

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISA STATISTIK

Pada bab ini akan membahas mengenai hasil dan analisa data dari penelitian yang telah dilaksanakan dari tanggal 23 januari-20 april 2015 di laboratorium FAAL fakultas kedokteran universitas brawijaya. Penelitian ini dimulai dengan dilakukannya aklimatisasi tikus selama 7 hari, dilanjutkan dengan penginduksian dengan STZ, setelah tikus dalam kondisi hiperglikemia lalu dilakukan pembuatan luka eksisi 1.5x1.5 cm, kemudian dilakukan perawatan luka dengan normal saline, oral metformin, oral jamur tiram, topikal jamur tiram, dan oral-topikal jamur tiram, dan terakhir dilakukan pembedahan untuk pengambilan jaringan kulit. Selanjutnya jaringan kulit yang telah diambil dibuat preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* yang dilakukan di laboratorium patologi anatomi fakultas kedokteran universitas brawijaya sehingga dapat mengidentifikasi dan menghitung densitas/kepadatan jaringan kolagennya.

Penelitian ini menggunakan sample berjumlah 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan 3 kelompok kontrol (perawatan luka tikus sehat dengan normal saline, perawatan luka tikus hiperglikemia dengan normal saline, dan luka tikus hiperglikemia yang diberi oral metformin) dan 3 kelompok perlakuan (perawatan luka tikus hiperglikemia dengan ekstrak jamur tiram oral, perawatan luka tikus hiperglikemia dengan ekstrak jamur tiram topikal, dan perawatan luka tikus hiperglikemia dengan jamur tiram oral-topikal).

## 5.1 Hasil Penelitian

Data hasil penelitian dianalisa melalui uji statistik yakni, uji normalitas dengan Shapiro Wilk, uji homogenitas dengan uji *Homogeneity of Variance*, dan uji *one-way ANOVA*, serta apabila terdapat signifikansi  $p < 0,05$  (*confident interval* 95%) dapat dilanjutkan dengan uji *Post hoc* dan uji Tukey.

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

#### Dosis

Sebanyak 5 kg Jamur tiram yang dibeli dari UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur digunakan untuk pembuatan ekstraksi. Jamur tiram terlebih dahulu dipotong menjadi potongan kecil sebelum dilakukan pengeringan. Tahap pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven bersuhu 45°C selama 24 jam sehingga dihasilkan sekitar  $\pm 300$  gram jamur tiram, kemudian dilanjutkan dengan tahap maserasi yang menghasilkan 50 ml ekstrak jamur tiram murni. Ekstram jamur tiram murni kemudian diencerkan menggunakan aquades steril untuk selanjutnya digunakan dalam perawatan luka pada tikus dengan dosis oral, topikal, dan oral-topikal, dengan 200 mg/KgBB untuk dosis oral (Jayakumar *et al.*, 2006) dan 20% untuk topikal.

### 5.1.2 Hasil Induksi Hiperglikemia dengan Streptozotocine (STZ).

Tikus terlebih dahulu dipersiapkan sebelum diinduksi hiperglikemia dengan cara dipuasakan semalaman, kemudian pada keesokan hari kadar gula darah tikus di cek dengan pengambilan darah dari ekor tikus. Selanjutnya tikus diinduksi menggunakan STZ dengan dosis tunggal 45mg/KgBB melalui intraperitoneal. Selama 24 jam pertama setelah injeksi STZ tikus diberi glukosa 5%

untuk menghindari terjadinya kematian akibat dari hipoglikemi. Hari ketujuh pasca injeksi STZ, kadar gula darah tikus dicek dengan pengambilan darah dari ekor tikus untuk mengetahui adanya kenaikan kadar gula darah dari tikus. Tikus kemudian dinyatakan hiperglikemia jika kadar gula darah mencapai  $>250$  mg/dl.

**Tabel 5.1 Hasil Rerata Berat Badan dan Kadar Gula Darah Puasa Pre Injeksi, Post Injeksi dan Sebelum Pembedahan.** Kadar gula darah yang mencapai  $>250$  mg/dl menunjukkan tikus dalam kondisi hiperglikemia.

