

Efek Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Leukosit Mencit (*Mus musculus* L.) Implantasi Pasca Ovariektomi

Yenny Febriana Ramadhan Abdi, Mahriani, Kartika Senjarini, Rike Oktarianti
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

E-mail: yennyfra4@gmail.com

Abstrak

Kedelai hitam merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki aktivitas estrogenik sehingga dapat berperan sebagai sumber estrogen eksogen alami. Berkurangnya hormon estrogen dalam tubuh dapat disebabkan karena adanya ovariektomi dan menopause, sehingga dapat mempengaruhi aktivitas dan jumlah leukosit dalam reproduksi betina. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak tepung kedelai hitam terhadap leukosit mencit implantasi pasca ovariektomi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4 perlakuan dan masing-masing 7 kali ulangan. Perlakuan 1 (kontrol negatif), perlakuan 2 (kontrol positif: estradiol konsentrasi 50 ppm), perlakuan 3 dan 4 masing-masing dengan pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,31 g/ml dan 0,63 g/ml. Data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha=0,05$ dan dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam selama 10 hari pada mencit implantasi pasca ovariektomi menunjukkan pengaruh yang signifikan yaitu dosis 0,31 g/ml dan 0,63 g/ml mampu meningkatkan jumlah total leukosit dan jumlah leukosit agranulosit.

Kata Kunci— Implantasi, Kedelai Hitam, Leukosit, *Mus musculus*, Ovariektomi.

Abstract

Black soybean is one type of plant that has estrogenic activity, it can act as a source of natural exogenous estrogen. Decreased estrogen hormone in the body can be caused due to ovariectomy and menopause, it can affect the activity and number of leukocytes in the reproduction of female. The purpose of this study was to determine the effect of black soybean flour extract to leukocytes post ovariectomy implant mice. This study used a completely randomized design (RAL) 4 treatments and each 7 replicated. Treatment 1 (negative control), treatment 2 (positive control: estradiol concentration 50 ppm), treatment 3 and 4 respectively with the administration of black soybean flour doses of 0.31 g / ml and 0.63 g / ml. The data were analyzed using *One Way Anova* test with a confidence level of 95% or $\alpha = 0.05$ and further analyze with *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). The results showed that the administration of black soybean flour extract for 10 days in post ovariectomy implantation mice showed a significant effect, doses of 0.31 g/ml and 0.63 g/ml increased the total number of leukocytes and the number of agranulocyte leukocytes.

Keywords: *Black Soybean, Implantation, Leukocyte, Mus musculus, Ovariectomy.*

I. PENDAHULUAN

Kedelai hitam merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk ke dalam famili *Leguminosae*. Kedelai hitam juga memiliki kandungan senyawa seperti antioksidan, saponin, asam amino

esensial dan isoflavon. Kandungan senyawa isoflavon pada kedelai hitam meliputi 56,9% genistein, 40,5% daidzein dan 2,6% glycitein (Nakamura *et al.*, 2001). Senyawa isoflavon merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas estrogenik sehingga dapat ber-

peran sebagai sumber estrogen eksogen alami (Badziard, 2003).

Hormon estrogen merupakan hormon yang berfungsi dalam perkembangan seks wanita serta dapat berperan dalam menstimulasi proses implantasi hingga perkembangan fetus (Guyton, 1983). Berkurangnya hormon estrogen dalam tubuh dapat disebabkan karena adanya ovariektomi dan menopause. Ovariektomi merupakan suatu proses pengangkatan ovarium pada sistem reproduksi betina (Cassidy *et al.*, 2006). Selain itu, dapat menyebabkan proliferasi sel-sel uterus yang berakibat pada terjadinya atropi serta berkurangnya jumlah site implantasi (Nurdin *et al.*, 2002; Bhat-tarai *et al.*, 2014). Implantasi merupakan suatu proses tertanamnya blastokis pada dinding endometrium (Kennedy, 1997). Proses implantasi dikontrol oleh hormon seks steroid dan beberapa faktor imun (Kodaman dan Hugh, 2004).

