 40°C selama 24 jam.

- e. Deparafinasi, Pewarnaan (*Staining*), Penutupan (*Mounting*), dan Pengamatan
- Pewarnaan dilakukan setelah deparafinisasi dengan cara direndam dalam larutan xylol I dan xylol II masing-masing selama 30 menit, selanjutnya dihidrasi dengan alkohol bertingkat yang dimulai dari campuran alkohol absolut dan xylol dengan perbandingan 1:3, 1:1, 3:1, alkohol absolut, alkohol 95%, 80%, 70%, 50%, dan aquades masing-masing selama 2 menit. Sediaan preparat selanjutnya dimasukkan dalam pewarna hematoxylin 15 detik, dicuci dengan aquades, lalu dicelupkan ke dalam alkohol 50% dan 70% masing-masing selama 2 menit. Berikutnya, sediaan preparat dimasukkan ke dalam eosin selama 10 menit, lalu dicelupkan dalam alkohol bertingkat 80%, 95%, alkohol absolut, campuran alkohol absolut xylol 3:1, 1:1, 1:3 masing-masing 2 menit, kemudian dimasukkan ke dalam xylol I dan xylol II selama 5 menit (Junqueira dan Carneiro, 2007). Preparat histologi kemudian ditetesi entelan, ditutup dengan *cover glass*, dikeringkan di atas *hot plate*, diberi label, dan dilanjutkan dengan pengamatan menggunakan mikroskop binokuler (*Olympus*) perbesaran 100x dengan aplikasi Opti Lab.

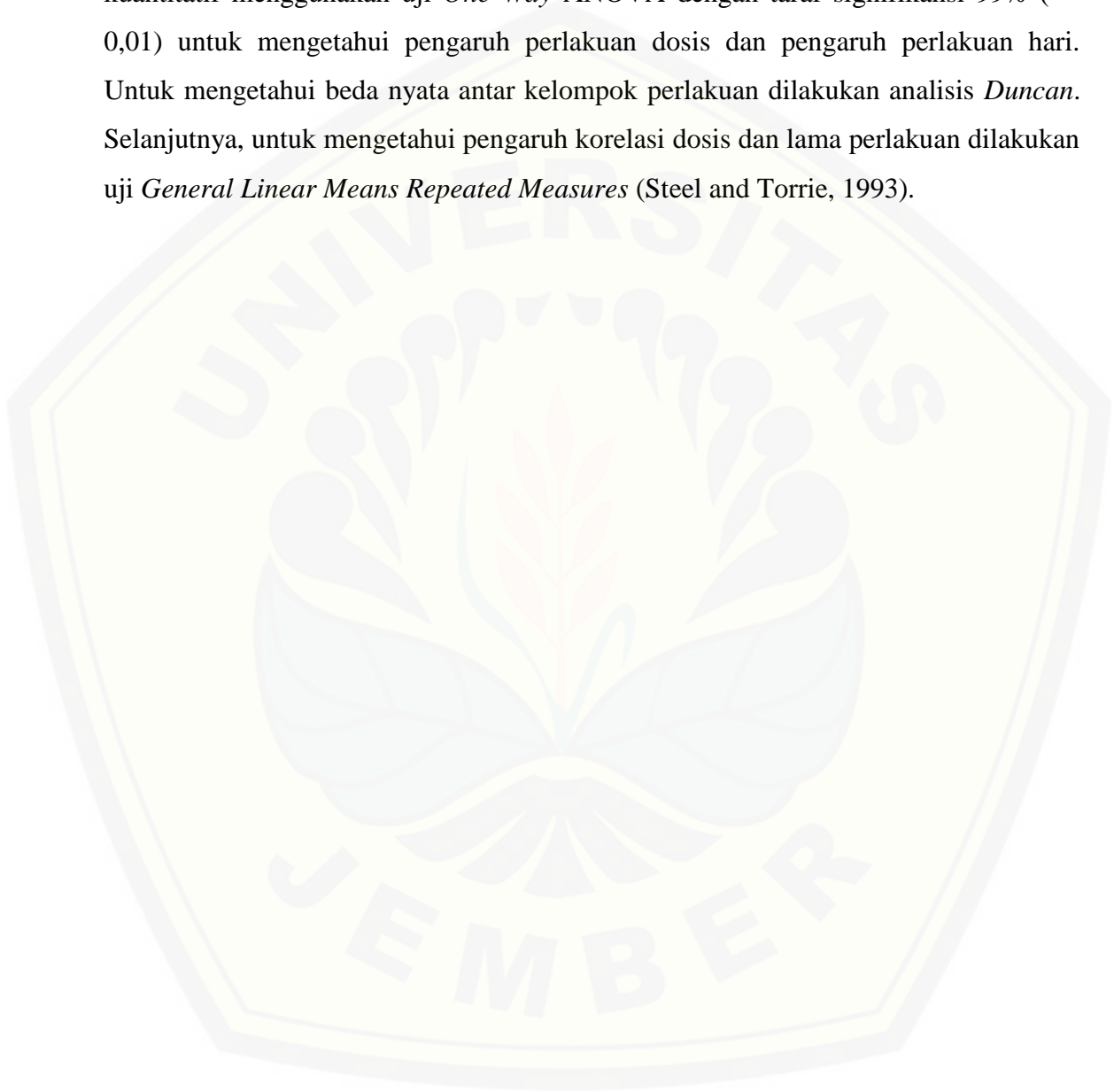
3.5 Parameter Uji

Parameter yang diamati dalam penelitian ini antara lain:

- a. Pengamatan histologi ginjal dilakukan dengan pengamatan kuantitatif dan dilakukan perhitungan terhadap inflamasi glomerulus yang ditandai oleh adanya infiltrasi eritrosit. Perhitungan menggunakan rumus $(n/m \times 100\%)$ dengan n adalah jumlah glomerulus yang mengalami infiltrasi eritrosit dan m adalah jumlah seluruh glomerulus. Perhitungan dilakukan sebanyak 3 bidang pandang menggunakan perbesaran 100x, kemudian hasilnya dirata-rata untuk mendapatkan persentase inflamasi glomerulus ginjal (Zulfiani *et al.*, 2015).
- b. Perhitungan rata-rata hasil pengukuran kalsium darah mencit (mg/dl).

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan akan ditabulasi dan dilakukan analisis statistik secara kuantitatif menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan taraf signifikansi 99% ($\alpha = 0,01$) untuk mengetahui pengaruh perlakuan dosis dan pengaruh perlakuan hari. Untuk mengetahui beda nyata antar kelompok perlakuan dilakukan analisis *Duncan*. Selanjutnya, untuk mengetahui pengaruh korelasi dosis dan lama perlakuan dilakukan uji *General Linear Means Repeated Measures* (Steel and Torrie, 1993).



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap struktur histologi ginjal dan kadar kalsium darah mencit (*Mus musculus*) strain Swiss Webster ovariektomi setelah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai. Pengamatan dilakukan terhadap persentase inflamasi glomerulus dan perhitungan kadar kalsium darah mencit di akhir perlakuan.

4.1 Struktur Histologi Ginjal Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai

Struktur histologi ginjal yang diamati dalam penelitian ini adalah bagian glomerulus yang mengalami inflamasi ditandai dengan adanya infiltrasi eritrosit. Hasil perhitungan persentase inflamasi glomerulus dapat dilihat pada Tabel 4.1. Hasil perhitungan pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis dan semakin lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, persentase inflamasi glomerulus semakin menurun.

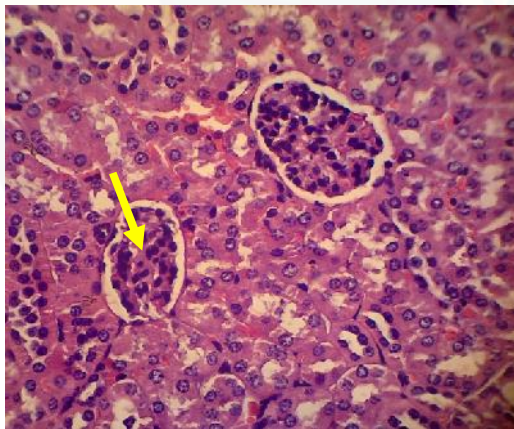
Tabel 4.1 Rata-rata persentase inflamasi glomerulus ginjal mencit strain Swiss Webster ovariektomi pasca pemberian ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20 dan 30 hari

Perlakuan	Persentase inflamasi glomerulus ginjal (%)		
	10 Hari ($\bar{x} \pm SD$)	20 Hari ($\bar{x} \pm SD$)	30 Hari ($\bar{x} \pm SD$)
Kontrol Negatif	3,93 \pm 0,35 ^a	3,81 \pm 0,22 ^a	3,52 \pm 0,07 ^a
Kontrol Positif	28,34 \pm 1,77 ^c	32,57 \pm 1,07 ^c	39,22 \pm 0,37 ^d
Dosis 1	22,03 \pm 1,23 ^d	17,22 \pm 1,52 ^d	11,54 \pm 0,93 ^c
Dosis 2	16,10 \pm 1,05 ^c	11,01 \pm 1,80 ^c	7,17 \pm 0,64 ^b
Dosis 3	11,82 \pm 1,72 ^b	7,49 \pm 0,57 ^b	4,06 \pm 0,58 ^a

