

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS STATISTIK

Pada bab ini akan membahas hasil penelitian dan analisis statistik mengenai penelitian dengan judul “ Pengaruh Pemberian Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas pada Luka Tikus Putih Galur Wistar Model Diabetes Mellitus” yang telah dilaksanakan pada tanggal 23 Januari – 20 April 2015. Penelitian luka diabetes mellitus ini menggunakan tikus putih galur wistar sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok, 3 kelompok kontrol [Kontrol 1 (K1), Kontrol 2 (K2), Kontrol 3 (K3)] dan 3 kelompok perlakuan [Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), Perlakuan 3 (P3)]. Penelitian luka diabetes ini dimulai dari pembuatan ekstrak jamur tiram yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Saat pemeliharaan tikus, pembuatan dan perawatan luka diabetes mellitus, eksisi jaringan kulit, dan pembuatan ELISA TGF- β 1 dilakukan di Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembuatan preparat histologi jaringan kulit dengan menggunakan pewarnaan hematoksilin-eosin, dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasil preparat histologi akan dilakukan pengamatan jumlah fibroblas sebanyak 5 kali lapang pandang.

5.1 Hasil Penelitian

Bab ini membahas hasil penelitian dengan menganalisa data univariat dan data bivariat. Analisa data univariat menjelaskan hasil rerata jumlah fibroblas jaringan luka, sedangkan analisa data bivariat menjelaskan pengaruh kelompok kontrol dan perlakuan terhadap jumlah fibroblas jaringan luka yang ditentukan melalui uji statistika yaitu uji normalitas dengan Shapiro Wilk, uji homogenitas

dengan uji *Homogeneity of Variance*, dan uji *one-way ANOVA*, serta apabila terdapat signifikansi $p < 0,05$ dapat dilanjutkan dengan uji *Post hoc* (Tukey).

5.1.1 Hasil Ekstraksi Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Persiapan Dosis

Proses ekstraksi jamur tiram dilakukan beberapa tahap. Tahap pengeringan dilakukan dengan oven bersuhu 80°C selama 24 jam dan kemudian di proses sehingga 5 kg jamur tiram segar menghasilkan ± 300 gram tepung, kemudian dilakukan proses ekstraksi sehingga didapatkan 50 ml ekstrak jamur tiram murni. Bentuk sediaan ekstrak jamur tiram yang digunakan dalam penelitian ini adalah bentuk cair, yaitu ekstrak jamur tiram diencerkan dengan aquades steril. Dalam penelitian ini menggunakan dosis oral ekstrak jamur tiram sebanyak 200 mg/KgBB berdasarkan penelitian Jayakumar *et al.* (2006). Sedangkan ekstrak jamur tiram topikal menggunakan konsentrasi 20%, konsentrasi ini berdasarkan studi pendahuluan penelitian yang dilakukan pada 26 Februari – 30 Maret 2015. Berdasarkan studi pendahuluan penelitian ditemukan bahwa konsentrasi 20% efektif digunakan dibandingkan dengan konsentrasi 30% yang bisa membuat luka tikus hipergranulasi.

5.1.2 Hasil Induksi dengan Injeksi Streptozotocin (STZ)

Sebelum dilakukan induksi diabetes mellitus, tikus dipuasakan semalam dan keesokan harinya diukur glukosa darah puasa dengan mengambil darah dari ekor tikus dan glukosa darah diukur menggunakan glukometer digital *Auto-Check*®. Induksi diabetes mellitus menggunakan STZ dosis tunggal 45 mg/kgBB yang dilarutkan dengan 0,1 M sitrat dengan pH 4,5. Kebutuhan STZ 200 gram tikus adalah 9 mg. Kemudian tikus STZ di induksikan melalui intraperitoneal. Setelah dilakukan induksi hewan coba tikus diberikan larutan glukosa 5% selama 24 jam untuk mencegah terjadinya kematian akibat hipoglikemia. Selama studi

pendahuluan gula darah dicek selama 2 hari 1 kali untuk mengetahui efektifitas dari STZ. Selama penelitian glukosa darah dicek saat pre injeksi, post injeksi dan saat hari ke 14 sebelum dilakukan pembedahan untuk memastikan tikus mengalami diabetes. Tikus mengalami diabetes mellitus jika glukosa darah ≥ 250 mg/dl. Tikus yang mengalami diabetes tidak hanya dilihat dari gula darah saja tetapi melihat juga tanda-tanda trias diabetes (Poliuria, Polifagi dan Polidipsi). Tanda poliuria diukur berat sekam setiap hari, selisih berat sekam bersih dan kotor merupakan berat dari urin yang dikeluarkan hewan coba. Tanda polifagi diukur berat makanan setiap hari, sisa makanan atau tidak adanya sisa makanan menandakan tikus kelaparan (polifagi). Tanda polidipsi mengukur minum hewan coba, saat penelitian hewan coba minum sehari 2x perbotol, dimana tikus normal minum 1xperbotol. Data rerata berat badan tikus setelah aklimatisasi dan kadar glukosa darah puasa pre injeksi, post injeksi STZ dan sebelum pembedahan di tunjukkan pada tabel 5.1.

