

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Uji Fitokimia dan Hasil Rendemen

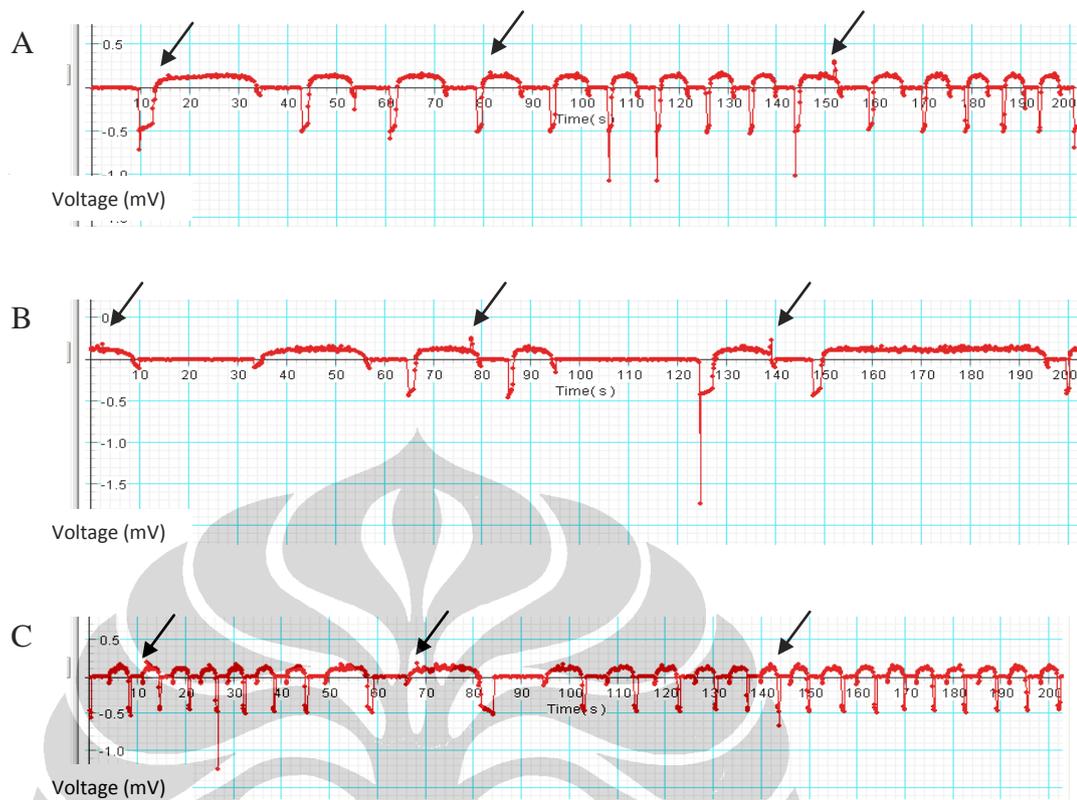
Ekstrak akar *Acalypha indica* Linn. dari tiga sediaan menunjukkan hasil rendemen yaitu, 1,85 %, 2,4 %, dan 1,9 %. Hasil tersebut sedikit berbeda dengan penelitian lain dari FMIPA UI yang berhasil mencapai rendemen 12,3%.¹¹ Pada ekstrak tersebut kemudian dilakukan uji fitokimia. Hasilnya ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Hasil Uji Fitokimia Dari Tiga Ekstrak Akar *Acalypha indica* Linn.