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

Selain melihat dari adanya kenaikan kadar gula darah  $>250$  mg/dl pada tikus, dalam penelitian ini dilihat pula dari adanya tanda-tanda trias polifagi, polidipsi, dan poliuri. Tanda polifagi dilihat dari penimbangan berat sisa dari pakan tikus setiap harinya, sisa makanan yang sedikit atau tidak bersisa menandakan tikus mengalami polifagi. Tanda polidipsi dilihat dari banyaknya kebutuhan minum tikus, pada kelompok K2, K3, P1, P2, dan P3 tikus membutuhkan 2x pemberian air minum yaitu pada pukul 08.00 dan pada pukul 15.00, sementara pada kelompok K1 hanya membutuhkan satu kali pemberian yaitu pada pukul 08.00, sementara tanda poliuri dilihat dari adanya penambahan berat sekam yang dihitung dengan cara berat sekam akhir dikurangi berat sekam awal.

**Tabel 5.2 Hasil Rerata Berat Sekam dan Berat Sisa Pangan.** Setelah diinjeksi SZT 45mg/KgBB, nilai rerata berat sekam yang lebih tinggi dari K1 menunjukkan kondisi poliuri pada tikus. Sedangkan nilai rerata berat dari sisa pangan yang lebih tinggi dari K1 menjelaskan bahwa tikus dalam kondisi polifagi.

Kelompok Perlakuan	Rerata Berat Sekam(gr)	Rerata Berat Sisa Pangan (gr)
K1	15.4	8
K2	55.8	2.9
K3	57.3	3.4
P1	61	3.3
P2	65.6	3.4
P3	66.8	3.1

### 5.1.3 Perawatan Luka

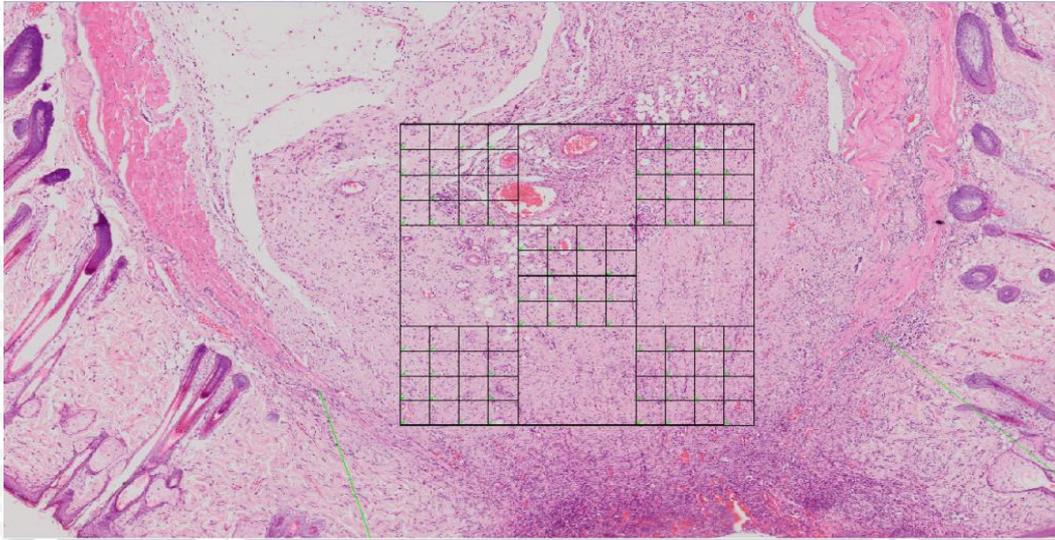
Pembuatan luka dilakukan pada tikus yang telah dinyatakan hiperglikemia. Sebelum tikus dianestesi menggunakan *Ketamine hydrochloride* 25 mg/kgBB secara intraperitoneal, punggung tikus dicukur terlebih dahulu sebelum kemudian dilakukan eksisi dengan ukuran 1,5 cm x 1,5 cm. Perawatan luka dilakukan selama 14 hari yang dimulai pada hari ke-0 yaitu hari dibuatnya luka pada tikus. Sample pada kelompok K1 adalah tikus tanpa hiperglikemia yang dirawat dengan NS, kelompok K2 adalah tikus dalam kondisi hiperglikemia yang dirawat menggunakan NS, dan kelompok K3 adalah tikus dalam kondisi hiperglikemia yang dirawat menggunakan metformin oral. Sementara sample kelompok P1 adalah tikus hiperglikemia yang dirawat dengan menggunakan ekstrak jamur tiram oral dosis 200mg/KgBB, kelompok P2 adalah tikus hiperglikemia yang dirawat dengan menggunakan ekstrak jamur tiram topikal dosis 20%, sementara kelompok P3 adalah tikus hiperglikemia yang dirawat dengan menggunakan ekstrak jamur tiram oral dosis 200mg/KgBB dan topikal dosis 20%.



**Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Makroskopis Luka pada Hari ke-0.** Tikus sehat maupun yang hiperglikemia dilukai dengan ukuran yang sama yaitu 1.5 cm x 1.5 cm.

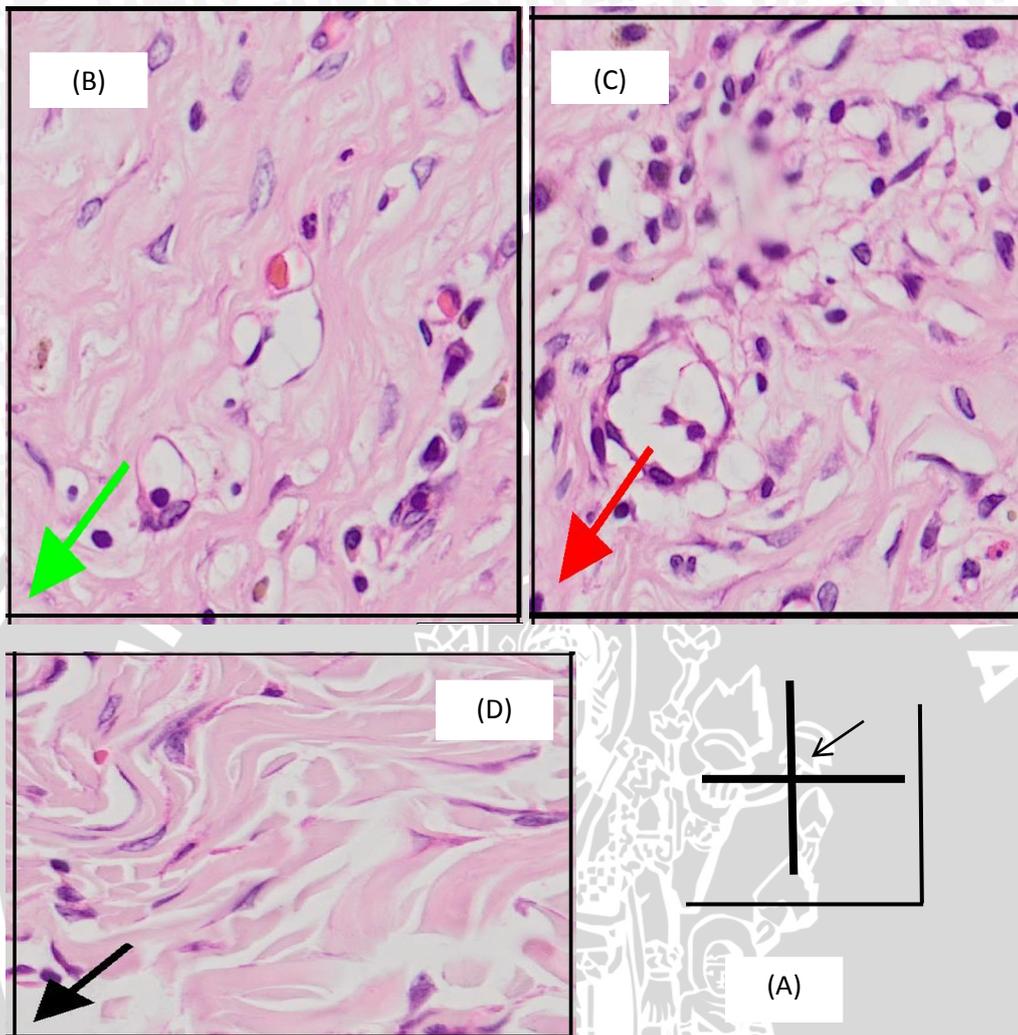
#### 5.1.4 Hasil Rata-rata Kepadatan Jaringan Kolagen