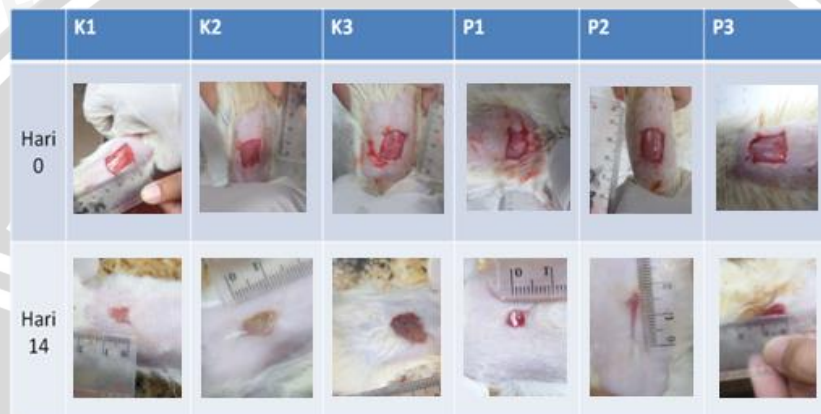
Tabel 5.1 Data Rerata (Mean \pm SD) Berat Badan Tikus dan Kadar Glukosa Darah Pre injeksi, Post Injeksi STZ, dan pada hari ke-14

Kelompok	Berat Badan	Glukosa Darah Puasa pre injeksi STZ	Glukosa Darah Puasa Post injeksi STZ	Glukosa Darah Puasa Sebelum pembedahan
K1	201 \pm 1,25	120,75 \pm 6,65	124,50 \pm 5,80	118,50 \pm 1,914
K2	215 \pm 5,12	125,25 \pm 4,11	372,75 \pm 79,55	435,25 \pm 68,65
K3	202 \pm 2,21	119,25 \pm 2,98	501,25 \pm 85,60	444,75 \pm 86,74
P1	206 \pm 1,29	119,50 \pm 5,80	411,75 \pm 135,0	445,75 \pm 98,13
P2	236 \pm 12,3	119,50 \pm 11,0	467,75 \pm 63,53	492,50 \pm 79,64
P3	231 \pm 4,89	124,50 \pm 1,29	492,50 \pm 52,10	546,25 \pm 62,07

5.1.3 Perawatan Luka Kondisi Diabetes

Luka dibuat setelah tikus dinyatakan diabetes, tikus yang mengalami diabetes akan dianestesi menggunakan *Ketamine hydrochloride* 25 mg/kgBB secara intraperitoneal, kemudian bulu tikus dicukur untuk dilakukan eksisi jaringan

dengan ukuran 1,5x1,5. Pada hari pembuatan luka dianggap sebagai hari ke-0. Perawatan luka dilakukan setiap hari selama 14 hari. Semua sampel dirawat menggunakan *normal saline*. Perawatan kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak jamur tiram oral, kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak jamur tiram topikal, dan kelompok perlakuan 3 diberikan ekstrak jamur tiram oral dan topikal. Sedangkan kelompok kontrol 3 diberikan metformin oral.

