

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Persetujuan Etik

Penelitian yang dilakukan telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi Surakarta dengan nomor 107/I/HREC/2023. Surat keterangan etik dapat dilihat pada lampiran 2.

B. Hasil Penelitian Tanaman Biji Kedelai

1. Determinasi biji kedelai (*Glycine max* L.)

Determinasi tanaman biji kedelai dilakukan di B2P2TOOT, Tawangmangu, Jawa Tengah. Tujuan determinasi dilakukan untuk memastikan keakuratan sampel tanaman yang digunakan dengan mencocokkan karakteristik mikroskopik dan makroskopik dari biji kedelai agar saat pengumpulan bahan tidak terjadi kesalahan. Berdasarkan surat keterangan nomor 964/H6-04/2023 menunjukkan bahwa sampel yang diteliti adalah benar biji kedelai (*Glycine max*). Hasil determinasi tanaman biji kedelai dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengambilan bahan dan pengeringan bahan

Tanaman yang dipakai dalam penelitian ini adalah tanaman kedelai yang diambil bagian biji. Biji kedelai didapat dari daerah Karanganyar, Jawa Tengah. Biji kedelai yang dipakai berupa biji kedelai yang sudah tua, tidak rusak, tidak hancur, dan berwarna kuning. Bobot biji kedelai yang diperoleh yakni 8200 gram basah, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari hingga kering dan diperoleh biji kedelai kering sebanyak 1400 gram. Hasil rendemen bobot biji kedelai kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah biji kedelai

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
8200	1400	17,07

3. Pembuatan serbuk biji kedelai

Biji kedelai yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan mesin *grinding* dan dilakukan penyakan menggunakan *mesh* nomor 60. Biji kedelai dibuat serbuk tujuannya untuk memperluas permukaan sehingga proses ekstraksi simplisia akan lebih mudah larut dalam zat penyari. Serbuk biji kedelai diayak untuk mendapatkan ukuran serbuk yang sama sehingga pelepasan zat aktifnya merata.

4. Pembuatan ekstrak biji kedelai

Pembuatan ekstrak biji kedelai dilakukan dengan metode maserasi. Pemilihan metode maserasi karena cocok untuk senyawa yang tidak tahan dengan pemanasan tinggi. Maserasi dilakukan menggunakan botol berwarna coklat/gelap untuk menjaga senyawa aktif tidak rusak akibat terpapar sinar matahari secara langsung sehingga hasil ekstraksi optimal.

Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 bagian serbuk dengan 10 bagian pelarut. Penyarian yang kedua menggunakan perbandingan pelarut setengah dari pelarut pertama. Pelarut etanol 70% dipilih karena senyawa biji kedelai bersifat polar sehingga senyawa lebih banyak terlarut. Hasil dari proses maserasi (maserat) kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator*. Data rendemen ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max L.*) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pembuatan ekstrak biji kedelai

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
600	102	17

Rendemen ekstrak biji kedelai diperoleh sebesar 17%. Rendemen ekstrak biji kedelai yang diperoleh memenuhi syarat karena rendemen ekstrak yang baik adalah tidak kurang dari 10% (Kemenkes RI, 2017). Nilai rendemen yang semakin tinggi menunjukkan ekstrak yang dihasilkan semakin besar artinya semakin banyak zat-zat berkhasiat yang terkandung dalam tanaman (Wijaya *et al*, 2015).

5. Identifikasi serbuk dan ekstrak biji kedelai

5.1 Uji organoleptik. Pemeriksaan organoleptik serbuk biji kedelai bertujuan untuk mengetahui bentuk secara visual melalui panca indera yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa. Hasil pemeriksaan organoleptik serbuk dan ekstrak biji kedelai dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji organoleptik serbuk dan ekstrak biji kedelai

Uji organoleptik	Hasil serbuk	Hasil ekstrak	Pustaka ekstrak (Rahmawati, 2021)
Bentuk	Serbuk halus	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Kuning	Coklat	Coklat
Bau	Khas biji kedelai	Khas biji kedelai	Khas biji kedelai
Rasa	Sedikit pahit	Pahit	Pahit

5.2 Uji susut pengeringan. Pemeriksaan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya air dan senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan simplisia

(Kemenkes RI, 2017). Pemeriksaan susut pengeringan serbuk dan ekstrak menggunakan *Moisture balance* pada suhu 105°C menunjukkan hasil dalam satuan persen (%). Hasil pengujian susut pengeringan serbuk dan ekstrak biji kedelai dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 9.

Tabel 4. Hasil uji susut pengeringan serbuk dan ekstrak biji kedelai

Replikasi	Berat sampel (g)	Hasil susut pengeringan serbuk (%)	Hasil susut pengeringan ekstrak (%)
1	2	6,4	2,2
2	2	8,0	2,8
3	2	8,7	2,3
Rata-rata ±SD		7,7 ± 1,2	2,4± 0,3

Hasil persentase rata-rata susut pengeringan serbuk biji kedelai diperoleh sebesar 7,7% dan ekstrak biji kedelai 2,4%. Hasil susut pengeringan serbuk dan ekstrak tidak lebih dari 10% sehingga hasil telah memenuhi syarat berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia edisi II.