Salah satu faktor imun yang berpengaruh terhadap implantasi adalah leukosit. Peranan leukosit dalam implantasi adalah sebagai pelindung sel host dari patogen atau mikroorganisme yang menginvasi dinding endometrium maupun desiduasasi (Blesson, 2011; Mor *et al.*, 2011). Hormon estrogen memodulasi fungsi dan jumlah leukosit pada jaringan tubuh (Blesson, 2011). Apabila hormon estrogen berkurang dalam tubuh maka akan menyebabkan penurunan aktivitas sel-sel leukosit yang kemungkinan berpengaruh terhadap perkembangan implantasi, pembentukan desidua dan terbentuknya plasenta sehingga tidak terjadi kebuntingan (Greenwood *et al.*, 2000; Hanna *et al.*, 2006).

Upaya yang dapat dilakukan dalam Mengendalikan defisiensi estrogen adalah dengan pemberian senyawa fitoestrogen. Pemberian isoflavon kedelai dengan dosis 60 mg/BB dapat meningkatkan jumlah leukosit pada tikus yang mengalami defisiensi estrogen (Soung *et al.*, 2004). Selain itu, pemberian isoflavon 1,25 mg pada tikus yang mengalami defisiensi estrogen dapat memulihkan jumlah total dan differensial leukosit seperti kondisi normal (Hough *et al.*, 1999). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek pemberian ekstrak tepung kedelai hitam (*Glycine soja*) terhadap leukosit mencit (*Mus musculus L.*) implantasi pasca ovariektomi.

II. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai dengan Maret 2019. Tempat penelitian di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi kandang mencit berukuran 34 x 25 x12 cm (bak plastik dan penutup dari ram kawat besi), botol minum mencit, jarum sonde, *sput injection*, eskavator, *hecting set*, cawan porselen 75 cc, *grinder*, saringan tepung 60 mesh, *lab stirrer electricity*, *rotary evaporator*, *waterbath*, baki *stainless steel*, oven (*Incucell*), hemacytometer, pipet leukosit, *Hand counter* dan mikroskop.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi hewan uji berupa mencit (*Mus musculus L.*) betina strain Balb/C, pakan Turbo, aquades, sekam padi, serbuk gergaji kayu, *ketamine* 10%, xyla, benang *silk* nomor 3 (*One med*), benang *cat gut* nomor 3 (*One med*), betadine (*Povidone Iodine*) 10%, Alkohol 70% (*Mediss*), antibiotik (*Levofloxacin*), cairan infus 0,9%, kedelai hitam, larutan *Turk*, EDTA, gelas benda, Giemsa dan Metanol.

Preparasi Mencit *Unilateral Ovariectomy* (ULO)

Unilateral Ovariectomy (ULO) dilakukan dengan mengambil salah satu ovarium mencit. Mencit dibius terlebih dahulu dan diletakkan terlentang diatas papan bedah yang selanjutnya dicukur rambut bagian medial perut. Langkah berikutnya yaitu diinsisi secara perlahan hingga membuka lapisan muskulus daerah abdomen. Ovarium dipotong pada daerah antara *oviduct* dan ovarium, kemudian direposisi, dan diberi cairan infus 0,5 ml. Langkah terakhir yang dilakukan yaitu penutupan bagian muskulus dengan cara dijahit. Selanjutnya diinjeksi antibiotik *Levofloxacin* 0,05 ml. Perawatan luka pada masa penyembuhan dapat dilakukan dengan pemberian paracetamol selama 1 minggu secara *ad libitum* (Strom *et al.*, 2012).

Pembuatan Ekstrak Tepung Kedelai Hitam

Pembuatan ekstrak tepung kedelai hitam ini diawali dengan kedelai hitam ditimbang terlebih

dahulu, kemudian dioven dalam suhu 40-45°C selama 2-3 hari. Selanjutnya digrinder dan dimase-rasi selama 2x24 jam. Langkah berikutnya yaitu disaring untuk mendapatkan filtrat, dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* selama \pm 4-5 jam dengan suhu 80°C. Proses terakhir adalah diletakkan dalam cawan porselen dan diletakkan pada *water-bath* suhu 70°C selama \pm 8 jam untuk menghasilkan ekstrak tepung kedelai hitam dengan hasil konstan tidak mengandung air dan dalam bentuk pasta (Hastuti, 2015).

Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan pemberian estradiol dan ekstrak tepung kedelai hitam yang diberikan secara oral (metode *gavage*) menggunakan jarum sonde. Dosis perlakuan estradiol ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu dosis harian mencit ovariektomi yang diberi estradiol 5 μ g/kg/hari dengan dilarutkan pada *corn oil* 1 ml (Perez *et al.*, 2006). Sedangkan dosis perlakuan ekstrak tepung kedelai hitam yaitu dosis harian mencit ovariektomi yang diberi tepung tempe kedelai 0,42 gr/35 BB dalam bentuk pasta (Safrida, 2008). Selanjutnya perlakuan estradiol dan ekstrak tepung kedelai hitam dimulai pada hari ke-41 pasca ovariektomi sampai hari ke-51.

Perkawinan Mencit Jantan dan Betina

Perkawinan mencit jantan dan betina dilakukan pada hari ke-51 saat malam hari dan dihitung sebagai hari ke-0 kebuntingan. Tiap kandang diisi 1 ekor mencit jantan dengan 3 ekor mencit betina. Indikator keberhasilan perkawinan dapat dilihat melalui *vaginal plug* hewan uji.

Perhitungan Jumlah Leukosit

Perhitungan jumlah leukosit dilakukan berdasarkan pada metode Lestari *et al.*, (2013) dengan menggunakan Hemacytometer. Tahap pertama diawali dengan dilakukan pengenceran darah. Darah dihisap sampai tanda 0,5 dengan menggunakan pipet leukosit. Kemudian pipet tersebut dimasukkan kedalam larutan *Turk* dan dihisap sampai larutan dalam pipet mencapai angka 11. Selanjutnya ujung pipet disentuhkan pada kamar hitung tepat batas kaca penutup. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah total leukosit pada keempat bidang besar.

Pembuatan Preparat Apusan Darah

Pembuatan preparat apusan darah ini dengan meneteskan satu tetes darah pada gelas benda yang diambil dari darah ekor. Gelas benda lain diletakkan dengan sudut 30-45° dan ditarik ke belakang, kemudian ditunggu hingga menyebar. Pewarnaan dengan menggunakan Giemsa selama \pm 20-30 menit. Apusan darah difiksasi dengan menggunakan methanol 2-3 menit. Apusan darah tersebut dibiarkan dan dikeringkan secara terbuka. Kemudian dilakukan pencucian dengan air dan dibiarkan agar kering. Setelah pengeringan selesai dilakukan pengamatan dibawah mikroskop untuk mengamati jenis sel-sel leukosit (Suntoro, 1983).

Parameter Penelitian

Parameter penelitian yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Jumlah total leukosit pada masing-masing kelompok hewan uji.
- b. Jumlah dan jenis leukosit agranulosit meliputi:
 1. Limfosit, sel berbentuk bulat dengan inti berbentuk bulat dengan sedikit lekukan.
 2. Monosit, sel berbentuk oval atau tapal kuda dan tampak seakan-akan terlipat-lipat.

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh akan ditabulasi dan dilakukan analisis statistik secara kuantitatif menggunakan aplikasi *software* SPSS versi 23.0 uji *one way Anova* dengan taraf kepercayaan 95% dengan taraf signifikansi $\alpha=0,05$. Selanjutnya, untuk mengetahui beda nyata antar kelompok uji dilakukan analisis *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

III. HASIL DAN PMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Jumlah Leukosit Mencit (*Mus musculus L.*) Implantasi Pasca Ovariektomi

Hasil perhitungan jumlah leukosit pada mencit implantasi pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam selama 10 hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1.
Rata-Rata Jumlah Leukosit Mencit
(*Mus musculus L.*) Implantasi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung
Kedelai Hitam (*Glycine soja*)

Perlakuan	Rata-rata Jumlah Leukosit ($\bar{x} \pm SD$)
K-	3950,00 ^a ± 209,662
K+	5501,86 ^b ± 225,405
P1	6350,00 ^c ± 868,188
P2	6525,00 ^c ± 470,815

