

**EFEK PROTEKTIF PIPERIN TERHADAP PENINGKATAN
KEGIATAN LISTRIK OTAK TIKUS KEJANG AKIBAT
INDUKSI OLEH BICUCULLINE**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
MAGISTER BIOMEDIK
(M.Biomed)**

RATNA PELAWATI

NPM : 6105010183



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
JAKARTA
JUNI 2008**

Ratna Pelawati
Magister Ilmu Biomedik Kekhususan Fisiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

**EFEK PROTEKTIF PIPERIN TERHADAP PENINGKATAN
KEGIATAN LISTRIK OTAK TIKUS KEJANG AKIBAT INDUKSI OLEH
BICUCULLINE**

ABSTRAK

Latar belakang : Prevalensi penyakit dengan gejala kejang di Indonesia cukup tinggi. Sejalan dengan langkah strategis Universitas Indonesia untuk meneliti tanaman herbal yang bermanfaat, maka penelitian ini ingin menyelidiki kemungkinan pemanfaatan piperine (ekstrak dari lada jawa) sebagai obat anti kejang.

Tujuan : Mengetahui efek protektif piperin terhadap peningkatan kegiatan listrik otak tikus kejang akibat induksi oleh *bicuculline* dilihat dari frekuensi dan amplitudo pada rekaman elektroensefalografi, dibandingkan kontrol.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental in-vivo, dilakukan pada empat kelompok tikus, masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus. Seluruh tikus berjumlah 24 ekor, diberi induktor kejang *bicuculline*. Satu kelompok kontrol tanpa diberi piperin dan tiga kelompok uji diberikan piperin dengan dosis yang berbeda. Hewan uji yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley* jantan. Kelompok uji dibagi menjadi tiga yaitu kelompok dosis piperin 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB. Perubahan amplitudo dan frekuensi EEG direkam pada menit ke-0, menit ke-30, menit ke-40, menit ke-50, dan menit ke-60 setelah pemberian piperin.

Hasil penelitian : Pemberian piperin dosis 100 mg/kgBB, dosis 200mg/kgBB dan dosis 400 mg/kgBB menurunkan amplitudo dan meningkatkan frekuensi serta menghilangkan spike pada rekaman EEG. Piperin dosis 100 mg/kgBB setelah 50 menit pemberian peroral secara bermakna meningkatkan frekuensi dan menurunkan amplitudo.

Kesimpulan : Piperin mempunyai efek pencegahan peningkatan kegiatan listrik otak dengan bukti meningkatkan frekuensi dan menurunkan amplitudo EEG. Pemberian piperin dosis 100 mg/kgBB lebih efektif dibandingkan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB.

Kata kunci : piperin, amplitudo, frekuensi, elektroensefalogram dan *bicuculline*.

Ratna Pelawati
Master of Biomedical Science in Physiology
Faculty of Medicine University of Indonesia

**THE PROTECTIVE EFFECTS OF PIPPERINE AGAINST EEG
AMPLITUDE AND FREQUENCY ALTERATIONS INDUCED BY
BICUCULLINE IN THE RAT**

ABSTRACT

Background: The prevalence of disease with seizure symptom has found in Indonesia high enough. In line with strategic plan of University of Indonesia to encourage studies on ingenious herbs in Indonesia, the present study is directed to investigate the possible beneficial effect of piperine (extract java pepper) in the treatment of seizure.

Objective: This study was conducted to investigate the protective effect of piperine against amplitude and frequency alterations of electroencephalogram (EEG) induced by bicuculline in the rat.

Design of study: Twenty four male *Sprague Dawley* rats were used in the study, in which the rats were grouped into 4, each consisted of 6 animals. The control group was the rats which received oral CMC 1% (carboxy methyl cellulose), 30 minute prior to subcutaneously injected bicuculline of 2,7 mg/kgBW. The other 3 treated groups received oral piperine 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400 mg/kgBW respectively, 30 minute prior to subcutaneously injected bicuculline of 2,7 mg/kgBW. The amplitude and frequency of EEG were recorded at zero time, 30th minute, 40th minute, 50th minute, and 60th minute after the administration of piperine.

Result: Injected of bicuculline in the rats, caused no alterations of EEG pattern as compared with the EEG at zero point measurement. At 20 minute after bicuculline injection, there was an were dose of amplitude and reduce of frequency of EEG with spike wave. Piperine at various concentrations reduced the EEG abnormalities. Piperine of 100 mg/kgBW showed the best protective effects against EEG alteration.

Conclusion: Piperine 100 mg/kgBW given before bicuculline reduced the amplitude and increased the frequency of EEG to near normal condition.

Keywords: piperine, amplitude, frequency, electroencephalogram and bicuculline.

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

NAMA : RATNA PELAWATI

NPM : 6105010183

TTD :



600
Tgl. 2008
MEDI
Ratna.

Tanggal: Jakarta, 7 Juni 2008

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Ratna Pelawati
NPM : 6105010183
Program Studi : Magister Ilmu Biomedik
Judul Tesis : Efek Protektif Piperin Terhadap Kegiatan Listrik Otak Tikus Kejang Akibat Induksi Oleh Bicuculline

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr Nurhadi Ibrahim, PhD
(.....)

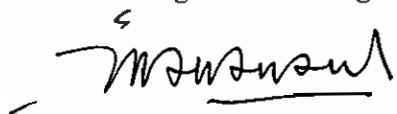
Pembimbing II : Prof. dr Frans D Suyatna, PhD
(.....)

Penguji I : drg. Sri Redjeki, MS
(.....)

Penguji II : Prof. Arini Setiawati, PhD
(.....)

Penguji III : dr. Jan S. Purba, PhD
(.....)

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 20 Juni 2008
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik FK-UI



Dr. rer. physiol. dr. Septelia Inawati Wanandi

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil 'alamin, segala puji bagi Alloh SWT, atas segala rahmat dan karunianya, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini sebagai rangkaian akhir dari kegiatan pendidikan pada program Kekhususan Fisiologi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Penelitian ini melihat efek protektif piperin terhadap kegiatan listrik otak tikus kejang akibat induksi bicuculline. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya mengenai efek protektif piperin pada manusia.

Saya menyadari bahwa pelaksanaan penelitian dan penyusunan tesis ini masih terdapat kekurangan. Namun saya berharap tulisan ini dapat memberi manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Untuk itu masukan dan saran akan sangat berarti untuk perbaikan tulisan ini.

Melalui pengantar ini, saya ingin menyampaikan penghargaan dan ucapan terimakasih kepada dr. Nurhadi Ibrahim, PhD, sebagai pembimbing I saya, juga kepada Prof.dr. Frans D Suyatna, PhD, sebagai pembimbing II saya, yang memberikan ide penelitian ini, serta membimbing dan mengarahkan saya hingga menyelesaikan tesis ini.

Kepada dr. Ermita I Ilyas, MS, sebagai Ketua Kekhususan Fisiologi, yang senantiasa mengingatkan dan mendorong untuk segera menyelesaikan pendidikan ini. Kepada dr. Tomi Hardjatno, MS, Ketua Departemen Fisiologi, terimakasih atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk belajar di bagian Fisiologi FKUI. Demikian juga kepada seluruh staff akademik Dept.Fisiologi FKUI yang menuntun dan mengarahkan cara belajar aktif, serta mengantarkan saya hingga dapat menyelesaikan pendidikan saya dikekhususan Fisiologi, saya ucapkan terimakasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya. Tidak lupa kepada seluruh staff administrasi dan umum Dept.Fisiologi yang turut membantu dan memperlancar pendidikan saya di kekhususan Fisiologi.

Kepada rekan-rekanku Kristianawati, Mumpuni dan Sofie terimakasih atas dukungan dan kerjasamanya selama ini, semoga kebersamaan kita selama di Faal menjadi awal persahabatan yang terus kita pelihara. Tak lupa kepada dr. Marwito Wijanto, M.Biomed, terimakasih atas bantuannya selama ini.

Kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebut satu persatu, terimakasih atas bantuan, kerjasama dan doanya selama saya menjalankan pendidikan ini.

Yang terakhir, namun paling berarti. Terimakasih kepada suamiku tersayang, Imam Zarkasi, Ssi, yang senantiasa menemani, menyemangati, mendoakan dan mengingatkan saya untuk segera menyelesaikan pendidikan ini, atas keridhoannya dan memberi kesempatan kepada saya untuk melanjutkan pendidikan dan meninggalkan sebagian tugas-tugas saya dirumah, semoga Alloh SWT membalas dengan sebaik-baik keridhoannya. Dan kepada ketiga putraku yang tersayang Azzam, Salman, Akmal yang senantiasa menjadi penyemangat, penyejuk mata dan hati, serta telah kehilangan sebagian kebersamaan bersama umi selama pendidikan ini, semoga kalian menjadi anak-anak yang senantiasa menuntut ilmu dan bermanfaat bagi orang-orang di sekitar kalian. Juga kepada mama dan papa, yang senantiasa menyemangati dan mendorong untuk menyelesaikan pendidikan ini serta merawat dan menjaga anak-anak. Untuk bapak dan ibu, serta kakak-kakak dan adikku atas do'a dukungan dan pengertiannya terimakasih.

Akhirnya saya berdoa semoga Alloh SWT senantiasa melimpahkan hidayah dan ridhoNya, serta membalas kebaikan yang telah diberikan kepada saya.Amiin.

Jakarta, Juni 2008

DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL.....	i
ABSTRAK.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Pertanyaan Ilmiah.....	2
I.3 Tujuan Penelitian.....	2
I.4 Hipotesis Penelitian.....	3
I.5 Manfaat Penelitian.....	3
I.6 Kerangka Konsep.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
II.1. Kegiatan listrik jaringan otak.....	6
II.1 Kejang.....	9
II.3. Piperin.....	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	16
III.1 Rancangan Penelitian.....	16
III.2 Tempat dan waktu.....	18
III.3 Alat dan bahan.....	18
III.4 Populasi hewan coba.....	20
III.5 Besarnya sampel.....	20
III.6 Alur penelitian.....	20
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	21
BAB V PEMBAHASAN.....	36
KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	45

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Prevalensi penyakit dengan gejala kejang di Indonesia cukup tinggi. Beberapa jenis tanaman dikembangkan menjadi obat yang bermanfaat untuk mengobati kejang, diantaranya adalah lada hitam (*Piper nigrum*) dan cabe jawa (*Piper longum*) yang mengandung senyawa aktif piperin.¹

D'Hooge dkk menemukan bahwa piperin yang terkandung dalam lada memiliki efek anti kolvunsan.² Mereka juga menemukan komponen utamanya yaitu alkaloid piperin. Shin dkk melakukan pengujian aktivitas piperin sebagai penghambat Sistem Saraf Pusat (SSP).³ Piperin juga terbukti memiliki aktivitas farmakologi yang luas yaitu dapat memproteksi kejang yang diinduksi oleh rangsang listrik maupun kimia, memiliki efek sedatif, relaksan otot, menekan kerja saraf, mempengaruhi sistem pernafasan, dan meningkatkan absorpsi saluran cerna.^{2,3}

Piperin yang dihasilkan oleh negara dan daerah dalam satu negara yang berbeda tentu memiliki efek yang berbeda pula, sehingga pada penelitian ini ingin diketahui efek piperin ekstrak dari lada jawa.

Pada penelitian Pei dengan mencit, piperin dengan dosis 50-400 mg/kg memberikan efek antikonvulsan akibat induksi oleh pikrotoksin dan striknin.⁴ Sedang penelitian efek protektif piperin terhadap peningkatan kegiatan listrik otak tikus kejang pada hewan uji akibat induksi kejang oleh bicuculline belum pernah dilakukan sebelumnya.

Bicuculline merupakan antagonis asam amino inhibitorik yang dapat memblok reseptor asam γ -amino butirat (GABA), sehingga bicuculline berpotensi menyebabkan kejang. Mekanisme terjadinya kejang oleh bicuculline adalah melalui penghambatan kerja GABA sehingga eksitasi pada membran pasca sinaps terus terjadi tanpa henti. Kupferberg menemukan bahwa pemberian bicuculline dengan dosis 2,7 mg/kg melalui subkutan dapat mengakibatkan kejang

klonik pada hewan uji.^{5,6,7} Sehingga dalam penelitian ini dipergunakan bicuculline sebagai induktor kejang klonik.

Kegiatan listrik otak selama sel saraf masih hidup akan selalu terjadi terus-menerus dan dapat direkam dengan alat elektroensefalograf. Elektroensefalograf kini merupakan pemeriksaan yang sering digunakan sebagai pendukung dalam diagnosis penderita kejang.^{5,8,9}

Penelitian piperin dengan menggunakan tikus kejang akibat induksi oleh bicuculline merupakan fokus dalam penelitian ini. Dengan diketahuinya efek piperin pada penurunan kegiatan listrik otak kejang yang diinduksi oleh bicuculline dengan pengamatan EEG maka, pengetahuan yang mendasari penggunaan piperin dalam kejang akan semakin kuat.