5.3 Penetapan kadar air ekstrak. Penetapan kadar air ekstrak dilakukan untuk mengetahui batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam ekstrak. Penetapan kadar air ekstrak dilakukan dengan metode gravimetri. Ekstrak dengan kadar air yang tinggi rentan menjadi media pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Hasil kadar air ekstrak biji kedelai dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak

Replikasi	Berat kurs kosong	Berat kurs + ekstrak sebelum di oven	Berat kurs + ekstrak setelah di oven	Berat ekstrak awal	Berat ekstrak akhir (konstan)	Kadar air (%)
1	70,4247	80,4371	80,0367	10,0095	9,6091	4,00
2	64,7758	74,7805	74,3837	10,0047	9,6081	3,97
3	63,9509	73,9535	73,6198	10,0026	9,6199	3,34
Rata-rata±SD						3,77±0,4

Pelarut pada proses ekstraksi dapat mempengaruhi jumlah kadar air pada sampel ekstrak. Hasil penetapan kadar air ekstrak biji kedelai diperoleh sebesar 3,77%. Berdasarkan hasil penetapan kadar air ekstrak memenuhi persyaratan yaitu tidak melebihi dari 10% (Kemenkes RI, 2017).

5.4 Hasil uji bebas etanol ekstrak. Pemeriksaan bebas etanol terhadap sampel ekstrak dilakukan untuk memastikan bahwa sampel berupa ekstrak murni yang terbebas dari etanol sehingga tidak mempengaruhi hasil pada pengujian aktivitas hewan uji. Hasil pemeriksaan bebas etanol dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji bebas etanol ekstrak

Pemeriksaan	Cara kerja	Hasil
Uji bebas etanol	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH + dipanaskan diatas WB	Tidak tercium bau khas ester

Berdasarkan tabel 6, hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa ekstrak biji kedelai telah bebas dari alkohol karena tidak berbau ester. Pelarut etanol 70% yang digunakan dalam pembuatan ekstrak mengalami penguapan yang sempurna pada saat pemekatan menggunakan *rotary evaporator*.

5.5 Identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak biji kedelai. Pengujian kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak biji kedelai dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung di serbuk dan ekstrak biji kedelai (*Glycine max* L.). Identifikasi dilakukan menggunakan metode uji tabung berdasarkan reaksi warna dan endapan. Identifikasi dilakukan pada senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, tanin, dan steroid/triterpenoid. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji kedelai dapat dilihat pada tabel 7 dan lampiran 11.

Tabel 7. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak

Identifikasi	Pereaksi	Pustaka	Hasil	
			Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	Reagen <i>Dragendorff</i>	Endapan jingga (Handayani, 2019)	Endapan jingga (+) Endapan coklat kemerahan (+)	Endapan jingga (+) Endapan coklat kemerahan (+)
	Reagen <i>Bouchardat</i>	Endapan coklat (Handayani, 2019)	Endapan coklat kemerahan (+)	Endapan coklat kemerahan (+)
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	Warna jingga (Handayani, 2019)	Warna jingga (+)	Warna jingga (+)
Saponin	Kocok kuat + HCl 2N	Busa yang stabil (Ismarani <i>et al.</i> , 2014)	Busa yang stabil (+)	Busa yang stabil (+)
Polifenol	FeCl ₃	Warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman (Chandrashekar, 2012).	Warna hijau kecoklatan (+)	Warna hijau kehitaman(+)
Tanin	Gelatin	Endapan putih (Chandrashekar, 2012).	Endapan putih (+)	Endapan putih (+)
Steroid/ Triterpenoid	<i>Lieberman Buchard</i>	Cincin biru atau hijau kehitaman (steroid), cincin merah atau ungu (triterpenoid) (Ningsih <i>et al.</i> , 2016)	Warna merah (+) triterpenoid	Warna merah (+) triterpenoid

Berdasarkan tabel 7, hasil pemeriksaan kandungan senyawa ekstrak biji kedelai positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, tanin, dan triterpenoid dibuktikan dengan perubahan warna dan endapan sesuai dengan pustaka. Senyawa kimia tersebut memiliki aktivitas sebagai *lactagogum*. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Djamil dan Anelia (2009) pada ekstrak biji kedelai mengandung senyawa aktif yaitu saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan steroid. Hasil uji identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji kedelai dapat dilihat pada lampiran 9.

C. Hasil Penetapan Dosis

Penelitian ini kelompok kontrol negatif menggunakan CMC Na 0,5%. Kelompok kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah obat Lancar ASI[®] dosis 18 mg/kg BB tikus. Obat Lancar ASI[®] digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini karena dapat meningkatkan produksi ASI dan penggunaan dimasyarakat sudah banyak. Hasil perhitungan dosis dapat dilihat pada lampiran 5.