Perhitungan kepadatan kolagen dilakukan setelah pengecatan histologi dengan Hematocyclin-Eosin (H&E) dan diidentifikasi dengan mikroskop OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi software OlyVIA. Dalam sajian HE kolagen berwarna merah pucat. Pada potongan memanjang terlihat terdiri atas serat-serat tebal yang tersusun padat, tidak berlubang dan terdapat inti fibrosit yang terjepit oleh serabut padat. Identifikasi dan penghitungan kepadatan kolagen jaringan luka dilakukan pada 5 lapang pandang dengan pembesaran total 400x (skala bar 50 $\mu$ m). Lokasi pengamatan kolagen adalah di daerah bekas luka. Semua sample histologi jaringan luka pada semua kelompok diidentifikasi dan dihitung dengan teknik yang sama sehingga tidak terjadi bias. Gambar 5.2 menunjukkan pembagian lapang pandang untuk menentukan dan menghitung jumlah kepadatan kolagen.



**Gambar 5.2** Pembagian 5 Lapang Pandang Area Luka yang akan dihitung dalam 1 lapang pandang tengah luka. 5 lapang pandang dipilih secara zig-zag untuk diidentifikasi kepadatan jaringan kolagennya.

Penghitungan kepadatan kolagen tiap lapang pandang seperti ditunjukkan pada gambar 5.3 menggunakan *grid of line* dengan cara membagi titik pertemuan berkas kolagen dengan jumlah keseluruhan titik pada daerah (dermis) yang diobservasi. Titik pertemuan berkas kolagen ditandai dengan adanya tanda panah pada bagian pojok kiri bawah kotak di tiap lapang pandang. Titik yang dimaksud adalah titik yang terbentuk oleh pertemuan garis vertikal-horizantal, dimana garis vertikal diidentifikasi sebagai tepi luka. Data hasil perhitungan kepadatan kolagen tiap kelompok perlakuan dimasukkan kedalam SPSS for windows version 20 untuk kemudian dilakukan analisa statistik.



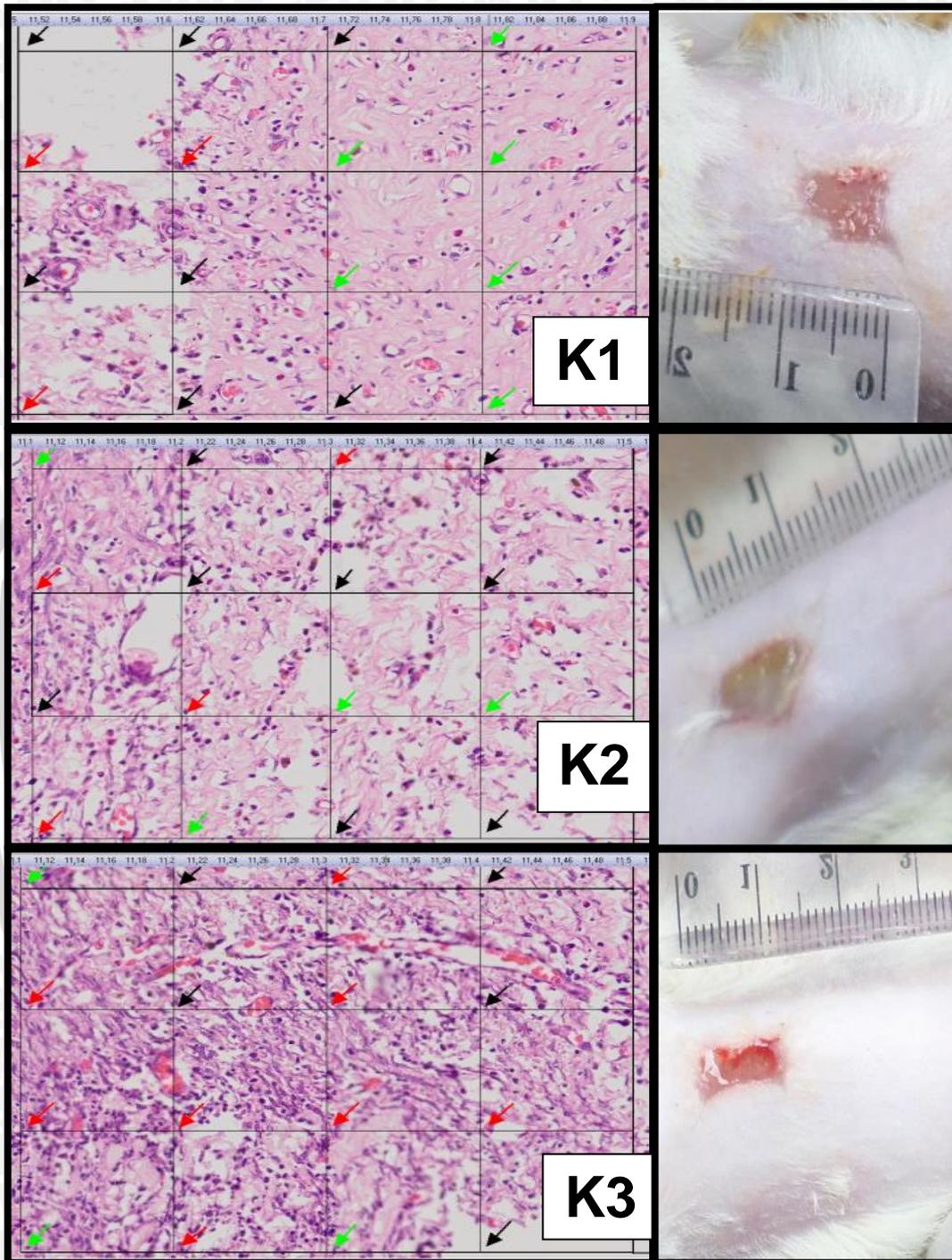
**Gambar 5.3 Identifikasi Serabut Kolagen**