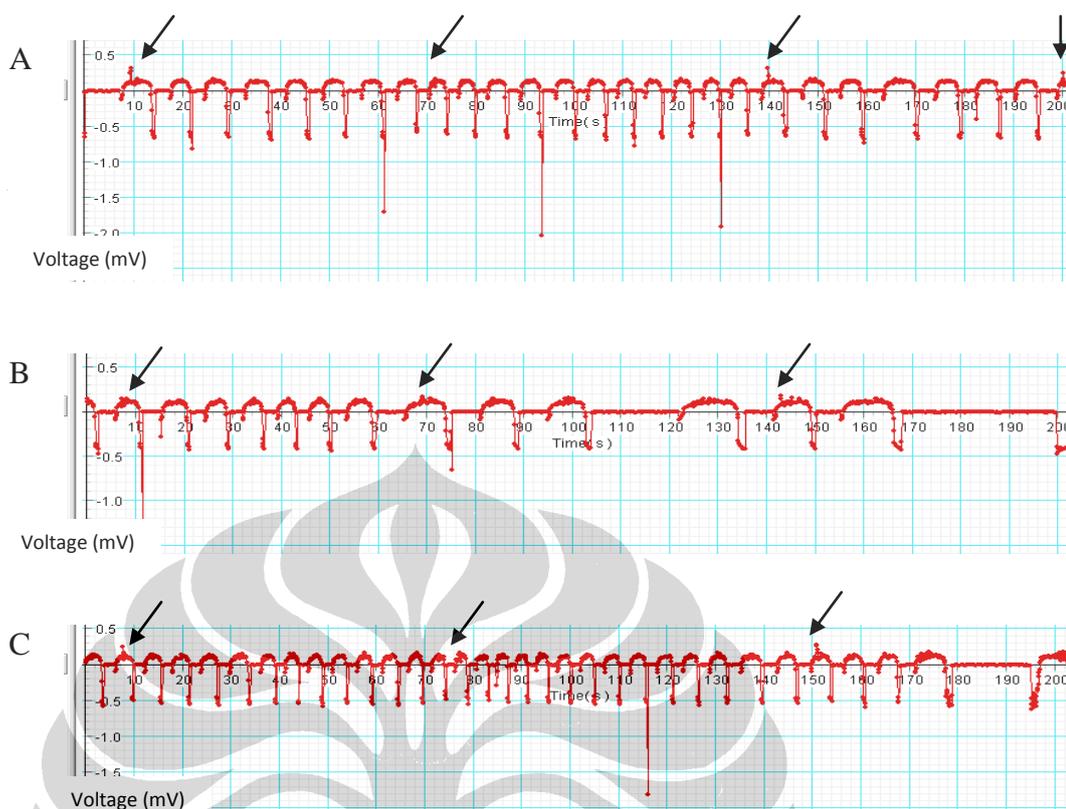
Ekstrak	Alkaloid	Terpenoid/steroid	Flavonoid	Saponin	Tanin
A	+++	-/-	-	++	+++
B	+++	-/-	-	++	+++
C	+++	-/-	-	++	+++

4.2 Uji *Eks Vivo* Ekstrak *Acalypha indica* Linn.

Uji *eks vivo* efek neuroterapi dilakukan secara bersamaan pada lima kelompok dosis (5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg) dengan satu kelompok kontrol (otot yang direndam ringer). Akan tetapi, bab ini hanya akan membahas secara khusus hasil pada kelompok dosis 15 dan 20 mg. Sebagai contoh, hasil kontraksi m. gastroknemius yang direndam dalam ringer (kontrol), pankuronium bromida, dan ekstrak (15 dan 20 mg) pada stimulasi listrik 5 mV ditampilkan pada Gambar 4.1. dan 4.2. (hasil selengkapnya akan dilampirkan)



Gambar 4.1. Aktivitas Listrik Pada Percobaan Dengan Ekstrak 15 mg. A. Hasil kontraksi m. gastrocnemius pada larutan ringer (kontrol). B. Hasil kontraksi m. gastrocnemius pada larutan pankuronium bromida. C. Hasil kontraksi m. gastrocnemius pada ekstrak 15 mg. Tanda panah (\blacktriangleleft) menunjukkan lonjakan kontraksi saat diberi stimulasi 5 mV.



Gambar 4.2. Aktivitas Listrik Pada Percobaan Dengan Ekstrak 20 mg A. Hasil kontraksi m. gastrocnemius pada larutan ringer (kontrol). B. Hasil kontraksi m. gastrocnemius pada larutan pankuronium bromida. C. Hasil kontraksi m. gastrocnemius pada ekstrak 20 mg. Tanda panah (✓) menunjukkan amplitudo kontraksi saat diberi stimulasi 5 mV.

Tanda panah (✓) pada gambar 4.1 dan 4.2 adalah tanda kontraksi otot setelah pemberian stimulasi listrik sebesar 5 mV. Amplitudo kontraksi tidak dapat terlihat dengan baik karena keterbatasan pada peralatan. Pemberian stimulasi listrik dilakukan secara manual dengan jarak antara pemberian stimulasi kira-kira 60 detik. Pengambilan data kontraksi hanya dilakukan sampai detik ke-200 percobaan sehingga stimulasi listrik yang terjadi di luar waktu tersebut tidak dimasukkan dalam perhitungan data.