Angka yang diikuti huruf sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf ($p < 0,05$). K-: tanpa perlakuan, K+: Estradiol konsentrasi 50 ppm, P1: Dosis 0,31 g/ml, P2: Dosis 0,63 g/ml

Berdasarkan analisis uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam berpengaruh nyata terhadap rata-rata jumlah leukosit antar kelompok perlakuan. Analisis uji lanjut DMRT pada Tabel 1, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata rata-rata jumlah leukosit pada kontrol negatif dengan kontrol positif dan perlakuan (P1 dan P2). Jumlah leukosit pada kontrol positif lebih tinggi ($5501,86^b \pm 225,405$) dibandingkan dengan kontrol negatif ($3950,00^a \pm 209,662$). Hal ini diduga bahwa pada kontrol positif, terdapat senyawa estradiol yang merupakan salah satu bentuk dari struktur estrogen yang paling utama serta dominan dalam tahap dimulainya reproduksi hingga fase penuaan. Selain itu, bentuk hormon estrogen ini memiliki afinitas kuat sehingga sangat mudah disintesis dalam tubuh selama perkembangan reproduksi (Khan *et al.*, 2012). Jumlah leukosit pada perlakuan (P1: $6350,00^c \pm 868,188$; P2: $6525,00^c \pm 470,815$) juga lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini diduga karena adanya ekstrak tepung kedelai hitam sebagai senyawa fitoestrogen yang mampu menggantikan fungsi hormon estrogen endogen dalam proses reproduksi betina terutama saat memodulasi implantasi (Ganong, 2003; Badziard, 2003). Saat terjadi implantasi, hormon estrogen akan melibatkan leukosit dengan melalui ikatan reseptor estrogen yang terdapat pada jaringan tubuh maupun pembuluh darah (Stygar *et al.*, 2007; Bouman *et al.*, 2005).

Pada Tabel 1. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata rata-rata jumlah leukosit pada kontrol positif dengan perlakuan (P1 dan P2). Rata-rata jumlah leukosit pada perlakuan (P1:

$6350,00^c \pm 868,188$; P2: $6525,00^c \pm 470,815$) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif ($5501,86^b \pm 225,405$). Hal ini diduga karena ekstrak tepung kedelai hitam berperan sebagai senyawa fitoestrogen mampu menimbulkan efek estrogenik dalam mengurangi defisiensi estrogen pada hewan uji dibandingkan dengan estradiol. Senyawa fitoestrogen memiliki senyawa yang multi-kompleks dengan sifat estrogenik yang saling berinteraksi, mampu bekerja secara efektif pada sel target tanpa menimbulkan efek samping yang berlebihan (Land dan Jia, 2010; Rowland *et al.*, 2003).

Multikompleks yang dimiliki oleh senyawa fitoestrogen dapat diabsorpsi ke dalam tubuh sehingga dapat menimbulkan efek optimal pada proses fisiologis dari sel target. Adanya pemberian senyawa fitoestrogen mampu meningkatkan jumlah leukosit dalam tubuh serta mampu menggantikan fungsi hormon estrogen endogen. Senyawa fitoestrogen memiliki cincin fenolik yang memungkinkan terjadinya ikatan kedua jenis reseptor estrogen dalam tubuh serta memiliki afinitas kuat sehingga dapat berperan sebagai modulator efek estrogenik (Ryan Brochers *et al.*, 2006). Kondisi defisiensi estrogen akan mempengaruhi aktivasi dan infiltrasi leukosit dalam tubuh yang dapat berpengaruh pada perkembangan implantasi (Greenwood *et al.*, 2000). Hal tersebut berkaitan dengan peranan hormon estrogen dalam meregulasi proses inflamasi di dalam endometrium dengan melibatkan peranan leukosit sebagai pelindung sel *host* dari patogen dan mikroorganisme saat terjadi implantasi (Mor *et al.*, 2011; King dan Hillary, 2010).