I.2 Pertanyaan Ilmiah

1. Apakah pemberian piperin beberapa dosis (100 mg/kgBB, 200mg/kgBB, 400mg/kgBB) mempunyai efek penurunan kegiatan listrik otak pada hewan uji yang diinduksi oleh bicuculline?
2. Berapa kadar piperin yang efektif untuk mencegah timbulnya kejang yang diinduksi oleh bicuculline?
3. Bagaimanakah amplitudo dan frekuensi rekaman EEG dari hasil perekaman dengan waktu yang berbeda?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum :

Mengetahui efek proteksi piperin terhadap peningkatan kegiatan listrik otak tikus kejang akibat induksi oleh bicuculline

I.3.2 Tujuan Khusus :

3.2.1.Membandingkan amplitudo dan frekuensi rekaman EEG pada kelompok hewan uji akibat induksi oleh bicuculline dan sebelumnya

diberi piperin dengan kelompok kontrol yang diinduksi bicuculline tanpa pemberian piperin

3.2.2. Mengetahui dosis pemberian piperin yang efektif menurunkan kegiatan listrik pada hewan uji akibat induksi oleh bicuculline

3.2.3. Mengetahui perubahan amplitudo dan frekuensi rekaman EEG dari hasil perekaman dengan waktu yang berbeda

I.4 Hipotesis Penelitian

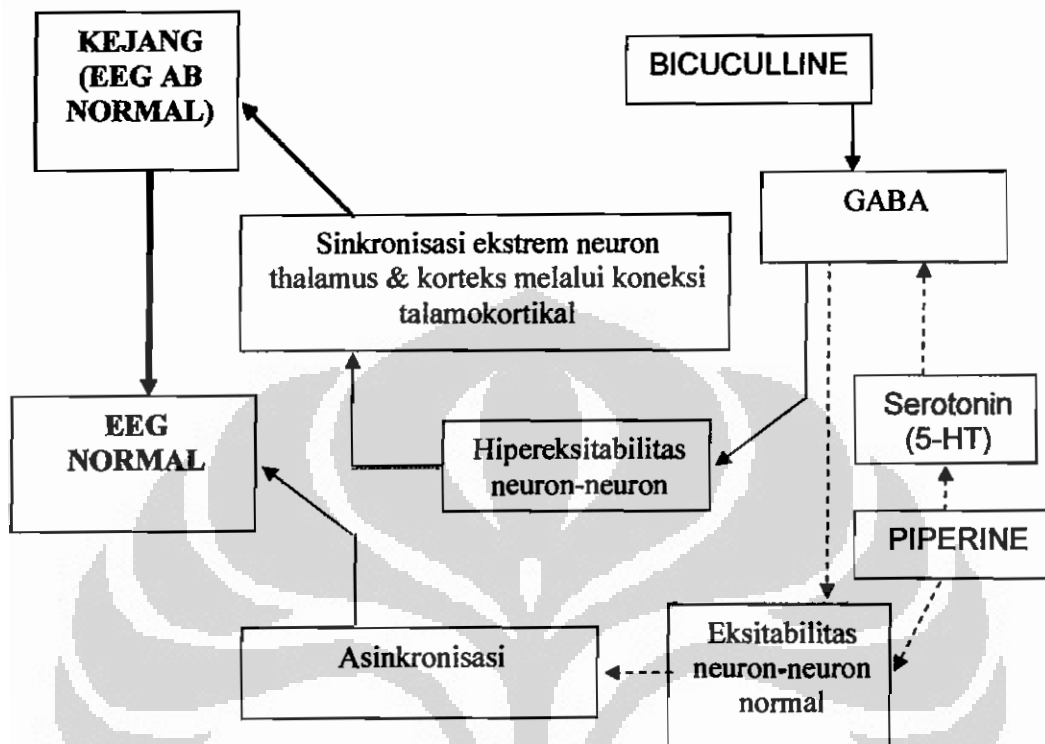
4.1. Piperin berbagai dosis menurunkan kegiatan listrik otak tikus yang diinduksi kejang oleh bicuculline (amplitudo menurun dan frekuensi meningkat)

4.2. Amplitudo dan frekuensi EEG dari perekaman setelah 60 menit pemberian piperin (masing-masing dosis) memperlihatkan penurunan kegiatan listrik yang lebih bermakna dibandingkan hasil perekaman menit ke-40 dan menit ke-50.

I.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan terkait dengan efek anti kejang piperin sebagai salah satu alternatif pencegahan kejang pada manusia.

I.6 Kerangka konsep



KET:----- Kerja yang berlawanan, piperine mengaktifkan kembali kerja GABA yang terhambat, sehingga eksitabilitas neuron-neuron normal kembali dan terjadi asinkronisasi neuron-neuron.

I.6.1 Definisi operasional

6.1.1 Kejang

Timbulnya spasme involunter dan perubahan perilaku dengan sinkronisasi potensial aksi sejumlah besar neuron secara abnormal.⁵

6.1.2. EEG

Elektroensefalogram, merupakan hasil rekaman kegiatan listrik otak berupa variasi potensial aksi ribuan neuron piramidal korteks serebri yang tercatat elektrode.¹⁰

6.1.3. Amplitudo adalah tinggi gelombang EEG yang ditentukan dari jarak titik teratas dan terbawah tegak lurus terhadap *baseline*.⁵ (merupakan gambaran dari penjumlahan eksitasi sejumlah besar neuron)

6.1.4. Frekuensi adalah banyaknya gelombang yang terbentuk dalam waktu satu detik.⁵ (merupakan gambaran banyaknya eksitasi yang terjadi)

6.1.5. Alat Pencatat gelombang EEG merk Poligraf Nihon Kohden Ampli Biolistrik, Seri: AB 620 G.

6.1.6. Piperin

Adalah senyawa aktif dengan rumus kimia $C_{17}H_{19}NO_3$, berbentuk solid, diekstraksi dari Piper nigrum dan Piper longum.³ Dalam pengujian dilarutkan dalam pelarut Carboxymethyl Celullose (CMC).³

6.1.7. Bicuculline

Adalah antagonis asam amino inhibitor, yang bekerja melalui $GABA_A$ reseptor, sebagai zat epileptogenik yang memberikan gambaran EEG.^{5,6}

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Kegiatan listrik jaringan otak

Pada keadaan normal, terdapat jutaan neuron yang mengalami proses eksitasi dan inhibisi. Potensial aksi yang meletup secara bersamaan atau sinkron memiliki polaritas yang sama maka akan mengalami sumasi sehingga timbul potensial listrik yang cukup kuat untuk direkam dengan berbagai cara melalui tulang kranial.¹¹

II.1.1. Elektroensefalografi dan elektroensefalogram

Aktivitas listrik pada otak hewan yang tidak dianestesi pertamakali dilaporkan pada abad ke-19. Kemudian hal ini mulai dianalisis secara sistematis oleh psikiater Jerman, Hans Berger, yang mengajukan istilah elektroensefalogram (EEG).^{5,12,13}

Perekaman EEG, metode yang dilakukan seringkali noninvasif dan tanpa menimbulkan rasa sakit. Elektroda-elektroda EEG direkatkan dikulit kepala, menggunakan perekat yang bersifat konduktif untuk memastikan hambatannya sangat rendah. Sejumlah elektroda yang sudah terfiksasi pada posisi standarnya di kepala kemudian dihubungkan ke amplifier serta bagian perekam. Perubahan voltase kecil, sekian puluh mikrovolt pada amplitudo, merupakan hasil rekaman dari dua pasang elektroda tertentu. Daerah tertentu yang berbeda di otak, anterior dan posterior, kanan dan kiri, dapat dijelaskan oleh pasangan elektroda tertentu. Hasil rekaman EEG adalah gelombang yang merupakan sebuah gabungan kegiatan listrik yang simultan, yang mengindikasikan perubahan voltase antara sepasang elektroda.^{11,13}

EEG mengukur arus yang mengalir selama eksitasi sinaps dendrit pada sejumlah besar neuron-neuron piramidal pada korteks serebral. EEG merekam kegiatan listrik ribuan neuron yang aktif, sedangkan ribuan neuron tersebut tidak selalu aktif secara bersamaan atau sinkron. Hal ini

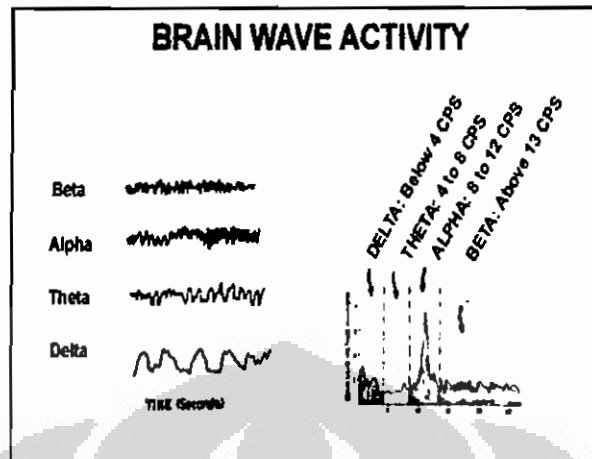
memiliki konsekuensi penting bahwa amplitudo dari sinyal EEG sangat tergantung pada seberapa sinkron aktivitas neuron-neuron dibawahnya.^{11,13}

Amplitudo EEG adalah tinggi gelombang yang dihasilkan dari sumasi voltase potensial aksi ribuan neuron piramidal korteks serebri yang aktif bersamaan. Frekuensi adalah seberapa sering jumlah gelombang yang terbentuk dari ribuan neuron piramidal korteks serebri yang timbul dalam satu detik. Bila potensial aksi pada ribuan neuron memiliki interval yang tidak teratur, maka respon sel piramidal tidak sinkron dan sumasi kegiatan listrik yang ditangkap elektroda memiliki amplitudo kecil dan frekuensi sering. Sedangkan bila potensial aksi ribuan neuron piramidal korteks serebri timbul dalam waktu yang hampir bersamaan maka respon sel piramidal sinkron, hasil sumasi kegiatan listrik dengan amplitudo lebih tinggi dan frekuensi berkurang.

Gelombang EEG yang terbentuk sebagian besar bukan merupakan potensial aksi satu sel saraf tetapi hasil kerja kolektif aktivitas potensial pasca sinaps sesaat (EPSP dan IPSP) pada badan sel dan dendrit. Bentuk gelombang EEG sangat bervariasi, tergantung kepada kegiatan jaringan otak. Hasil rekaman EEG akan mempunyai amplitudo dan frekuensi yang berbeda. Bila kegiatan sel-sel otak terjadi bersamaan akan menghasilkan amplitudo yang tinggi dan frekuensi yang menurun, sebagai akibat potensial aksi yang terjadi saling memperkuat, disebut sinkronisasi. Bila kegiatan sel-sel otak tidak bersamaan akan menimbulkan gelombang asinkron, dengan gambaran amplitudo lebih rendah dan frekuensi meningkat.^{5,6,9}

Pada umumnya gelombang otak tidak mempunyai pola yang jelas, namun pada saat tertentu dapat diamati adanya pola yang spesifik yang terdapat pada orang normal.⁵

Sebagaimana tampak pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Gelombang otak normal (dikutip dari extention yoga.com)

Gelombang tersebut memiliki irama dasar kegiatan listrik otak dalam siklus frekuensi per detik, atau dalam herzt, ada 4 (empat) tipe irama dasar:

a. Gelombang α (alfa)

Merupakan gelombang berirama yang timbul pada rekaman EEG pada hampir semua orang dewasa normal saat terjaga dalam keadaan tenang dan istirahat pikiran, memiliki frekuensi 8-13 hertz. Irama ini paling jelas pada daerah parieto-oksipital, walaupun kadang juga dijumpai dibagian lain.

b. Gelombang β (beta)

Merupakan gelombang berirama yang terekam di regio parietal dan frontal kulit kepala selama kegiatan ekstra sistem saraf pusat atau ketegangan, memiliki frekuensi 14- 80 herzt.

c. Gelombang θ (teta)

Merupakan gelombang berirama yang terekam pada daerah parietal dan temporal anak, dapat terjadi pada orang dewasa saat kondisi stress emosi misal selama mengalami kekecewaan dan frustrasi, memiliki frekuensi 4-7 hertz.

d. Gelombang σ (delta)

Merupakan gelombang berirama yang timbul pada kondisi tidur nyenyak, pada bayi dan dapat terekam pada gangguan otak yang parah.^{5,11,13}

II.2. Kejang

II.2.1. Jenis kejang

Kejang terbagi menjadi kejang yang berasal dari satu hemisfer serebrum (kejang parsial atau lokal) dan kejang yang melibatkan kedua hemisfer secara serempak (kejang umum). Tiap kategori dibagi-bagi lebih lanjut. Kejang parsial meliputi: kejang parsial sederhana, kejang jacksonian, kejang kompleks parsial, epilepsia parsialis. Kejang umum meliputi : grand mal/ kejang tonik-klonik, epilepsi umum primer, kejang absence, kejang atonik, dan status epileptik (yang merupakan kondisi paling serius pada kejang).^{14,15,16}

Kejang umum tipe tonik klonik (grand mal) ditandai oleh hilangnya kesadaran, yang biasa timbul tanpa tanda-tanda sebelumnya. Keadaan ini kemudian diikuti oleh fase tonik, dengan kontraksi otot-otot anggota badan yang bertahan, diikuti oleh fase klonik dengan hentakan anggota badan simetris akibat kontraksi dan relaksasi yang berganti-ganti. Selama fase tonik terdapat aktivitas EEG cepat. Pada tiap-tiap hentakan klonik, terdapat gelombang-gelombang lambat yang masing-masing didahului oleh gelombang spike.¹³

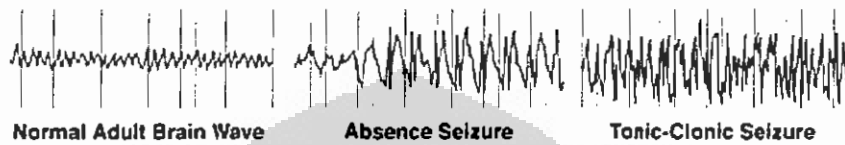
Serangan lena (petit mal) adalah salah satu bentuk serangan umum yang ditandai oleh hilangnya kemampuan berespon sesaat. Serangan ini disertai oleh *doublet* (pasangan gelombang) 3 kali/detik, yang masing-masing terdiri dari gelombang tumpul yang khas.¹³

II.2.2. Kegiatan listrik pada keadaan kejang.