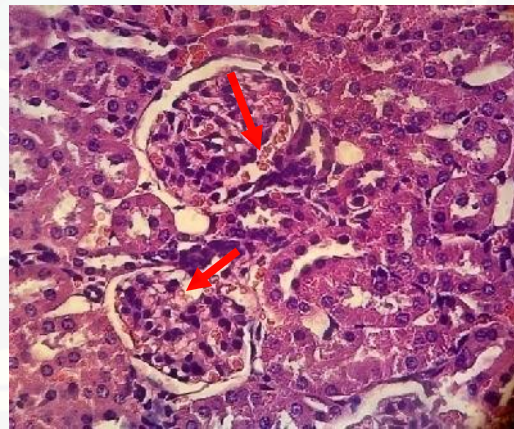
Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata antar kelompok perlakuan ($p < 0,01$)

Berdasarkan analisis *One Way Anova* (Lampiran C), perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan persentase inflamasi glomerulus pada perlakuan 10, 20, ataupun 30 hari. Dari uji *Duncan* (Lampiran C), perlakuan selama 10, 20 dan 30 hari menunjukkan persentase inflamasi glomerulus kelompok kontrol positif berbeda sangat nyata dengan kelompok kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa ovariektomi menyebabkan terjadinya inflamasi glomerulus diduga karena tingginya ekspresi *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF- 1) akibat defisiensi estrogen. Menurut Shim *et al.* (2004), ovariektomi pada mencit dapat meningkatkan inflamasi glomerulus karena estrogen tubuh dalam keadaan rendah. Negulescu *et al.* (2002), menyatakan estrogen berperan sebagai inhibitor TGF- 1 melalui penghambatan aktivitas protein CK2 (Casein kinase 2).

Kusuma *et al.* (2014), menyatakan inflamasi glomerulus ditandai dengan kerusakan membran filtrasi glomerulus. Akibat kerusakan tersebut, permeabilitas kapiler akan meningkat dan molekul-molekul besar termasuk sel darah merah atau eritrosit dapat masuk ke dalam glomerulus. Struktur glomerulus normal tidak menunjukkan adanya infiltrasi eritrosit. Infiltrasi eritrosit dalam penelitian ini banyak ditemui pada glomerulus ginjal kelompok kontrol positif (Gambar 4.1).



A. Kelompok kontrol negatif



B. Kelompok kontrol positif

Gambar 4.1 Penampang melintang ginjal mencit pengecatan HE (Haematoxilin- Eosin) perbesaran 400x. Panah kuning: glomerulus normal, panah merah: menunjukkan eritrosit di dalam glomerulus yang mengalami inflamasi (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Presentase inflamasi glomerulus pada kelompok kontrol positif berbeda sangat nyata dengan kelompok dosis perlakuan selama 10, 20, dan 30 hari. Perbedaan sangat nyata antar kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung tempe berpengaruh terhadap penurunan persentase inflamasi glomerulus. Hal tersebut diduga karena kandungan fitoestrogen dalam ekstrak tepung tempe kedelai mampu menekan inflamasi glomerulus. Fitoestrogen memiliki afinitas untuk berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga dapat bersifat estrogenik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dianingati (2013), bahwa pemberian ekstrak kulit jeruk bali dosis 1000 mg/kg bb yang mengandung fitoestrogen pada tikus betina Sprague Dawley potensial sebagai zat estrogenik dibuktikan dengan *Molecular Docking* (pengujian interaksi ligan dengan reseptor estrogen secara molekuler). Kompleks ikatan antara fitoestrogen dengan reseptor estrogen endogen mampu menghasilkan respon seluler serupa dengan estrogen endogen. Oleh karena itu, fitoestrogen dapat digunakan sebagai sumber estrogen dari luar untuk mengatasi kekurangan estrogen endogen.

Perlakuan antar dosis juga menunjukkan perbedaan sangat nyata terhadap penurunan persentase inflamasi glomerulus selama perlakuan 10, 20, dan 30 hari. Persentase inflamasi glomerulus semakin menurun dengan peningkatan dosis yang diberikan. Infiltrasi eritrosit ke dalam glomerulus pada preparat penampang ginjal semakin sedikit dengan meningkatnya dosis perlakuan (Lampiran J). Hal ini karena semakin tinggi dosis yang diberikan, diduga mengandung fitoestrogen yang semakin tinggi pula. Dengan demikian respon yang diberikan dalam menekan inflamasi glomerulus juga semakin baik.

Menurut Unitly (2008), tempe mengandung fitoestrogen berupa isoflavon genistein, daidzein, glisitein dan faktor II. Mahriani dan Utami (2014), menyatakan bahwa kandungan genestein dari ekstrak tepung tempe kedelai kuning dengan fermentasi dua hari adalah 1542,39 ppm per gram. Javanbakht *et al.* (2014), menyatakan isoflavon terutama genestein dapat menurunkan inflamasi. Genestein dapat menghambat ekspresi TGF- 1 yang merupakan faktor inflamasi. Genestein

yang berikatan dengan reseptor estrogen akan menimbulkan respon estrogenik. Respon estrogenik tersebut berupa penghambatan sintesis mRNA pada proses transkripsi DNA yang mengkode ekspresi TGF- β 1 di sel-sel glomerulus.

Berdasarkan uji *One Way Anova* (Lampiran D), lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai juga berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan persentase inflamasi glomerulus. Semakin lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, persentase inflamasi glomerulus pada masing-masing kelompok perlakuan semakin menurun. Hal ini diduga karena waktu paruh estrogen di dalam tubuh adalah 6-8 jam (Cassidy and Bingham, 1995), sehingga pemberian ekstrak tepung tempe secara berkelanjutan setiap hari dapat memasok dan memenuhi kebutuhan estrogen tubuh untuk menekan inflamasi glomerulus.

Antus *et al.* (2003), menyatakan estrogen berperan dalam menekan ekspresi *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF- β 1) dan *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dengan menghambat proses transkripsinya. TGF- β 1 dan PDGF merupakan faktor inflamasi yang disekresikan oleh sel-sel ginjal. Jika ekspresi TGF- β 1 dan PDGF terhambat, maka faktor inflamasi juga dapat menurun. Estrogen juga berperan dalam menginduksi sintesis *Matrix Metallo-Proteinase* pada sel mesangial glomerulus. *Matrix Metallo-Proteinase* berperan untuk meningkatkan degradasi faktor inflamasi, sehingga faktor inflamasi berkurang dan inflamasi juga dapat berkurang.

Berdasarkan uji *General Linear Means (GLM) Repeated Measures* (Lampiran E), perlakuan dosis dan lamanya pemberian ekstrak tepung tempe kedelai berpengaruh sangat nyata terhadap persentase inflamasi glomerulus. Persentase inflamasi glomerulus menurun secara signifikan dengan semakin meningkatnya dosis dan lama perlakuan. Semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin rendah persentase inflamasi glomerulus. Begitu pula semakin lama waktu pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, persentase inflamasi glomerulus semakin rendah.

Persentase inflamasi glomerulus terendah adalah pada mencit kelompok perlakuan dosis 3 (0,63 g/ml) selama 30 hari (Lampiran E). Persentase inflamasi

glomerulus pada mencit perlakuan dosis 3 (0,63 g/ml/hari) selama 30 hari tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Persentase inflamasi glomerulus pada mencit tersebut menurun dan mendekati mencit normal. Hal ini diduga karena dosis 3 (0,63 g/ml) mengandung isoflavon genestein lebih banyak dan pemberian selama 30 hari merupakan waktu paling lama. Kandungan genestein yang lebih banyak dalam kelompok dosis 3 diikuti dengan waktu pemberian selama 30 hari diduga menyebabkan persentase inflamasi glomerulus paling rendah.

4.2 Kadar Kalsium Serum Darah Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai

Kadar kalsium serum darah mencit dalam penelitian ini diukur dengan metode *Colorimetric Assay Complexometric* (CA CPC). Rata-rata hasil perhitungan kadar kalsium serum darah mencit (Tabel 4.2) menunjukkan kadar kalsium darah kelompok perlakuan menurun setelah ovariektomi dan meningkat setelah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai.

