



**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK TEPUNG KEDELAI HITAM
(*Glycine soja*) TERHADAP IMPLANTASI MENCIT
(*Mus musculus*) STRAIN BALB/C PASCA
OVARIEKTOMI UNILATERAL**

SKRIPSI

Oleh:

**Maulfi Dwi Lestari
NIM 131810401051**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK TEPUNG KEDELAI HITAM
(*Glycine soja*) TERHADAP IMPLANTASI MENCIT
(*Mus musculus*) STRAIN BALB/C PASCA
OVARIEKTOMI UNILATERAL**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Maulfi Dwi Lestari
NIM 131810401051**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Ibunda Sunarsi dan Ayahanda Subandiyo tercinta, terimakasih atas segala limpahan doa, kasih sayang, pengorbanan, kesabaran mendidik serta dukungan yang tiada henti;
2. keluarga besar tercinta yang telah memberi doa, motivasi dan dukungan;
3. guru-guruku TK Tunas Bangsa, SDN 2 Lemahbang Kulon, SMPN 2 Rogojampi, SMA DU 1 Unggulan BPP-Teknologi Jombang yang telah mendidik dan membagikan ilmunya;
4. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

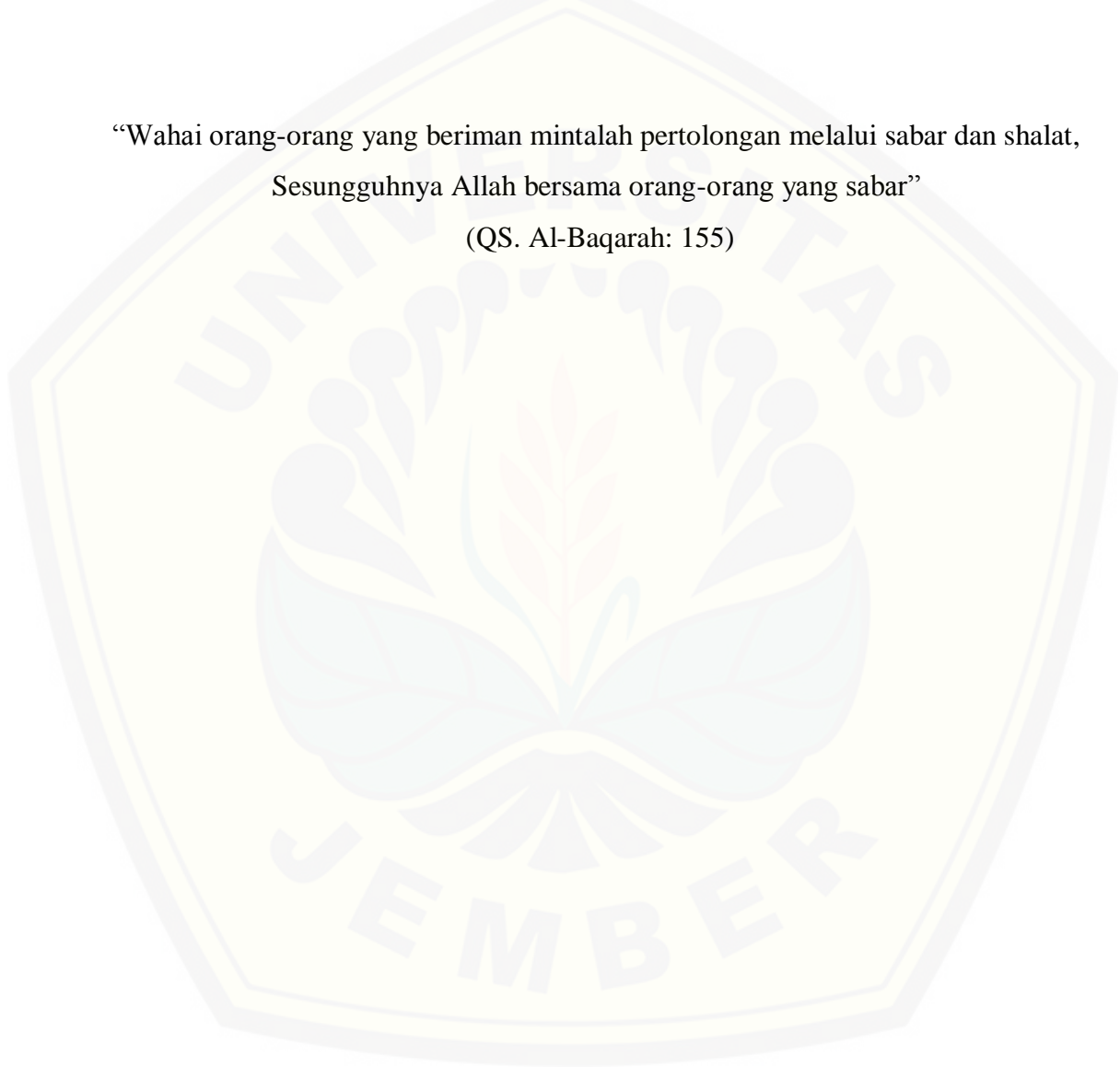
MOTTO

“Dan hendaknya kepada Tuhanmulah (Allah SWT), hendaknya kamu berharap”

(QS. Al Insyirah: 8)

“Wahai orang-orang yang beriman mintalah pertolongan melalui sabar dan shalat,
Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar”

(QS. Al-Baqarah: 155)



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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

nama : Maulfi Dwi Lestari

NIM : 131810401051

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Efek Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Implantasi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariektomi Unilateral" 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 oleh Dra. Mahriani, M.Si dan dengan sumber dana mandiri 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, 19 Juli 2017

Yang menyatakan,

Maulfi Dwi Lestari

NIM 131810401051

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK TEPUNG KEDELAI HITAM
(*Glycine soja*) TERHADAP IMPLANTASI MENCIT
(*Mus musculus*) STRAIN BALB/C PASCA
OVARIEKTOMI UNILATERAL**

Oleh

**Maulfi Dwi Lestari
NIM 131810401051**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Mahriani, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Implantasi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariektomi Unilateral”, 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

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

Anggota I,

Anggota II,

Dra. Susantin Fajariyah, M.Si
NIP 196411051989022001

Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd
NIP 195805281988021002

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Efek Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Implantasi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariectomi Unilateral; Maulfi Dwi Lestari, 131810401051; 2017; 29 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Implantasi merupakan proses tertanamnya blastokis ke dalam dinding endometrium yang berperan penting dalam keberhasilan reproduksi. Dalam proses implantasi terjadi interaksi antara embrio dengan endometrium yang dipengaruhi oleh hormon estrogen. Pengangkatan salah satu ovarium atau *unilateral ovariectomy* (ULO) dapat menyebabkan penurunan kadar hormon estrogen. Kondisi defisiensi estrogen dalam tubuh dapat ditanggulangi dengan pemberian senyawa fitoestrogen. Salah satu senyawa bioaktif fitoestrogen yang dapat digunakan sebagai sumber estrogen eksogen alami adalah isoflavon. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pada mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C yang di ovariectomi secara unilateral terhadap jumlah implantasi.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental murni dengan hewan uji berupa mencit strain Balb/C sebanyak 12 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol negatif (mencit tanpa ULO, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam), kontrol positif (mencit ULO, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam), dosis 1 (mencit ULO, diberi ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,31 g/ml/hari) dan dosis 2 (mencit ULO, diberi ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,63 g/ml/hari). Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dilakukan secara oral dengan cara dicampurkan pada aquades sebanyak 1 ml tiap mencit. Perkawinan mencit betina dan jantan dilakukan pada hari ke 18 saat malam hari. Mencit setiap kelompok di bedah pada hari ke 7 kebuntingan untuk menghitung jumlah implantasi. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dengan taraf kepercayaan 99% atau $\alpha=0,01$ yang dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat beda nyata antar kelompok perlakuan pada hewan uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah implantasi pada mencit ovariektomi unilateral mengalami peningkatan dengan pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dengan dosis 0,31 g/ml/hari, sedangkan pada dosis 0,63 g/ml/hari cenderung menurunkan jumlah implantasi. Kesimpulan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pada mencit ovariektomi unilateral dapat meningkatkan jumlah implantasi. Perlakuan ekstrak tepung kedelai hitam yang paling berpengaruh dalam meningkatkan jumlah implantasi mencit pasca ovariektomi unilateral terdapat pada dosis 0,31 g/ml/hari.



PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Implantasi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariectomi Unilateral”. 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 ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dra. Mahriani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
2. Dra. Susantin Fajariyah, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd., selaku Dosen Penguji II, yang telah membantu memberikan saran serta kritik dalam penulisan skripsi ini;
3. Purwatiningsih, S.Si, M.Si, Ph. D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing serta memberikan masukan dan saran selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ir. Effe Fadrijah E.D, M.ST., selaku Teknisi Laboratorium Zoologi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membantu demi kelancaran selama penulis melakukan penelitian;
5. kakak saya Linggar Jefriyadi, S.Pd dan Nunik irma Reztiana, S.T.P yang tak pernah lelah memberi doa dan motivasi.
6. keluarga besarku terima kasih atas limpahan do'a, pengorbanan, motivasi dan kasih sayangnya demi terselesaikannya skripsi ini;
7. rekan kerja selama penelitian Yeni Febriana, Shofiyawati Elok dan Lidia Maziyatun Nikmah terima kasih atas kekompakan dan kerjasamanya, kalian partner kerja sekaligus keluarga baru yang tidak akan pernah tergantikan;

8. teman-teman laboratorium zoologi Fita Aprilia, Dwi Erlinda, Dewi Lina Suryani, dan Nindita Fitria Primasari terimakasih atas do'a serta motivasinya;
9. M. Almas Firdausi yang telah membantu, mendukung dan selalu memberikan motivasi.
10. sahabat-sahabatku Novita Amalia, Fitria Mutiah, Raudatul Jannah, Nurul, Fike, Fresha, Alfian, Fatuciwa, Twin, Raras, Maya, terima kasih atas segala bantuan, doa, masukan serta semangat yang kalian berikan kepada penulis, terima kasih untuk kalian yang rela mendengarkan keluh kesah penulis selama menyusun skripsi;
11. teman-teman Biogas tercinta (angkatan 2013) Jurusan Biologi Universitas Jember yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu;
12. semua pihak yang telah memberikan sumbangan tenaga, semangat dan pikiran yang tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis dalam kelancaran penulisan skripsi ini.

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

Jember, 19 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

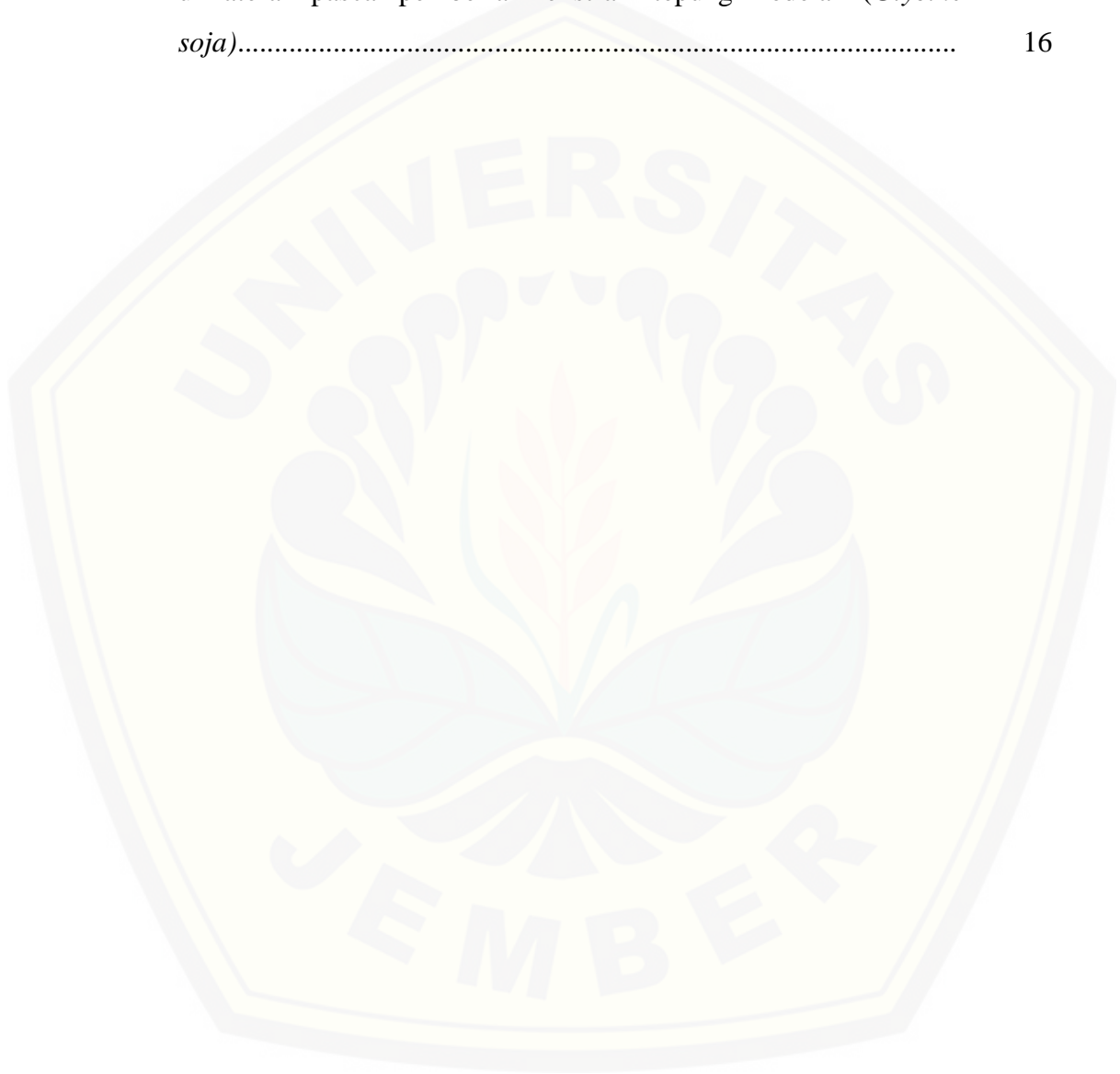
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan.....	2
1.4 Manfaat.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Struktur dan Kandungan Isoflavon Pada Kedelai Hitam dan Pengaruhnya Pada Struktur Reproduksi Betina	3
2.2 Implantasi Pada Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	4
2.3 Peran Hormon Estrogen Pada Implantasi	7
2.4 Hipotesis.....	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.2.1 Alat	10
3.2.2 Bahan	10
3.3 Rancangan Penelitian.....	11
3.4 Tahap Penelitian.....	13
3.4.1 Persiapan Hewan Uji	13

3.4.2 Preparasi Mencit <i>Unilaterall Ovariectomy</i> (ULO).....	13
3.4.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Kedelai Hitam.	14
3.4.4. Perlakuan Hewan Uji	14
3.4.5 Perkawinan Mencit Jantan dan Betina.....	15
3.4.6 Penghitungan Implantasi.....	15
3.4.7 Parameter Penelitian	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
BAB 5. PENUTUP	21
5.1 Kesimpulan	21
5.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	27

DAFTAR TABEL

Halaman

4.1 Rata-rata jumlah implantasi mencit strain Balb/C ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai (<i>Glycine soja</i>).....	16
---	----