Kejang merupakan bentuk yang paling ekstrim dari sinkronisasi kegiatan listrik otak, yang terjadi sebagai tanda gejala kerusakan atau kelainan kegiatan listrik otak. Baik pada kejang umum (yang meliputi

keseluruhan korteks serebri kedua hemisfer) maupun kejang sebagian, neuron-neuron mengalami area "firing" dengan sinkronisasi. Sinkronisasi tersebut umumnya tidak pernah terjadi selama kondisi normal. Sebagai konsekuensinya kejang selalu disertai gambaran EEG yang sangat besar.^{5,9}

Berikut gambaran EEG yang memperlihatkan amplitudo yang meningkat pada kejang absence dan kejang tonik klonik.



Gambar 2. Rekaman EEG orang dewasa normal, kejang absence, kejang tonik-klonik

Penyebab terjadinya kejang pada beberapa kejang terjadi karena adanya ketidak seimbangan sinaps eksitasi dan inhibisi pada otak, yaitu inhibisi yang terlalu rendah dibandingkan eksitasi, sedangkan pada kejang yang lain terjadi karena kekuatan yang berlebihan atau densitas yang tinggi pada interkoneksi eksitasi.^{5,9}

Obat-obat yang menghambat reseptor asam γ -amino butirrat (GABA) paling berpotensi menyebabkan kejang. Mekanisme terjadinya kejang adalah melalui penghambatan kerja GABA sehingga eksitasi pada membran pasca sinaps terus terjadi tanpa henti.^{5,9}

Pada tikus, kejang dapat terjadi dengan pemberian antagonis asam amino inhibitor seperti pentilentetrazol, pikrotoksin dan striknin. Kejang tidak hanya dapat terjadi dengan menghambat kerja asam amino inhibitor, tetapi dapat pula melalui eksitasi langsung, seperti agonis asam amino eksitasi (EAA) yang dapat menimbulkan beberapa jenis kejang pada hewan coba. Reseptor asam amino eksitasi multiple telah ditemukan pada sistem saraf pusat vertebrata, dan asam amino L-glutamat diyakini sebagai agonis endogen yang bekerja pada reseptor tersebut.⁵

Berbagai jenis obat anti kejang bekerja dengan cara menghambat eksitasi pada berbagai jalur. Beberapa obat ada yang bekerja untuk memperpanjang kerja GABA sebagai inhibitor, contohnya barbiturat dan benzodiazepin. Sedang obat lain ada yang menurunkan kecenderungan

neuron tertentu untuk *firing* (hanya bisa terbakar pada potensial aksi yang tinggi), contohnya fenitoin dan karbamazepin.⁵

Perubahan perilaku saat kejang tergantung neuron-neuron yang terlibat dan pola aktifitasnya, misalnya pada kejang menyeluruh, yang melibatkan neuron-neuron korteks, sehingga perilaku benar-benar terganggu untuk beberapa menit yaitu dalam keadaan kesadaran hilang, sedang seluruh kelompok otot akan terarahkan untuk pola tonik, pola klonik atau keduanya.⁵

Kejang demam merupakan kejang yang terjadi pada anak-anak bersamaan dengan peningkatan suhu tubuh lebih dari 38 °C, dapat terjadi akibat faktor-faktor lingkungan dan kombinasi genetik.¹⁷ Anak dengan kejang demam, dalam sebuah penelitian dinyatakan bahwa 24%nya memiliki riwayat keluarga dengan kejang demam dan 4%nya memiliki keluarga dengan riwayat epilepsi. Mutasi gen ion channel sodium dan reseptor GABA_A telah teridentifikasi pada anak-anak dengan kejang demam.¹⁸

II.2.3. Kejang akibat induksi oleh bicuculline

Dalam penelitian sebelumnya, telah diteliti pola kejang yang terjadi dengan infus bicuculline.^{19,20} Bicuculline merupakan zat kimia yang termasuk dalam antagonis reseptor GABA_A, aktivitasnya mengakibatkan penghambatan kerja GABA_A, sehingga berpotensi menyebabkan kejang, yaitu melalui eksitasi pada pasca sinaps yang berlangsung terus menerus dan neuron-neuron mengalami hipereksitabilitas. Selanjutnya akan terjadi peningkatan eksitasi neuron korteks yang sangat besar dan peningkatan koneksi timbal balik talamokortikal. Hasilnya terjadi sinkronisasi ekstrem neuron thalamus & korteks melalui koneksi talamokortikal, hal inilah yang tampak sebagai peningkatan amplitudo EEG.⁵

Glutamat dan aspartat merupakan neurotransmiter eksitasi utama pada sistem saraf pusat, sedangkan GABA dan lisin neurotransmiter inhibisi utama.^{11,13}

Glutamat merupakan salah satu neurotransmitter eksitasi utama di otak dan medula spinal. Glutamat diperkirakan merupakan neurotransmitter yang berperan pada 75% hantaran eksitasi di otak. Sebagai neurotransmitter glutamat ada dalam cairan ekstrasel dalam konsentrasi yang sangat kecil, yaitu tidak lebih dari 8-12 μm . Jika konsentrasi glutamat meningkat diatas kadar tersebut, maka sel saraf akan terangsang secara abnormal. Pada kadar yang lebih tinggi, sel saraf akan mengalami proses kematian yang lambat (*excitotoxicity*). Zat yang bereaksi dengan reseptor tertentu di otak sehingga menyebabkan kerusakan pada sel saraf disebut dengan eksitotoksin.^{11,13,22}

Eksitotoksin memegang peranan penting dalam perkembangan beberapa penyakit neeurologik, antara lain migren, kejang, perkembangan saraf abnormal, gangguan neuropsikiatri, gangguan belajar pada anak, dimensia, ensefalopati hepatic, dan terutama penyakit neurodegeneratif.²³

Glutamat memiliki dua macam reseptor, yaitu reseptor metabotropik dan ionotropik. Reseptor metabotropik merupakan reseptor yang tidak memiliki kanal ion integral dan dapat mengaktivasi rangkaian *second messenger*, yaitu berpasangan dengan proteinG yang meningkatkan kadar IP3 (*inositol triposphate*) dan DAG (*diacylglycerol*) intrasel yang akan membuka kanal kalsium di retikulum endoplasma sehingga terjadi peningkatan kalium intrasel. Reseptor ionotropik merupakan kanal ion yang terbuka oleh ligand (*ligand-gated ion channel*). Terdapat tiga tipe umum reseptor glutamat ionotropik, yang masing-masing diberi nama sesuai dengan senyawa-senyawa mirip glutamat yang memberikan respons maksimal pada reseptor tersebut (agonisnya). Yaitu reseptor kainat, reseptor AMPA (*α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate*) dan reseptor NMDA (*N-methyl-D-aspartate*). Ketiga reseptor ini juga diaktivasi oleh glutamat, yang secara fisiologis merupakan agonis dan neurotransmitter *excitatory* utama di otak. Transmisi sinaps yang cepat diperantarai oleh aktivasi reseptor AMPA dan kainat. Sebaliknya aktivasi, reseptor NMDA (NMDAR) menghasilkan potensial sinaps yang lambat.

NMDAR juga berperan penting dalam perkembangan otak, proses belajar dan mengingat.^{11,13,24}

Jika glutamat yang meningkat konsentrasinya berikatan dengan reseptor di otak (kainat, AMPA dan NMDA) akan secara langsung atau tidak langsung membuka kanal ion kalsium pada membran sel saraf sehingga ion kalsium masuk ke dalam sel. Kainat dan AMPA merupakan saluran ion sederhana yang bila terbuka memungkinkan terjadinya influks Na^+ dan efluks K^+ . Reseptor NMDA juga merupakan saluran kation, yang memungkinkan influks Ca^{2+} relatif besar. Stimulasi berlebihan reseptor glutamat yang permeabel terhadap ion kalsium menyebabkan efek neurotoksik. Aktivasi berlebihan pada reseptor NMDA, kainat, atau AMPA akan menyebabkan peningkatan kadar kalsium intrasel yang besar dan sel saraf menjadi sangat peka rangsang, bahkan dapat membawa pada kerusakan atau kematian sel saraf.^{13,24}

Bicuculline menurunkan kerja GABA. GABA (gama aminobutirat) merupakan neurotransmiter inhibisi utama di otak, dan merupakan 20% neurotransmiter di sinaps SSP. GABA terbentuk melalui dekarboksilasi glutamat, yang dikatalis oleh enzim glutamat dekarboksilase (GAD). Tiga reseptor GABA yang telah teridentifikasi : GABA_A , GABA_B dan GABA_C . Reseptor-reseptor GABA_A dan GABA_B tersebar luas di SSP, sedangkan GABA_C paling banyak di retina. Reseptor-reseptor GABA_A , dan GABA_C merupakan reseptor ionotropik, yaitu saluran-saluran ion yang tersusun dari lima sub-unit yang mengelilingi sebuah lubang, dalam hal ini ionnya adalah Cl^- . Reseptor-reseptor GABA_B bersifat metabotropik dan berpasangan dengan protein-protein G heteromerik yang meningkatkan konduktansi di saluran-saluran K^+ , menghambat adenilil siklase dan menghambat influks Ca^{2+} . Peningkatan influks Cl^- yang dihasilkan oleh reseptor-reseptor GABA_A dan peningkatan efluks K^+ oleh GABA_B dan penurunan influks Ca^{2+} semuanya akan menyebabkan hiperpolarisasi neuron, menghasilkan potensial postsinaptik inhibisi (IPSP/ *Inhibitory Post Synaptic potential*).

Bila bicuculine dapat menurunkan kerja GABA sebagai asam amino inhibitorik, maka proses IPSP akan terhambat dan terjadi peningkatan kegiatan listrik otak secara berlebihan.^{11,13}

II.3. Piperin

Piperin merupakan alkaloid utama yang didapatkan dari pemurnian ekstrak buah tumbuhan famili piperaceae, termasuk diantaranya adalah lada hitam (piper nigrum) dan cabe jawa (piper longum).¹

Ekstrak piperin yang dihasilkan dari proses isolasi lada hitam, berwarna kekuningan, dan bersifat tidak larut dalam air. Sehingga untuk pemberian intraperitoneal dilarutkan dalam larutan Carboxymethyl Celullose (CMC).³



Gambar 3. Struktur kimia piperin

Nomeklatur piperin :

Nama Kimia : 1-(5-(1,3 Benzodiazol-5-yl)-oxo-2,4-pentadienil)piperidine atau 1-piperoylperidine.

Formula empirisnya C₁₇H₁₉NO₃

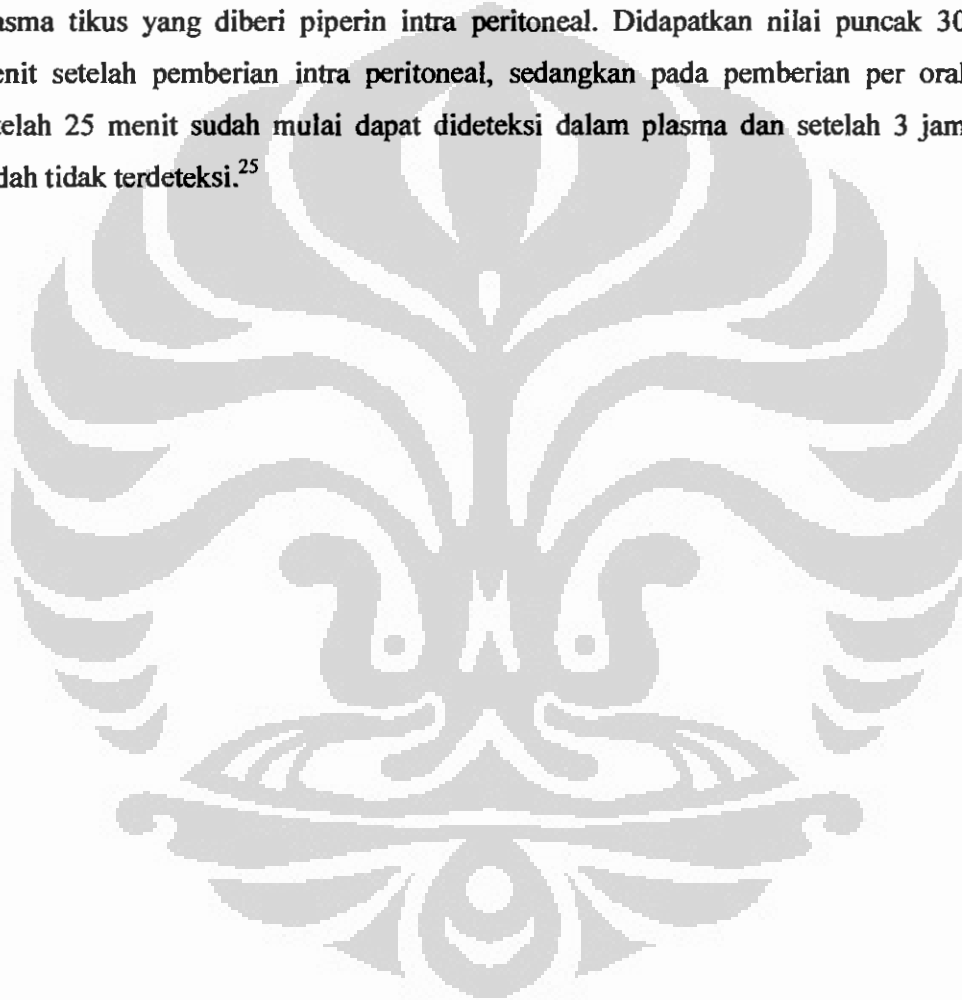
Dari struktur kimia termasuk group Cinnamamides, kelompok Cinnamamides ini sebagai sedatif, hipnotik, antikonvulsan dan relaksan otot rangka.