Tabel 4.2 Rata-rata kadar kalsium darah mencit strain Swiss Webster ovariektomi setelah pemberian ekstrak tempe kedelai selama 10, 20 dan 30 hari

Perlakuan	Kadar kalsium serum darah (mg/dl)		
	10 Hari ($\bar{x} \pm SD$)	20 Hari ($\bar{x} \pm SD$)	30 Hari ($\bar{x} \pm SD$)
Kontrol Negatif	9,68 \pm 0,55 ^b	9,48 \pm 0,79 ^b	9,12 \pm 0,53 ^b
Kontrol Positif	8,11 \pm 0,16 ^a	7,52 \pm 0,34 ^a	7,23 \pm 0,49 ^a
Dosis 1	11,27 \pm 0,35 ^c	10,44 \pm 0,68 ^{bc}	10,04 \pm 0,07 ^b
Dosis 2	11,44 \pm 0,68 ^c	10,90 \pm 0,98 ^{bc}	10,08 \pm 0,48 ^b
Dosis 3	11,60 \pm 0,91 ^c	11,72 \pm 0,75 ^c	10,15 \pm 1,06 ^b

Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata antar kelompok perlakuan ($p < 0,01$)

Berdasarkan hasil analisis *One Way Anova* (Lampiran G), nilai signifikansi pada perlakuan selama 10, 20 dan 30 hari berturut-turut adalah 0,000; 0,000; dan 0,001 ($P < 0,01$). Signifikansi tersebut menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20, dan 30 hari berpengaruh sangat nyata terhadap peningkatan kadar kalsium darah mencit.

Berdasarkan hasil uji *Duncan* (Lampiran G), pada perlakuan selama 10, 20, dan 30 hari terdapat perbedaan sangat nyata antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif. Kadar kalsium serum darah kelompok kontrol positif lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini mengindikasikan bahwa ovariectomi menyebabkan penurunan kadar kalsium serum darah mencit. Ovariectomi merupakan pengambilan kedua ovarium untuk membuat kondisi hormonal hewan uji serupa dengan kondisi defisiensi estrogen. Menurut Hoenderop *et al.* (2005), penurunan estrogen mengakibatkan penurunan reabsorpsi kalsium dan peningkatan ekskresi kalsium melalui ginjal. Hal ini mengakibatkan banyak kalsium yang terbuang dari tubuh sehingga kadar kalsium darah berada dalam kondisi rendah (*hypocalsemia*).

Pada perlakuan selama 10, 20 dan 30 hari, kadar kalsium darah mencit perlakuan berbeda sangat nyata dengan kadar kalsium kelompok kontrol positif. Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dapat meningkatkan kadar kalsium darah setelah menurun akibat ovariectomi. Kadar kalsium darah meningkat selama perlakuan diduga karena kandungan fitoestrogen dalam ekstrak tepung tempe yang diberikan mampu memberikan efek estrogenik. Abel *et al.* (2002), menyatakan bahwa estrogen dapat meningkatkan reabsorpsi kalsium di ginjal dengan cara meningkatkan regulasi ekspresi protein *Epithelial Calcium Channel* (ECaC1). ECaC1 adalah sebuah protein kanal epitelial di tubulus proksimal dan tubulus distal. ECaC1 berfungsi sebagai saluran transpor transseluler reabsorpsi kalsium.

Kadar kalsium darah mencit cenderung meningkat dengan meningkatnya dosis perlakuan. Hal itu dikarenakan semakin tinggi dosis pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, diduga mengandung fitoestrogen yang tinggi pula sehingga mampu

meningkatkan kadar kalsium darah mencit. Menurut Tanu (2005), untuk menggantikan kekurangan estrogen endogen dalam tubuh dibutuhkan jumlah asupan estrogen eksogen (fitoestrogen) yang banyak supaya mendapatkan respon yang sama dengan estrogen endogen tersebut.

Hasil uji *Duncan* pada perlakuan selama 30 hari (Tabel 4.2) menunjukkan setelah perlakuan OVX, kadar kalsium menurun jika dibandingkan dengan mencit normal. Kadar kalsium darah mencit perlakuan kemudian meningkat dan mendekati kadar kalsium darah mencit kontrol negatif setelah pemberian ekstrak tepung tempe kedelai. Hal ini diduga akibat asupan fitoestrogen dari ekstrak tepung tempe kedelai mampu memenuhi kekurangan estrogen endogen yang lebih lanjut dapat meningkatkan kadar kalsium darah. Menurut Sabri (2011), estrogen berperan dalam homeostatis kalsium melalui aktifitas osteoblas dan osteoklas. Saat kadar kalsium darah rendah, akan terjadi aktifitas pelepasan kalsium dari tulang ke darah oleh osteoklas sehingga kadar kalsium dapat meningkat. Sebaliknya saat kalsium darah berada dalam keadaan tinggi maka estrogen akan memicu aktifitas osteoblas untuk proses pembentukan tulang. Dalam proses pembentukan tulang terdapat proses mineralisasi dengan mengambil kalsium dari darah sebagai bahan pembentuk tulang sehingga kadar kalsium darah akan menurun.

Untuk mengetahui pengaruh lama perlakuan terhadap peningkatan kalsium darah dalam penelitian ini dilakukan uji *One Way Anova* (Lampiran H). Dari hasil uji *One Way Anova* diketahui bahwa lama perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan kalsium darah mencit perlakuan. Semakin lama perlakuan baik pada dosis 1, 2, ataupun dosis 3 kadar kalsium darah tidak mengalami peningkatan.

Pada perlakuan 10 hari, kadar kalsium darah mencit pada masing-masing dosis sudah mengalami peningkatan melebihi kadar kalsium darah mencit kelompok kontrol negatif. Semakin lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai, kadar kalsium darah pada masing-masing dosis cenderung menurun. Hal ini diduga karena adanya sistem homeostatis kadar kalsium yang bekerja setelah kadar kalsium darah berlebih. Sistem homeostatis ini menyebabkan fitoestrogen ekstrak tepung tempe

kedelai tidak meningkatkan kadar kalsium darah mencit sekalipun terus-menerus diberikan dalam waktu 20 dan 30 hari. Parfitt (2005), menyatakan jika kadar kalsium darah berada dalam keadaan tinggi, maka kadar kalsium darah tidak akan terus naik. Kelebihan kalsium dalam darah akan disimpan ke dalam tulang atau akan dikeluarkan dari tubuh melalui urin dan feses.

Untuk melihat pengaruh perlakuan dosis dan lama pemberian ekstrak tepung tempe kedelai terhadap kadar kalsium darah mencit dalam penelitian ini, dilakukan uji *General Linear Means (GLM) Repeated Measures* (Lampiran I). Dari uji tersebut, diketahui bahwa perlakuan dosis dan lama waktu pemberian ekstrak tepung tempe kedelai tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap peningkatan kadar kalsium darah mencit ($P > 0,01$). Kadar kalsium darah paling tinggi ditunjukkan oleh perlakuan dosis 3 (0,63 g/ml) selama 20 hari. Hal ini diduga pada dosis dan waktu tersebut, fitoestrogen dari ekstrak yang diberikan mampu meningkatkan kadar kalsium akibat ovariektomi.

Sabri (2011), menyatakan bahwa fitoestrogen mampu meningkatkan kadar kalsium darah dengan memicu aktifitas mobilisasi kalsium dari tulang ke darah. Kalsium yang tersimpan dalam tulang akan dilepaskan ke darah melalui aktifitas resorpsi tulang oleh osteoklas. Menurut Leeson *et al.* (1996), Osteoklas mensekresikan enzim kolagenase dan proteinase lainnya, asam laktat, serta asam sitrat. Enzim-enzim ini akan memecah atau melarutkan matriks organik tulang sedangkan asam akan melarutkan garam-garam mineral tulang termasuk kalsium dan melepaskannya ke dalam darah sehingga dapat meningkatkan kalsium darah.

Defisiensi estrogen di dalam tubuh dapat berpengaruh terhadap struktur histologi ginjal dan kadar kalsium darah. Pengaruh estrogen terhadap ginjal berkaitan dengan perannya sebagai inhibitor *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF- β 1). Rendahnya estrogen di dalam tubuh akan mengakibatkan tingginya ekspresi TGF- β 1 sehingga memicu inflamasi pada bagian glomerulus ginjal (Negulescu *et al.*, 2002). Defisiensi estrogen juga menghambat proses reabsorpsi kalsium di dalam ginjal. Keberadaan estrogen penting dalam proses regulasi ekspresi protein kanal ECaC1

yang merupakan saluran reabsorpsi kalsium di ginjal (Abel *et al.*, 2002). Pada penelitian ini, mencit yang diberi ekstrak tepung tempe kedelai selama 10, 20, dan 30 hari menunjukkan penurunan persentase inflamasi glomerulus ginjal dan peningkatan kadar kalsium darah.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian ini adalah:

- a. Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dapat menurunkan persentase inflamasi glomerulus pada mencit (*Mus musculus*) setelah ovariektomi. Ekstrak tepung tempe kedelai juga dapat meningkatkan kadar kalsium darah mencit betina strain Swiss Webster ovariektomi.
- b. Pemberian ekstrak tepung tempe kedelai dosis 0,63 g/ml/hari selama 30 hari merupakan dosis dan lama perlakuan yang mampu menurunkan persentase inflamasi glomerulus paling rendah. Dosis 0,63 g/ml/hari selama 20 hari adalah dosis dan lama perlakuan yang mampu meningkatkan kadar kalsium darah paling tinggi pada mencit betina strain Swiss Webster ovariektomi.