Rata-rata jumlah leukosit pada perlakuan (P1: $6350,00^c \pm 868,188$; P2: $6525,00^c \pm 470,815$) memiliki nilai yang sama. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian fitoestrogen baik dengan dosis 0,31 g/ml maupun 0,63 g/ml memiliki efek yang sama terhadap jumlah leukosit pada hewan uji. Hormon estrogen akan mempengaruhi infiltrasi leukosit dalam tubuh saat terjadi implantasi sehingga akan berpengaruh terhadap jumlah maupun aktivitas leukosit (Mor *et al.*, 2011). Konsentrasi hormon estrogen yang tidak sesuai dengan kebutuhan suatu jaringan target maka dapat mempengaruhi sel target dalam merespon hormon tersebut sehingga berpengaruh pada ke-

mungkinan terhambatnya aktivitas sel-sel imun saat respon inflamasi terjadi yang ditandai dengan menurunnya aktivitas sel-sel leukosit yang akan berpengaruh terhadap perkembangan implantasi, perkembangan desidua bahkan dapat menyebabkan tidak terjadinya kebuntingan (Bouman *et al.*, 2005; Hanna *et al.*, 2006).

Pengaruh Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) terhadap Jumlah dan Jenis Leukosit Agranulosit Mencit (*Mus musculus* L.) Implantasi Pasca Ovariectomi

Hasil perhitungan rata-rata jumlah leukosit agranulosit (limfosit dan monosit) mencit implantasi pasca ovariectomi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2.
Rata-Rata Jumlah Leukosit Agranulosit Mencit (*Mus musculus* L.)
Implantasi Pasca Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam
(*Glycine soja*)

Perlakuan	Rata-Rata Jumlah Leukosit Agranulosit ($\bar{x} \pm SD$)	
	Limfosit	Monosit
K-	59,11 ± 26,20 ^a	10,89 ± 3,79 ^a
K+	55,22 ± 25,05 ^a	15,33 ± 5,36 ^{ab}
P1	182,00 ± 83,68 ^b	24,89 ± 8,31 ^c
P2	60,11 ± 37,66 ^a	18,89 ± 5,55 ^b

Angka pada kolom yang sama diikuti huruf sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf (p<0,05). K-: tanpa perlakuan, K+: tanpa Estradiol konsentrasi 50 ppm, P1: Dosis 0,31 g/ml, P2: Dosis 0,63 g/ml

Berdasarkan analisis uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak tepung kedelai hitam berpengaruh nyata terhadap jumlah leukosit agranulosit (limfosit dan monosit). Analisis uji lanjut DMRT pada Tabel 2. menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata rata-rata jumlah leukosit agranulosit (limfosit dan monosit) pada kontrol negatif dengan kontrol positif. Rata-rata jumlah limfosit pada kontrol positif (55,22 ± 25,05^a) mengalami penurunan. Sedangkan rata-rata jumlah monosit cenderung meningkat. Penurunan rata-rata jumlah limfosit pada kontrol positif diduga karena adanya *unilateral ovariectomy* memberikan pengaruh terhadap rata-rata jumlah limfosit pada mencit implantasi. Berkurangnya hormon estrogen akan menurunkan aktivitas sel limfosit pada saat tahapan implantasi.

Peranan sel limfosit dalam implantasi adalah membantu sel trofoblas saat perlekatan pada dinding endometrium serta merangsang terjadinya desidualisasi (Jones *et al.*, 2004).

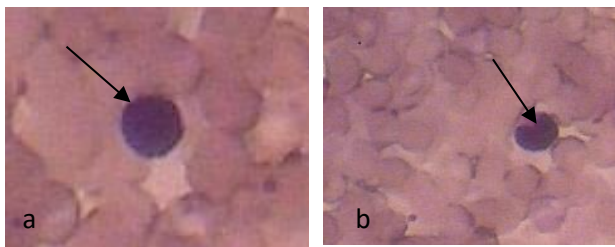
Peningkatan rata-rata jumlah monosit pada kontrol positif (15,33 ± 5,36^{ab}) dibandingkan dengan kontrol negatif (10,89 ± 3,79^a) diduga karena adanya *unilateral ovariectomy* yang mempengaruhi peningkatan jumlah sel monosit pada hewan uji implantasi. Perlakuan ovariectomi pada tikus yang mengalami implantasi menunjukkan peningkatan jumlah sel NK dan makrofag dalam pembuluh darah (Matsubayashi *et al.*, 1996). Monosit yang masuk kedalam jaringan akan mengalami pematangan menjadi makrofag (histiosit) sehingga sel tersebut dapat menjalankan fungsi utamanya sebagai fagosit (Nugraha, 2015). Makrofag merupakan salah satu sel imun yang berperan dalam implantasi. Makrofag akan berperan dalam penginvasian trofoblas pada dinding endometrium saat implantasi. Sel trofoblas akan meregulasi migrasi dan diferensiasi sel monosit (Fest *et al.*, 2006).