Dosis ekstrak diperoleh dari mengalikan rendemen kering terhadap basah 17,07% dengan dosis empiris pada manusia sebesar 250 gram, diperoleh hasil 42,675 gram. Hasil ini kemudian dikalikan dengan rendemen ekstrak kental 17% diperoleh dosis ekstrak sebesar 7,254 gram. Dosis ekstrak kemudian dikonversi ke tikus 200 gram dengan faktor konversi 0,018 diperoleh dosis sebesar 650 mg/kg BB tikus.

Berdasarkan hasil orientasi dosis ditetapkan dosis untuk uji aktivitas *lactagogum* biji kedelai dengan tiga variasi dosis yaitu ½ DE 325 mg/kg BB, 1DE 650 mg/kg BB, dan 2DE 1300 mg/kg BB tikus. Hasil perhitungan orientasi dosis dapat dilihat pada lampiran 5.

D. Hasil Uji *Lactagogum* Biji Kedelai

Penelitian uji aktivitas *lactagogum* dilakukan menggunakan 30 ekor tikus betina galur Wistar berusia 2-3 bulan yang sedang menyusui. Tikus betina dikelompokkan secara acak dimana tiap kelompok berisi 5 ekor tikus yang akan mendapat perlakuan berbeda tiap kelompok. Tikus betina yang digunakan sebagai penelitian di adaptasi terlebih dahulu selama satu minggu agar dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungan. K1 adalah kontrol normal (tanpa perlakuan), hanya diberi minum dan makan, K2 adalah kontrol negatif diberikan CMC Na, K3 adalah kontrol positif diberikan larutan Lancar ASI[®] dosis 18 mg/kg BB tikus, K4, K5 dan K6 diberikan sediaan uji ekstrak etanol biji kedelai

dengan dosis 325 mg/kg BB, 650 mg/kg BB tikus, dan 1300 mg/kg BB tikus. Sediaan uji dioralkan ke induk tikus sekali sehari secara rutin selama 14 hari. Perhitungan volume pemberian induk tikus dapat dilihat pada lampiran 15. Uji aktivitas *lactagogum* ekstrak etanol biji kedelai pada penelitian ini berdasarkan parameter berat badan induk, berat badan anak, dan histologi kelenjar *mammae*.

1. Berat badan induk tikus

Data berat badan induk tikus diperoleh dari penimbangan induk tikus dilakukan selama 13 hari dengan selang waktu 2 hari dimulai dari hari pertama melahirkan. Penimbangan dilakukan sebelum dan setelah enam jam diberi perlakuan. Metode yang dipakai dalam penelitian ini adalah ekperimental dengan rancangan acak lengkap (Iwansyah *et al.*, 2017). Data penimbangan berat badan induk setelah diberi perlakuan tidak ditampilkan dalam hasil karena dalam penelitian ini tidak menghomogenkan berat badan induk sebelum melahirkan (H_0). Tikus memang dikelompokkan secara acak namun seharusnya sebelum dikelompokkan berdasarkan kelompok perlakuan harus diseragamkan atau dihomogenkan berat badannya antara kelompok satu dengan kelompok lain agar data yang diperoleh tidak heterogen. Hasil data selisih penimbangan berat badan induk tikus dapat dilihat pada tabel 8 dan hasil penimbangan berat badan induk sebelum dan setelah diberi perlakuan dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 8. Data selisih penimbangan berat badan induk tikus

Hari	K1	K2	K3	K4	K5	K6
H1	-1,00 ±	-1,00 ±	-2,67 ±	-2,00 ±	-3,00 ±	-3,00 ±
	1,00 ^{ab}	1,00 ^{ab}	1,53 ^{ab}	1,00 ^{ab}	1,00 ^{ab}	1,00 ^{ab}
H3	-1,67 ±	-1,67 ±	-3,33 ±	-3,33 ±	-3,33 ±	-2,67 ±
	0,58	0,58	0,58	2,08	2,52	1,15
H5	-2,33 ±	-1,67 ±	-3,67 ±	-3,67 ±	-4,67 ±	-2,33 ±
	0,58	0,58	0,58	1,53	2,08	0,58
H7	-2,00 ±	-2,00 ±	-5,33 ±	-3,00 ±	-6,67 ±	-4,00 ±
	1,00 ^b	1,00 ^b	1,53 ^a	1,00 ^{ab}	0,58 ^{ab}	1,00 ^{ab}
H9	-2,67 ±	-2,00 ±	-5,33 ±	-3,67 ±	-5,33 ±	-4,67 ±
	0,58	1,00	0,58	0,58	0,58	0,58
H11	-2,00 ±	-2,67 ±	-5,67 ±	-3,00 ±	-4,33 ±	-3,33 ±
	1,00	0,58	0,58	1,73	2,08	1,53
H13	-2,00 ±	-2,00 ±	-6,00 ±	-3,00 ±	-5,33 ±	-4,0 ±
	1,00 ^b	1,00 ^b	1,00 ^a	1,00 ^{ab}	1,53 ^a	1,00 ^{ab}
% penurunan BB	0,83%	0,99%	2,78%	1,88%	2,40%	1,59%

Keterangan : K1 = normal (tanpa perlakuan), K2 = negatif (suspensi Na CMC 0,5%), K3 = positif (Lancar ASI[®] 18 mg/kg BB), K4 = perlakuan 1 diberi ekstrak etanol biji kedelai dosis 325 mg/kg BB tikus, K5 = perlakuan 2 diberi ekstrak etanol biji kedelai dosis 650 mg/kg BB tikus, K6 = perlakuan 3 diberi ekstrak etanol biji kedelai dosis 1300 mg/kg BB tikus, a = berbeda signifikan dengan kontrol negatif, b = berbeda signifikan dengan kontrol positif.