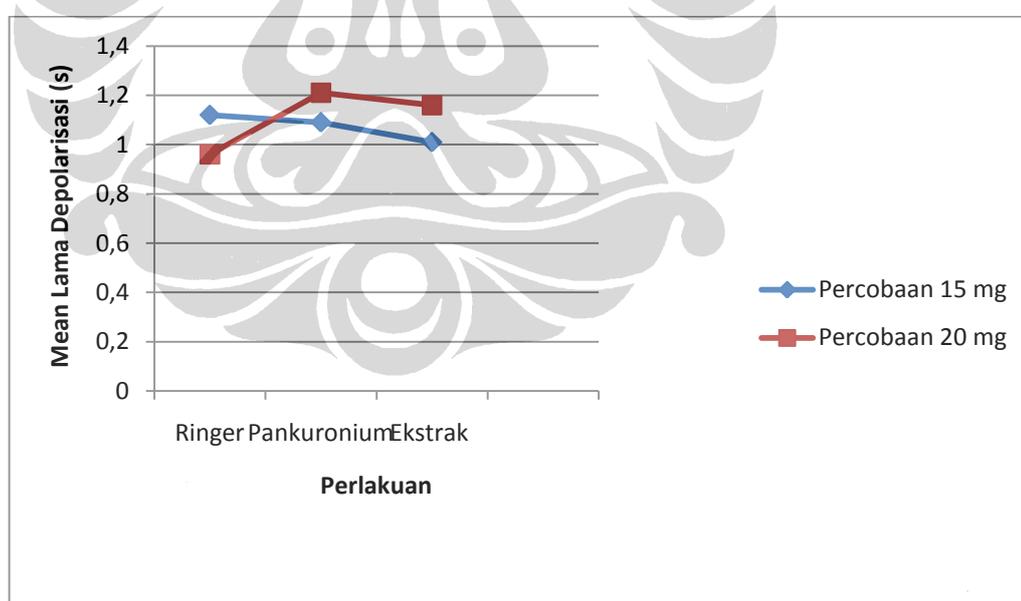
Dari hasil di atas dilakukan pengukuran jumlah depolarisasi dengan amplitudo 0,4-0,6 mV, total waktu yang dibutuhkan untuk depolarisasi, jumlah depolarisasi dengan amplitudo $> 0,6$ mV, banyak dan lamanya *flat* yang terjadi, banyak dan lama repolarisasi, serta tinggi amplitudo yang terjadi saat diberikan stimulasi. Dari pengukuran tersebut kemudian dapat diukur juga lama rata-rata untuk satu depolarisasi, repolarisasi, dan *flat*, serta tinggi amplitudo rata-rata saat

stimulasi diberikan. Hasil pengukuran dari keempat data percobaan pada dosis 15 dan 20 mg dapat dilihat pada lampiran.

Data-data aktivitas listrik akan dibahas berdasarkan hasil depolarisasi, repolarisasi, *flat*, dan stimulasi. Dalam tiap kelompok, akan dibandingkan nilai yang didapat dari percobaan pada perendaman dengan ringer, pankuronium bromida 4 mg, dan ekstrak (15 dan 20 mg) pada masing-masing kelompok percobaan, serta apakah ada perbedaan bermakna antara hasil pada tiap kelompok tersebut. Hasil dari perendaman dengan ekstrak 15 dan 20 mg akan dibandingkan dengan hasil pada perendaman dengan ringer dan pankuronium bromida 4 mg dari kelompok percobaan masing-masing untuk mengurangi bias akibat perbedaan genetik otot katak yang digunakan.

4.2.1 Data Depolarisasi

Dengan uji Saphiro-Wilk diketahui distribusi data normal sehingga dapat dilakukan uji parametrik dengan Anova. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.3.