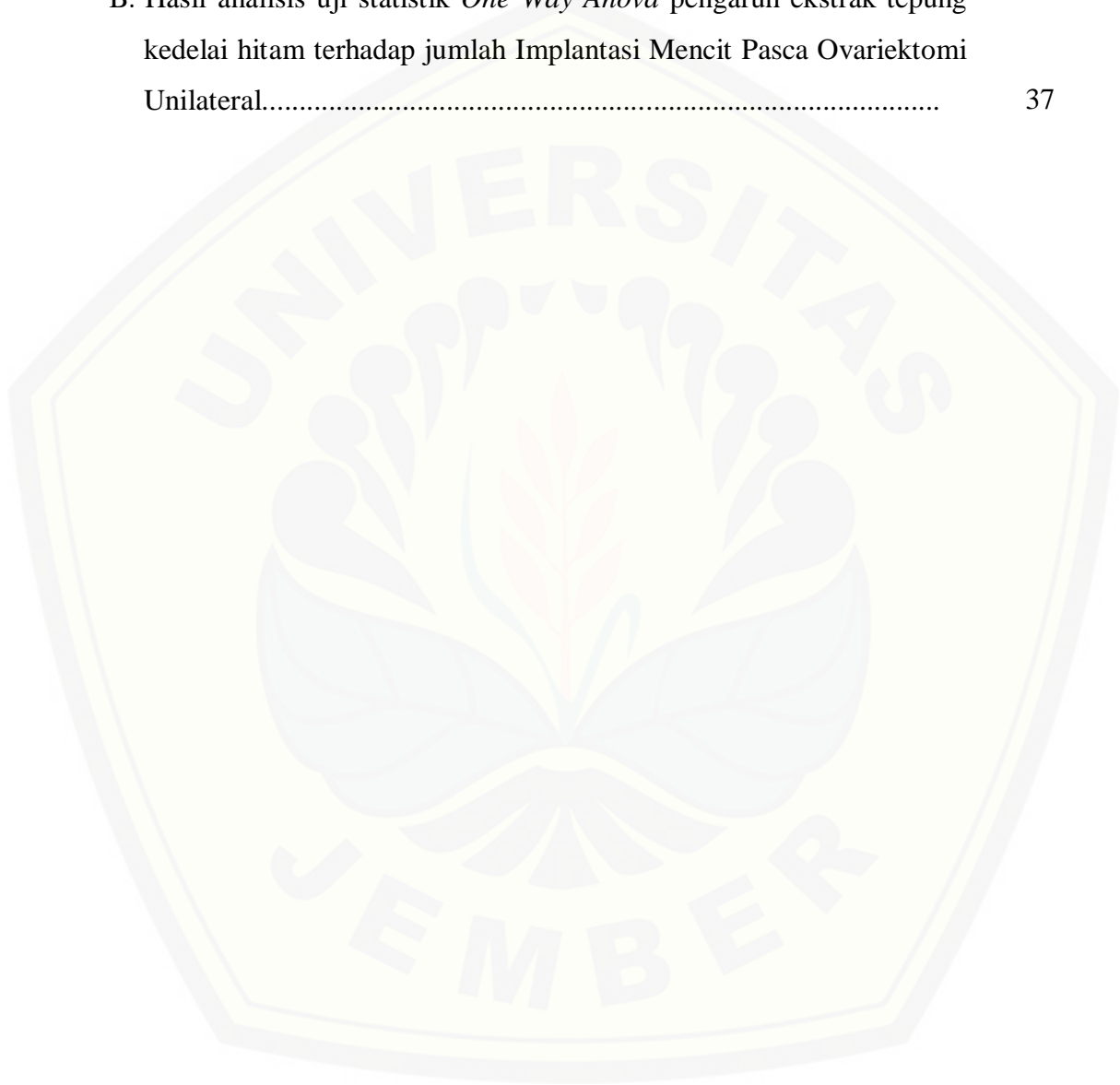


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia daidzein, genistein dan glycytein.....	4
2.2 Tahapan Praimplantasi pada mencit.....	5
2.3 Tahapan implantasi pada mencit.....	6
2.4 Implantasi pada mencit.....	7
2.5 Struktur kimia estrogen.....	8
3.1 Alur kegiatan penelitian.....	12
4.1 Grafik pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah Implantasi mencit pasca ovariektomi unilateral.....	19
4.2 implantasi mencit.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penentuan dosis.....	36
B. Hasil analisis uji statistik <i>One Way Anova</i> pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah Implantasi Mencit Pasca Ovariektomi Unilateral.....	37



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Implantasi merupakan proses tertanamnya blastokis ke dalam dinding endometrium yang berperan penting dalam keberhasilan reproduksi (Mourik *et al.*, 2009). Dalam proses implantasi terjadi interaksi antara embrio dengan endometrium yang dipengaruhi oleh hormon estrogen (Kodaman dan Taylor, 2004). Secara umum hormon estrogen berfungsi merangsang siklus estrus dan proses implantasi serta menstimulasi kerja hormon progesteron dalam proliferasi sel-sel endometrium uterus (Suprihatin, 2008).

Hormon estrogen merupakan hormon steroid yang dihasilkan oleh ovarium. Adanya perlakuan ovariectomi menyebabkan defisiensi estrogen dan terjadinya perubahan fisiologis pada sistem reproduksi (Ganong, 2003). Pengangkatan salah satu ovarium atau *unilateral ovariectomy* (ULO) menyebabkan penurunan kadar hormon estrogen (Alagwu *et al.*, 2005). Defisiensi estrogen mengakibatkan uterus tidak berkembang, terjadi atrofi pada miometrium, dan blastokis tidak menempel pada endometrium sehingga tidak terjadi implantasi (Ganong, 2003).

Kondisi defisiensi estrogen dalam tubuh dapat ditanggulangi dengan pemberian fitoestrogen yaitu senyawa alami dari tanaman yang menyerupai estrogen (Setchell dan Cassidy, 1999). Fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor estrogen dan menimbulkan efek estrogenik yang menyerupai estrogen endogen pada mamalia (Sirotkin, 2014). Berbagai penelitian terkait efek fitoestrogen pada struktur reproduksi betina telah dilakukan, salah satunya oleh Adaay *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak *Medicago sativa* dan *Salvia officinalis* dapat meningkatkan jumlah folikel ovarium, korpus luteum serta meningkatkan diameter kelenjar endometrium.

Salah satu senyawa bioaktif fitoestrogen yang dapat digunakan sebagai sumber estrogen eksogen alami adalah isoflavon (Biben, 2012). Isoflavon memiliki afinitas relatif lebih tinggi terhadap reseptor β -estrogen (Kuiper *et al.*, 1998). Salah satu tanaman yang mengandung senyawa isoflavon adalah kedelai

hitam (*Glycine soja*). Sebagai sumber isoflavon alami, kedelai hitam mengandung daidzein 40,5%, genistein 56,9% dan glycitein 2,6% (Nakamura *et al.*, 2001). Penelitian tentang pemanfaatan kedelai sebagai sumber estrogen eksogen alami, antara lain dilakukan oleh Sitasiwi (2008) bahwa, pemberian ekstrak tepung kedelai hitam 0,97 mg/ml/hari dan ekstrak tepung tempe 0,148 mg/ml/hari cenderung meningkatkan tebal endometrium. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pada mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C yang diovariectomi secara unilateral terhadap jumlah implantasi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dapat meningkatkan jumlah implantasi yang dihasilkan mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C ovariektomi unilateral.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah implantasi yang dihasilkan mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C ovariektomi unilateral.