Keterangan :

- A. Tanda panah pada gambar (A) menunjukkan titik yang dipakai untuk penghitungan kolagen, yaitu titik pertemuan antara garis vertikal-horizontal.
- B. Tanda panah (hijau) di pojok kiri pada titik pertemuan garis vertikal-horizontal mengenai serabut kolagen sehingga dihitung 1
- C. Tanda panah (merah) di pojok kiri pada titik pertemuan garis vertikal-horizontal mengenai selain serabut kolagen sehingga tidak dihitung atau dihitung 0
- D. Tanda panah (hitam) di pojok kiri pada titik pertemuan garis vertikal-horizontal tidak mengenai serabut kolagen karena berada di ruang kosong sehingga tidak dihitung atau dianggap 0.

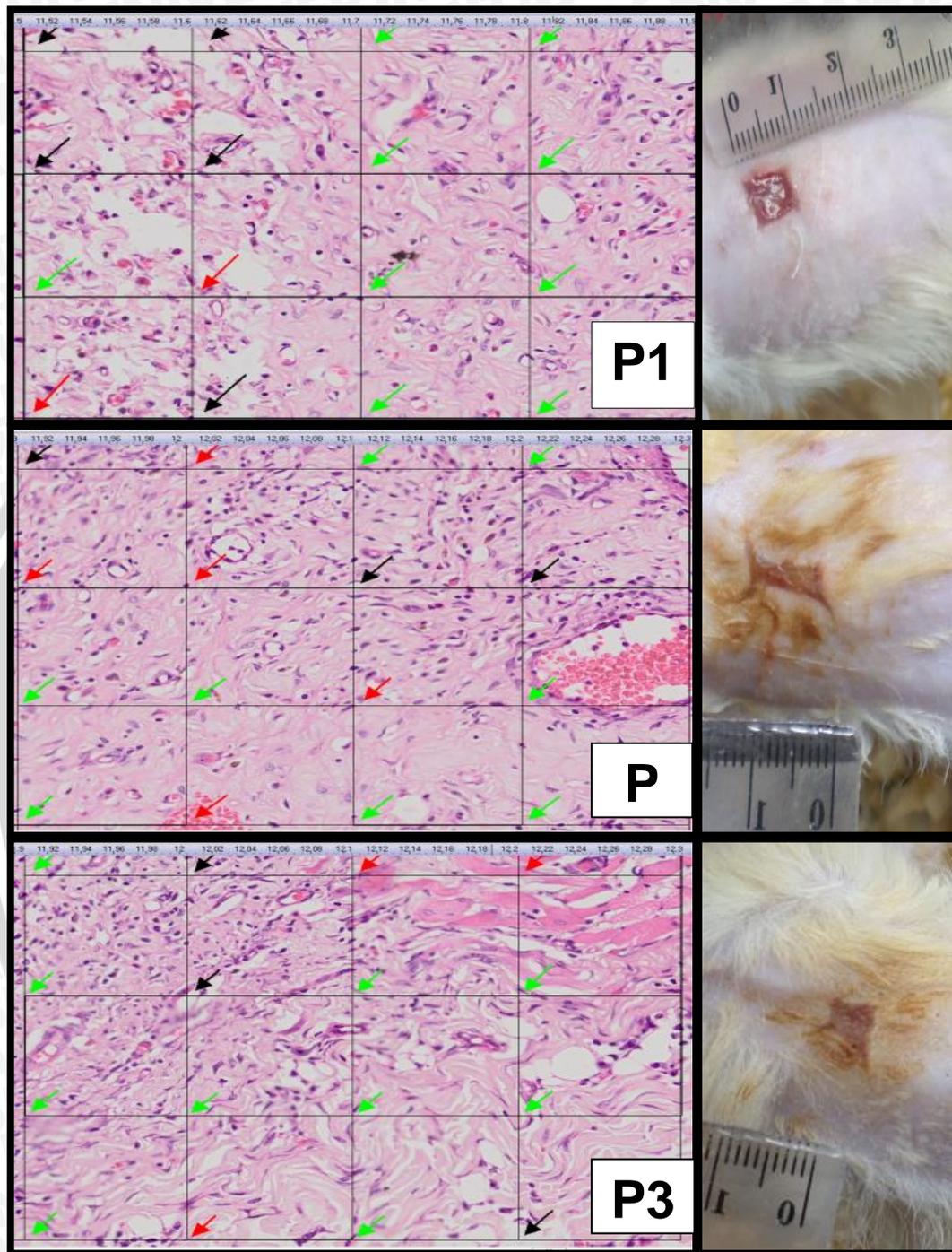
Presentasi kepadatan kolagen kemudian diperoleh dengan menggunakan rumus Ashkani-Eshafani *et al* (2012) berikut :

$$\frac{\text{Jumlah titik yang mengenai kolagen}}{\text{Jumlah seluruh titik yang diobservasi}} \times 100\%$$



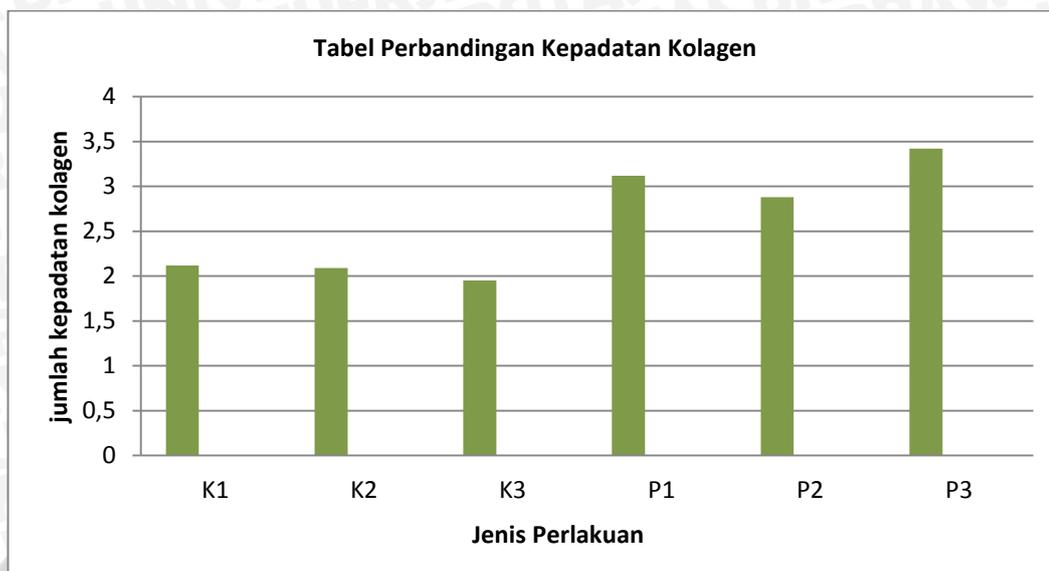
**Gambar 5.4** Perhitungan hasil scanning mikros kepadatan kolagen dengan pembesaran 400x per Lapang Pandang (Kiri) dan foto makroskopis luka pada Kelompok K1, K2, dan K3 (Kanan).