Banyak studi tentang piperin yang melihat aktivitas biologi dan farmakologinya. D'Hooge dkk menemukan bahwa piperin yang terkandung dalam lada memiliki efek anti konvulsan. Mereka juga menemukan komponen utamanya yaitu alkaloid piperin. Shin dkk melakukan pengujian aktifitas piperin sebagai depresan atau bersifat menekan sistem saraf pusat. Piperin juga terbukti memiliki aktivitas farmakologi yang luas seperti dapat memproteksi kejang yang diinduksi

oleh rangsang listrik maupun kimia, memiliki efek sedatif, relaksan otot, menekan kerja saraf, mempengaruhi sistem pernafasan, dan meningkatkan absorpsi saluran cerna.^{2,3}

Pemberian piperin bekerja meningkatkan sintesis dan penglepasan 5-HT pada neuron-neuron presinaps korteks dan kemudian menyebabkan penurunan respon kejang pada hewan uji, namun mekanismenya belum diketahui.

Bajad dkk dalam penelitiannya dengan menggunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC), mengukur kadar piperin dalam plasma tikus yang diberi piperin intra peritoneal. Didapatkan nilai puncak 30 menit setelah pemberian intra peritoneal, sedangkan pada pemberian per oral setelah 25 menit sudah mulai dapat dideteksi dalam plasma dan setelah 3 jam sudah tidak terdeteksi.²⁵



BAB III

METODE PENELITIAN

III.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vivo*, mengenai pengaruh piperin dalam mencegah terjadinya kejang yang diinduksi oleh bicuculline sebagai epileptogenik pada hewan coba. Perubahan kegiatan listrik otak akibat pemberian piperin diperiksa dengan EEG. Hewan coba dibagi dalam empat kelompok uji. Kelompok pertama, kedua dan ketiga diberikan piperin dengan dosis yang berbeda sebelum proses induksi kejang oleh bicuculline, dan kelompok keempat sebagai kontrol tidak diberikan piperin, hanya diinduksi dengan bicuculline.

Langkah-langkah kegiatan penelitian dilakukan sebagai berikut:

1. Tahap persiapan, meliputi validasi akurasi alat perekaman EEG, bahan-bahan penginduksi kejang, pemilihan hewan coba, dan kesiapan ruang laboratorium.
2. Pelaksanaan studi eksperimental efek antikejang piperin pada hewan uji yang diinduksi oleh bicuculline. Piperin dari Pusat uji tanaman obat LIPI Subang (2003), diberikan pada hewan coba yaitu tikus jenis *Sprague Dawley* jantan berusia sekitar 3 bulan dengan berat antara 180-230 gr. Tikus harus sehat, belum digunakan dalam penelitian sebelumnya dan dalam keadaan tenang ketika di lakukan perekaman EEG, setelah dipergunakan maka tikus tidak dapat digunakan lagi. Sebelum eksperimen dilakukan fiksasi hewan pada papan fiksasi, dilakukan pencukuran untuk insersi jarum elektroda. Hewan coba yang dapat digunakan adalah yang menghasilkan rekaman gelombang EEG yang normal pada kondisi awal sebelum perlakuan. Piperin dilarutkan dalam larutan CMC 1% (Carboxymethyl Celulose/ CMC Food) diberikan melalui sonde lambung pada kelompok perlakuan dengan dosis masing-masing.



Gambar 4. Tikus yang difiksasi dan dipasang elektrode perekam EEG

Kelompok kontrol diberikan CMC 1% tanpa piperin. Pada kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan diberikan bicuculline dengan dosis 2,7 mg/kg BB secara subkutan setelah 30 menit pemberian piperin, kemudian perekaman EEG dilakukan pada menit ke-30, ke-40, ke-50 dan ke-60 setelah pemberian piperin pada ketiga kelompok perlakuan. Perekaman juga dilakukan pada kelompok kontrol pada waktu yang sama dengan kelompok perlakuan.

3. Disain.

Empat kelompok paralel yaitu satu kelompok kontrol yang mendapat bicuculline saja, dan tiga kelompok yang mendapat piperin 3 macam dosis sebelum pemberian bicuculline.

Pada studi eksperimental ini, sebagai parameter digunakan kejang yang ditandai adanya spike, perubahan amplitudo dan frekuensi pada rekaman EEG hewan uji.

Definisi amplitudo adalah tinggi gelombang EEG yang ditentukan dari titik terbawah sampai titik teratas tegak lurus terhadap *baseline* (garis isoelektrik) atau jarak total gelombang secara vertical (Sphelman).

Definisi frekuensi adalah jumlah gelombang yang terbentuk dalam rekaman EEG per satuan detik, atau jumlah pengulangan gelombang dalam satu detik.

Pada penelitian ini penghitungan amplitudo dan frekuensi dilakukan dengan manual menggunakan kaca pembesar.

Penghitungan amplitudo dilakukan dengan menghitung jarak titik terbawah sampai teratas tegak lurus *baseline* sepanjang sepuluh detik yang kemudian dirata-ratakan, hasil rata-rata ini merupakan hasil amplitudo untuk seekor tikus.

Penghitungan frekuensi dilakukan dengan menghitung jumlah gelombang yang terbentuk dalam rekaman sepanjang sepuluh detik yang kemudian dirata-ratakan, hasil rata-rata ini merupakan hasil amplitudo untuk seekor tikus.

4. Pengolahan data

Dilakukan dengan uji anova untuk menguji tingkat kemaknaan perbedaan antara kelompok uji yang lebih dari dua dengan kelompok kontrol. Bila data perkelompok mempunyai distribusi normal (yang diketahui setelah dilakukan uji normalitas) dan variansnya homogen, dilakukan uji parametrik anova. Jika ada kelompok yang distribusinya tidak normal atau variansnya tidak homogen, dilakukan transformasi data menjadi nilai logaritmik. Selanjutnya bila hasil transformasi mempunyai distribusi normal perkelompok dan variansnya homogen dilakukan uji parametrik anova pada hasil transformasi. Jika hasil uji anova bermakna, dilanjutkan dengan multiple comparison Bonferroni. Jika distribusi perkelompok tetap ada yang tidak normal atau variansnya tidak homogen, dilakukan uji Kruskal Wallis pada nilai asli.²⁶

III.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium bagian Ilmu Faal FKUI.

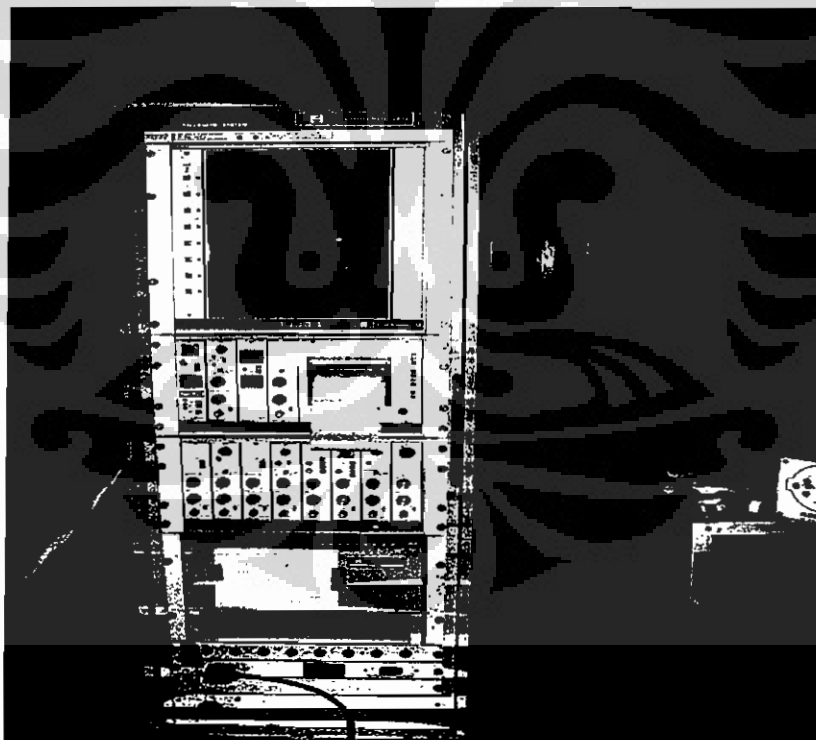
III.3. Alat dan Bahan

III.3.1. Alat penelitian:

1. Alat perekam kegiatan listrik otak : Poligraf Nihon Kohden
2. Ampli biolistrik Seri AB 620 G.
3. Jarum elektrode non traumatik berdiameter 0,2 mm yang dimodifikasi
4. Sangkar faraday
5. Papan fiksasi, lem fiksasi, kabel fiksasi
6. Sonde tikus dengan jarum tumpul berdiameter 3 mm
7. Syringe/spuit

III.3.2. Bahan penelitian:

1. Ekstrak piperin
2. Bicuculline
3. Alkohol 70%
4. Larutan CMC (Karboksi Metil Selulosa)



Gambar 5. Poligraf Merk Nihon Kohden Seri AB 620 G

III.4. Populasi hewan Coba

Populasi penelitian adalah tikus jantan spesies Sprague-Dawley sehat yang berusia antara 3-4 bulan dengan berat badan antara 180-230 gram.

III.5. Besarnya sampel

Besarnya sampel penelitian ditentukan menggunakan rumus Federer.²⁷

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15$$

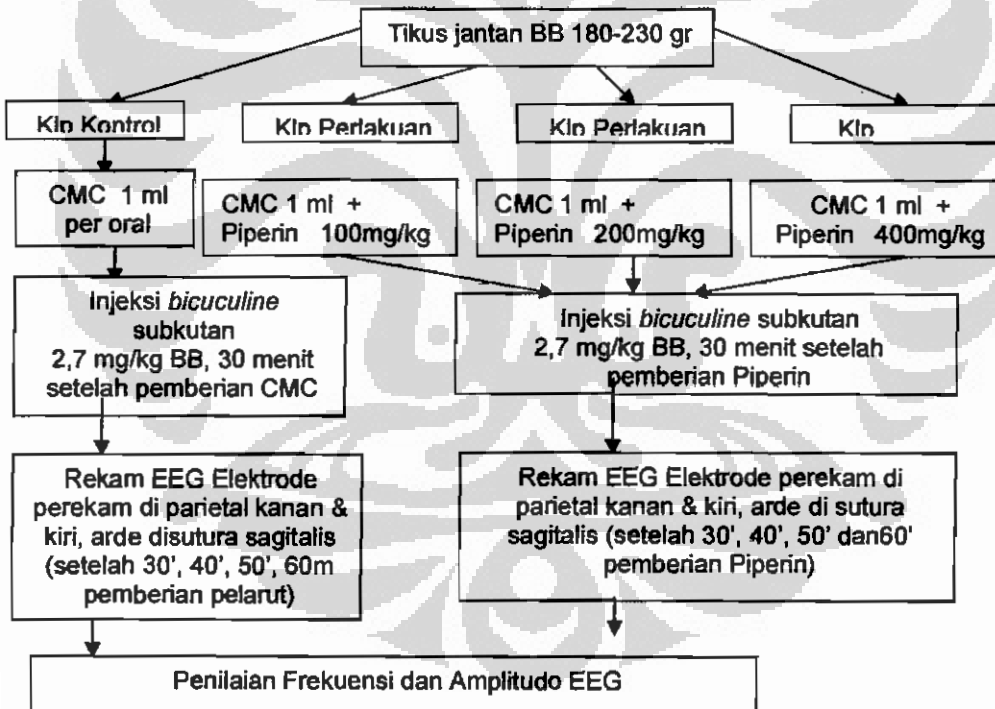
Keterangan :

t : jumlah kelompok

n : jumlah sampel per kelompok

Jumlah sampel untuk t = 4 (pada penelitian ini) adalah minimal 6 per kelompok, sehingga total diperlukan minimal 24 sampel.