Rata-rata jumlah leukosit agranulosit (limfosit dan monosit) pada kontrol positif menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan 1 dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2. Rata-rata jumlah leukosit agranulosit pada dosis 0,31 g/ml/hari (182,00 ± 83,68^b; 24,89 ± 8,31^c) mengalami peningkatan. Hal ini diduga bahwa senyawa fitoestrogen pada kedelai hitam mampu meningkatkan rata-rata jumlah limfosit dan monosit. Adanya perlakuan *unilateral ovariectomy* menyebabkan defisiensi estrogen endogen sehingga dibutuhkan asupan estrogen dari luar, salah satunya dengan pemberian fitoestrogen dari ekstrak tepung kedelai hitam yang dikonsumsi secara teratur, agar dapat mengembalikan kadar estrogen endogen menjadi normal kembali. Hormone estrogen normal akan mendukung keberhasilan implantasi pada hewan uji. Kandungan fitoestrogen pada kedelai dapat memulihkan jumlah leukosit terutama sel limfosit pada tikus yang mengalami defisiensi estrogen pada keadaan normal. Selain itu, tidak menyebabkan terjadinya *Lymphocytopenia* (Soung *et al.*, 2004).

Senyawa fitoestrogen diperlukan dalam menanggulangi berkurangnya hormon estrogen dalam tubuh. Apabila substrat berikatan dengan re-

septor estrogen maka efek estrogenik akan terjadi (Wasiska, 2015). Pemberian senyawa fitoestrogen dapat mempengaruhi terjadinya implantasi. Adanya implantasi, peranan leukosit terutama sel monosit berupa makrofag dan sel NK akan membantu dalam proses desidualisasi trofoblas. Peran sel monosit sangat diperlukan dalam tahapan implantasi yaitu saat invasi trofoblas maupun merangsang adhesi dari trofoblas dalam mendukung keberhasilan implantasi (Jones *et al.*, 2004).