5.2 Saran

Penelitian ini merupakan langkah awal dalam mengkaji potensi ekstrak tepung tempe kedelai sebagai salah satu alternatif sumber estrogen eksogen untuk mengurangi resiko penyakit ginjal dan *hipocalsemia* pada hewan model menopause pasca ovariektomi. Dalam penelitian lebih lanjut dapat disampaikan saran sebagai berikut:

- a. Perlu dilakukan pengamatan ekspresi *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF-1) pada prearat ginjal dengan metode imunohistokimia.
- b. Perlu dilakukan penimbangan berat basah ginjal.
- c. Perlu dilakukan pengukuran kadar kalsium tulang dan urin pada mencit ovariektomi yang diberi ekstrak tepung tempe kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abel, M. V., Hoenderop, J. G. J., Dardenne, O., Arnaud, R. St., Os, C. H. V., Leeuwen, H. J. P. T. M., and Bindels, R. J. M. 2002. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃-Independent Stimulatory Effect of Estrogen on the Expression of ECaC1 in the Kidney. *J Am Soc Nephrol*, 13: 2102-2109.
- Anderson, P. H., Rebecca, K. S., Alison, J. M., May, B. K., O'Loughlin, P. D., and Morris, H. A. 2008. Vitamin D Depletion Induces RANK-Mediated Osteoclastogenesis and Bone Loss in a Rodent Model. *J. Bone Miner Res.*, 23 (11):1789-1797.
- Antus, B., Hamar, P., Kokeny, G., Szollosi, Z., Mucsi, I., Nemes, Z., and Rosivall, L. 2003. Estradiol is Nephroprotective in Rat Remnant Kidney. *Nephrol Dial Transplant*. 18: 54-61.
- Arjmandi, B. H. 2001. the Role of Phytoestrogens in the Prevention and Treatment of Osteoporosis in Ovarian Hormone Deficiency. *Am J Nutr.*, 4 (20): 398-402.
- Cassidy, A. and Bingham, S. 1995. Biological Effect of Isoflavons in Young Woman: Importance of the Chemical Composition of soybean Product. *British Journal of Nutrition*, 74: 587-601.
- Corwin, E. J. 2001. *Buku Saku Patofisiologi*. Alih Bahasa oleh Brahm U. Pendit. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Cui, J., Shen, Y., and Li, R. 2013. Estrogen Synthesis and Signaling Pathways during Aging: from Periphery to Brain. *Trends in Molecular Medicine*, 19 (3): 197-209.
- Cunningham, J.G. 1992. *Textbook of Veterinary Physiology*. Philadelphia: W.B. Saunder Company.
- Dianingati, R. S., Novarina, A., Hana, A. K., dan Muntafi'ah, L. 2013. *Fortifikasi Ekstrak Kulit Jeruk Bali pada Susu Tinggi Kalsium: Terobosan Baru dalam Pengobatan Osteoporosis pada Wanita Menopause, Teruji in Vivo dan Molecular Docking*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.

- Ganong, W. F. 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Glover, A. and Assinder, S. J. 2006. Acute Exposure of Adult Male Rats to Dietary Phytoestrogen Reduces Fecundity and Alters Epididymal Steroid Hormone Receptor Expression. *J Endoc.*, 5 (189): 565-573.
- Guyton, A. C. 1996. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Haron, H. A., Ismail, A., Azlan, S., Shahar and Peng, L. S. 2009. Daidzein and Genestein Contents in Tempeh and Selected Soy Products. *Food Chem.*, xxx: 1-7.
- Herman, C., Adlercreutz, T., Goldin, B. R., Gorbach, S. L., Hockerstedt, K. A. V., Watanabe, S., Hamalainen, E. K., Makela, T. H., Wahala, K. T., Hase, T. A., and Fotsis, T. 1995. Soybean Phytoestrogen and Cancer Risk. *J Nutr.*, 125: 757S-770S.
- Hickman, C. P., Roberts, L. S., Keen, S. L., Larson, A., I'Anson H., and Eisenhour, D. J. 2008. *Integrated Principles of Zoology*, Fourteenth Edition. New York: McGraw-Hil.
- Hoenderop, J. G. J., Van, D. K. A. W., Hartog, A., Van, D. G. S. F., Van, O. C. H., Willems, P. H., and Bindels, R. J. 2005. Molecular Identification of the Apical Ca²⁺ Channel in 1,25-Dihydroxyvitamin D₃-Responsive Epithelia. *J Biol Chem.*, 274: 8375–8378.
- Javanbakht, M. H., Sadria, R., Djalali, M., Derakhshanian, H., Hosseinzadeh, P., Zarei, M., Azizi, G., Sedaghat, R., and Mirshafiey, A. 2014. Soy Protein and Genestein Improves Renal Antioxidant Status in Experimental Nephrotic Syndrome. *Nefrologia*, 34 (4): 483-480.
- Junqueira, L. C. dan Carneiro. 2007. *Histologi Dasar: Text and Atlas*. Jakarta: EGC.
- Kusuma, K. R., Aulanni'am., dan Wuragil, D. K. 2014. *Studi Ekspresi Transforming Growth Factor (TGF-) dan Gambaran Histopatologi Glomerulus Ginjal pada Tikus (Rattus norvegicus) Fibrosis Ginjal Hasil Induksi Streptokinase*. [Skripsi]. Malang: Program Studi Pendidikan Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- Leeson, R. C., Leeson, T. S., dan Paparo, A. A. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi VII*. Jakarta: EGC.

- Mahriani dan Utami, E. T. 2014. Kajian Pemanfaatan Phytoestrogen dari Biji Kedelai untuk Pencegahan Kanker Payudara pada Mencit Strain C3H. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing*. Jember: FMIPA, Universitas Jember.
- Maulana, A. I. 2010. *Pengaruh Ekstrak Tauge (Phaseolus Radiatus) Terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (Mus Musculus) yang diinduksi Parasetamol*. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Nakajima, N., Nozak, N., Ishihara, N., Ishikawa, A., and Tsuji, H. 2005. Analysis of Isoflavone Content in Tempeh, a Fermented Soybean, and Preparation of a New Isoflavone Enriched Tempeh. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100 (6): 685-689.
- Negulescu, O., Bognar, I., Lei, J., Devarajan, P., Silbiger, S., and Neugarten, J. 2002. Estradiol Reverses TGF-Beta1 Induced Mesangial Cell Apoptosis by a Casein Kinase 2-Dependent Mechanism. *Kidney Int.*, 62 (6): 1989-1998.
- Parfitt, A. M. 2005. *Vitamin D and the Pathogenesis of Rickets and Osteomalacia*. dalam: Feldman, D *Vitamin D.2nd Ed*. San Diego: Elsevier Academic Press.
- Rachman, I. A. 1999. *Paparan Sinar UV Beta Terhadap Remodelling Tulang: Studi Eksperimen pada M. Fascicularis yang Hipoestrogenis*. [Disertasi]. Jakarta: Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia.
- Sabri, M. 2011. *Aktivitas Ekstrak Etanol Batang Sipatah-patah (Cissus quadrangula Salisbs) sebagai Antiosteoporosis pada Tikus (Rattus norvegicus)*. [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Safrida. 2008. *Perubahan Kadar Hormon Estrogen pada Tikus yang Diberi Tepung Kedelai dan Tepung Tempe*. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Salim, M. N. 2014. Struktur Mikroskopik Ginjal dengan Pemberian Vitamin D₃ pada Tikus Ovariectomi. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 2 (1): 23-28.
- Shim, G., Kis, L. L., Warner, M., and Gustafsson, J. 2004. Autoimmune Glomerulonephritis with Spontaneous Formation of Splenic Germinal Centers in Mice Lacking the Estrogen Receptors Alpha Gene. *PNAS*, 101 (6): 1720-1724.

- Steel, R., dan Torrie, J. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistik. Terjemahan dari Principles and Procedures of Statistic*. Jakarta: Gedia Pustaka.
- Tanu, I. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Ed-4. Jakarta: Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Unitly, A. J. A. 2008. *Efektivitas pemberian Tepung Kedelai dan Tepung Tempe terhadap Kinerja Uterus Tikus Ovariectomi*. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Zulfiani., Ilyas, S., dan Hutahaean, S. 2015. *Pengaruh Pemberian Vitamin C dan E terhadap Gambaran Histologis Ginjal Mencit (Mus Musculus L.) yang Dipajankan Monosodium Glutamat (MSG)*. [Skripsi]. Medan: Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara.

LAMPIRAN

A. Penentuan Dosis

- Penentuan dosis dihitung berdasarkan kebutuhan harian hewan uji (Safrida, 2008), yaitu 10 gram berat kering (BK) /100 gram berat badan (BB) tikus.
- Konversi pasta dari berat kering tempe kedelai.