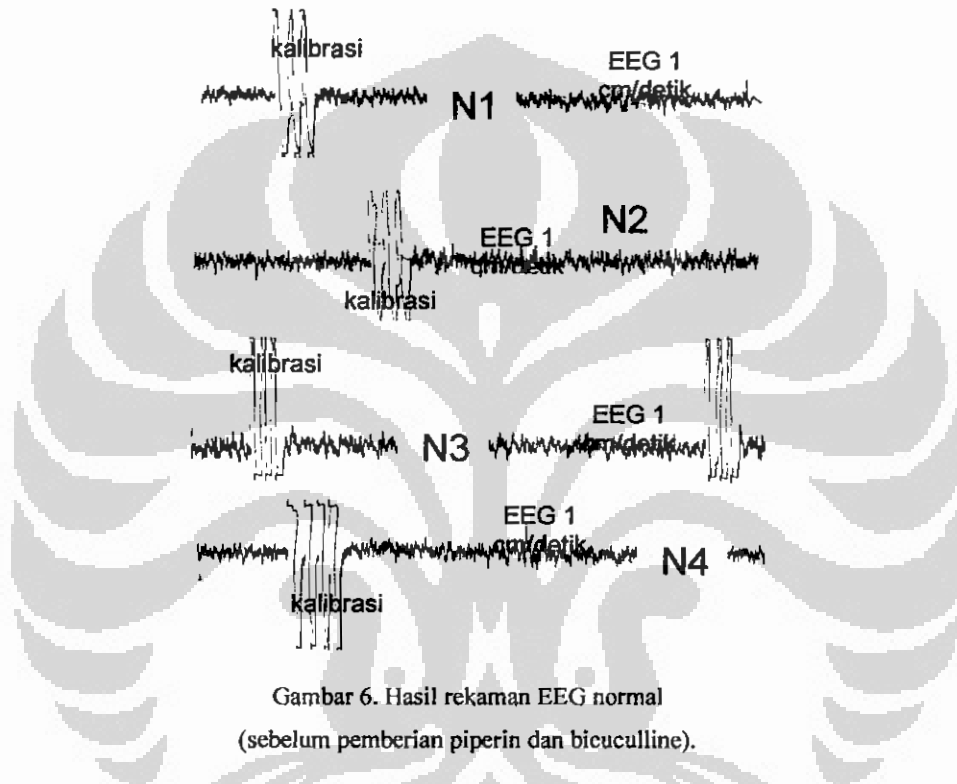
III.6. Alur Penelitian



BAB IV

HASIL PENELITIAN

Sebelum digunakan tikus harus memiliki gambaran EEG yang normal, berikut gambaran normal EEG sebelum pemberian piperin dan bicuculline pada kelompok kontrol, perlakuan uji P100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB.

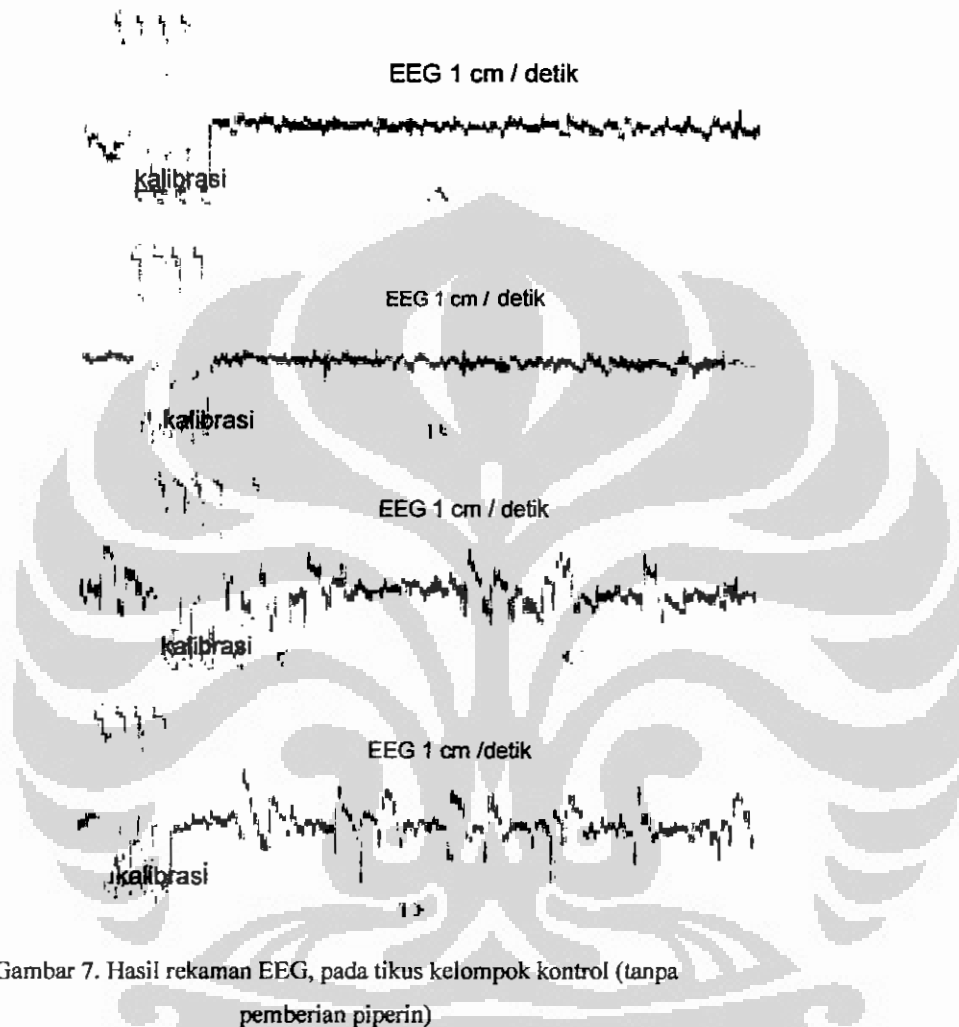


Gambar 6. Hasil rekaman EEG normal
(sebelum pemberian piperin dan bicuculline).

Pada gambar 6, tampak pada gambar N1 adalah rekaman EEG normal kelompok kontrol, gambar N2 adalah rekaman EEG normal kelompok perlakuan piperin 100mg/kgBB, gambar N3 adalah rekaman EEG normal kelompok perlakuan piperin 200mg/kgBB dan gambar N4 adalah rekaman EEG normal kelompok piperin 400mg/kgBB.

IV.1. Hasil perekaman EEG

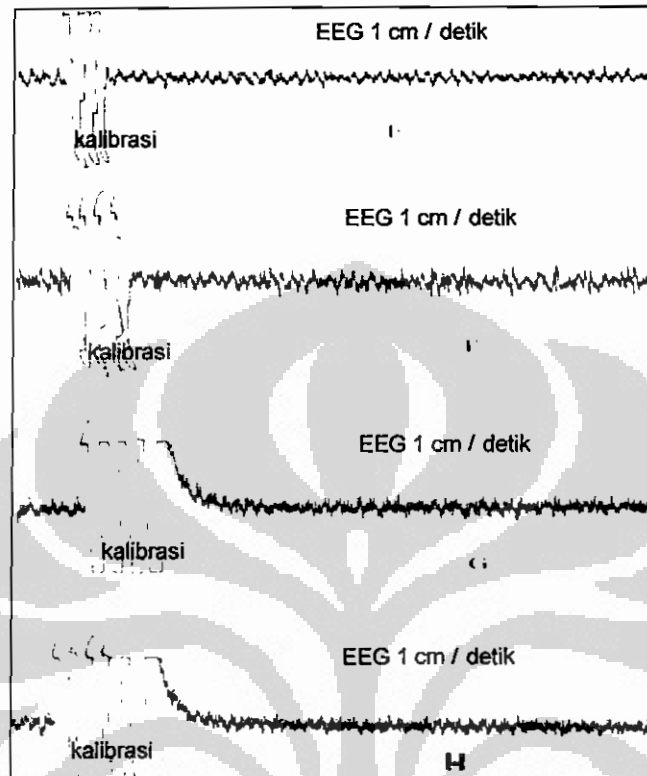
Perekaman EEG dilakukan sebanyak empat kali pada setiap tikus (total 24 sampel), yaitu pada menit awal (menit-0), menit ke-10, menit ke-20, dan menit ke-30 setelah pemberian bicuculline.



Gambar 7. Hasil rekaman EEG, pada tikus kelompok kontrol (tanpa pemberian piperin)

Pada gambar 7, terlihat hasil rekaman EEG pada kelompok kontrol yang tidak diberi piperin, hanya diberi injeksi bicuculline subkutan. Gambar A memperlihatkan rekaman menit awal injeksi bicuculline, tampak gambaran EEG yang normal. Gambar B hasil rekaman menit ke-10 setelah injeksi bicuculline, tampak gambaran EEG yang masih normal tanpa adanya spike, hal ini memberi penjelasan bahwa bicuculline belum bekerja. Gambar C hasil rekaman menit ke-20 setelah injeksi bicuculline, tampak peningkatan amplitudo pada rekaman EEG, tampak pula gelombang spike sebagai tanda adanya kejang akibat kerja

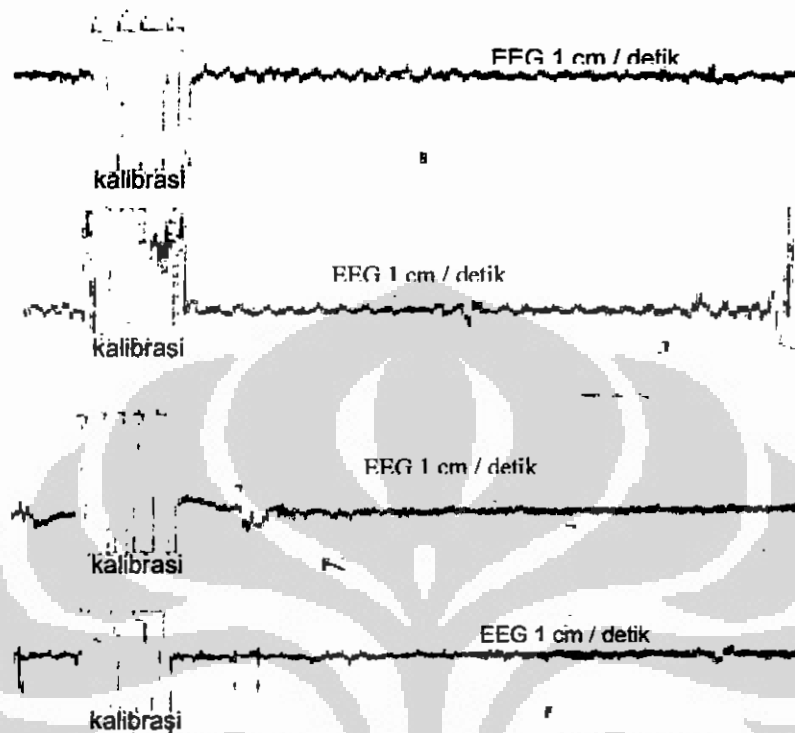
bicuculline. Gambar D yaitu hasil rekaman menit ke-30 pemberian injeksi bicuculline, tampak peningkatan amplitudo pada rekaman EEG, dan tampak gelombang spike sebagai tanda adanya kejang.



Gambar 8. Hasil rekaman EEG pada tikus kelompok perlakuan piperin dosis 100 mg/kgBB

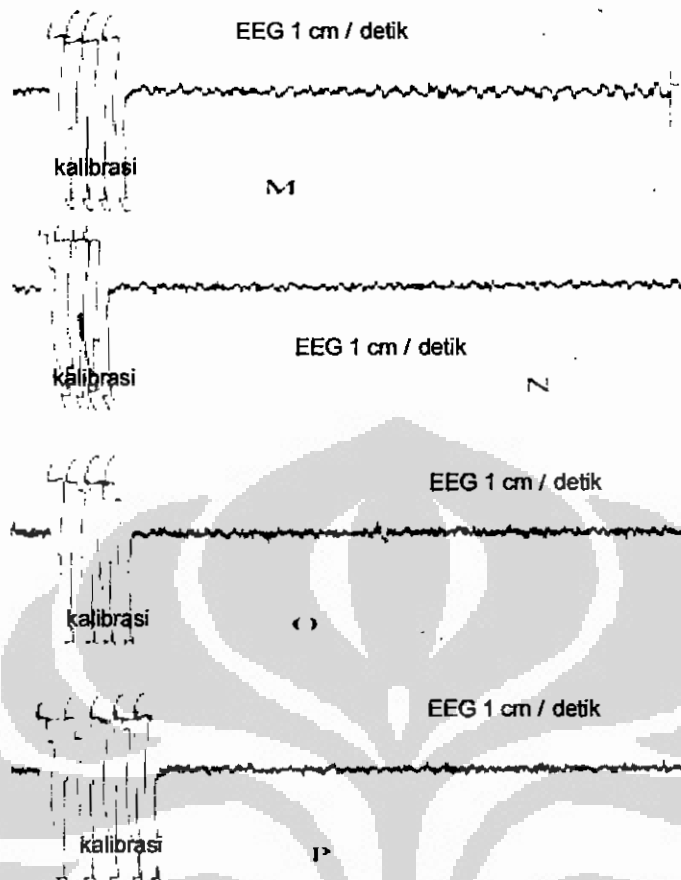
Pada gambar 8, terlihat hasil rekaman EEG pada kelompok perlakuan yang diberikan piperin dengan dosis 100mg/kg BB 30 menit sebelum diinduksi kejang oleh bicuculline. Gambar E hasil rekaman menit awal injeksi bicuculline atau menit ke-30 setelah pemberian piperin, sama halnya dengan kontrol gambaran EEG yang ada masih tampak normal. Gambar F hasil rekaman menit ke-10 injeksi bicuculline atau menit ke-40 setelah pemberian piperin, tampak gambaran EEG yang normal seperti kelompok kontrol. Gambar G hasil rekaman menit ke-20 injeksi bicuculline atau menit ke-50 setelah pemberian piperin, berbeda dengan kontrol menit yang sama, gambaran EEG dengan piperin 100mg/kgBB ini tidak tampak adanya peningkatan amplitudo dan tidak tampak spike pada rekaman EEG. Gambar H hasil rekaman menit ke-60 setelah pemberian piperin atau 30 menit setelah penyuntikan bicuculline, berbeda dengan

kontrol menit yang sama, setelah pemberian piperin tidak tampak adanya peningkatan amplitudo pada rekaman EEG.