1.4 Manfaat

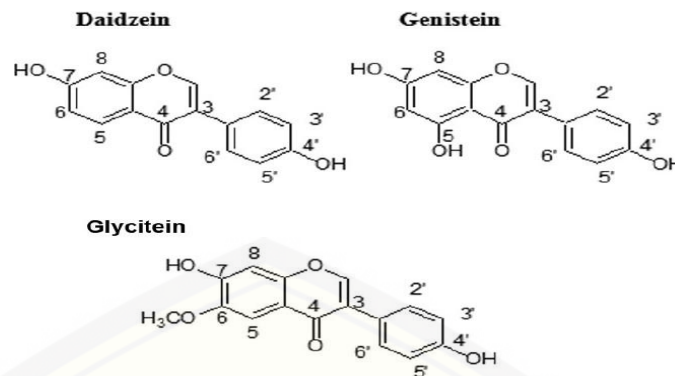
Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan kedelai hitam sebagai alternatif sumber estrogen alami dari luar tubuh dalam memperbaiki kondisi defisiensi estrogen.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Kandungan Isoflavon pada Kedelai Hitam dan Pengaruhnya Pada Struktur Reproduksi Betina

Kedelai hitam (*Glycine soja*) merupakan tanaman penghasil sumber protein yang termasuk dalam suku *Leguminosae*. Biji kedelai hitam secara umum digunakan untuk bahan baku kecap, sedangkan kedelai putih digunakan untuk bahan baku tahu dan tempe serta olahan makanan lainnya seperti tauco dan lain-lain (Sigit *et al.*, 2010 ; Wardani *et al.*, 2014). Kedelai hitam memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi yaitu protein 43,55%, karbohidrat 34,8%, dan lemak 12,72%. Selain itu kedelai hitam juga berperan sebagai sumber isoflavon alami dan bersifat estrogenik (Pertiwi *et al.*, 2013). Senyawa isoflavon yang terkandung pada kedelai hitam berperan sebagai estrogen eksogen alami yang berasal dari tanaman. Menurut Rahma (2010) kadar isoflavon pada kedelai hitam paling tinggi, dibandingkan dengan kedelai kuning ataupun famili *leguminosae* lainnya seperti koro kratok

Isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder golongan isoflavonoid yang termasuk senyawa fenol alami yang banyak dijumpai pada tumbuhan. Struktur kimia dari isoflavon memiliki kemiripan dengan struktur estrogen yang ada pada mamalia. Cincin fenolat pada isoflavon merupakan struktur penting pada sebagian besar komponen isoflavon yang berfungsi saat berikatan dengan reseptor estrogen. Pemberian fitoestrogen dalam bentuk senyawa isoflavon terbukti mempengaruhi struktur organ reproduksi (Biben, 2012). Beberapa bentuk isoflavon pada biji kedelai hitam meliputi daidzein (7,4-dihydroxyisoflavone 7-glucoside), genistein (4,5,7- trihydroxyisoflavone 7-glucoside) dan glicytein (Borchers *et al.*, 2006). Struktur kimia genistein, daidzein dan glicytein dapat dilihat pada gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur kimia daidzein, genistein dan glycitein

(Sumber :Nakamura *et al.*, 2001)

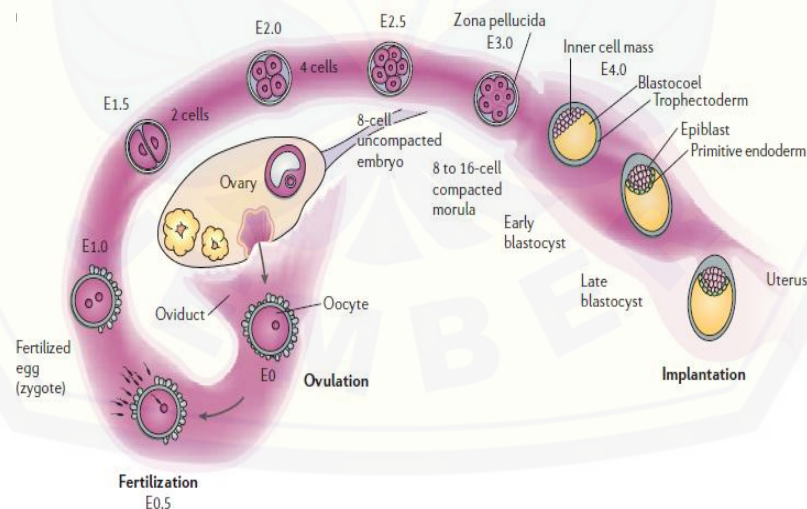
Kandungan isoflavon pada kedelai terdiri atas daidzein 40,5 %, genistein 56,9% dan glycitein 2,6% (Nakamura *et al.*, 2001). Senyawa isoflavon memiliki struktur yang mirip dengan estrogen endogen dan memiliki afinitas relatif lebih tinggi untuk mengikat reseptor β -estrogen (Pertiwi *et al.*, 2013; Kuiper *et al.*, 1998). Kandungan isoflavon dapat meningkatkan jumlah folikel ovarium, korpus luteum serta meningkatkan diameter kelenjar endometrium (Adaay *et al.*, 2013). Berbagai penelitian terkait efek pemberian senyawa fitoestrogen diantaranya yaitu oleh Sitasiwi (2008) bahwa, pemberian ekstrak tepung kedelai hitam 0,97 mg/ml/hari dan ekstrak tepung tempe 0,148 mg/ml/hari selama 45 hari cenderung meningkatkan ukuran tebal endometrium. Selain itu berdasarkan penelitian Haibin *et al.* (2005) menyatakan bahwa mencit model ovariektomi yang kemudian diberi senyawa isoflavon menunjukkan adanya aktivitas proliferasi sel pada endometrium (Haibin *et al.*, 2005)

2.2 Implantasi Pada Mencit (*Mus musculus*)

Implantasi adalah proses tertanamnya blastokis ke dalam endometrium yang memiliki peran penting dalam keberhasilan reproduksi. Proses tersebut melibatkan interaksi antara embrio pada tahap blastokis dengan endometrium uterus (Kodaman dan Taylor, 2004). Sinkronisasi antara perkembangan embrio dalam tahap blastokis dengan sel epitel luminal uterus berperan sangat penting dalam menentukan keberhasilan implantasi (Singh *et al.*, 2011). Perkembangan

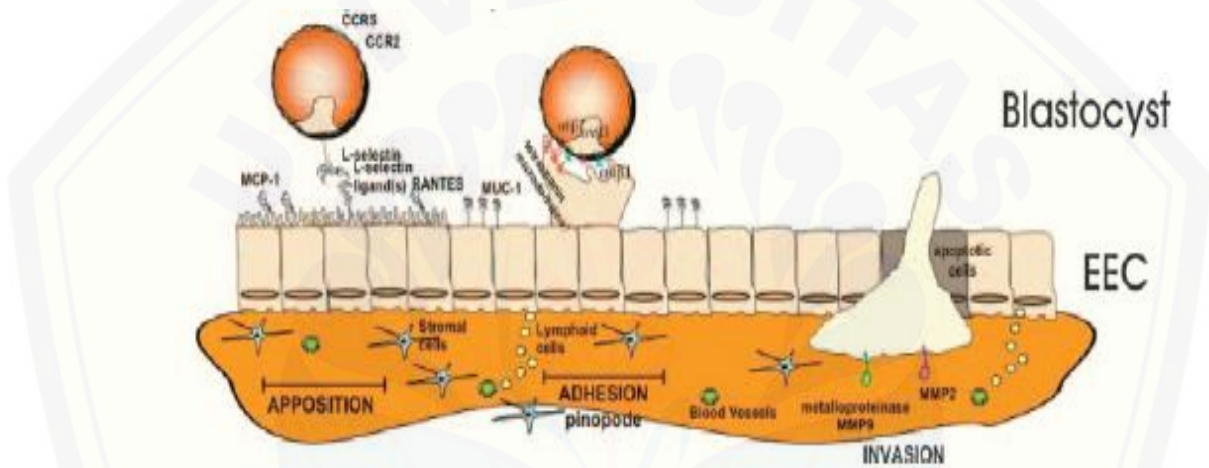
embrio praimplantasi pada mencit dimulai saat sel telur yang telah diovulasikan mengalami fertilisasi dan membentuk zigot. Selanjutnya zigot akan berkembang dan mengalami pembelahan mitosis hingga membentuk sekelompok sel yang disebut morula. Pada tahap akhir morula, embrio akan berdeferensiasi menjadi blastokis yang didalamnya terdapat rongga yang disebut *blastocoel* (Wang dan Dey, 2006) .