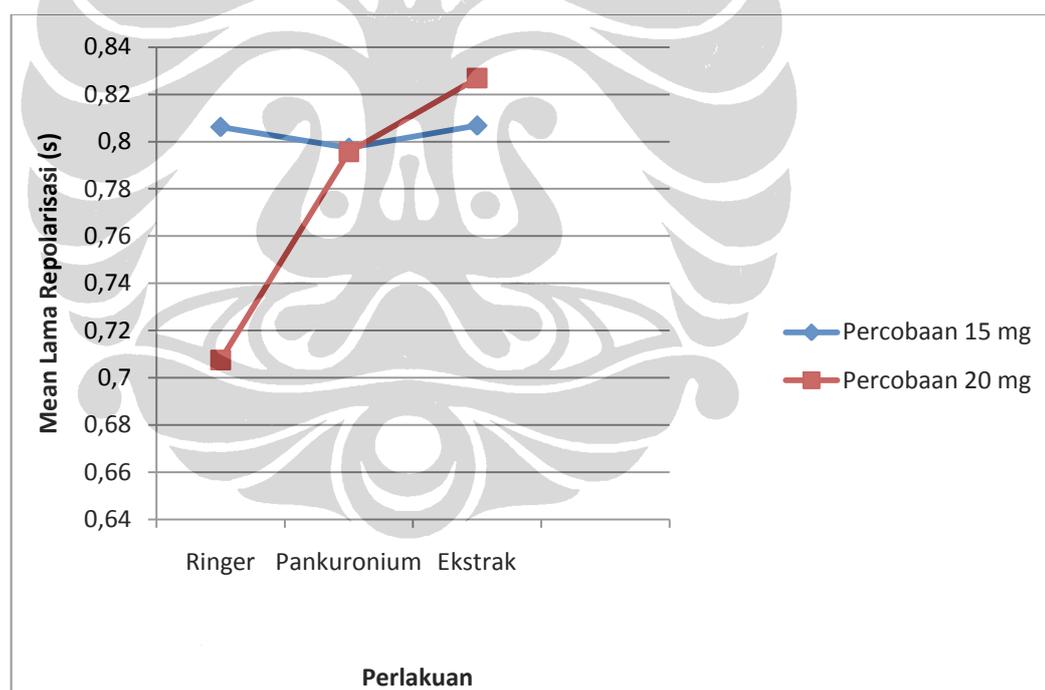
Gambar 4.3. Grafik Lama Depolarisasi (detik)

Pada kelompok percobaan 20 mg, terlihat terjadi perbaikan pada lama depolarisasi. Lama depolarisasi yang memanjang setelah diberi pankuronium

bromida 4 mg, mengalami pemendekan (sekitar 0,05 s) setelah diberi ekstrak 20 mg. Dengan uji Anova didapatkan bahwa hal tersebut tidak berbeda bermakna ($p=0,933$).

4.2.2 Data Repolarisasi

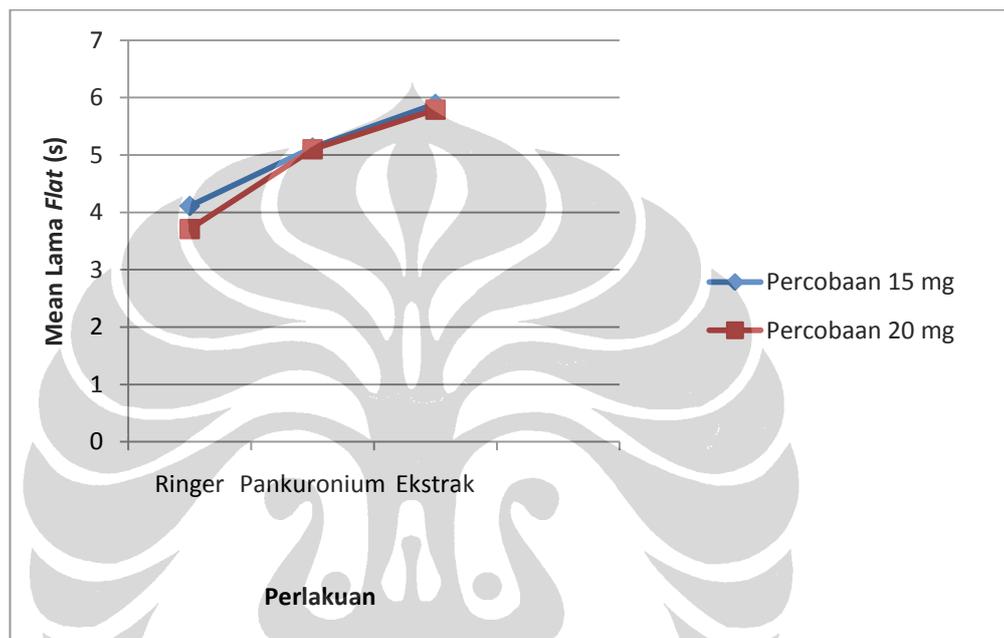
Dengan uji Saphiro-Wilk, ditemukan bahwa distribusi data repolarisasi pada perendaman dengan pankuronium bromida 4 mg (kelompok percobaan 15 mg) tidak normal. Dilakukan transformasi data dan diperoleh distribusi data yang normal. Pada pengukuran lama repolarisasi kelompok percobaan 15 mg, terlihat adanya perbaikan (kondisi menyerupai kontrol) setelah direndam dengan ekstrak. Hal tersebut tidak berbeda bermakna setelah dilakukan uji parametrik pada kelompok 15 dan 20 mg (uji Anova, $p=0,965$). (Gambar 4.4.)