Gambar 9. Hasil rekaman EEG pada tikus kelompok perlakuan piperin dosis 200 mg/kgBB

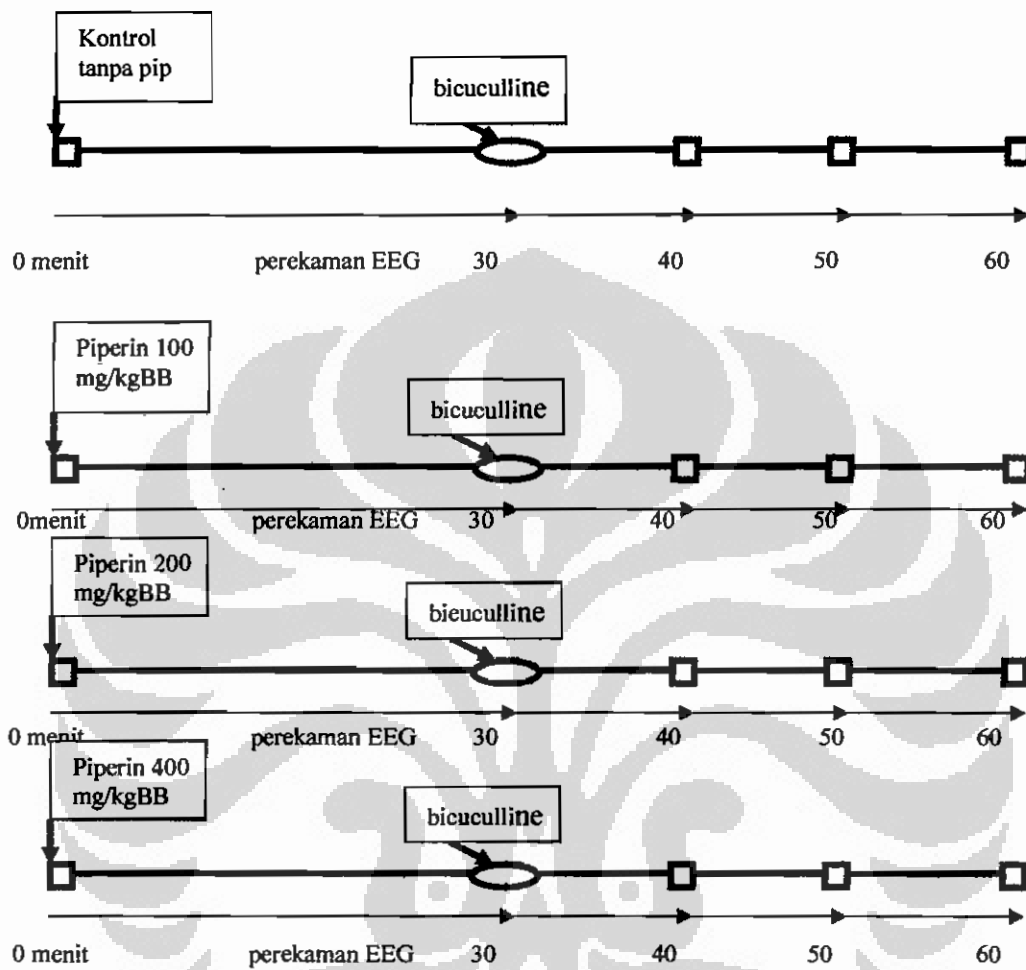
Pada gambar 9, terlihat hasil rekaman EEG pada kelompok perlakuan yang diberikan piperin dengan dosis 200 mg/kg BB. Gambar I hasil rekaman pada awal pemberian bicuculline atau menit ke-30 setelah pemberian piperin 200mg/kgBB, tampak gambaran EEG dengan amplitudo ada kecenderungan menurun dibandingkan kontrol. Gambar J hasil rekaman menit ke-40 setelah pemberian piperin 200mg/kgBB atau 10 menit setelah penyuntikan bicuculline, tampak amplitudo ada kecenderungan menurun dibandingkan normal. Gambar K hasil rekaman menit ke-50 setelah pemberian piperin atau 20 menit setelah pemberian bicuculline, tampak gambaran EEG yang semakin menurun amplitudonya. Gambar L hasil rekaman menit ke-60 pemberian piperin atau 30 menit setelah pemberian bicuculline, tampak gambaran EEG yang semakin menurun amplitudonya.



Gambar 10. Hasil rekaman EEG pada tikus kelompok perlakuan piperin dosis 400 mg/kgBB

Pada gambar 10, terlihat hasil rekaman EEG pada kelompok perlakuan yang diberikan piperin dengan dosis 400 mg/kg BB. Gambar M hasil rekaman awal injeksi bicuculline atau menit ke-30 setelah pemberian piperin tampak gambaran EEG dengan frekuensi cenderung lebih padat sedangkan amplitudo semakin menurun. Gambar N hasil rekaman menit ke- 10 injeksi bicuculline atau menit ke-40 setelah pemberian piperin 400 mg/kg BB, gambar O hasil rekaman menit ke- 20 atau menit ke-50 setelah pemberian piperin 400 mg/kg BB, dan gambar P hasil rekaman menit ke-30 injeksi bicuculline atau menit ke-60 setelah pemberian piperin 400 mg/kg BB. Pada gambar N, O, P tampak amplitudo yang semakin rendah bahkan terendah dibandingkan perekaman pada dosis piperin yang lain. Pada gambar N, O, P tampak frekuensi yang semakin padat bahkan terpadat dibandingkan perekaman pada dosis piperin yang lain.

Berikut skema perlakuan uji dan perekaman EEG.



IV.2. Tabel perhitungan amplitudo dan frekuensi per detik

IV.2.1. Tabel adanya kejang yang ditandai spike.

Gambaran EEG hewan uji kelompok tanpa piperin dengan kelompok perlakuan pemberian piperin dosis 100mg/kgBB, 200 mg/kgBB serta 400 mg/kgBB menunjukkan bahwa kejang yang ditandai adanya spike hanya terjadi pada kelompok kontrol, tampak pada tabel 1.

Tabel 1. Tabel adanya spike.

		Adanya tanda kejang di menit 10 injeksi bicuculline	Adanya tanda kejang di menit 20 injeksi bicuculline		Adanya tanda kejang di menit 30 injeksi bicuculline	
			tidak ada spike	tidak ada spike	ada spike	tidak ada spike
Kelompok perlakuan	kontrol	6	0	6	0	6
	P100	6	6	0	6	0
	P200	6	6	0	6	0
	P400	6	6	0	6	0
Total		24	18	6	18	6

Dari data diatas menunjukkan timbulnya spike hanya pada kelompok tanpa piperin atau kelompok kontrol pada 20 menit dan 30 menit setelah pemberian bicuculline, sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberikan piperin dosis 100mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, dan dosis 400mg/kgBB sebagai agen proteksi kejang pada tikus yang diinduksi bicuculline tidak timbul spike (tidak terdapat tanda kejang).

IV.2.2. Tabel rerata amplitudo dan frekuensi.

Berikut adalah nilai amplitudo rekaman EEG dalam mm pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan piperin 100 mg/kg BB, piperin 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB pada waktu perekaman yang berbeda:

Tabel 2. Amplitudo rekaman EEG (dalam mm) pada berbagai kelompok dan berbagai waktu perekaman.

Waktu/ kelompok	n	Mean±SD	Minimum	Maksimum
1. Amplitudo EEG menit awal injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	3.64±0.45	3.23	4.52
b. P100	6	3.50±0.61	2.85	4.28
c. P200	6	3.37±0.65	2.55	4.55
d. P400	6	2.49±0.67	1.55	3.20
Total	24			
2. Amplitudo EEG menit ke-10 setelah injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	3.62±0.44	3.04	4.20
b. P100	6	3.32±0.89	2.39	4.45
c. P200	6	2.93±0.59	2.34	3.98
d. P400	6	2.04±0.52	1.50	3.02
Total	24			
3. Amplitudo EEG menit ke-20 setelah injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	4.75±0.63	3.60	5.43
b. P100	6	3.06±0.94	2.18	4.63
c. P200	6	3.09±0.37	2.80	3.81
d. P400	6	2.10±0.56	1.56	3.08
Total	24			
4. Amplitudo EEG menit ke-30 setelah injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	6.78±0.92	5.71	8.11
b. P100	6	2.89±1.03	2.14	4.443
c. P200	6	2.51±0.61	1.66	3.42
d. P400	6	1.89±0.67	1.33	3.13
Total	24			

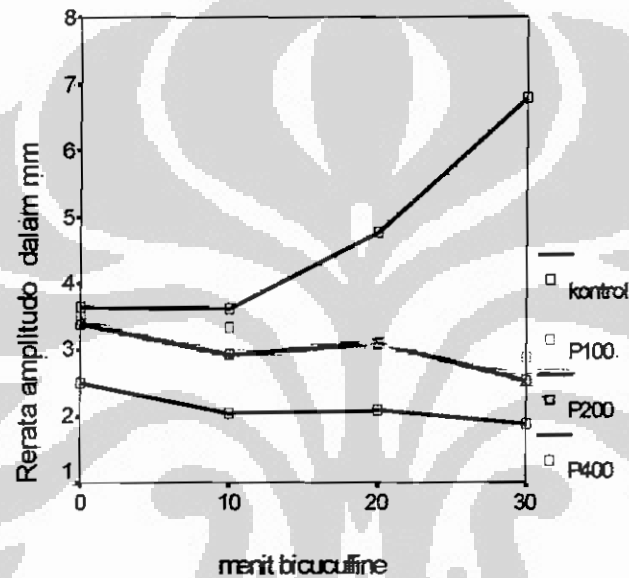
Berikut adalah nilai frekuensi per detik rekaman EEG kelompok kontrol, kelompok perlakuan piperin 100 mg/kg BB, piperin 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB pada waktu perekaman yang berbeda:

Tabel 3. Frekuensi rekaman EEG (per detik) pada berbagai kelompok dan berbagai waktu.

Waktu/ kelompok	n	Mean±SD	Minimum	Maksimum
1. Frekuensi EEG menit awal injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	12.28±0.60	11.33	12.83
b. P100	6	12.91±0.35	12.50	13.33
c. P200	6	13.47±0.37	13.00	14.00
d. P400	6	13.78±0.50	13.00	14.33
Total	24			
2. Frekuensi EEG menit ke-10 setelah injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	12.28±0.18	12.00	12.55
b. P100	6	12.59±0.66	12.00	13.83
c. P200	6	14.10±0.81	12.67	14.75
d. P400	6	13.81±1.05	12.69	15.29
Total	24			
3. Frekuensi EEG menit ke-20 setelah injeksi bicuculline				
a. kontrol	6	10.62±0.71	9.57	11.50
b. P100	6	11.91±1.02	10.67	13.67
c. P200	6	14.67±1.01	12.75	15.50
d. P400	6	14.52±1.03	13.25	15.67
Total	24			
4. Frekuensi EEG menit ke-30 setelah injeksi bicuculline				
a. kontrol				
b. P100	6	8.96±0.90	7.42	9.88
c. P200	6	11.80±1.25	10.60	13.80
d. P400	6	15.22±0.75	13.71	15.67
Total	6	15.63±0.27	15.30	16.00
	24			

IV.2.3 Gambar grafik rerata amplitudo dan frekuensi berbagai kelompok uji dan waktu perekaman.

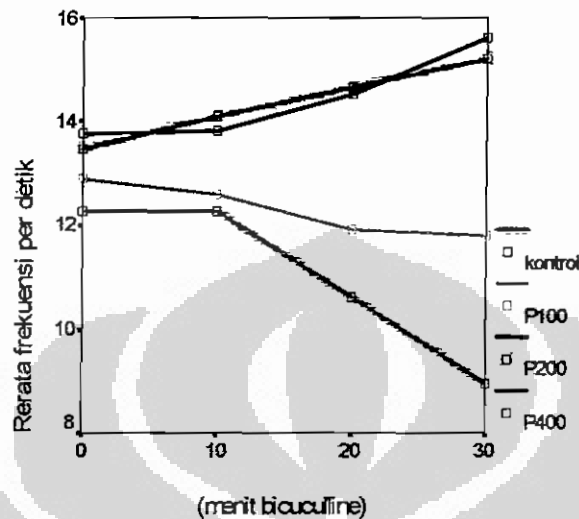
Berikut adalah gambar grafik rerata amplitudo (dalam mm) kelompok kontrol, kelompok perlakuan piperin 100 mg/kg BB, piperin 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB pada perekaman yang berbeda:



Gambar 11. Amplitudo rekaman EEG (dalam mm) pada berbagai kelompok uji dan berbagai waktu perekaman.

Dari gambar grafik diatas tampak sekali perbedaan antara kontrol dan perlakuan, bahwa pada kontrol dengan pemberian bicuculline saja terjadi peningkatan amplitudo, sedangkan pada kelompok perlakuan piperin 100 mg/kg BB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tampak terjadi penurunan amplitudo dibandingkan kontrol.