Pada mencit, blastokis terdiri atas *inner cell mass* (ICM) dan sel trofoblas. Bagian luar blastokis dilapisi oleh selaput glikoprotein yang disebut zona pelusida. Sebelum terjadi implantasi, blastokis akan mengalami pembesaran akibat adanya akumulasi cairan dalam *blastocoel* yang mengandung Na^+/K^+ dan ATPase, sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan hidrostatik internal pada zona pelusida serta menyebabkan rusaknya zona pelusida. Selanjutnya fimbria kecil mulai terbentuk pada sel trofoblas dan bergerak secara *amuboid* ke dalam dinding endometrium untuk melakukan proses implantasi (Balaban *et al.*, 2002; Gonzales *et al.*, 1996; Jones *et al.*, 2000). Tahapan praimplantasi pada mencit dapat dilihat pada Gambar 2.2



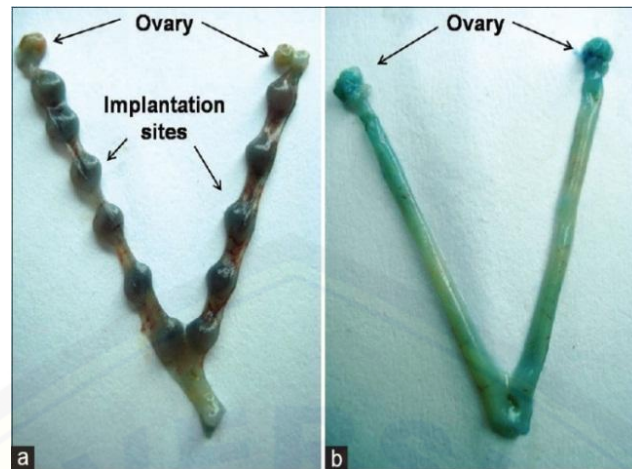
Gambar 2.2 Tahapan Praimplantasi pada mencit (Sumber : Wang dan Dey, 2006).

Implantasi terdiri atas 3 tahap yaitu aposisi, adhesi, dan invasi. Aposisi merupakan proses interaksi antara blastokis dengan endometrium. Adhesi adalah proses perlekatan blastokis yang ditandai dengan perlekatan antara trofoblas dengan dinding endometrium, sedangkan invasi merupakan terdegradasinya jaringan endometrium dan sel trofoblas melakukan infiltrasi ke dalam endometrium membentuk *anchoring villi* agar fetus memperoleh nutrisi dari induk (Mourik *et al.*, 2009; Dey *et al.*, 2004). Tahapan implantasi dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Tahapan implantasi pada Mencit (Sumber : Dominguez *et al.*, 2005)

Selama implantasi, terjadi interaksi antara embrio dan endometrium yang dipengaruhi hormon estrogen dan progesteron (Kodaman dan Taylor, 2004). Hormon estrogen, berperan dalam merangsang proliferasi sel pada uterus, sehingga uterus dalam kondisi reseptif dan siap untuk menerima embrio saat implantasi (Wang *et al.*, 2005). Pada mencit, implantasi embrio dalam bentuk blastokis pada dinding endometrium uterus terjadi pada hari 6-7 setelah fertilisasi dan blastokis sepenuhnya akan tertanam ke dalam dinding uterus pada hari ke 10 (Mourik *et al.*, 2009). Terbentuknya implantasi pada uterus dapat dilihat pada Gambar 2.4

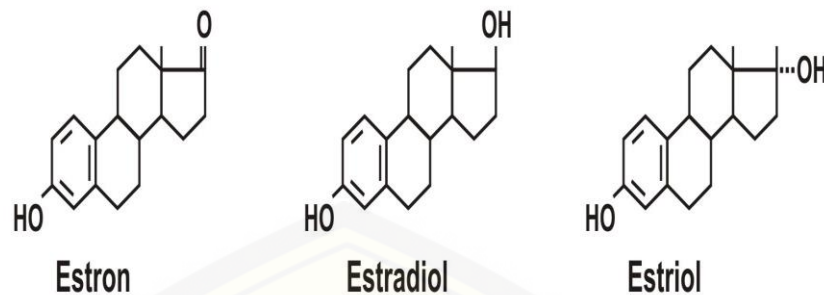


a) uterus mencit mengalami implantasi, b) uterus mencit tidak mengalami implantasi

Gambar 2.4 Implantasi pada uterus mencit (Sumber : Bhattacharya, 2013)

2.3 Peran Hormon Estrogen Pada Implantasi

Hormon reproduksi (progesteron, estrogen atau testosteron) termasuk dalam golongan hormon steroid. Hormon estrogen tersusun atas 18 atom C, gugus -OH fenolik pada C-3. Terdapat 3 jenis estrogen dominan pada tubuh yaitu estron (E1), estradiol (E2) dan estriol (E3). Estradiol merupakan estrogen utama yang diproduksi oleh ovarium yang berperan dalam merangsang dan meningkatkan proliferasi sel endometrium uterus, pertumbuhan jaringan organ kelamin serta meningkatkan masa endometrium dan miometrium uterus (Ganong, 2003). Hormon estrogen juga berperan dalam mengatur fungsi uterus selama siklus reproduksi dan kebuntingan (Wang *et al.*, 2005). Selain itu pada mencit, hormon estrogen berperan dalam menyiapkan reseptivitas uterus, sehingga siap untuk menerima embrio saat implantasi (Carson *et al.*, 2000). Struktur kimia hormon estrogen dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Struktur kimia estron, estradiol dan estriol

Gambar 2.5 Struktur Kimia Hormon Estrogen (Ganong, 2003)

Interaksi antara embrio dalam bentuk blastokis dengan endometrium dipengaruhi oleh hormon estrogen. Selain itu hormon estrogen juga merupakan hormon yang berperan pada perkembangan dinding endometrium uterus sehingga dapat mendukung embrio untuk melakukan implantasi (Singh *et al.*, 2011). Menurut Mourik *et al.* (2009) hormon estrogen dapat memicu proliferasi sel endometrium, sehingga uterus siap menerima embrio.

Pada mencit hormon estrogen dapat meningkatkan proliferasi sel granulosa ovarium dan mencegah atresia, sehingga sel telur yang diovulasikan lebih banyak dan jumlah korpus luteum meningkat (Suprihatin, 2008). Korpus luteum berperan dalam menghasilkan hormon progesteron yang membantu proliferasi sel endometrium uterus (Ganong, 2013).

Pengangkatan salah satu ovarium atau *unilateral ovariectomy* (ULO) pada mencit, menyebabkan penurunan kadar hormon steroid seperti estrogen dan progesteron (Alagwu *et al.*, 2005). Selain itu efek dari ULO tersebut dapat menyebabkan penurunan angka implantasi pada mencit (Bhattacharya, 2013). Defisiensi estrogen dalam tubuh juga menyebabkan uterus tidak berkembang dan terjadi atrofi pada miometrium, sehingga blastokis tidak dapat terimplantasi (Ganong, 2003). Helmy *et al.* (2014) menyatakan bahwa, senyawa isoflavon dapat meningkatkan kadar hormon estrogen dan merangsang pertumbuhan uterus. Menurut Sitaswi (2008) Pemberian senyawa isoflavon dapat meningkatkan ukuran tebal endometrium uterus. Selain itu Haibin *et al.* (2005) menyatakan

bahwa mencit yang diovariectomi dan diberi fitoestrogen akan menunjukkan aktivitas proliferasi pada sel endometrium uterus.