**Keterangan :** Tanda panah (hijau) menunjukan titik yang mengenai serabut kolagen dan dihitung sebagai satu satuan luas dengan mengadaptasi rumus Ashkani-Eshafani *et al* (2012). Hasil menunjukan nilai rerata K1  $2.12 \pm 0.55$ , K2  $2.09 \pm 0.23$ , K3  $1.95 \pm 0.19$ , 0.22. dengan kesimpulan  $K2 < K1 < K3$ .



Gambar 5.5 Perhitungan hasil scanning mikros kepadatan kolagen dengan pembesaran 400x per Lapang Pandang (Kiri) dan foto makroskopis pada Kelompok P1, P2, dan P3 (Kanan).

Keterangan : Tanda panah (hijau) menunjukan titik yang mengenai serabut kolagen dan dihitung sebagai satu satuan luas dengan mengadaptasi rumus Ashkani-Eshafani *et al* (2012). Hasil menunjukan nilai rerata P1  $3.12 \pm 0.28$ , P2  $2.88 \pm 0.41$ , dan P3  $3.42 \pm 0.22$ . dengan kesimpulan  $P3 < P2 < P1$ .



**Gambar 5.6 Grafik Pengaruh Ekstrak Jamur Tiram terhadap Peningkatan Kepadatan Jaringan Kolagen pada 6 Kelompok Penelitian.** Jumlah kepadatan kolagen pada tiap kelompok adalah sebagai berikut: K1=2.12%, K2=2.09%, K3=1.95%, P1=3.12%, P2=2.88%, dan P3=3.42%.

### 5.2 Analisa Statistik

Hasil perhitungan rata-rata kepadatan kolagen jaringan luka tiap kelompok disajikan dalam tabel 5.3.

**Tabel 5.3 Hasil Rata-rata ± SD Kepadatan Kolagen Jaringan Luka**

Perlakuan	Rerata Kepadatan Kolagen±SD
Kontrol 1 (Tikus sehat dengan NS)	2.12 <sup>(a,b)</sup> ± 0.55
Kontrol 2 (Tikus hiperglikemia dengan NS)	2.09 <sup>(a)</sup> ± 0.23
Kontrol 3 (Tikus Hiperglikemia dengan Metformin 63mg/kgBB)	1.95 <sup>(a)</sup> ± 0.19
Perlakuan 1 (Tikus hiperglikemia dengan oral jamur tiram 200mg/kgBB)	3.12 <sup>(c)</sup> ± 0.28
Perlakuan 2 (Tikus hiperglikemia dengan topikal jamur tiram 20%)	2.88 <sup>(b,c)</sup> ± 0.41
Perlakuan 3 (Tikus hiperglikemia dengan oral dan topikal jamur tiram)	3.42 <sup>(c)</sup> ± 0.22

Nilai rerata kepadatan kolagen pada tabel 5.3 menunjukkan bahwa setelah dilakukan perawatan luka selama 14 hari presentase kepadatan jaringan kolagen pada tiap kelompok berbeda-beda. Kepadatan jaringan kolagen pada

kelompok kontrol 1 yang merupakan tikus tanpa hiperglikemia yang dirawat dengan NS menunjukkan nilai rerata 2.12% dengan SD 0.55, kelompok kontrol 2 yang merupakan tikus hiperglikemia yang dirawat dengan NS menunjukkan rerata 2.09% dengan SD 0.23, kelompok kontrol 3 merupakan tikus hiperglikemia yang dirawat dengan metformin oral menunjukkan rerata 1.95% dengan SD 0.19. Sementara kelompok perlakuan 1 merupakan tikus hiperglikemia yang dirawat dengan ekstrak jamur tiram oral menunjukkan rerata 3.12% dengan SD 0.28, kelompok perlakuan 2 merupakan tikus hiperglikemia yang dirawat dengan ekstrak jamur tiram topikal menunjukkan rerata 2.88% dengan SD 0.41, dan kelompok perlakuan 3 merupakan tikus hiperglikemia yang dirawat dengan ekstrak jamur tiram oral-topikal menunjukkan rerata 3.42% dengan SD 0.22. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa kelompok kontrol memiliki presentase nilai rerata yang lebih rendah dibandingkan dengan presentase nilai rerata pada kelompok perlakuan. Uji normalitas pada penelitian menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, hal ini karena data yang dimiliki berjumlah <50 dan berupa data numerik.

**Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Kolagen**

Jenis Perlakuan	Normalitas	Homogenitas
	Sig.	Sig
Kontrol 1 (Tikus sehat dengan NS)	0.077	0.141
Kontrol 2 (Tikus hiperglikemia dengan NS)	0.940	
Kontrol 3 (Tikus Hiperglikemia dengan Metformin 63mg.kgBB)	0.961	
Perlakuan 1 (Tikus hiperglikemia dengan oral jamur tiram 200mg/kgBB)	0.905	
Perlakuan 2 (Tikus hiperglikemia dengan topikal jamur tiram 20%)	0.545	
Perlakuan 3 (Tikus hiperglikemia dengan oral dan topikal jamur tiram)	0.177	

Dari tabel 5.4 diatas dapat dilihat bahwa kepadatan kolagen pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan berdistribusi normal dan memiliki

variansi yang sama atau homogen dimana *p-value* pada masing-masing kelompok >0,05. Data yang sudah berdistribusi normal dan homogen kemudian dapat dilanjutkan untuk dilakukan uji One-Way ANOVA, yang dianggap signifikan apabila *p-value* <0.05.

**Tabel 5.5 Hasil Uji One Way ANOVA**

variabel	Kelompok	df	n	Rerata ± SD	F	<i>p value</i>
<b>Jumlah kepadatan kolagen</b>	Kontrol 1	23	5	2.12 ± 0.55	13.370	0.000
	Kontrol 2		5	2.09 ± 0.23		
	Kontrol 3		5	1.95 ± 0.19		
	Perlakuan 1		5	3.12 ± 0.28		
	Perlakuan 2		5	2.88 ± 0.41		
	Perlakuan 3		5	3.42 ± 0.22		

Hasil uji One-Way ANOVA pada tabel 5.4 menunjukkan nilai *p-value* <0.05 (*p*=0.000) yang berarti bahwa pemberian ekstrak jamur tiram (*Pleurotus Ostreatus*) mampu mempengaruhi jumlah kepadatan jaringan kolagen pada luka hiperglikemia tikus putih galur wistar. Setelah uji One-Way ANOVA menunjukkan hasil yang signifikan, maka dilakukan dengan uji Post Hoc Tuckey untuk mencari kelompok mana yang memiliki perbedaan presentase kepadatan kolagen yang paling signifikan.

**Tabel 5.6 Hasil Uji Post Hoc Tuckey Jumlah Jaringan Kolagen.**

Kelompok	N	Subset for alpha= 0.05		
		1	2	3
Kontrol 3	4	1.9550		
Kontrol 2	4	2.0950		
Kontrol 1	4	2.1250	2.1250	
Perlakuan 2	4		2.8775	2.8775
Perlakuan 1	4			3.1250
Perlakuan 3	4			3.4225
Sig		.978	.054	.256



Dari hasil uji Post Hoc Tuckey didapatkan hasil bahwa kepadatan kolagen pada kelompok K1 berada pada kolom subset 1 dan 2 yang berbeda signifikan dengan kelompok P1 dan P3 yang berada pada kolom subset 3. Kelompok K2 dan K3 berada pada kolom subset 1 memiliki hasil yang sama yaitu berbeda signifikan dengan kelompok P1 yang berada pada kolom subset 3, P2 yang berada pada kolom subset 2 dan kolom subset 3, dan P3 yang berada pada kolom subset 3. Berdasarkan hasil uji statistik diatas, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak jamur tiram untuk perawatan luka hiperglikemia pada tikus putih galur wistar baik secara oral, topikal, maupun oral-topikal dapat mempengaruhi peningkatan presentase kepadatan jaringan kolagen.