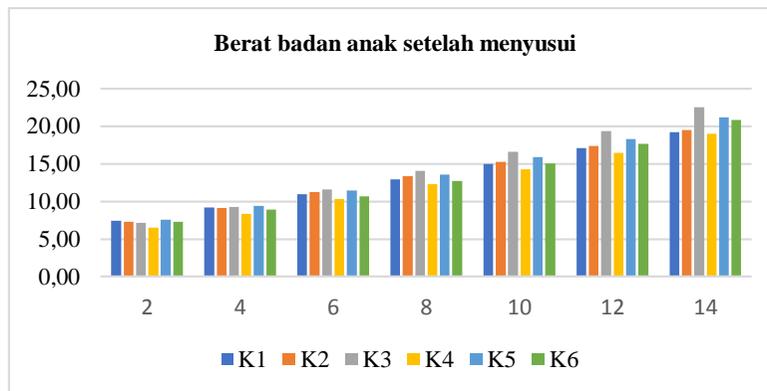
Penimbangan berat badan induk pada hari ke 13 menunjukkan bahwa K3 dan kelompok perlakuan menunjukkan selisih penurunan berat badan yang lebih tinggi dibandingkan K1 dan K2 artinya sediaan yang diberikan secara oral ke induk tikus dapat meningkatkan produksi ASI sehingga menurunkan berat badan induk tikus. Penurunan berat badan induk berhubungan dengan peningkatan berat badan anak. Hal ini disebabkan karena dalam memproduksi ASI diperlukan energi yang cukup besar maka menyusui secara eksklusif dapat membantu mengurangi tumpukan lemak yang ada di tubuh. Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian bahwa ibu yang memberikan ASI eksklusif mengalami penurunan persen lemak tubuh lebih tinggi dibandingkan ibu yang tidak memberikan ASI eksklusif (Jarlenski *et al.*, 2014). Penurunan berat badan induk tikus pada penelitian ini juga disebabkan oleh pemberian pakan yang tidak terpenuhi secara optimal karena peneliti tidak melakukan orientasi pemberian pakan, penimbangan pemberian pakan dan sisa pakan yang menyebabkan malnutrisi pada induk tikus. Seharusnya dilakukan orientasi pemberian pakan pada hari pertama sehingga tahu kebutuhan pakan tikus dalam sehari serta dilakukan

penimbangan pakan dan sisa pakan. Pakan mengandung nutrisi yang dapat berpengaruh terhadap berat badan induk tikus.

Data selisih penimbangan berat badan induk yang terdapat pada tabel 8 kemudian dianalisis dengan aplikasi SPSS pada hari ke- 1, 7, dan 13. Hasil uji *Shapiro-Wilk* pada hari ke-13 diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$). Analisis dilanjutkan dengan metode *One Way ANOVA* yang menunjukkan nilai ($p < 0,05$), hasil tersebut menyatakan ada perbedaan pada tiap kelompok. Analisis dilanjutkan dengan *Tukey Post Hoc Test* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, didapatkan hasil bahwa kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan K1 dan K2 namun tidak berbeda signifikan dengan K3. Pemberian Lancar ASI[®] dan ekstrak biji kedelai dosis 650 mg/kg BB tikus menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), sehingga ekstrak etanol biji kedelai dengan dosis 650 mg/kg BB merupakan dosis yang efektif. Hasil analisis statistik selisih penimbangan berat badan induk dapat dilihat pada lampiran 21.

2. Berat badan anakan tikus

Data berat badan anakan tikus diperoleh dari penimbangan anak tikus setiap hari sebelum dan sesudah menyusu dimulai dari hari pertama dilahirkan sampai hari ke-14, dengan anak dipisahkan dulu dengan induk selama enam jam. Metode yang dipakai dalam penelitian ini adalah ekperimental dengan rancangan acak lengkap (Iwansyah *et al.*, 2017). Penimbangan hanya dilakukan sampai hari ke-14 karena diatas usia tersebut anak tikus mampu mengkonsumsi pakan seperti induk tikus sehingga peningkatan berat badan anak tikus mendapat faktor lain dari makanan dan bukan hanya dari pemberian perlakuan. Pemberian ASI eksklusif dapat mempengaruhi perkembangannya anak, pada penelitian ini yang diukur berdasarkan indeks berat badan menurut umur (BB/U). Penimbangan berat badan anak tikus dilakukan untuk melihat pertumbuhan dan mengetahui adanya aktivitas *lactagogum* pada ekstrak etanol biji kedelai. Gambar 4 merupakan hasil penimbangan berat badan anak tikus harian. Sumbu x adalah hari perlakuan, dimulai dari hari pertama dilahirkan sampai hari ke-14. Sumbu y adalah berat badan anak tikus dalam satuan gram. Hasil data selisih penimbangan berat badan anak sebelum dan sesudah menyusu dapat dilihat pada tabel 9 dan hasil penimbangan berat badan anak sebelum dan setelah menyusu dapat dilihat pada lampiran 17.