Gambar 4.4. Grafik Lama Repolarisasi (detik)

4.2.3 Data *Flat*

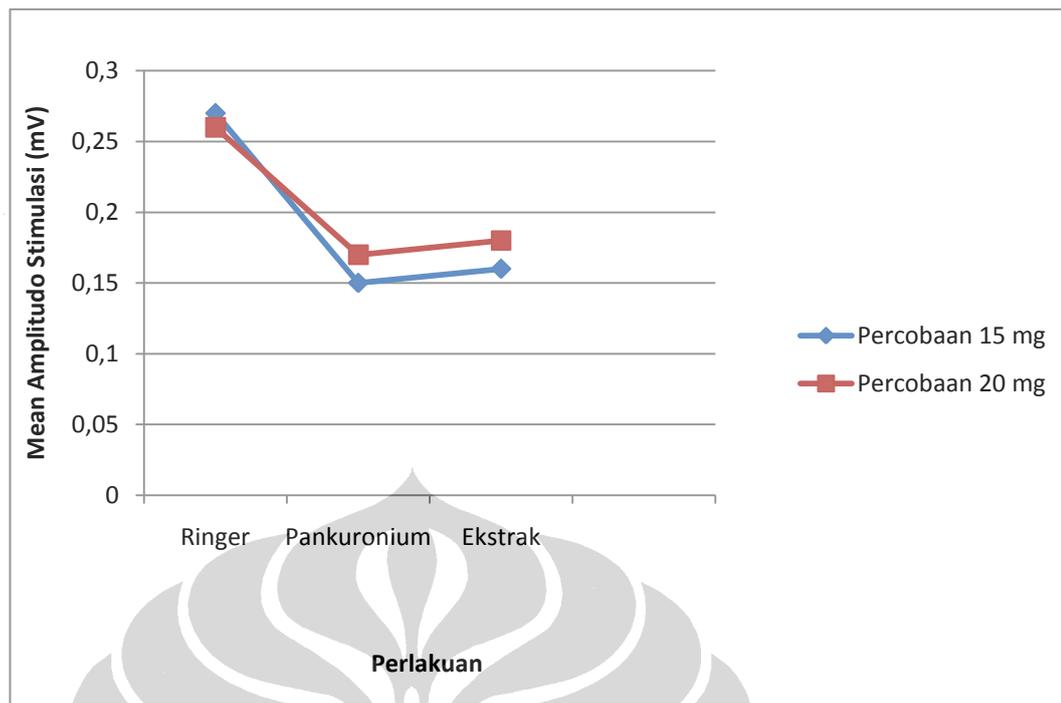
Diketahui distribusi data *flat* normal dengan uji Saphiro-Wilk sehingga dapat digunakan uji parametrik Anova. Dengan uji Anova tidak ditemukan perbedaan yang bermakna ($p=0,895$) pada lama *flat* dari kelompok percobaan 15 mg dan 20 mg. (Gambar 4.5.)