Berikut adalah gambar grafik rerata frekuensi per detik kelompok kontrol, kelompok perlakuan piperin 100 mg/kg BB, piperin 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB pada perekaman yang berbeda:



Gambar 12. Frekuensi rekaman EEG (perdetik) pada berbagai kelompok uji dan berbagai waktu perekaman.

Dari gambar grafik diatas tampak sekali perbedaan antara kontrol dan perlakuan, bahwa pada kontrol dengan pemberian bicuculline saja terjadi penurunan frekuensi, sedangkan pada kelompok perlakuan piperin 100 mg/kg BB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tampak terjadi peningkatan frekuensi dibandingkan kontrol.

IV.4. Analisis Statistik

Variabel amplitudo.

Hasil uji kemaknaan anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan amplitudo yang bermakna pada waktu awal ($p=0,015$) sehingga untuk menit ke-40, menit ke-50 dan menit ke-60 yang akan dibandingkan antar kelompok adalah perbedaan dengan nilai awal (*difference from baseline*), *baseline* adalah menit ke-30.

Hasil uji anova menunjukkan bahwa perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-40 menunjukkan tidak terdapat hasil yang berbeda bermakna ($F=1.3$; $p=0.3$), sedangkan perbedaan amplitudo dengan nilai awal pada menit ke-50 menunjukkan hasil yang berbeda bermakna ($F=10.6$; $p<0.001$), demikian juga dengan perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-60 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna ($F=41.9$; $p<0.001$). Hasil uji anova variabel amplitudo ini menunjukkan bahwa dengan bertambahnya waktu maka kerja piperin semakin meningkat dan mencapai nilai optimal pada menit ke-60 pemberian.

Berikut tabel multiple comparisons Bonferroni perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-50:

Tabel 4. Hasil uji Bonferroni perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-50

Kelompok	Kontrol	P100	P200	P400
Nilai rata-rata	1.11	-0.44	-0.29	-0.39
Kontrol	1.11	—	—	—
P100	-0.44	1.55*	—	—
P200	-0.29	1.40**	-0.15	—
P400	-0.39	1.50***	-0.05	0.1

* $p=0.001$ ** $p=0.002$ *** $p=0.001$

Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-50 menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kontrol dan pip 100 ($p=0.001$), terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan pip 200 ($p=0.002$) dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pip 400 ($p=0.001$).

Berikut tabel multiple comparisons Bonferroni perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-60:

Tabel 5. Hasil uji Bonferroni perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-60

Kelompok	Kontrol	P100	P200	P400
Nilai rata-rata	3.15	-0.61	-0.86	-0.60
Kontrol	3.15	—	—	—
P100	-0.61	3.76*	—	—
P200	-0.86	4.01**	-0.25	—
P400	-0.60	3.75***	-0.01	-0.26

* $p < 0.001$ ** $p < 0.001$ *** $p < 0.001$

Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa perbedaan amplitudo dengan menit awal pada menit ke-60 menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kontrol dan piperin 100mg/kgBB ($p < 0.001$), terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan piperin 200mg/kgBB ($p < 0.001$) dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan piperin 400mg/kgBB ($p < 0.001$).

Dari hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa pemberian piperin dosis 100mg/kgBB sudah efektif sehingga tidak memerlukan dosis yang lebih besar.

Variabel frekuensi.

Hasil uji kemaknaan anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan frekuensi yang bermakna pada waktu awal ($p < 0.001$) sehingga untuk menit ke-40, menit ke-50 dan menit ke-60 yang akan dibandingkan antar kelompok adalah perbedaan dengan nilai awal (*difference from baseline*), *baseline adalah menit ke-30*.

Hasil uji anova menunjukkan bahwa perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-40 menunjukkan tidak terdapat hasil yang berbeda bermakna ($F=1.01$; $p=0.409$), sedangkan perbedaan frekuensi dengan nilai awal pada menit ke-50 menunjukkan hasil yang berbeda bermakna ($F=8.51$; $p=0.001$), demikian juga dengan perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-60 juga menunjukkan perbedaan yang bermakna ($F=55.53$; $p<0.001$). Hasil uji anova variabel frekuensi ini menunjukkan bahwa dengan bertambahnya waktu maka kerja piperin semakin meningkat dan mencapai nilai optimal pada menit ke-60 pemberian.

Berikut tabel multiple comparisons Bonferroni perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-50:

Tabel 6. Hasil uji Bonferroni perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-50

Kelompok	Kontrol	P100	P200	P400
Nilai rata-rata	-1.66	-0.99	1.20	0.74
Kontrol	-1.66			
P100	-0.99	-0.67*		
P200	1.20	-2.86**	-2.19	
P400	0.74	-2.40***	-1.73	0.46

* $p=1$ ** $p=0.002$ *** $p=0.010$

Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-50 menunjukkan pemberian dosis piperin 100mg/kgBB memiliki kecenderungan meningkatkan frekuensi, namun belum bermakna.

Berikut tabel multiple comparisons Bonferroni perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-60:

Tabel 7. Hasil uji Bonferroni perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-60

Kelompok	Kontrol	P100	P200	P400
Nilai rata-rata	-3.32	-1.11	1.74	1.85
Kontrol	-3.32	—		
P100	-1.11	-2.21*	—	
P200	1.74	-5.06**	-2.85	—
P400	1.85	-5.17***	-2.96	-0.11

*p=0.001 **p<0.001 ***p<0.001

Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa perbedaan frekuensi dengan menit awal pada menit ke-60 menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kontrol dan piperin 100mg/kgBB ($p=0.001$), terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan piperin 200mg/kgBB ($p<0.001$) dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan piperin 400mg/kgBB ($p<0.001$).

Hasil analisis statistik variabel amplitudo dan frekuensi menunjukkan bahwa pemberian piperin dosis 100 mg/kgBB yang paling efektif menurunkan amplitudo secara bermakna dan meningkatkan frekuensi setelah menit ke-60 pemberian piperin.

BAB V

PEMBAHASAN

Kejang merupakan bentuk yang paling ekstrim dari sinkronisasi kegiatan listrik otak, yang terjadi sebagai tanda gejala kerusakan atau kelainan kegiatan listrik otak. Baik pada kejang umum (yang meliputi keseluruhan korteks serebri kedua hemisfer) maupun kejang sebagian, neuron-neuron mengalami area "firing" dengan sinkronisasi. Misalnya area audio mengalami "firing" maka area yang lain seperti penglihatan, motorik, pendengaran dan yang lain turut mengalami "firing" dengan waktu yang bersamaan. Sinkronisasi tersebut umumnya tidak pernah terjadi selama kondisi normal. Sebagai konsekuensinya kejang selalu di sertai gambaran EEG yang sangat besar.^{5,9}

Kejang merupakan perubahan tiba-tiba perilaku akibat peningkatan kegiatan listrik di otak. Kejang terbagi menjadi kejang yang berasal dari satu hemisfer serebrum (kejang parsial atau lokal) dan kejang yang melibatkan kedua hemisfer secara serempak (kejang umum). Tiap kategori dibagi-bagi lebih lanjut. Kejang parsial meliputi: kejang parsial sederhana, kejang jacksonian, kejang kompleks parsial, epilepsia parsialis. Kejang umum meliputi : grand mal/ kejang tonik-klonik, epilepsi umum primer, kejang absence, kejang atonik, dan status epileptik (yang merupakan kondisi paling serius pada kejang).. Penyebab kejang sangat beragam, antara lain trauma kepala, infeksi, tumor otak, stroke, demam yang sangat tinggi, ataupun terpapar zat-zat toksik.^{14,15,16}

Bicuculline digunakan pada hewan uji sebagai zat epileptogenik yang dapat menghasilkan gambaran kejang pada EEG, sebagaimana diteliti oleh Snead dkk, bahwa pemberian bicuculline dengan dosis yang berbeda sebagai antagonis reseptor GABA_A akan menimbulkan tiga jenis kejang. Pemberian bicuculline dosis 3 mg/kgBB i.p menghasilkan kejang absence, dosis 4,5 mg/kgBB i.p menghasilkan kejang klonik dan dosis 5,5 mg/kgBB i.p kejang tonik.

Pada penelitian ini, piperin ekstrak lada jawa diteliti penggunaannya sebagai obat herbal yang lebih murah dalam memproteksi kejang yang ditimbulkan oleh antagonis GABA_A reseptor (bicuculline).

Hasil penelitian, perekaman EEG menunjukkan pemberian piperin dosis 100 mg/kgBB, 200mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dapat meningkatkan frekuensi secara bermakna dan menurunkan amplitudo secara bermakna. Pada table adanya kejang yang ditandai spike jelas sekali bahwa kejang hanya terjadi pada kelompok kontrol, sedangkan kelompok perlakuan dengan piperin 100mg/kgBB, kelompok piperin 200mg/kgBB dan kelompok piperin 400mg/kgBB tidak tampak gelombang spike.

Semua data yang didapat dari hasil penelitian ini mengarahkan kita pada satu hal yaitu piperin berbagai dosis menurunkan kegiatan listrik otak tikus akibat induksi kejang oleh bicuculline yaitu amplitudo yang semakin menurun dan frekuensi yang semakin meningkat.

Dengan membandingkan frekuensi dan amplitudo kelompok perlakuan piperin 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB maka didapatkan bahwa pada perlakuan piperin dosis 100 mg/kgBB lebih efektif menurunkan kegiatan listrik otak kejang mendekati normal yaitu dengan hasil uji bonferroni yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna kelompok kontrol dan piperin 100 mg/kgBB perbandingan dengan menit awal pada variabel amplitudo dan frekuensi.

Piperin dapat menurunkan kegiatan listrik otak tikus kejang, hal ini berhubungan dengan peningkatan konsentrasi 5-HT. Sebagaimana pada penelitian terdahulu bahwa piperin dapat menghambat kejang klonik pada binatang. Mekanismenya diduga melalui meningkatnya asam amino inhibitor, atau peningkatan sistem serotonin (5-Hydroxytryptamine). Nitz dkk, dalam penelitiannya tentang kerja 5-Hydroxytryptamine (5-HT), menemukan bahwa penglepasan 5HT menyebabkan timbulnya inhibisi pada interneuron hipokampus yang disebabkan oleh modulasi kanal ion K^+ oleh reseptor 5-HT.

GABA yang pada keadaan kejang terhambat fungsinya oleh bicuculline diaktifkan kembali oleh piperin, melalui aktivasi reseptor 5-HT_{2C}, sehingga neuron-neuron dalam kondisi eksitabilitas normal dan mengalami potensial aksi secara asinkron, serta menghasilkan kondisi peningkatan frekuensi dan penurunan amplitudo pada gambaran EEG (alert).

Pada penelitian sebelumnya oleh Shin dkk, tikus disuntik intraperitoneal striknin 1,2 mg/kg. Dosis ini dapat menyebabkan tikus kejang tonik dan lebih dari 50% tikus mati pada kontrol, sedang dengan pemberian piperin tikus diobservasi selama 30 menit dan jumlah kematian dihitung. Hasil perbandingan antara tikus yang bertahan hidup dengan yang digunakan adalah pada kelompok kontrol 2/10 sedang pada pemberian piperin 10/10.³

Pei dkk, meneliti aktivitas antikonvulsan piperin dan derivatnya dengan menggunakan maximal elektroshock seizures (MES) pada tikus. Piperin dan derivatnya (50-400 mg/kg, i.p) ditemukan sebagai antagonis kejang yang dihasilkan oleh pikrotoksin (3 mg/kg) dan striknin (1,5 mg/kg) pada tikus. Piperin (50-150 mg/kg, i.p) juga dapat meringankan kejang yang ditimbulkan oleh suntikan d-tubocurarine (9 g/tikus) atau sodium L-glutamate (6 mg/kg).^{4,7}

Hasil uji anova penelitian ini menunjukkan bahwa dengan bertambahnya waktu maka nilai F (rasio varians antar kelompok dan dalam kelompok) semakin besar sedangkan nilai p semakin kecil baik pada variabel amplitudo maupun frekuensi, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada menit ke-10 injeksi bicuculline atau 40 menit pemberian piperin maka bicuculline maupun piperin belum bekerja, dan setelah 20 menit injeksi bicuculline atau 50 menit pemberian piperin tampak bicuculline maupun piperin sudah mulai bekerja namun belum optimal, dan pada menit ke-30 injeksi bicuculline atau 60 menit setelah pemberian piperin merupakan kerja yang paling optimal bagi bicuculline dan piperin. Hasil penelitian ini menemukan bahwa piperin bekerja optimal setelah 60 menit pemberian hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Pei yang menemukan kerja optimal piperin berhubungan dengan nilai puncak kadar 5-HT pada menit ke-60. Pei dan kuferberg, yang meneliti mekanisme antikejang piperin, hasilnya berhubungan dengan sistem serotonin (5-HT). Tikus disuntikan dengan derivat piperin (1000 mg/kg, i.p) kemudian konsentrasi monoaminnya dihitung. Hasilnya konsentrasi 5-HT dan 5-hydroxyndoleacetic acid (5-HIAA) meningkat, dan mencapai nilai puncak setelah satu jam. Kemudian konsentrasi 5-HT dan 5-HIAA semakin menurun dan mencapai nilai normal dalam waktu 12 jam. Perubahan konsentrasi 5-HT dan 5-HIAA sejalan dengan kerja anti MESnya pada tikus. Kerja antikejang meningkat sejalan dengan peningkatan nilai 5-HT

dan aktivitas antikejangnya menurun sejalan dengan penurunan konsentrasi 5-HT.^{4,7}