Berat kering tempe	:	Berat Pasta
2034,8 gram	:	175,6 gram
1 gram	:	0,086 gram

10 gram BK/100 gram BB tikus

10 gram BK/100 gram BB = 0,1 gram BK/ gram tikus

- Rata-rata BB tikus = 200 gram
 $0,1 \times 200 = 20$ gram BK/200 gram BB mencit
- Konversi 200 gram tikus \rightarrow 20 gram BB mencit = 0,14.
 $20 \times 0,14 = 2,8$ gram
- Dikonversi ke pasta.
 $2,8 \times 0,086 = 0,24$ gram pasta/ 20 gram BB mencit
 $0,24/20 = 0,12$ gram pasta/ gram BB mencit
- Rata-rata BB mencit perlakuan = 35 gram
 $0,12 \times 35 = 0,42$ gram.

B. Hasil Uji Normalitas Data Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit

- Uji Normalitas Data Hari Ke-10

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Persentase_Inflamasi_Glo merulus	Kontrol Negatif	.282	3	.935	3	.508
	Kontrol Positif	.223	3	.985	3	.767
	Dosis 1	.187	3	.998	3	.917
	Dosis 2	.324	3	.877	3	.316
	Dosis 3	.256	3	.961	3	.622

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Normalitas Data Hari Ke-20

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Persentase_Inflamasi_Glo merulus	Kontrol Negatif	.175	3	1.000	3	1.000
	Kontrol Positif	.200	3	.995	3	.860
	Dosis 1	.328	3	.871	3	.297
	Dosis 2	.215	3	.989	3	.798
	Dosis 3	.184	3	.999	3	.930

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Normalitas Data Hari Ke-30

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Persentase_Inflamasi_Glo merulus	Kontrol Negatif	.335	3	.857	3	.260
	Kontrol Positif	.237	3	.977	3	.707
	Dosis 1	.380	3	.762	3	.028
	Dosis 2	.278	3	.941	3	.530
	Dosis 3	.203	3	.994	3	.848

a. Lilliefors Significance Correction

C. Hasil Analisis *One Way* ANOVA dan Uji *Duncan* Pengaruh Dosis Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit

- Analisis Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit Hari Ke-10

Descriptives

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	3.93000	.346451	.200023	3.06937	4.79063	3.544	4.214
Kontrol Positif	3	28.343001	1.768695	1.021156	23.94932	32.73668	26.463	29.974
Dosis 1	3	22.026001	1.234169	.712548	18.96016	25.09184	20.824	23.290
Dosis 2	3	16.102001	1.051823	.607270	13.48913	18.71487	15.330	17.300
Dosis 3	3	11.820001	1.718517	.992186	7.55097	16.08903	10.330	13.700
Total	15	16.444201	8.743130	2.257467	11.60242	21.28598	3.544	29.974

ANOVA

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1052.530	4	263.133	148.980	.000
Within Groups	17.662	10	1.766		
Total	1070.193	14			

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3	3.93000				
Dosis 3	3		11.820001			
Dosis 2	3			16.102001		
Dosis 1	3				22.026001	
Kontrol Positif	3					28.343001
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- Analisis Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit Hari Ke-20

Descriptives

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	3.81000	.220000	.127017	3.26349	4.35651	3.590	4.030
Kontrol Positif	3	32.570001	1.067848	.616523	29.91732	35.22268	31.550	33.680
Dosis 1	3	17.220001	1.516542	.875576	13.45270	20.98730	16.120	18.950
Dosis 2	3	11.010001	1.804089	1.041591	6.52840	15.49160	9.326	12.914
Dosis 3	3	7.49000	.566381	.327001	6.08303	8.89697	6.912	8.044
Total	15	14.420001	10.496908	2.710290	8.60701	20.23299	3.590	33.680

ANOVA

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1528.463	4	382.116	270.462	.000
Within Groups	14.128	10	1.413		
Total	1542.591	14			

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3	3.81000				
Dosis 3	3		7.49000			
Dosis 2	3			11.010001		
Dosis 1	3				17.220001	
Kontrol Positif	3					32.570001
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- Analisis Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit Hari Ke-30

Descriptives

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	3.52900	.066430	.038354	3.36398	3.69402	3.482	3.605
Kontrol Positif	3	39.225001	.367833	.212368	38.31125	40.13875	38.894	39.621
Dosis 1	3	11.549001	.932807	.538556	9.23178	13.86622	10.472	12.101
Dosis 2	3	7.17000	.639296	.369098	5.58190	8.75810	6.640	7.880
Dosis 3	3	4.06333	.581836	.335923	2.61797	5.50869	3.510	4.670
Total	15	13.107301	13.844978	3.574758	5.44017	20.77436	3.482	39.621

ANOVA

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2680.054	4	670.013	1.90703	.000
Within Groups	3.514	10	.351		
Total	2683.568	14			

Persentase_Inflamasi_Glomerulus

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	3	3.52900			
Dosis 3	3	4.06333			
Dosis 2	3		7.17000		
Dosis 1	3			11.549001	
Kontrol Positif	3				39.225001
Sig.		.295	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

D. Hasil Analisis *One Way* ANOVA dan Uji *Duncan* Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol_Negatif	Hari Ke 10	3	3.93000	.346451	.200023	3.06937	4.79063	3.544	4.214
	Hari Ke 20	3	3.81000	.220000	.127017	3.26349	4.35651	3.590	4.030
	Hari Ke 30	3	3.52900	.066430	.038354	3.36398	3.69402	3.482	3.605
	Total	9	3.75633	.273826	.091275	3.54585	3.96681	3.482	4.214
Kontrol_Positif	Hari Ke 10	3	28.343001	1.768695	1.021156	23.94932	32.73668	26.463	29.974
	Hari Ke 20	3	33.57001	1.039375	.600083	30.98805	36.15195	32.480	34.550
	Hari Ke 30	3	39.225001	.367833	.212368	38.31125	40.13875	38.894	39.621
	Total	9	33.712701	4.827088	1.609029	30.00224	37.42310	26.463	39.621
Dosis_Ke1	Hari Ke 10	3	22.026001	1.234169	.712548	18.96016	25.09184	20.824	23.290
	Hari Ke 20	3	17.220001	1.516542	.875576	13.45270	20.98730	16.120	18.950
	Hari Ke 30	3	11.549001	.932807	.538556	9.23178	13.86622	10.472	12.101
	Total	9	16.931701	4.669205	1.556402	13.34260	20.52074	10.472	23.290
Dosis_Ke2	Hari Ke 10	3	16.102001	1.051823	.607270	13.48913	18.71487	15.330	17.300
	Hari Ke 20	3	11.010001	1.804089	1.041591	6.52840	15.49160	9.326	12.914
	Hari Ke 30	3	7.17000	.639296	.369098	5.58190	8.75810	6.640	7.880
	Total	9	11.427301	4.031039	1.343680	8.32880	14.52586	6.640	17.300
Dosis_Ke3	Hari Ke 10	3	11.820001	1.718517	.992186	7.55097	16.08903	10.330	13.700
	Hari Ke 20	3	7.49000	.566381	.327001	6.08303	8.89697	6.912	8.044
	Hari Ke 30	3	4.06333	.581836	.335923	2.61797	5.50869	3.510	4.670
	Total	9	7.79111	3.497893	1.165964	5.10239	10.47983	3.510	13.700

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kontrol_Negatif	Between Groups	.254	2	.127	2.206	.191
	Within Groups	.346	6	.058		
	Total	.600	8			
Kontrol_Positif	Between Groups	177.718	2	88.859	61.369	.000
	Within Groups	8.688	6	1.448		
	Total	186.406	8			
Dosis_Ke1	Between Groups	165.025	2	82.513	52.744	.000
	Within Groups	9.386	6	1.564		
	Total	174.412	8			
Dosis_Ke2	Between Groups	120.455	2	60.227	37.881	.000
	Within Groups	9.540	6	1.590		
	Total	129.994	8			
Dosis_Ke3	Between Groups	90.657	2	45.328	37.642	.000
	Within Groups	7.225	6	1.204		
	Total	97.882	8			

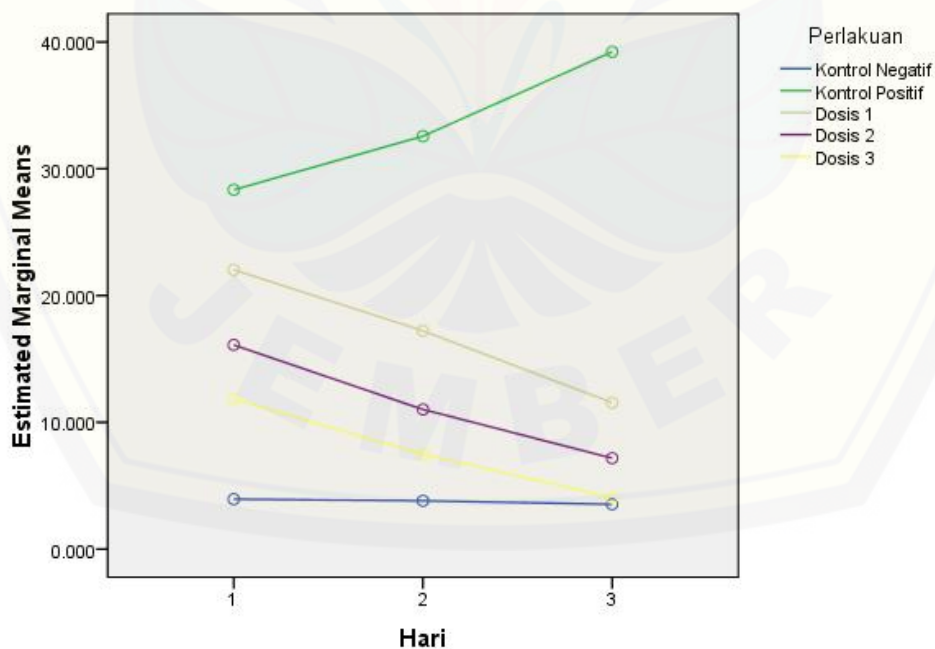
E. Hasil Analisis *General Linear Means (GLM) Repeated Measures* Pengaruh Dosis dan Lama Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Persentase Inflamasi Glomerulus Ginjal Mencit