Gambar 4.5. Grafik Lama *Flat* (detik)

4.2.4 Data Stimulasi

Dengan uji Saphiro-Wilk, ditemukan bahwa distribusi data stimulasi pada perendaman dengan pankuronium bromida 4 mg (kelompok percobaan 20 mg) tidak normal. Dilakukan transformasi data dan diperoleh distribusi data yang normal. Setelah pemberian Pankuronium, amplitudo stimulasi mengalami penurunan, yang kemudian mengalami sedikit peningkatan setelah diberi ekstrak 15 mg dan 20 mg. Akan tetapi, dengan uji Anova, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna ($p=0,608$) pada amplitudo stimulasi dari hasil pada kelompok percobaan 15 dan 20 mg. (Gambar 4.6.)



Gambar 4.6. Grafik Ampiltudo Stimulasi (mV)

BAB V PEMBAHASAN

Pada hasil uji fitokimia dari ekstrak akar *Acalypha indica* Linn. yang digunakan pada penelitian ini ditemukan alkaloid, saponin, dan tanin. Hal tersebut sama dengan hasil uji-uji sebelumnya.^{11,25} Walau demikian, terdapat juga sedikit perbedaan. Pada uji fitokimia yang dilakukan pada tiga ekstrak akar *Acalypha indica* Linn. tidak ditemukan flavonoid, steroid, triterpenoid. Hasil dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ketiga zat itu merupakan kandungan dari akar *Acalypha indica* Linn.^{23,24} Di samping itu, kadar rendemen yang dihasilkan dari penelitian ini (1,85%, 2,4%, dan 1,9%) juga berbeda dengan kadar rendemen yang dihasilkan pada penelitian di FMIPA UI (12,3%).¹¹ Perbedaan yang terjadi, baik dari kandungan flavonoid maupun rendemen yang dihasilkan, dapat disebabkan oleh beberapa faktor, misalnya usia, lokasi, dan proses pengeringan dari akar *Acalypha indica* Linn. yang digunakan.

Pada percobaan kelompok dosis 15 mg, terlihat adanya perubahan pada lama repolarisasi setelah direndam dengan ekstrak, walaupun secara statistik tidak signifikan ($p=0,965$). Setelah direndam dengan pankuronium, waktu yang dibutuhkan per repolarisasinya menjadi memanjang. Waktu untuk repolarisasi kembali seperti kontrol setelah sediaan direndam dalam ekstrak. Perubahan yang sama juga dapat diamati pada amplitudo stimulasi dan lama depolarisasi. Setelah pemberian pankuronium, amplitudo stimulasi mengalami penurunan, tetapi kemudian mengalami sedikit peningkatan (sekitar 1 mV) setelah diberi ekstrak 15 mg dan 20 mg ($p=0,608$). Perbaikan juga terjadi pada depolarisasi setelah perendaman dengan ekstrak 20 mg ($p=0,933$). Secara keseluruhan, hasil penelitian ini tidak signifikan secara statistik, baik pada hasil kelompok percobaan 15 mg maupun 20 mg.

Selain data-data tersebut, kelompok lain gagal memperlihatkan perubahan yang diharapkan, yaitu kembalinya kondisi otot seperti sebelum perendaman dengan pankuronium bromida 4 mg (menjadi sama dengan kontrol ringer) atau mengalami perbaikan paska pemberian ekstrak. Banyak faktor yang dipikirkan dapat menyebabkan hal tersebut. Dari segi sampel, n. iskhidikus juga dapat

mengalami cedera saat dilakukan pembedahan sehingga kurang dapat merespon pada pemberian stimulus. Pembedahan otot katak dilakukan pada m. gastroknemius kanan dan kiri sehingga menghasilkan 2 sediaan. Satu sediaan langsung digunakan dalam percobaan, sedangkan sediaan lainnya dibiarkan dahulu dalam ringer sebelum akhirnya digunakan juga dalam percobaan. Hal ini dapat mempengaruhi hasil percobaan karena kondisi awal sediaan dari percobaan satu dengan yang lainnya dapat berbeda, walaupun sediaan otot itu masih *viable*.