Jumlah leukosit agranulosit (limfosit dan monosit) pada perlakuan 1 menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan 2. Perlakuan 1 menunjukkan peningkatan jumlah limfosit dan monosit. Hal ini diduga bahwa konsentrasi kandungan senyawa fitoestrogen pada kedelai hitam pada dosis 0,31 g/ml/hari dapat meningkatkan aktivitas sel leukosit agranulosit. Konsentrasi hormon estrogen yang tinggi akan berpengaruh terhadap penurunan aktivitas dan fungsi dari sel limfosit (Roth *et al.*, 1982). Selain itu, dapat menyebabkan penurunan terhadap jumlah sel monosit. Konsentrasi hormon estrogen yang tinggi dapat menghambat aktivitas sel-sel imun saat respon inflamasi terjadi serta penurunan aktivitas sel-sel leukosit. Penurunan jumlah sel-sel leukosit kemungkinan akan berpengaruh pada perkembangan implantasi, pembentukan desidua dan terbentuknya plasenta sehingga tidak terjadi kebuntingan (Straub 2007; Hanna *et al.*, 2006). Morfologi sel limfosit dan monosit menunjukkan perbedaan bentuk selnya yaitu limfosit berbentuk bulat dan monosit berbentuk tapal kuda. Gambar morfologi leukosit agranulosit (limfosit dan monosit) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi sel limfosit dan monosit mencit implantasi. a) Limfosit (Perbesaran 1000x), b) Monosit (Perbesaran 400x) menggunakan mikroskop cahaya, kamera OptiLab.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian ekstrak tepung kedelai hitam selama 10 hari pada mencit implantasi pasca ovariektomi menunjukkan bahwa dosis 0,31 g/ml dan 0,63 g/ml mampu meningkatkan rata-rata jumlah total leukosit dan jenis leukosit agranulosit secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Badziad, A. (2003). *Menopause, Danropause, dan TSH*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka.
- Bhattacharai, T., Soumita, D., Prasenjit C., Koushik, B. dan Pallav, S. (2014). Effect of Progesterone Supplementation on Post-Coital Unilaterally Ovariectomized Superovulated Mice in Relation to Implantation And Pregnancy. *Asian J Pharm Clin Res*, 7, 29-31.
- Blesson, C.S. (2011). Estrogen Receptors in Leukocytes – Possible Impact on Inflammatory Processes in the Female Reproductive System. *Reserach Gate*. Karolinska Institutet Sweden.
- Bouman, A, Maas, J.H. dan Marijke, M. F. (2005). Sex Hormones and The Immune Response in Humans. *Hum Reprod Update*, 11, 411-23.
- Cassidy, A., Paola, A., Inge, L.N., Wendy, H., Gary, W., Inge, T., Steve, A., Heide, C., Yannis, M., Alicja, W., Claudia, S. dan Francesco, B. (2006). Critical Review of Health Effects of Soyabean Phyto-oestrogens in Post-menopausal Women. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65, 76-92.
- Fest, S., Paulomi, B., A., Abraham, V.N., Visintin, I., Alvero, A., Chen, R., Chavez, S.L., Romero, R., dan Mor, G. (2006). Trophoblast Macrophage Interactions: a Regulatory Network for the Protection of Pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 57, 55-66.
- Ganong, W.F. (2003). *Review of Medical Physiology*. International Edition. San Fransisco. Mc Graw Hill Book.
- Greenwood, J.D., Minhas, K., Di Santo, J.P., Makita, M., Kiso, Y. dan Croy, B.A.. (2000). Ultrastructural Studies of Implantation Sites from Mice Deficient in Uterine Natural Killer Cells. *Placenta*, 21, 93-702.