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Hari	Sphericity Assumed	84.779	2	42.389	33.623	.000	.771
	Greenhouse-Geisser	84.779	1.810	46.828	33.623	.000	.771
	Huynh-Feldt	84.779	2.000	42.389	33.623	.000	.771
	Lower-bound	84.779	1.000	84.779	33.623	.000	.771
Hari Perlakuan	* Sphericity Assumed	472.187	8	59.023	46.817	.000	.949
	Greenhouse-Geisser	472.187	7.242	65.203	46.817	.000	.949
	Huynh-Feldt	472.187	8.000	59.023	46.817	.000	.949
	Lower-bound	472.187	4.000	118.047	46.817	.000	.949

Estimated Marginal Means of MEASURE_1



F. Hasil Uji Normalitas Data Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar Kalsium Serum Darah Mencit

- Uji Normalitas Data Hari Ke-10

Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_Kalsium	Kontrol Negatif	.302	3	.	.911	3	.420
	Kontrol Positif	.353	3	.	.824	3	.174
	Dosis 1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Dosis 2	.231	3	.	.980	3	.732
	Dosis 3	.339	3	.	.850	3	.240

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Normalitas Data Hari Ke-20

Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_Kalsium	Kontrol Negatif	.376	3	.	.771	3	.048
	Kontrol Positif	.190	3	.	.997	3	.903
	Dosis 1	.248	3	.	.968	3	.658
	Dosis 2	.293	3	.	.922	3	.458
	Dosis 3	.272	3	.	.947	3	.555

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Normalitas Data Hari Ke-30

Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Kadar_Kalsium	Kontrol Negatif	.319	3	.	.885	3	.340
	Kontrol Positif	.292	3	.	.923	3	.463
	Dosis 1	.314	3	.	.893	3	.363
	Dosis 2	.200	3	.	.995	3	.862
	Dosis 3	.230	3	.	.981	3	.735

a. Lilliefors Significance Correction

G. Hasil Analisis *One Way* ANOVA dan Uji *Duncan* Pengaruh Dosis Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar Kalsium Serum Darah

- Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Hari Ke-10

Descriptives

Kadar_Kalsium

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	9.6800	.55018	.31765	8.3133	11.0467	9.25	10.30
Kontrol Positif	3	8.1100	.16523	.09539	7.6996	8.5204	8.00	8.30
Dosis 1	3	11.2700	.35000	.20207	10.4006	12.1394	10.92	11.62
Dosis 2	3	11.4400	.68169	.39357	9.7466	13.1334	10.82	12.17
Dosis 3	3	11.6000	.91657	.52918	9.3231	13.8769	10.96	12.65
Total	15	10.4200	1.47918	.38192	9.6009	11.2391	8.00	12.65

ANOVA

Kadar_Kalsium

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.117	4	6.779	19.289	.000
Within Groups	3.515	10	.351		
Total	30.632	14			

Kadar_Kalsium

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
Kontrol Positif	3	8.1100		
Kontrol Negatif	3		9.6800	
Dosis 1	3			11.2700
Dosis 2	3			11.4400
Dosis 3	3			11.6000
Sig.		1.000	1.000	.530

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Hari Ke-20

Descriptives

Kadar_Kalsium

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	9.4800	.79699	.46014	7.5002	11.4598	8.56	9.96
Kontrol Positif	3	7.5200	.34044	.19655	6.6743	8.3657	7.19	7.87
Dosis 1	3	10.4400	.68088	.39311	8.7486	12.1314	9.70	11.04
Dosis 2	3	10.9000	.98960	.57134	8.4417	13.3583	10.11	12.01
Dosis 3	3	11.7200	.75027	.43317	9.8562	13.5838	11.09	12.55
Total	15	10.0120	1.61820	.41782	9.1159	10.9081	7.19	12.55

ANOVA

Kadar_Kalsium

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31.146	4	7.787	14.122	.000
Within Groups	5.514	10	.551		
Total	36.660	14			

Kadar_Kalsium

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
Kontrol Positif	3	7.5200		
Kontrol Negatif	3		9.4800	
Dosis 1	3		10.4400	10.4400
Dosis 2	3		10.9000	10.9000
Dosis 3	3			11.7200
Sig.		1.000	.049	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- Analisis Kadar Kalsium Serum Darah Hari Ke-30

Descriptives

Kadar_Kalsium

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Negatif	3	9.1200	.53675	.30989	7.7866	10.4534	8.72	9.73
Kontrol Positif	3	7.2300	.49960	.28844	5.9889	8.4711	6.83	7.79
Dosis 1	3	10.0400	.07937	.04583	9.8428	10.2372	9.98	10.13
Dosis 2	3	10.0800	.48125	.27785	8.8845	11.2755	9.58	10.54
Dosis 3	3	10.1500	1.06522	.61501	7.5038	12.7962	9.01	11.12
Total	15	9.3240	1.26489	.32659	8.6235	10.0245	6.83	11.12

ANOVA

Kadar_Kalsium

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.579	4	4.645	12.157	.001
Within Groups	3.821	10	.382		
Total	22.399	14			

Kadar_Kalsium

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01	
		1	2
Kontrol Positif	3	7.2300	
Kontrol Negatif	3		9.1200
Dosis 1	3		10.0400
Dosis 2	3		10.0800
Dosis 3	3		10.1500
Sig.		1.000	.086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

H. Hasil Analisis *Oneway* ANOVA Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar Kalsium Serum Darah

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol_Negatif	Hari 10	3	9.6800	.55018	.31765	8.3133	11.0467	9.25	10.30
	Hari 20	3	9.4800	.79699	.46014	7.5002	11.4598	8.56	9.96
	Hari 30	3	9.1200	.53675	.30989	7.7866	10.4534	8.72	9.73
	Total	9	9.4267	.60572	.20191	8.9611	9.8923	8.56	10.30
Kontrol_Positif	Hari 10	3	8.1100	.16523	.09539	7.6996	8.5204	8.00	8.30
	Hari 20	3	7.5200	.34044	.19655	6.6743	8.3657	7.19	7.87
	Hari 30	3	7.2300	.49960	.28844	5.9889	8.4711	6.83	7.79
	Total	9	7.6200	.49902	.16634	7.2364	8.0036	6.83	8.30
Dosis_1	Hari 10	3	11.2700	.35000	.20207	10.4006	12.1394	10.92	11.62
	Hari 20	3	10.4400	.68088	.39311	8.7486	12.1314	9.70	11.04
	Hari 30	3	10.0400	.07937	.04583	9.8428	10.2372	9.98	10.13
	Total	9	10.5833	.66583	.22194	10.0715	11.0951	9.70	11.62
Dosis_2	Hari 10	3	11.4400	.68169	.39357	9.7466	13.1334	10.82	12.17
	Hari 20	3	10.9000	.98960	.57134	8.4417	13.3583	10.11	12.01
	Hari 30	3	10.0800	.48125	.27785	8.8845	11.2755	9.58	10.54
	Total	9	10.8067	.87784	.29261	10.1319	11.4814	9.58	12.17
Dosis_3	Hari 10	3	11.6000	.91657	.52918	9.3231	13.8769	10.96	12.65
	Hari 20	3	11.7200	.75027	.43317	9.8562	13.5838	11.09	12.55
	Hari 30	3	10.1500	1.06522	.61501	7.5038	12.7962	9.01	11.12
	Total	9	11.1567	1.09870	.36623	10.3121	12.0012	9.01	12.65

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kontrol_Negatif	Between Groups	.483	2	.242	.591	.583
	Within Groups	2.452	6	.409		
	Total	2.935	8			
Kontrol_Positif	Between Groups	1.207	2	.603	4.608	.061
	Within Groups	.786	6	.131		
	Total	1.992	8			
Dosis_1	Between Groups	2.362	2	1.181	5.980	.037
	Within Groups	1.185	6	.197		
	Total	3.547	8			
Dosis_2	Between Groups	2.814	2	1.407	2.519	.161
	Within Groups	3.351	6	.559		
	Total	6.165	8			
Dosis_3	Between Groups	4.582	2	2.291	2.708	.145
	Within Groups	5.075	6	.846		
	Total	9.657	8			