Gambar 3. Hasil penimbangan BB anak setelah menyusui.

Tabel 9. Data selisih penimbangan berat badan anakan tikus

Hari	K 1	K 2	K3	K4	K5	K6
H1	0,34 ± 0,00 ^b	0,29 ± 0,04 ^b	0,45 ± 0,03 ^a	0,44 ± 0,09 ^a	0,51 ± 0,13 ^a	0,51 ± 0,10 ^a
H2	0,40 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,50 ± 0,06	0,43 ± 0,21	0,53 ± 0,11	0,44 ± 0,06
H3	0,42 ± 0,01	0,30 ± 0,05	0,50 ± 0,06	0,45 ± 0,17	0,59 ± 0,16	0,44 ± 0,03
H4	0,46 ± 0,01	0,32 ± 0,03	0,55 ± 0,13	0,48 ± 0,15	0,57 ± 0,08	0,48 ± 0,04
H5	0,48 ± 0,02	0,33 ± 0,04	0,58 ± 0,07	0,46 ± 0,19	0,64 ± 0,07	0,49 ± 0,08
H6	0,47 ± 0,02	0,32 ± 0,04	0,58 ± 0,05	0,49 ± 0,27	0,62 ± 0,09	0,51 ± 0,08
H7	0,41 ± 0,04 ^{ab}	0,32 ± 0,03 ^b	0,61 ± 0,11 ^a	0,56 ± 0,12 ^a	0,62 ± 0,02 ^a	0,55 ± 0,07 ^a
H8	0,51 ± 0,05	0,35 ± 0,03	0,64 ± 0,13	0,58 ± 0,12	0,64 ± 0,05	0,57 ± 0,13
H9	0,51 ± 0,06	0,33 ± 0,03	0,73 ± 0,18	0,60 ± 0,24	0,70 ± 0,10	0,60 ± 0,12
H10	0,51 ± 0,04	0,32 ± 0,04	0,73 ± 0,18	0,62 ± 0,13	0,71 ± 0,06	0,67 ± 0,13
H11	0,56 ± 0,04	0,37 ± 0,02	0,73 ± 0,16	0,62 ± 0,07	0,70 ± 0,07	0,68 ± 0,05
H12	0,58 ± 0,06	0,36 ± 0,07	0,82 ± 0,21	0,63 ± 0,09	0,72 ± 0,06	0,72 ± 0,09
H13	0,58 ± 0,01	0,34 ± 0,04	0,81 ± 0,19	0,67 ± 0,12	0,76 ± 0,07	0,76 ± 0,07
H14	0,52 ± 0,03 ^b	0,39 ± 0,04 ^b	0,94 ± 0,12 ^a	0,78 ± 0,11 ^a	0,93 ± 0,05 ^a	0,81 ± 0,07 ^a
% peningkatan BB	2,78%	1,65%	4,72%	3,98%	4,63%	4,12%

Keterangan : H = hari perlakuan, a = berbeda signifikan dengan kontrol negatif, b = berbeda signifikan dengan kontrol positif.

Produksi ASI yang tinggi akan berdampak pada berat badan anak semakin besar hal ini disebabkan karena pemberian ASI eksklusif.

Produksi ASI umumnya tinggi pada 5 hari pertama karena induk memproduksi kolostrum yang dapat membunuh kuman dan bakteri penyakit. Kolostrum berfungsi memberikan gizi dan proteksi pada bayi sehingga berat badan anak meningkat. Berdasarkan hasil penimbangan berat badan anak tikus harian pada hari ke-14 menunjukkan perbedaan berat badan anak antara kelompok perlakuan dengan K1 dan K2 namun tidak ada perbedaan dengan K3. K3 diberikan Lancar ASI[®] sebagai kelompok kontrol positif, kelompok ini sebagai pembanding terhadap kelompok dosis untuk melihat adanya pengaruh terhadap berat badan induk dan anak, histologi kelenjar *mammae*. Lancar ASI[®] berisi daun katuk yang mengandung senyawa untuk meningkatkan produksi ASI. Lancar ASI[®] bekerja dengan merangsang alveoli untuk memproduksi ASI (hormon prolaktin) serta memacu pengeluaran dan pengaliran ASI oleh hormon oksitosin (Elsabrina, 2013). K4, K5, dan K6 terjadi peningkatan pada berat badan anak disebabkan ekstrak etanol biji kedelai mengandung zat aktif yang memiliki aktivitas *lactagogum*.