- Guyton, A.C. (1983). *Fisiologi Manusia dan Mekanismenya terhadap Penyakit*. Jakarta : EGC.
- Hanna, J., Debra, G., Yaron, H., Inbal, A., Caryn, G., Shira, N., Diana, P., Leonor, C., Tal, I.A., Irit, M., Roi, G., Vladimir, Y., Daniel, B., Angel, P., Eli, K., Simcha, Y. dan ofer, M. (2006). Decidual NK cells Regulate Key Developmental Processes at The Human Fetal-Maternal Interface. *Nature Medicine*, 12(9).
- Hastuti, N.A. (2015). Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Ekspresi Caspase-3 Mencit Galur C3H Model Karsinogenik Payudara. *Tesis*. Program Studi Magister Kebidanan. Universitas Brawijaya.
- Hough, H.J, Mark, L. F. dan David, A. L. (1999). Active Lifestyle Offsets HRT Induced Suppression of T cell Reactivity to Mitogens. *Maturitas*, 33, 211-218.
- Jones, R.L., Natalie, J. H., Tu'uhevaha, J. K., Jin, Z. dan Lois, A. S. (2004). Identification of Chemokines Important for Leukocyte Recruitment to the Human Endometrium at the Times of Embryo Implantation and Menstruation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(12), 6155–6167.
- Kennedy, T.G. (1997). Physiology of Implantation. *10th World Congress on In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction*.
- Khan, D., Catharine, C. dan Ansar, A.. (2012). Estrogen and Signaling in the Cells of Immune System. *Advances in Neuroimmune Biology*, 3, 73–93.
- King, A.E. dan Hillary, O.,D.,C. (2010). Oestrogen and Progesterone Regulation of Inflammatory Processes in the Human Endometrium. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, 120, 116–126.
- Kodaman, P.H. dan Hugh, S.T. 2004. Hormonal Regulation of Implantation. *Obstet Gynecol Clin N Am*, 31, 745 – 766.
- Lan, K dan Jia, W. (2010). An Integrated Metabolomics and Pharmacokinetics Strategy for Multi-Component Drugs Evaluation. *Current Drug Met*, 11, 105–114.
- Lestari, S.,H.,A., Ismoyowati dan M. Indradji. (2013). Kajian Jumlah Leukosit dan Differensiasi Leukosit pada Berbagai Jenis Itik Lokal Betina yang Pakannya disuplementasi Probiotik. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(2), 699-709.
- Matsubayashi, H., Ken-Ichi, I., Tetsuo, M., Nobuaki, Taiko, M., Shinya, I., Wen-Shu, S., Kazumi, N., Shiro, N. dan Tsunehisa, M. (1996). Effects of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist (GnRHa) and Ovariectomy on Leukocyte Subpopulations in Rats With Autotransplanted Endometrium. *AJRI*, 36, 40-48.
- Mor, G., Ingrid, C., Vikki, A. dan Seth G. (2011). Inflammation and Pregnancy: The Role of the Immune System at the Implantation Site. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 1221, 80–87.
- Nakamura, Y., Akiko, K., Kimihiko, Y., Yukari, T., Susumu, I. dan Yasuhide, T. (2001). Content dan Composition of Isoflavonoids in Mature or Immature Beans and Bean Sprouts Consumed in Japan. *Journal of Health Science*, 47(4), 394-406.
- Nugraha, G. (2015). *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Jakarta: Trans Info Media.
- Nurdin, S.U., Dedy, M., Ita, D. dan Suyanto, P. (2002). Tahu Menghambat Kehilangan Tulang Lumbar Tikus Betina Ovariectomi. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan*, 8(3).
- Perez, M.A.G., Del Val, I., Noguera, I., Hermenegildo, C., Pineda, B., Martinez-Romero, A. Cano, A. (2006). Estrogen Receptor Agonist and Immune System in Ovariectomized Mice. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 19(4), 807-819.
- Roth, A.J., Merlin, L. K. dan Walter, H. H. (1982). Effect of Estradiol and Progesterone on Lymphocyte and Neutrophil Functions in Steers. *Infection and Immunity*, 35(3), 997-1002.
- Rowland I, Faughnan, M., Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G. dan Cassidy, A. (2003). Bioavailability of Phyto-oestrogens. *Br J Nutr*, 89, S45–S58.

- Ryan-Borchers, A.T., Park, J. S., Chew, B. P., McGuire, M. K., Fournier, L. R. dan Beerman, K. A. (2006). Soy Isoflavones Modulate Immune Function in Healthy Postmenopausal Women. *Am J Clin Nutr*, 83(11), 18–25.
- Safrida. (2008). Perubahan Kadar Hormon Estrogen pada Tikus yang diberi Tepung Kedelai dan Tepung Tempe. *Tesis*. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Soung, D.Y., Khalil, D. A., Arquitt, A. B., Smith, B. J., Hammond, L. J., Droke, E. A., Lucas, E. A., Devareddy, L. dan Arjmdani, B. H. (2004). Soy Isoflavones Prevent the Ovarian Hormone Deficiency-Associated Rise in Leukocytes in Rats. *Phytomedicine*, 11, 303–308.
- Straub, R.H. (2007). The Complex Role of Estrogens in Inflammation. *Endocrine Reviews*, 28(5), 521–574.
- Strom, O., J., Annette, T., Edvin, I., Ida-Maria, I. dan Elvar, T. (2012). Ovariectomy and 17 β -estradiol Replacement in Rats and Mice: A Visual Demonstration. *Journal of Visualized Experiments*, 64, 1-4.
- Stygar, D., Britt, M., Hakan, E. dan Lena, S. (2007). Studies on Estrogen Receptor (ER) alpha and beta Responses on Gene Regulation in Peripheral Blood Leukocytes in Vivo Using Selective ER Agonists. *Journal of Endocrinology*, 194(1), 101-119.
- Suntoro, S.H. (1983). *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bhatara Karya Aksara.
- Wasiska, S. (2015). Efektivitas Infusa Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) terhadap Kadar Progesteron Darah Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*) Ovariectomi. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.