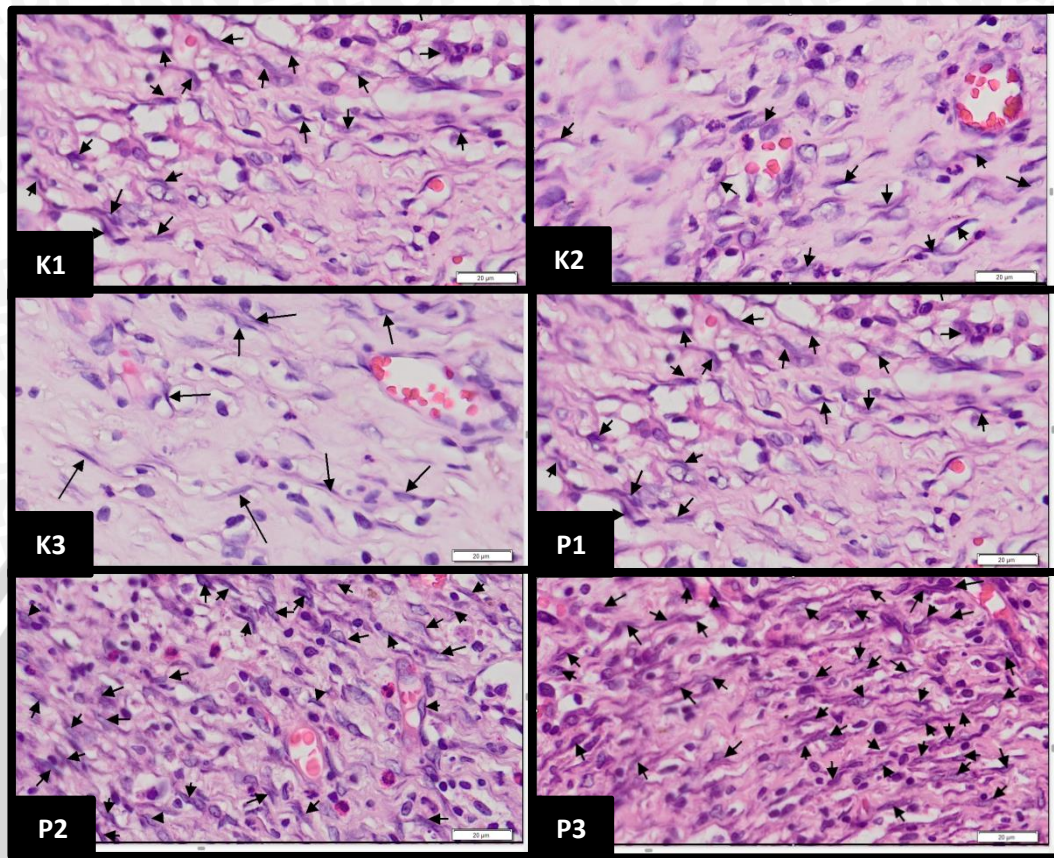


Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Makroskopis Luka Diabetes Mellitus, Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis luka diabetes, luas luka kelompok $K3 > K2 > P3 > K1 > P2 > P1$. Sehingga luas luka yang paling sempit terdapat pada kelompok P1 sedangkan kelompok K3 memiliki luas luka yang paling lebar dibandingkan kelompok lainnya.

5.1.4 Hasil Histologi Jumlah Fibroblas pada Jaringan Luka

Fibroblas merupakan sel yang paling sering ditemui pada jaringan ikat. Fibroblas memiliki bentuk tidak beraturan, sedikit gepeng, dan banyak cabang yang bila dilihat dari samping tampak sebagai sel gelendong dengan ujung yang meruncing. Inti fibroblas berbentuk lonjong dan panjang yang mengandung satu atau dua nukleoli dan gumpalan kromatin halus berdekatan dengan selaput inti. Sepasang sentriol dan sebuah kompleks golgi kecil terdapat didekat inti (Dhita 2012; Fawcet, 2002).

Berikut ini merupakan potongan gambar jaringan kulit pada daerah dermis secara histologi yang mewakili setiap kelompok penelitian.



Gambar 5.2 Foto Hasil Scanning Mikroskop Perlapang Pandang dengan Perbesaran 400x, Berdasarkan hasil pengamatan scanning mikroskop, yang ditunjukkan tanda panah merupakan gambaran fibroblas yang bebentuk lonjong, panjang, mengandung rata-rata satu nukleoli, dan berwarna ungu. Menurut hasil penghitungan, nilai rata-rata jumlah fibroblas kelompok K1: $13,5 \pm 1,19$, K2: $10,7 \pm 0,82$, K3: $6,7 \pm 1,14$, P1: $18,7 \pm 1,10$, P2: $25,6 \pm 2,08$, P3: $24,4 \pm 1,69$. Sehingga Jumlah fibroblas kelompok $K3 < K2 < K1 < P1 < P3 < P2$.