Berdasarkan penelitian Fitria *et al.*, (2022) pemberian susu kedelai selama 7 hari kepada ibu *postpartum* terjadi ada peningkatan produksi ASI. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Djamil dan Anelia (2009) biji kedelai mengandung banyak senyawa aktif yaitu saponin, polifenol, tanin, alkaloid, flavonoid, dan steroid. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa biji kedelai mengandung senyawa saponin, alkaloid, polifenol, tanin, dan flavonoid. Saponin dapat meningkatkan hormon oksitosin di sekitar alveoli dan duktus pada sel mioepitel dan meningkatkan produksi hormon prolaktin dengan cara menghambat dopamin. Diosgenin adalah golongan saponin steroid (sapogenin) yang tersusun dari gula hidrofilik dengan aglikon steroid hidrofobik. Diosgenin dapat melekat pada reseptor *alfa* dan *beta* sehingga bersifat estrogenik yang efektif dalam meningkatkan produksi ASI (Karima *et al.*, 2019). Papaverin merupakan salah satu turunan alkaloid yang memiliki kemampuan merilekskan otot halus dan melebarkan pembuluh darah sehingga menyebabkan sirkulasi halus hormon prolaktin dan oksitosin melalui aliran darah. Papaverin bekerja pada reseptor beta adrenergik dengan perantara c-AMP (Handayani *et al.*, 2021). Senyawa polifenol dibagi menjadi dua golongan flavonoid dan tanin. Polifenol merangsang hormon oksitosin yang akan mempengaruhi pengeluaran ASI lebih lancar (Istiqomah *et al.*, 2015). Flavonoid digolongkan menjadi senyawa isoflavon yang mengandung

genistein memiliki sifat estrogenik. Genistein memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan reseptor estrogen yang akan menimbulkan pelebaran duktus di kelenjar *mammae* dan merangsang hipofisis anterior untuk mengeluarkan prolaktin sehingga produksi ASI meningkat (Dinsdale dan Ward, 2010).

Data selisih penimbangan berat badan anak tikus dapat dilihat pada tabel 9 kemudian dianalisis dengan aplikasi SPSS pada hari ke 1, 7, dan 14. Hasil uji *Shapiro-Wilk* pada hari ke-14 diperoleh data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$). Analisis dilanjutkan dengan metode *One Way ANOVA* yang menunjukkan hasil nilai 0,000 ($p < 0,05$), hasil tersebut menyatakan adanya perbedaan pada tiap kelompok. Analisis dilanjutkan dengan *Tukey Post Hoc Test* didapatkan hasil bahwa kelompok kontrol perlakuan berbeda signifikan dengan K1 dan K2 namun tidak berbeda signifikan dengan K3. Pemberian Lancar ASI® dan ekstrak dosis 650 mg/kg BB tikus menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), sehingga dosis 650 mg/kg BB ekstrak etanol biji kedelai merupakan dosis yang efektif. Hasil analisis statistik selisih penimbangan berat badan anak terdapat pada lampiran 21.