2.4 Hipotesis

Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam meningkatkan jumlah implantasi pada mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C pasca ovariectomi unilateral.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2017 di Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi kandang mencit berukuran 34 x 25 x 12 cm (bak plastik dan penutup dari ram kawat besi), botol minum mencit, jarum sonde, timbangan analitik 200 x 0,1 gram (*Ohaus*) lambung berujung tumpul (20 gauge, 5 cm), papan bedah, timbangan analitik 200 gram (*Ohaus*), *sput injection* (Terumo Syringe 1 cc/ml) 0,45 x 13 mm, *sput injection* (Terumo Syringe 3 ml) 0,65 x 32 mm, eskavator, *paratuse case*, hecting set, silet, jarum sutura no.2 (*One Med*), *beaker glass* (1000 ml, 600 ml, 200 ml), gelas ukur 100 ml, botol *schott* (1000 ml, 500 ml), corong plastik kecil, spatula, cawan porselen 75 cc, *grinder*, saringan tepung 60 mesh, *lab stirrer electricity*, *rotary evaporator*, *waterbath*, baki *stainless steel*, oven (*Incucell*), pisau, baki plastik, talenan dan sendok, cup.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mencit (*Mus musculus*) betina strain Balb/C yang diperoleh dari Pusat Veterian Farma Surabaya (Pusvetma), pakan *pellet* (BR1), aquades, sekam padi, serbuk gergaji kayu, *ketamine* 10%, xyla, benang *silk* nomor 3 (*One med*), benang *catgut* nomor 3 (*One med*), betadine (*Povidone Iodine*) 10%, Alkohol 70% (*Mediss*), antibiotik (*Levofloxacin*), cairan infus 0,9%, *Sodium Chloride* (Cotsu-NS), kasa steril (*One med*), *tissue gloves*, masker, kedelai hitam, alkohol 70 %, kertas saring, kain saring, *tissue*.

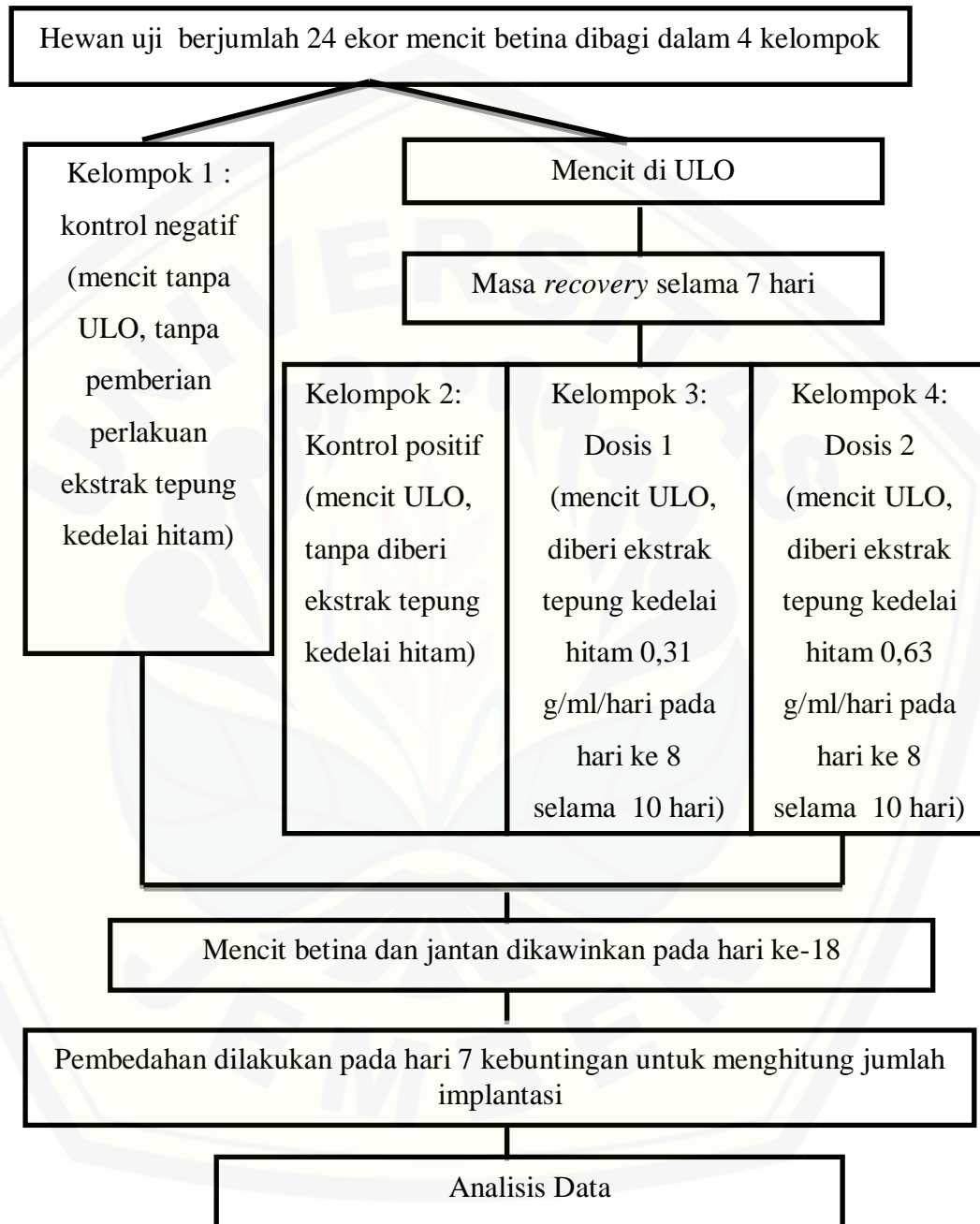
3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis perlakuan. Variabel terikatnya adalah jumlah implantasi. Pada penelitian ini digunakan 24 ekor mencit (*Mus musculus* L.) betina strain Balb/C umur 60 hari dengan berat rata-rata 35 gram.

Berikut pembagian kelompok uji dari penelitian ini :

- Kelompok 1 : Kelompok kontrol negatif (mencit tanpa ovariektomi, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam)
- Kelompok 2 : Kelompok kontrol positif (mencit ovariektomi (ULO), tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam)
- Kelompok 3 : Dosis 1 (mencit ovariektomi (ULO), dengan pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,31 g/ml setiap hari, selama 10 hari)
- Kelompok 4 : Dosis 2 (mencit ovariektomi (ULO), dengan pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,63 g/ml setiap hari, selama 10 hari)

Secara garis besar alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.4 Tahap Penelitian

3.4.1 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah 24 ekor mencit betina strain Balb/C umur 60 hari yang dipelihara dan diadaptasikan pada kandang yang terbuat dari plastik dan penutup ram kawat berukuran 34 cm x 25 cm x 12 cm beralas sekam padi dan serbuk gergaji kayu. Mencit diberi pakan berupa *pellet* (BR 1) dan diberi minum aquades secara *ad libitum*.

3.4.2 Preparasi Mencit *Unilaterall Ovariectomy* (ULO)

Prosedur ovariektomi unilateral yang dilakukan yaitu dengan mengambil satu ovarium mencit. Mencit umur 60 hari dengan berat rata-rata 35 g dianasthesi dengan ketamil 10% dan xyla dengan perbandingan 1:1 sebanyak 0,05 ml per mencit secara intramuskular. Sebelum pembedahan, dilakukan sterilisasi pada papan bedah dan alat bedah dengan cara disemprot menggunakan alkohol 70%. Kemudian mencit diletakkan terlentang diatas papan operasi yang selanjutnya diolesi air sabun anti bakteri dan dicukur rambut bagian medial perut. Dioleskan antiseptik *iodine* untuk mencegah kontaminasi mikrobial. Langkah berikutnya yaitu diinsisi secara perlahan hingga membuka lapisan muskulus daerah abdomen (*M. obliquus abdominis eksternus* 1,5 cm dan *M. oblikus abdominis internus* 1 cm). Setelah terbuka, salah satu ovarium dikeluarkan dan dipotong pada daerah antara *oviduct* dan ovarium dengan beberapa tahapan yang pertama dijepit pada daerah ujung *oviduct* dengan klem arteri, kemudian diikat benang *silk* bagian pangkal batas klem arteri dan dipotong secara perlahan menggunakan gunting. Setelah salah satu ovarium diambil, langkah selanjutnya yaitu arteri clamp dilepas, organ reproduksi kembali direposisi dan diberi cairan infus 0,5 ml.