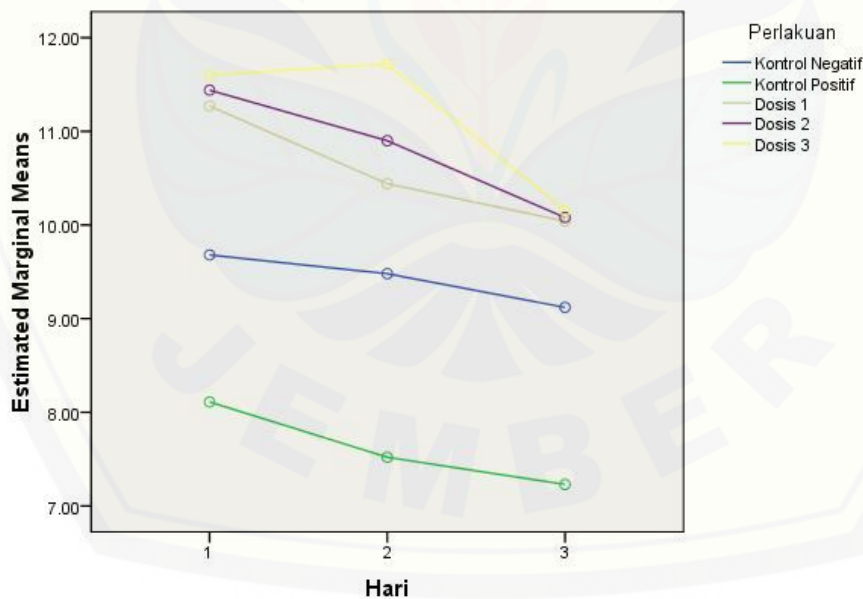
I. Hasil Analisis *General Linear Means (GLM) Repeated Measured* Pengaruh Dosis dan Lama Pemberian Ekstrak Tepung Tempe Kedelai terhadap Kadar Kalsium Serum Darah Mencit

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

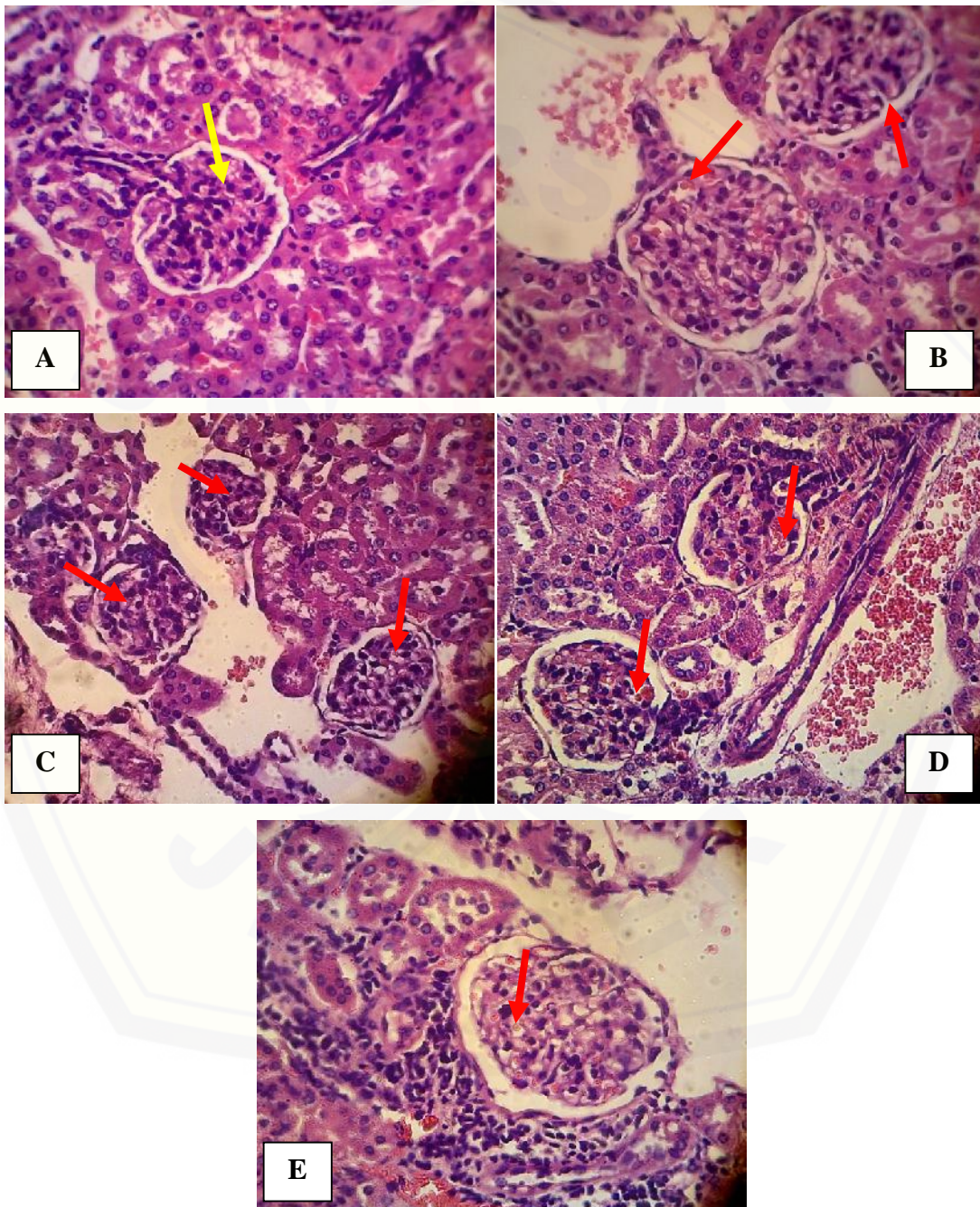
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Hari	Sphericity Assumed	9.205	2	4.603	10.844	.001	.520
	Greenhouse-Geisser	9.205	1.893	4.863	10.844	.001	.520
	Huynh-Feldt	9.205	2.000	4.603	10.844	.001	.520
	Lower-bound	9.205	1.000	9.205	10.844	.008	.520
Hari * Perlakuan	* Sphericity Assumed	2.242	8	.280	.660	.720	.209
	Greenhouse-Geisser	2.242	7.572	.296	.660	.712	.209
	Huynh-Feldt	2.242	8.000	.280	.660	.720	.209
	Lower-bound	2.242	4.000	.560	.660	.633	.209