Fibroblas dapat dilihat dengan jelas pada pengecatan *Hematoxylin eosin* (Fawcet, 2002). Fibroblas tampak berwarna ungu dengan pengecatan *Hematoxylin eosin* (Taqwim, 2011; Utami, 2007). Berdasarkan hasil pengamatan scanning mikroskop, yang ditunjukkan tanda panah (gambar 5.2) merupakan gambaran fibroblas yang bebentuk lonjong, panjang, mengandung rata-rata satu nukleoli, dan berwarna ungu, sehingga dapat disimpulkan bahwa struktur dan bentuk fibroblas yang dijumpai pada hasil gambaran histologi dalam penelitian ini adalah sesuai dengan yang dideskripsikan pada teori.

Penghitungan jumlah fibroblas diamati secara mikroskopis, pengamatan dilakukan menggunakan fotomikroskop OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi software OlyVIA (Viewer for Imaging Application) dengan perbesaran 400X pada tiap lapang pandang. Satu slide diambil 5 kali lapang pandang dan dihitung dengan perhitungan *counter* dimana sel dari tiap lapang pandang dirata-rata. Ringkasan rerata penghitungan jumlah fibroblas pada luka diabetes mellitus dapat dilihat pada tabel 5.2

5.2 Analisis Statistik

Hasil perhitungan dari pengamatan fibroblas secara histologi didapatkan hasil bervariasi. Berdasarkan tabel 5.2 hasil rerata jumlah fibroblas paling rendah terdapat pada kelompok K3 sebesar $6,7 \pm 1,14$ sedangkan hasil rerata tertinggi terdapat pada kelompok P2 sebesar $25,6 \pm 2,08$. Berdasarkan tabel 5.2 juga menerangkan bahwa jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa bahan aktif dari ekstrak jamur tiram yaitu beta glukukan mampu berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada luka diabetes mellitus.

Tabel 5.2 Nilai Rata-Rata dan SD Jumlah Fibroblas

Kelompok	Mean \pm SD	Signifikan
Kontrol 1	13,5 \pm 1,19 ^b	0,000
Kontrol 2	10,7 \pm 0,82 ^b	
Kontrol 3	6,7 \pm 1,14 ^a	
Perlakuan 1	18,7 \pm 1,10 ^c	
Perlakuan 2	25,6 \pm 2,08 ^d	
Perlakuan 3	24,4 \pm 1,69 ^d	

Dalam penelitian ini menguji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk dengan alasan karena jenis data yang dihasilkan pada penelitian ini berupa data numerik, selain itu lebih dipilih menggunakan uji Shapiro Wilk karena jumlah sampel yang <50. Sedangkan uji kolmogorov sminorv digunakan untuk sampel yang >50. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas pada tabel 5.3, data jumlah

fibroblas terdistribusi normal dan bersifat homogen. Hal ini dibuktikan dari hasil data $p > 0,05$. Hasil uji normalitas dan homogenitas yang menunjukkan hasil normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Variabel	Kelompok	Uji Normalitas Data	Uji Homogenitas Data
Jumlah Fibroblas	Kontrol 1	0,952	0,255
	Kontrol 2	0,572	
	Kontrol 3	0,613	
	Perlakuan 1	0,650	
	Perlakuan 2	0,742	
	Perlakuan 3	0,316	

Pada uji *One Way ANOVA*, nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan. Apabila terdapat perbedaan nyata dilakukan uji lanjutan (*Post hoc Test*) menggunakan uji *Tukey test*. Berikut ini merupakan hasil uji *One Way ANOVA* dari data jumlah fibroblas pada kelompok kontrol dan perlakuan yang dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji One Way ANOVA

Variabel	df	F	p value
Jumlah Fibroblas	23	116,403	0,000*

* bermakna pada $\alpha = 0,05$

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, didapatkan nilai signifikansi jumlah fibroblas 0,000 (lihat tabel 5.4). Hasil data tersebut mengartikan bahwa pemberian ekstrak jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel fibroblas pada luka diabetes mellitus. Hasil uji *One Way ANOVA* signifikan, selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* dengan menggunakan uji *Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan rerata jumlah fibroblas kelompok.

Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey homogenous subsets* menunjukkan, jumlah fibroblas kelompok K3 (a) terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok K2 (b) dan K1 (b) (tabel 5.2). Selain itu kelompok K2 (b) dan K1 (b) juga terdapat

perbedaan yang signifikan dengan kelompok P1 (c), P3 (d), dan P2 (d) (tabel 5.2). Sehingga dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Sedangkan kelompok P3 (d) tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok P2 (d) (Tabel 5.2). Berdasarkan hasil uji statistik diatas, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak jamur tiram oral, topikal dan oral-topikal dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada luka diabetes mellitus.