Langkah terakhir yang dilakukan yaitu penutupan bagian muskulus (*M. obliquus abdominis eksternus* dan *M. oblikus abdominis internus*) dengan cara dijahit menggunakan *cat gut* ukuran 3.0 dengan pola sederhana terputus. Pada bagian kulit paling luar dijahit pola terputus menggunakan benang *silk* ukuran 3.0,

selanjutnya dilakukan desinfeksi menggunakan *iodine* pada daerah insisi, dan diinjeksi antibiotik Levofloxacin 0,05 ml. Perawatan luka pada masa penyembuhan dapat dilakukan dengan pemberian paracetamol (1 sendok teh / 200 ml aquades) selama 1 minggu secara *ad libitum* (Strom *et al.*, 2012).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Kedelai Hitam.

Kedelai hitam dicacah halus, ditimbang, kemudian dioven dalam suhu 40-45°C selama 2-3 hari, selanjutnya di *grinder* dan diayak dengan ayakan. Setelah di timbang berat kering, selanjutnya tepung tempe dimaserasi dalam alkohol 70% dengan perbandingan 1:4, *distirer* elektrik 500 rpm selama 15 menit dan didiamkan selama 2 x 24 jam. Langkah berikutnya yaitu disaring untuk mendapatkan filtrat, dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* selama \pm 4-5 jam dengan suhu 80°C hingga didapatkan filtrat. Proses terakhir adalah diletakkan dalam cawan porselen dan dimasukkan pada *water bath* suhu 70°C selama \pm 8 jam untuk menghasilkan ekstrak tepung kedelai hitam, dengan hasil konstan yang diharapkan ekstrak tidak mengandung air dan dalam bentuk pasta (Hastuti, 2015).

3.4.4. Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak tepung kedelai hitam yang diberikan secara oral menggunakan jarum sonde. Dosis perlakuan dapat ditentukan berdasarkan penelitian (Safrida, 2008), yaitu dosis harian mencit ovariektomi yang diberi tepung tempe kedelai 0,42 gram/35 BB dalam bentuk ekstrak atau pasta disesuaikan dengan masing-masing berat badan yang dirata-rata/kelompok uji. Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dilakukan secara oral dan dimulai pada hari ke 8 pasca ovariektomi selama 10 hari sampai hari ke 17 dengan cara mencampurkan takaran pasta dengan aquades 1 ml sesuai dengan dosis yang ditentukan yaitu 0,31 g/ml/hari dan 0,63 g/ml/hari. Penentuan dosis dapat dilihat pada (Lampiran A).

3.4.5 Perkawinan Mencit Jantan dan Betina

Sebelum dilakukan perkawinan, terlebih dahulu dilakukan sinkronisasi estrus. Perkawinan mencit jantan dan betina dilakukan pada hari ke 18 saat malam hari. Tiap kandang berisi 1 ekor mencit jantan dan 3 ekor mencit betina. Evaluasi keberhasilan perkawinan ditandai dengan adanya dengan adanya *vagina plug* dan ditandai sebagai kebuntingan hari ke 0.

3.4.6 Penghitungan Implantasi

Mencit setiap kelompok dibedah pada hari ke 7 kebuntingan. Uterus diangkat dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9 % dan kemudian dihitung implantasi yang dihasilkan.

3.4.7 Parameter Penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi jumlah implantasi pada mencit ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, bahwa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pada mencit ovariektomi unilateral dapat meningkatkan jumlah implantasi. Perlakuan ekstrak tepung kedelai hitam yang paling berpengaruh dalam meningkatkan jumlah implantasi mencit pasca ovariektomi unilateral terdapat pada dosis 0,31 g/ml/hari.

5.2 Saran

Penelitian ini merupakan awal untuk mengetahui dan mempelajari potensi ekstrak tepung kedelai hitam sebagai alternatif hormon estrogen eksogen alami dari tanaman untuk menanggulangi defisiensi estrogen pada hewan model ovariektomi. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan penambahan variasi lama waktu pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dan penghitungan jumlah korpus luteum.

DAFTAR PUSTAKA

- Aaday, M.H., S.S.A. Dujaily, dan F.K.Khazzal. 2013. Effect of Aqueous Extract of *Medicago Sativa* and *Salvia Officinalis* Mixture on Hormonal, Ovarian and Uterine Parameters in mature female mice. *J. Mater. Environ.* 4(4): 424-433.
- Alagwu, E.A., dan R.O. Nneli. 2005. Effect of Ovariectomy on the Levels of Plasma Sex Hormones in Albino Rats. *Nigerian Journal Of Physiological Sciences.* 20 (1-2) : 90-94.
- Baird, A.G., C.O. Neil, M.J. Sinosich, R.N. Porter, I.I. Pike, D.M. Saudres. 1986. Failure of Implantation in Human In Vitro Fertilization and Embryo Transfer Patients: the Effect of Altered Progesterone/estrogen Ratios in Humans and Mice. *Journal Fertility and Sterility.* 45(1)
- Balaban, B., B. Urman, C. Alatas, R. Mercan, A. Mumcu dan A. Isiklar. 2002. A Comparison of Four Different Techniques of Assisted Hatching. *Human Reproduction.* 17(5) : 1239-1243.
- Bhattacharya, K. 2013. Ovulation and Rate of Implantation Following Unilateral Ovariectomy in Mice. *Journal of Human Reproductive Sciences.* 6 (1).
- Biben, H.A. 2012. Fitoestrogen: Khasiat Terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi dan Keamanan Penggunaannya. *Seminar Ilmiah Nasional Estrogen sebagai Sumber Hormon Alami Universitas Padjajaran.*
- Borchers, T.A.R., J.S. Park, B.P. Chew, M.K.M. Guire, L.R. Fournier, dan K.A. Beerman. 2006. Soy Isoflavones Modulate Immune Function in Healthy Postmenopausal Women. *Am J Clin Nutr.* 83: 1118 –25.
- Carson, D.D., I. Bagchi, S.K. Dey, A.C. Enders, A.T. Fazleabas, B.A. Lessey dan K. Yoshinaga. 2000. Embryo implantation. *Developmental Biology.* 217-237

- Dey,S.K., H.Lim, S.K.Das, J.Reese, B.C.Paria, T.Daikoku, dan H.Wang. 2004. Molecular cues to implantation. *Endocrine Review*.25(3):341-373.
- Dominguez,F., M.Y. Mo, F.S. Madrid, dan C. Simon. 2005. Embryonic Implantation and Leukocyte Transendothelial Migration: Different Poces wiht Similar Players?. *The FASEB Journal*. 19.
- Ganong,W.F. 2003. *Review of Medical Physiology*. International Edition. San Francisco: Mc Graw Hill Book.
- Gonzales,D.S., J.M.Jones,T.Pinyopummintr, E.M.Carnevale, O.J.Ginther, S.S.Shapiro, dan B.D.Bavister. 1996. Trophoctoderm projections : a potential means for locomotion, attachment and implantation of bovine, equine and human blastocysts. *Human reproduction*.11(12).
- Haibin,W., Sussane, T., Huirong,X., Gregory, H., Sanjoy, K. D and Sudhansu, K.D. 2005. Variation in Commercial Rodent Diets Induces Disparate Molecular and Physiological Changes in The Mouse Uterus. *PNAS*. 28 (102): 9960–9965.
- Hastuti,N.A. 2015. *Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (Glycine max) Terhadap Ekspresi Caspase-3 Mencit Galur C3H Model Karsinogenik Payudara* [Tesis]. Malang : Program Studi Magister Kebidanan. Universitas Brawijaya.
- Helmy,S.A., H.A.Emarah, dan H.M.A. Abdelrazek.2014.Estrogenic Effect of Soy Phytoestrogens on the Uterus of Ovariectomized Female Rats.*Clinic Pharmacol Biopharmaceut*.S2: 001.
- Jones,R.L.,J.K.Findlay,P.G.Farnworth,D.M.Roberston,E.Wallace,danL.A.Salamonsen. *Journal endocrinology*. 147(2):724-732.
- Kodaman,P.H., dan H.S. Taylor. 2004. Hormonal regulation of implantation. *Obset Gynecol Clin N Am*. 31 : 745-766.