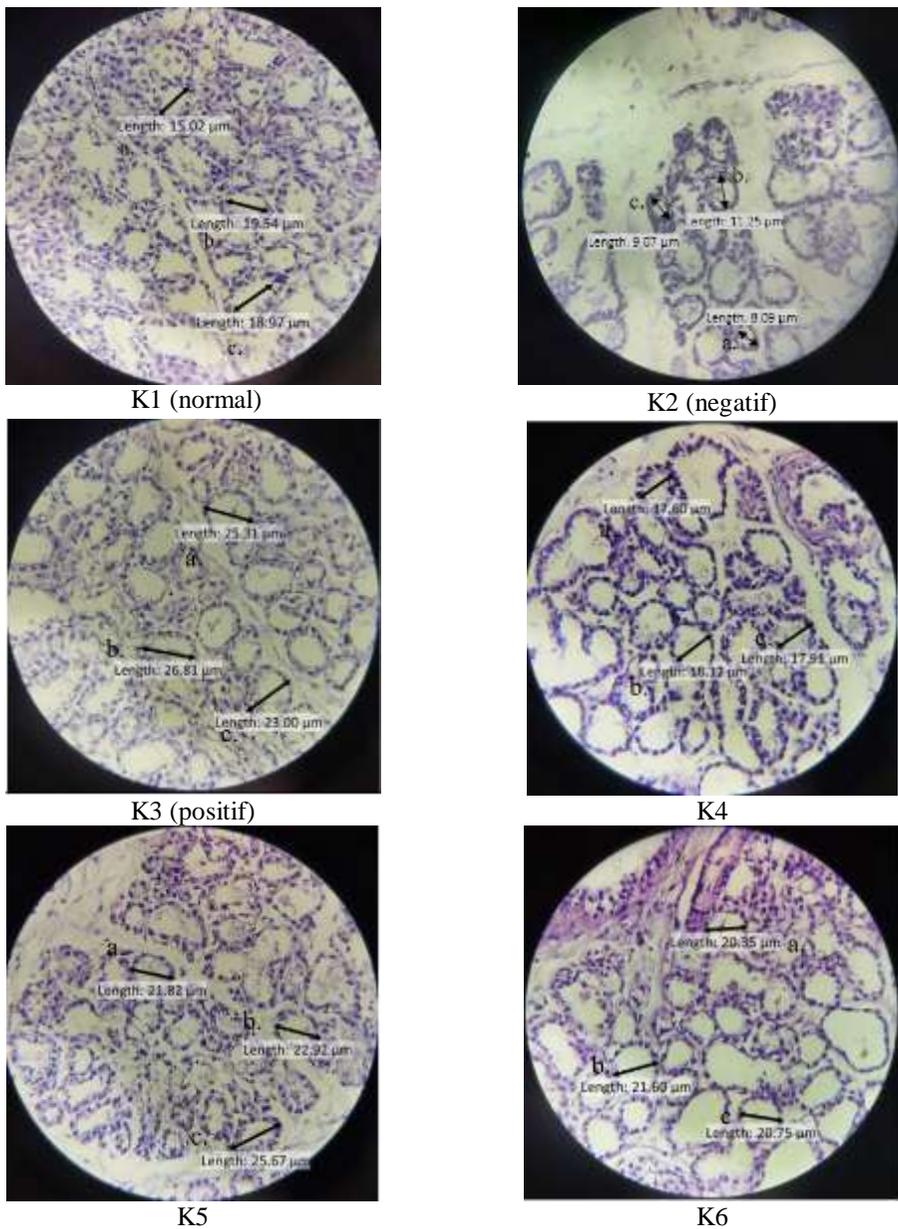
3. Histologi kelenjar *mammae*

Pemeriksaan histologi kelenjar *mammae* induk tikus menggunakan metode pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan induk dikorbankan pada hari ke-15. Pemeriksaan histologi kelenjar *mammae* menggunakan parameter jumlah dan diameter alveoli dengan membandingkan antara K1, K2, K3 dengan kelompok perlakuan. Setiap sayatan diamati sebanyak 3 lapang pandang untuk jumlah alveoli sedangkan untuk diameter alveoli diamati sebanyak 3 buah alveoli menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Hasil data rata-rata jumlah dan diameter alveoli kelenjar *mammae* bisa dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Rata-rata jumlah dan diameter alveoli

Kelompok	Rata-rata jumlah alveoli \pm SD	Rata-rata diameter alveoli \pm SD
K1	73 \pm 4,74 ^{ab}	16,83 \pm 2,03 ^{ab}
K2	50,2 \pm 3,35 ^{bc}	10,85 \pm 2,08 ^{bc}
K3	93,8 \pm 1,92 ^{ac}	27,98 \pm 3,94 ^{ac}
K4	76 \pm 3,39 ^{ab}	18,66 \pm 0,65 ^{ab}
K5	90 \pm 3,32 ^{ac}	24,50 \pm 3,43 ^{ac}
K6	81 \pm 3,00 ^{ab}	21,07 \pm 2,89 ^{ab}

Keterangan : a = berbeda signifikan dengan kontrol negatif, b = berbeda signifikan dengan kontrol positif, c = berbeda signifikan dengan kontrol normal



Gambar 4. Jumlah dan diameter kelenjar *mammae*.

Berdasarkan tabel 10 dan gambar 5 dapat dilihat bahwa K3 yang diberi sediaan Lancar ASI[®] 18 mg/kg BB tikus sebagai pembanding menunjukkan hasil dengan rata-rata jumlah yang paling besar dari kelompok yang lainnya. Lancar ASI[®] berisi ekstrak daun katuk yang dapat bermanfaat sebagai *lactagogum*. K1 menunjukkan rata-rata jumlah alveoli sebesar 73 lebih banyak dibanding dengan K2 yaitu 50,2. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CMC Na 0,5% tidak dapat meningkatkan produksi air susu karena tidak adanya rangsangan pada

ujung syaraf sekretoris di dalam kelenjar susu dan hormon yang bekerja pada sel-sel epitelium alveoli.

Ekstrak etanol biji kedelai dengan variasi dosis menunjukkan hasil rata-rata jumlah alveoli tertinggi yaitu K5 dengan jumlah alveoli 90 sedangkan untuk K4 dan K6 diperoleh rata-rata jumlah alveoli 76 dan 81 lebih sedikit dari K5. Hal ini menunjukkan bahwa K5 merupakan dosis ekstrak yang efektif dalam meningkatkan produksi air susu karena sebanding dengan K3 sebanyak 93,8.

Jumlah alveoli selama masa kehamilan akan mengalami peningkatan sebagai persiapan untuk menghadapi masa laktasi. Aktivitas kelenjar *mammae* meningkat pada periode laktasi diikuti dengan peningkatan proliferasi sel-sel epitel membentuk alveoli. Produksi dan pengeluaran air susu melibatkan prolaktin dan oksitosin yang akan merangsang semakin banyaknya pembentukan alveoli baru. Pembentukan alveoli baru mulai terjadi pada awal periode laktasi yang dirangsang oleh penghisapan air susu dan peningkatan kadar hormon prolaktin. Hormon oksitosin dapat memberikan efek dengan mempercepat pengosongan lumen alveoli melalui kontraksi mioepitel dan meningkatkan kecepatan sekresi protein dalam sel sekretorius yang melapisi dinding alveoli (Lollivier *et al.*, 2006).