Estimated Marginal Means of MEASURE_1

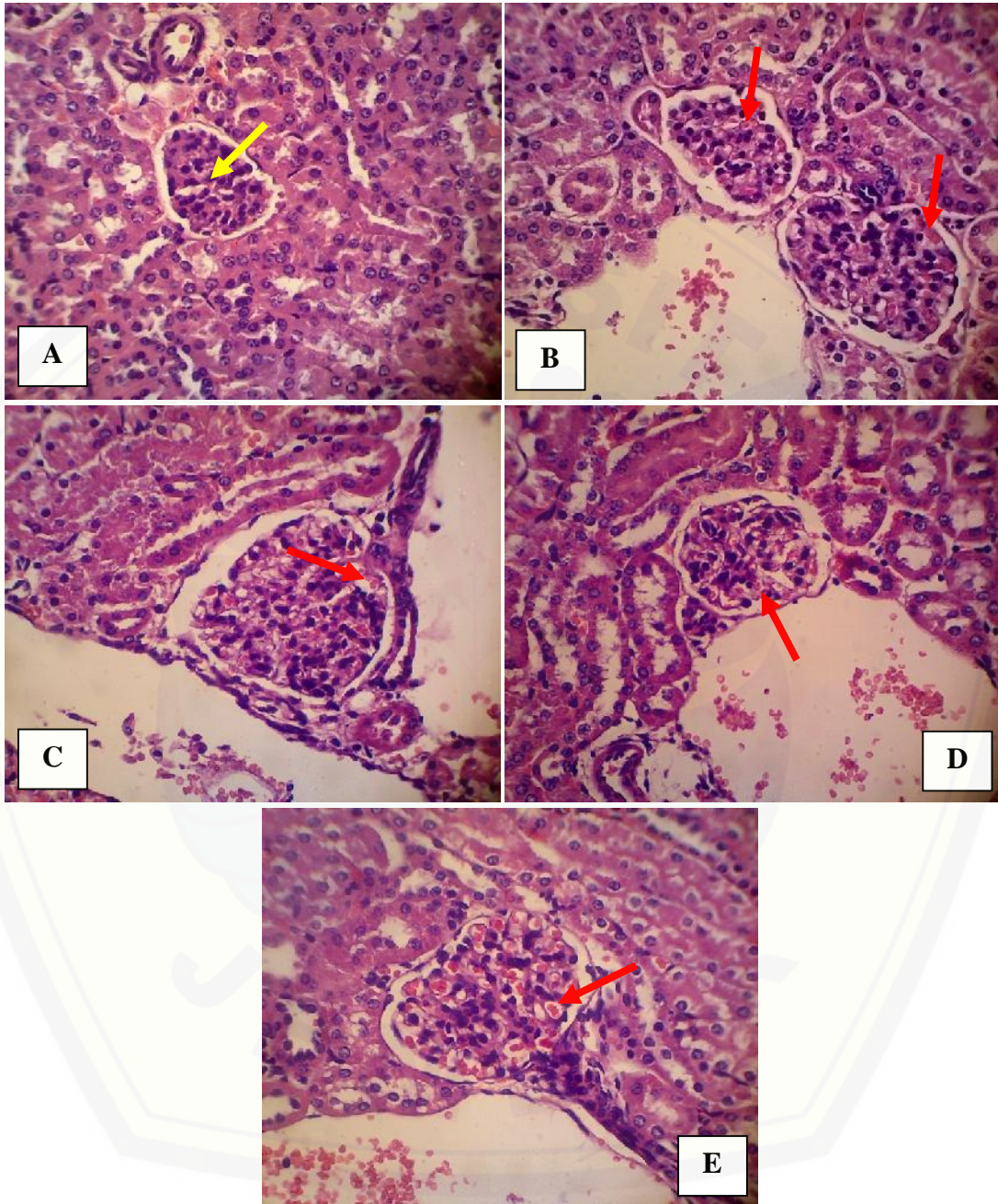


J. Preparat Penampang Melintang Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Strain Swiss Webster

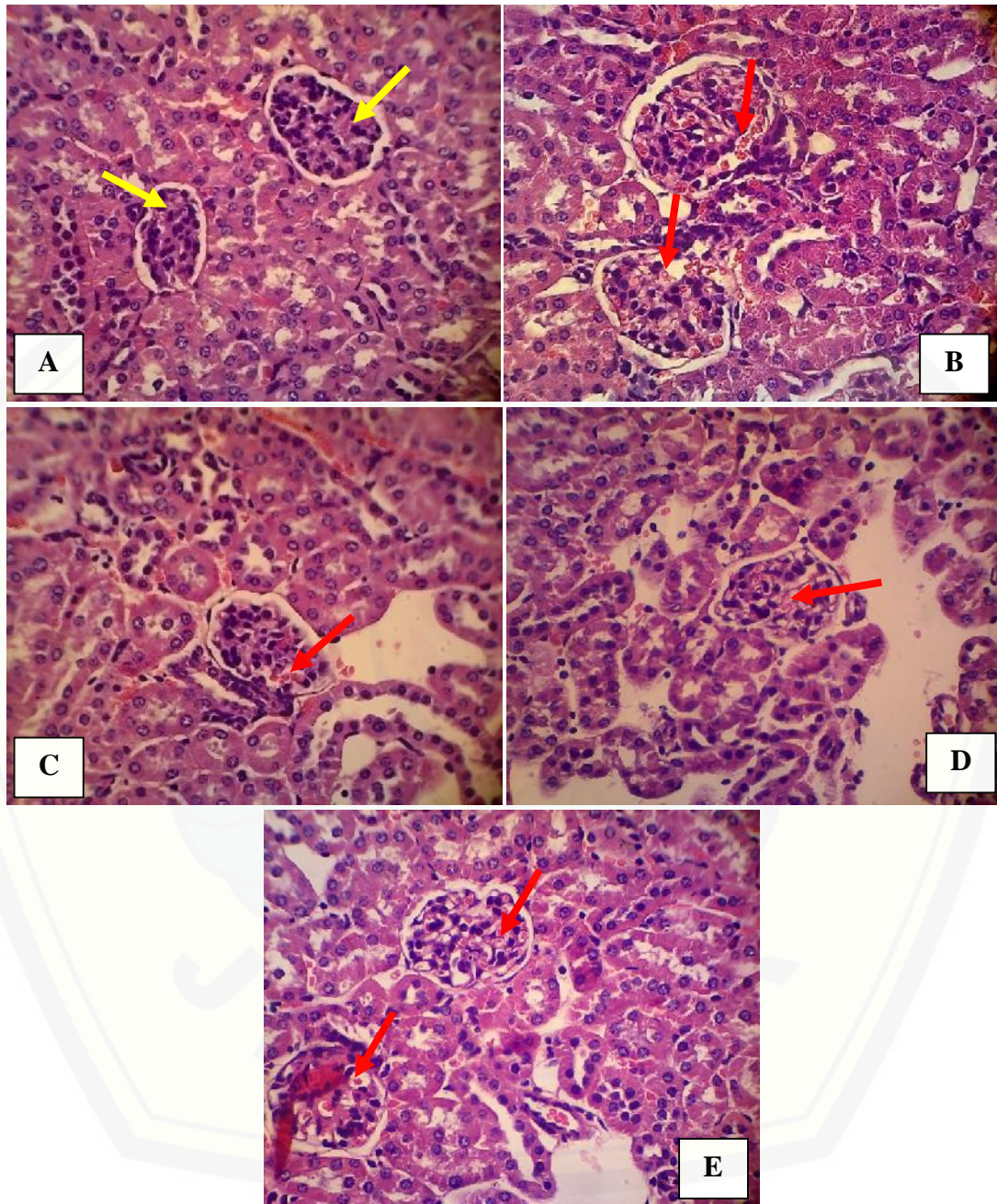
- Perlakuan 10 Hari



- Perlakuan 20 Hari



- Perlakuan 30 hari



Keterangan: Preparat penampang melintang histologi ginjal perbesaran 400x (pengecatan H-E). A. Kontrol Negatif, B. Kontrol Positif, C. Dosis 1, D. Dosis 2, panah kuning= glomerulus normal, panah merah= eritrosit di dalam glomerulus yang mengalami inflamasi (Sumber: Dokumentasi Pribadi).

K. Hasil Uji Normalitas Data Berat Badan Mencit

- Kelompok Kontrol Negatif

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.194	3	.996	3	.886
	H-20	.219	3	.987	3	.780
	H-30	.301	3	.912	3	.424

a. Lilliefors Significance Correction

- Kelompok Kontrol Positif

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.276	3	.942	3	.537
	H-20	.299	3	.915	3	.433
	H-30	.321	3	.881	3	.328

a. Lilliefors Significance Correction

- Kelompok Dosis 1

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.359	3	.810	3	.138
	H-20	.328	3	.871	3	.298
	H-30	.260	3	.959	3	.609

a. Lilliefors Significance Correction

- Kelompok Dosis 2

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.292	3	.923	3	.463
	H-20	.234	3	.978	3	.719
	H-30	.249	3	.967	3	.653

a. Lilliefors Significance Correction

- Kelompok Dosis 3

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Berat_Badan	H-10	.177	3	1.000	3	.972
	H-20	.304	3	.907	3	.407
	H-30	.288	3	.928	3	.482

a. Lilliefors Significance Correction

L. Hasil Uji Statistik Data Berat Badan Mencit

- Kelompok Kontrol Negatif

Descriptives

Berat_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	27.9000	1.45258	.83865	24.2916	31.5084	26.50	29.40
H-20	3	27.2000	.75498	.43589	25.3245	29.0755	26.50	28.00
H-30	3	27.5500	1.02103	.58949	25.0136	30.0864	26.40	28.35
Total	9	27.5500	1.01119	.33706	26.7727	28.3273	26.40	29.40

- Kelompok Kontrol Positif

Descriptives

Berat_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	30.2000	.72111	.41633	28.4087	31.9913	29.60	31.00
H-20	3	28.9000	1.77764	1.02632	24.4841	33.3159	27.50	30.90
H-30	3	29.5500	.87892	.50744	27.3666	31.7334	28.90	30.55
Total	9	29.5500	1.19583	.39861	28.6308	30.4692	27.50	31.00

- Kelompok Dosis 1

Descriptives

Berat_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	35.5000	2.77849	1.60416	28.5979	42.4021	32.30	37.30
H-20	3	36.6000	.96437	.55678	34.2044	38.9956	35.90	37.70
H-30	3	34.8000	2.55343	1.47422	28.4569	41.1431	32.60	37.60
Total	9	35.6333	2.10000	.70000	34.0191	37.2475	32.30	37.70

- Kelompok Dosis 2

Descriptives

Berat_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	36.7000	2.49800	1.44222	30.4946	42.9054	33.90	38.70
H-20	3	34.6000	1.76918	1.02144	30.2051	38.9949	33.00	36.50
H-30	3	32.8667	2.23681	1.29142	27.3101	38.4232	30.90	35.30
Total	9	34.7222	2.52130	.84043	32.7842	36.6603	30.90	38.70

- Kelompok Dosis 3

Descriptives

Berat_Badan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H-10	3	32.3667	1.95021	1.12596	27.5221	37.2113	30.40	34.30
H-20	3	33.2333	.94516	.54569	30.8854	35.5812	32.50	34.30
H-30	3	33.8667	2.80238	1.61795	26.9052	40.8282	31.60	37.00
Total	9	33.1556	1.88753	.62918	31.7047	34.6064	30.40	37.00