Sediaan juga dapat mengalami cedera karena saat percobaan dilakukan beberapa kali pemindahan. Sediaan yang akan direndam dengan bahan (misalnya pankuronium) selama 10 menit dipindahkan dari wadah di alat perekam kontraksi otot ke wadah lain, sehingga alat tersebut dapat digunakan untuk mengukur kontraksi dari bahan lain yang sudah siap. Setelah direndam selama 10 menit, sediaan kembali dipindahkan ke dalam wadah pada alat perekam kontraksi otot. Hal ini dilakukan untuk menghemat waktu percobaan dan alat tidak dibiarkan tidak berfungsi saat menunggu perendaman bahan. Saat dilakukan pemindahan, n. iskhiadikus dapat mengalami cedera. Hal ini dapat mempengaruhi kontraksi yang dihasilkan.

Jumlah sampel yang digunakan kurang adekuat sehingga memberi hasil yang tidak bermakna. Sampel yang seharusnya digunakan untuk percobaan dengan 3 perlakuan (kontrol, dosis 15 dan 20 mg) adalah 9 sediaan, dengan menggunakan rumus Federer. Karena penelitian ini dilakukan berkelompok dengan beberapa dosis sekaligus (5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg), maka jumlah sampel yang digunakan berjumlah 4 sediaan. Kurangnya jumlah sampel dapat mempengaruhi hasil dari perhitungan statistik yang digunakan, sehingga memberi hasil yang tidak bermakna pada semua kelompok percobaan.

Faktor pankuronium juga terlihat memegang peranan penting pada hasil percobaan ini. Setelah pemberian pankuronium, sediaan otot diharapkan menjadi lumpuh dan tidak memberikan gambaran depolarisasi atau repolarisasi. Kenyataannya, pada percobaan ini, setelah direndam pankuronium bromida 4 mg sediaan otot masih memberikan gambaran kontraksi sehingga efek neuroterapi dari ekstrak tidak dapat dinilai dengan baik. Hal ini dapat disebabkan oleh waktu perendaman dengan pankuronium tidak cukup lama, serta dosis pankuronium

yang digunakan dapat juga belum cukup kuat untuk dapat menimbulkan efek pada sediaan.

Selain dari segi sampel dan pankuronium, dosis ekstrak juga perlu dipertimbangkan. Dalam uji pendahuluan dengan sediaan yang dilumpuhkan dengan d-tubokurare, ekstrak menunjukkan efek neuroterapi pada dosis 25 mg. Dosis yang digunakan dalam percobaan ini (15 dan 20 mg) mungkin belum cukup kuat untuk menghasilkan efek neuroterapi yang diharapkan. Oleh karena itu, disarankan untuk membandingkan hasil penelitian ini dengan hasil penelitian lain yang menggunakan ekstrak dengan dosis yang lebih tinggi (misalnya 25 mg).

Efek neuroterapi yang dihasilkan oleh ekstrak 15 dan 20 mg dianggap tidak banyak berbeda. Perbaikan pada lama depolarisasi dihasilkan oleh ekstrak 20 mg, sedang perbaikan pada lama repolarisasi terjadi pada ekstrak 15 mg. Amplitudo stimulasi menunjukkan perbaikan pada kedua kelompok. Hal ini mungkin disebabkan dosis ekstrak 15 dan 20 mg belum cukup kuat sehingga perbedaan efek kedua dosis tersebut tidak nyata terlihat.

Penggunaan ekstrak akar dengan dosis 15 dan 20 mg pada penyakit yang menyerang *neuromuscular junction* seperti MG perlu diperhitungkan melihat perbaikan dari lama depolarisasi, lama repolarisasi dan amplitudo stimulasi pada otot yang sebelumnya dilumpuhkan dengan pankuronium, seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya. Ekstrak ini diharapkan memiliki efek inhibitor kompetitif pada awal awitan MG, yaitu saat reseptor belum mengalami kerusakan dan kelemahan otot terjadi akibat didudukinya AChR oleh autoantibodi. Untuk penggunaan jangka panjang, ekstrak ini harus memiliki efek sebagai imunomodulator sehingga dapat mengurangi pembentukan autoantibodi pada MG. Oleh karenanya, perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak ini pada penggunaan jangka panjang.

Untuk memperoleh hasil terbaik, disarankan digunakan model *in vivo*. Pada model *in vivo*, ekstrak air dapat diberikan secara oral. Percobaan ini diharapkan dapat memberi hasil yang lebih baik karena faktor luar yang dapat mempengaruhi kondisi otot dapat disingkirkan (suhu, nutrisi, elektrolit, pH, cedera pada otot saat pembedahan dan pemindahan).