Berdasarkan tabel 10 dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak etanol biji kedelai dengan variasi dosis yang berbeda menunjukkan hasil rata-rata diameter alveoli terbanyak yaitu K5 sebesar 24,50 μm hasil ini sebanding dengan K3 yaitu 27,98 μm . K4 memiliki rata-rata diameter alveoli 18,66 μm sedangkan K6 memiliki rata-rata diameter alveoli yaitu 21,07 μm .

K2 menunjukkan hasil paling rendah yaitu 10,85 μm disebabkan karena ujung syaraf sekretoris di dalam kelenjar susu dan hormon yang bekerja pada sel-sel epitelium alveoli tidak berjalan sehingga peningkatan produksi air susu tidak terjadi. K1 menunjukkan rata-rata diameter alveoli 16,83 μm lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan dan K3 karena K1 hanya diberi makan dan minum.

Peningkatan produksi air susu sangat berpengaruh terhadap jumlah dan diameter alveoli karena alveoli tersusun oleh sel-sel epitel yang memiliki kemampuan berproliferasi tinggi. Peningkatan aktivitas terjadi pada saat periode laktasi sehingga lumen alveoli membesar dan semakin banyak membentuk alveoli baru yang menyebabkan jumlah alveoli semakin banyak dan ukuran diameter alveoli kelenjar *mammae*

tikus semakin besar. Sediaan uji mengandung zat yang mampu meningkatkan aktivitas sel sekretorius menyebabkan rata-rata diameter alveoli kelenjar *mammae* semakin besar, gambar diameter alveoli dapat dilihat pada gambar 8 dan lampiran 20.

Hasil total jumlah dan rata-rata diameter alveoli kelenjar *mammae* kemudian dianalisis dengan aplikasi SPSS menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, diperoleh hasil terdistribusi normal ($p > 0,05$). Analisis dilanjutkan dengan *Two Way ANOVA* yang menunjukkan nilai ($p < 0,05$), artinya ada perbedaan untuk tiap kelompok, kemudian untuk melihat perbandingan setiap perlakuan dilakukan analisis *Tukey Post Hoc Test*, didapatkan hasil bahwa K3 yang diberi Lancar ASI[®] dan K5 tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), artinya ekstrak etanol biji kedelai dengan dosis 650 mg/kg BB merupakan dosis yang paling efektif. Uji analisis statistik dapat dilihat pada lampiran 23.

Pemberian ekstrak etanol biji kedelai dengan variasi dosis yang berbeda menunjukkan hasil berat badan induk, berat badan anak, jumlah dan diameter alveoli kelenjar *mammae* lebih banyak dibandingkan K1 dan K2. Kelompok perlakuan dan Lancar ASI[®] mempunyai aktivitas *lactagogum* karena mengandung senyawa kimia yang dapat meningkatkan produksi ASI. K1 dan K2 tidak mempunyai aktivitas *lactagogum*. Hal ini disebabkan karena K1 hanya diberikan makan dan minum sedangkan K2 hanya diberikan larutan CMC 0,5%. K2 dengan pemberian larutan CMC 0,5% didapatkan hasil terendah berdasarkan parameter dari penelitian ini, hal ini disebabkan pemberian CMC pada tikus menyusui dapat menurunkan kadar kandungan gizi seperti lemak dan glukosa karena sifat CMC sebagai pengikat air karena mempunyai gugus OH yang berikatan dengan air sehingga produksi ASI menjadi rendah (Sumarni *et al.*, 2017).

Ekstrak etanol biji kedelai dengan variasi dosis dapat meningkatkan produksi ASI berdasarkan parameter berat badan induk, berat badan anak, dan histologi kelenjar *mammae*. Hal ini dikarenakan ekstrak etanol biji kedelai memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat berfungsi sebagai *lactagogum*. Senyawa kimia yang dapat meningkatkan produksi ASI yaitu saponin, alkaloid, polifenol, dan flavonoid.

Berdasarkan penelitian, ekstrak etanol biji kedelai K5 memiliki hasil yang lebih tinggi dibanding dengan K6 artinya peningkatan dosis sediaan uji menyebabkan penurunan efek *lactagogum*, hal ini terjadi

karena adanya penjumlahan reseptor. Reseptor yang berikatan dengan obat akan menimbulkan efek obat, namun kemampuan reseptor untuk berikatan dengan obat berbeda-beda. Peningkatan dosis tidak bisa memberikan efek maksimum jika reseptor sudah jenuh sehingga akan menurunkan efek obat (Azizah, 2005; Mustafa *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, ekstrak etanol biji kedelai dosis 650 mg/kg BB tikus menjadi dosis terbaik karena tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif yang dapat meningkatkan produksi ASI berdasarkan parameter berat badan anak, berat badan induk, dan histologi kelenjar *mammae*.