- Kuiper, G.G.J.M., J.G. Lemmen, B. Carlsson, J.C. Corton, S.H. Safe., P.T. Van der Saag, B. Van der Burg, dan J.A. Gustfsson. 1998. Interaction of Estrogenic Chemical and Phytoestrogens with Estrogen Receptor α . *Endocrinology*. 139:4252-4263.
- Ladesma, L.M., D.A. Ramirez, E. Vierya, A. Trujilo, R. Chavira, M. Cardenas dan R. Dominguez. 2011. Effect of acute unilateral ovariectomy to pre-pubertal rats on steroid hormones secretion and compensatory ovarian responses. *Journal Reproductive Biology and Endocrinology*. 9(41)
- Ma, W.G., H. Song., A.K. Das., B.C. Paria dan S.K. Day. 2013. Estrogen is a Critical determinant that Specifies the Duration of the Window of Uterine Receptivity for Implantation. *Journal Reproductive Biology*. 11(5):2963-2968
- Mourik, M.S.M.V., N.S. Macklon, dan C.J. Heijnen. 2009. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment. *Journal of Leukocyte Biology*. 85.
- Nakamura, Y., A. Kaihara, K. Yoshii, Y. Tsumura, S. Ishimitsu, dan Y. Tonogai. 2001. Content and Composition of Isoflavonoids in Mature or Immature Beans and Bean Sprouts Consumed in Japan. *Journal of Health Science*. 47(4):394-406.
- Pertiwi, S.F., S. Aminah, dan Nurhidajah. 2013. Aktivitas Antioksidan, Karakteristik Kimia, dan Sifat Organoleptik Susu Kecambah Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Berdasarkan Variasi Waktu Perkecambahan. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 04(08).
- Rahma, H. 2010. Karakteristik senyawa bioaktif isoflavon dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tempe berbahan baku kedelai hitam (*Glycine soja*), Koro Hitam (*Lablab purpureus*) dan koro kratok (*Phaseolus lunatus*). [Thesis]. Surakarta : Program Pascasarjana universitas sebelas maret.
- Robertshaw, I., F. Blan dan S.K. Das. 2016. Mechanism of uterine estrogen signaling during early pregnancy in mice : an update. *Journal molecular endocrinology*. (56)

- Safrida. 2008. *Perubahan Kadar Hormon Estrogen Pada Tikus yang diberi Tepung Kedelai dan Tepung Tempe* [Tesis] Bogor: Program Pasca Sarjana, Institut pertanian Bogor.
- Setchell, K.D.R., dan A. Cassidy. 1999. Dietary isoflavones : Biological effect and relevance to human health. *Journal of Nutrition*.
- Sigit, S., P. Enggar, H.E. Narumi, dan S. Utama. 2010. Potensi Sari Kedelai Hitam dan Sari Kedelai Kuning Terhadap Kadar Trigliserida Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Diet Tinggi Lemak. *J. Veterinaria medika*. 3(1).
- Singh, M., P. Chaudry, dan E. Asselin. 2011. Review Bridging Endometrial Receptivity and Implantation : Network of Hormones, Cytokines and Grow Factors. *Journal endocrinology*. 210-5-14.
- Sirotkin, A.V. 2014. Phytoestrogens and their effects. *European Journal of Pharmacology*. 741: 230–236.
- Sitasiwi, A.J., 2008. Hubungan Kadar Hormon Estradiol 17-B dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L) selama Satu Siklus Estrus. *Anatomi Fisiologi*, 16(2).
- Steel, G.D.R., dan J.H. Torie. 1993. *Prinsip Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Ström, O., J., A. Theodorsson, E. Ingberg, I.M. Isaksson dan E. Theodorsson. 2012. Ovariectomy and 17 β -estradiol Replacement in Rats and Mice: A Visual Demonstration. *Journal of Visualized Experiments*. 64: 1-4.
- Suprihatin. 2008. Optimalisasi Kinerja Reproduksi Tikus Betina Setelah Pemberian Tepung Kedelai dan Tepung Tempe pada Usia Prapubertas. [Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Valbuena,D., J. Martine., J.L.D. Pablo., J. Remohi., A. Pellicer dan C. Simon. 2001.Increasing Levels of Estradiol are deleterious to Embryonic Implantation Because They Directly Affect the Embryo. *Journal Fertility and Sterility*.76(5),
- Wardani,A.K., I.R.Wardani. 2014. Eksplorasi Potensi Kedelai Hitam untuk Produksi Minuman Fungsional sebagai Upaya Meningkatkan Kesehatan Masyarakat. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*.2:58-67.
- Wang,H., and S.K.,Dey. 2006. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Review*. Departments of Pediatrics,Cell & Developmental Biology and Pharmacology, Division of Reproductive and Developmental Biology,Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Tennessee, USA.
- Wang,H., S. Tranguch, H. Xie, G. Henley, S.K Das dan S.K. Dey. 2005. Variations in comercial rodent diets induces disparate molecular and physiology changes in the mouse uterus. *Review*. Departments of Pediatrics, Cell & Developmental Biology and Pharmacology, Division of Reproductive and Developmental Biology

LAMPIRAN**A. Penentuan Dosis Ekstrak Tepung Kedelai Hitam**

- Konversi pasta dari berat kering tempe kedelai.

Berat kering tepung kedelai hitam : Berat Pasta

3700 gram : 56,4 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

- Konvers 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.

- Penentuan dosis diambil dari acuan yaitu 0,42 gram, setengah lebih tinggi = 0,63 gram (Dosis 2) dan setengah lebih rendah dari 0,63 adalah 0,31 gram (Dosis 1)

B. Hasil Analisis *Oneway* ANOVA Pengaruh Ekstrak Tepung Tempe Kedelai Hitam terhadap Jumlah Implantasi Mencit Pasca Ovariectomi Unilateral

Test of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Sminov			Shapiro-Wilk		
		statistic	Df	Sig.	statistic	Df	Sig.
Jumlah implantasi	Kontrol negatif	,219	3	.	,987	3	,780
	Kontrol positif	,175	3	.	1,000	3	,363
	Dosis 1	,253	3	.	,964	3	,637
	Dosis 2	,292	3	.	1,00	3	1463

a.liliefor significant corections

Descriptives

Jumlah implantasi

	N	Mean	Std. deviation	Std. Error	95% Confidence interval for means		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol negatif	3	11,67	2,517	1,453	5,42	17,92	9	14
Kontrol positif	3	4,00	1,000	1,528	0,577	6,48	3	5
Dosis 1	3	10,67	1,528	,882	6,87	14,46	9	12
Dosis 2	3	9,33	2,082	1,202	6,52	14,50	7	11
Total	12	8,92	3,476	1,003	6,09	11,13	3	14

Test of Homogeneity of Variens

Jumlah implantasi

Lavene Statistic	Df1	Df2	Sig.
,937	3	8	,467

ANOVA

Jumlah implantasi

	Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
Between Groups	104,917	3	34,972	9,992	,004
Within Groups	28,00	8	3,500		
Total	132,917	11			

Jumlah Implantasi

perlakuan	N	Subset for alpha=0,1	
		1	2
Duncan Kontrol Positif	3	4,00	
Dosis 2	3		9,33
Dosis 1	3		10,67
Kontrol negatif	3		11,67
Sig.	3	1,00	1,81