Pada penelitian sebelumnya dilakukan oleh Nitz tentang piperin ditemukan bahwa piperin dapat menghambat kejang klonik pada binatang yang ditimbulkan oleh aktivasi reseptor excitatory amino acid (EAA). Mekanismenya diduga melalui meningkatnya asam amino inhibitor, atau peningkatan sistem serotonin (5-Hydroxytryptamine), bahwa pelepasan 5-HT menyebabkan timbulnya inhibisi pada interneuron hipokampus yang disebabkan oleh modulasi kanal ion K^+ oleh reseptor 5-HT.²⁸

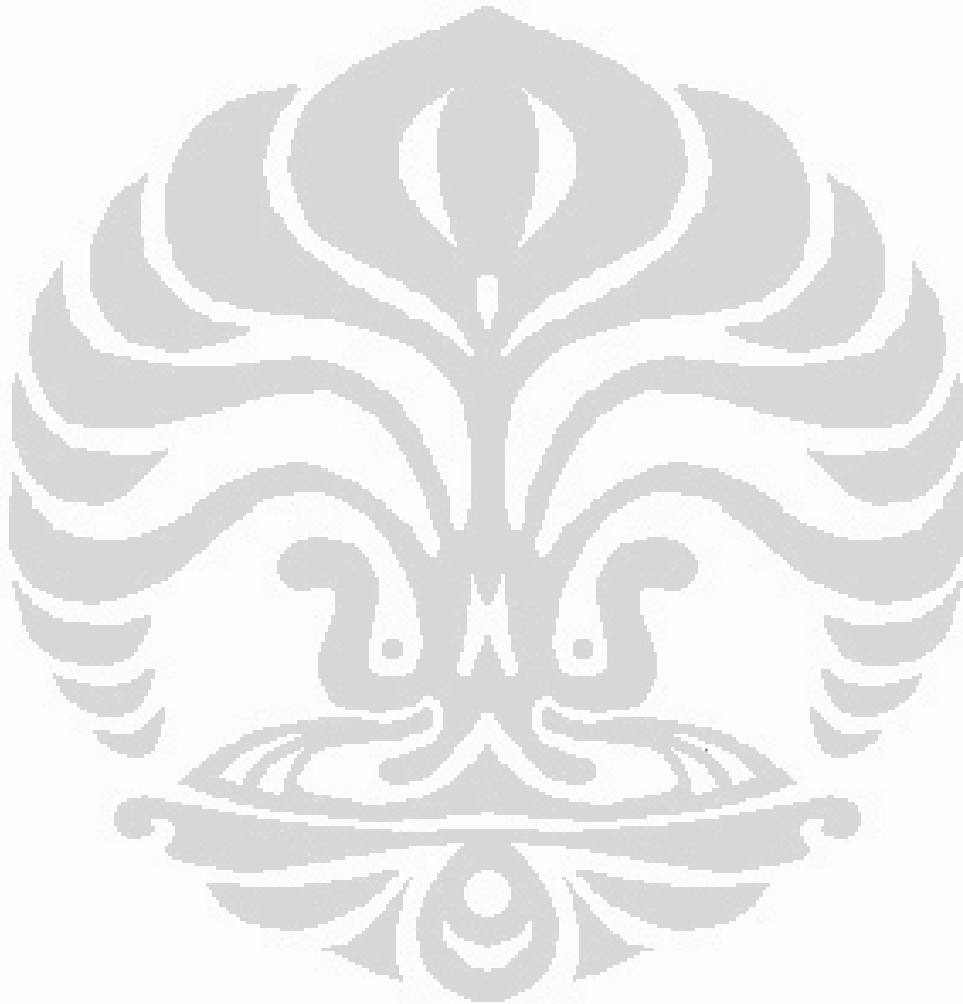
Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) dibentuk dalam tubuh melalui hidrosilasi dan dekarboksilasi asam amino esensial triptofan. Setelah dilepaskan oleh neuron-neuron serotonergik, sebagian serotonin tersebut diambil kembali melalui mekanisme ambilan aktif dan diinaktivasi oleh MAO untuk membentuk asam 5-hidroksi-indolasetat (5-HIAA) yang merupakan metabolit utama serotonin dalam kemih.^{11,13}

Zat kimia seperti piperin yang dapat meningkatkan kadar serotonin ekstrasel (5-Hydroxytryptamine, 5-HT) seperti 5-Hydrotrythopan atau 5-HT akan menyebabkan timbulnya inhibisi pada interneuron hipokampus, sebaliknya penurunan kadar serotonin (5-HT) otak kurang dari ambang batasnya secara audiogenetik, kimiawi dan kelistrikan akan menyebabkan kejang.²⁹

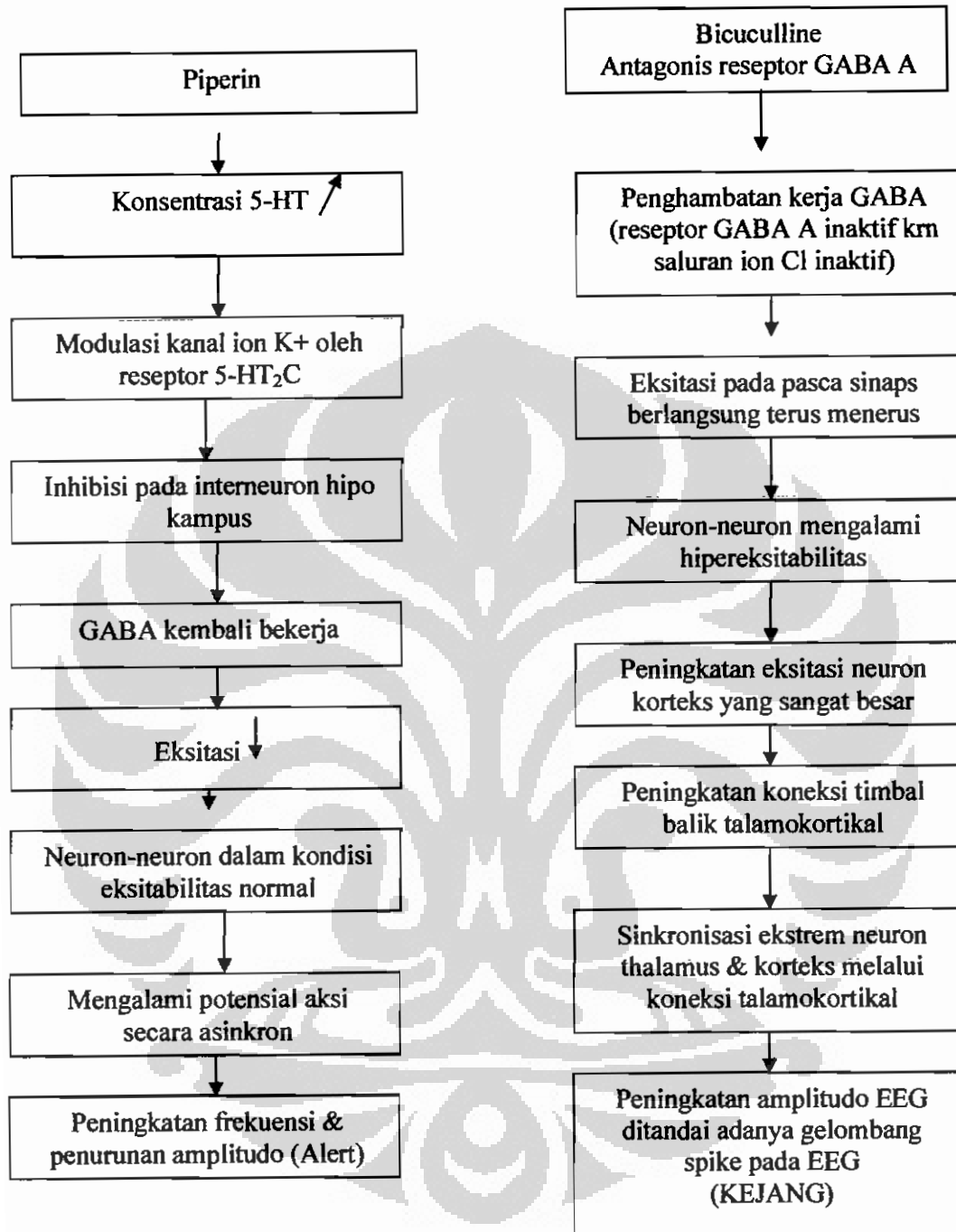
Isaac meneliti reseptor serotonergik 5-HT_{2C} sebagai target potensial terapi untuk obat-obat antiepilepsi, demikian juga Lora menemukan melalui 5-HT_{2C}.^{30,31} Mekanisme yang jelas secara molekuler tentang kerja piperin dalam kejang masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

Dalam penelitian ini, piperin yang digunakan adalah dosis 100mg/kgBB, dosis 200mg/kgBB, dan 400mg/kgBB mengacu pada Pei yang telah menggunakan dosis 50-400 mg/kgBB, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa piperin ekstrak cabe jawa memiliki potensi proteksi yang lebih tinggi sehingga dengan pemberian dosis kecil yaitu 100mg/kgBB sudah mampu memproteksi peningkatan kegiatan listrik otak tikus. Perlu kiranya dilakukan penelitian lanjutan menggunakan dosis yang lebih kecil mulai dari 10mg/kgBB, 50mg/kgBB, 100mg/kgBB dan 150

mg/kgBB sehingga diketahui dosis piperin ekstrak cabe jawa yang paling efektif dan optimal sebelum dijadikan alternatif proteksi kejang pada manusia.



PEMBAHASAN



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari keseluruhan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Piperin dapat menurunkan kegiatan listrik otak tikus yang diinduksi kejang oleh bicucullin baik pemberian piperin dosis 100mg/kgBB, dosis 200mg/kgBB dan dosis 400mg/kgBB, yang terbukti dengan menghilangnya gelombang spike serta menurunnya amplitudo dan meningkatnya frekuensi pada perekaman EEG hewan uji kelompok perlakuan dibandingkan kontrol tanpa piperin.
2. Kerja piperin dosis 100 mg/kgBB paling efektif dibandingkan piperin dosis lain karena menghasilkan amplitudo dan frekuensi yang mendekati normal, dan waktu optimal menurunkan kegiatan listrik otak tikus kejang adalah setelah 60 menit pemberian piperin.

Saran :

1. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai kerja piperin terutama ditingkat molekuler seperti reseptor-reseptor yang terlibat dan mekanisme yang lebih rinci yang mendasari perannya dalam penurunan kegiatan listrik otak.
2. Perlu kiranya dilakukan penelitian lanjutan menggunakan dosis yang lebih kecil mulai dari 10mg/kgBB, 50mg/kgBB, 100mg/kgBB dan 150 mg/kgBB sehingga diketahui dosis piperin ekstrak cabe jawa yang paling efektif sebelum dijadikan alternatif proteksi kejang pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hargono D. Beberapa informasi tentang Retrofracti Fructus. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 1994; 3:4-7.
2. D'Hooge R, Yin QP, Raes A, Lebrun P, Van Bogaert PP, De Deyn PP. Anticonvulsant activity of Piperine on seizures induced by Excitatory Amino Acid Receptor Agonist. Department of Pharmacology Beijing Medical College; 1996.
3. Shin, Yun, Woo, Loe. Pharmacologically active principle of Piper retrofractum. *Kor. J. Pharmacog.* 1979;10(2):69-71.
4. Pei YQ. A review of pharmacology and clinical use of piperin and its derivatives. Department of Pharmacology: Beijing Medical College; 1983.
5. Baer MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neuroscience: Exploring the Brain*. Edisi 2. Baltimore: Lippincott William & Wilkins. 2001.p.607-15
6. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principle of neural science*. Edisi 4; 2000.p 939.
7. Kupferberg HJ. Antiepileptic drug development program: A cooperative effort of government and industry. *Epilepsia*. 1989;30(suppl 1):51-56.
8. Sherwood. *Human Physiology From Cells to Systems*. Edisi 4; 2001. p143-4
9. Sphelmann L. *EEG Primer*. Fifth Printing. Amsterdam: Elsevier Biomedical.; 1987.p7-12.
10. De Groot J. *Neuroanatomy korelatif*. Edisi 21; 1994 Jakarta:EGC.
11. Guyton & Hall. *Textbook of medical Physiology*, 9th ed; 1999.p 763-765
12. Sepherd G M. *Neurobiologi*, 3rd ed; 1994. p 549-561
13. Ganong WF. *Review of Medical Physiology*. Edisi ke-20. Appleton & Lange Inc, 2004.p188-195
14. Goetz CG. *Text book of Clinical Neurology*. 2nd ed. St.Louis, Mo: WB Saunders; 2003.p1158-1160
15. Mrx J. *Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinic Practice*. 5th ed. St.Louis, Mo: Mosby; 2002.p145-149, 1445
16. Hirtz D, Ashwal .S, Berg A, et al. Practice parameter Evaluating a first nonfebrile seizure in children: Report of the Quality Standarts Subcommittee of the American Academy of Neurology, the Child Neurology Society and the American Epilepsy Society. *Neurology*. 2000; 55:616-623.

17. Kjeldsen MJ, Kyvik KO, Friis ML, Christensen K. Genetic and environmental factors in febrile seizures: a Danish population-based twin study. *Epilepsy Res* 2002; 51:167-77
18. Audenaert D, Van broeckhoven C, De Jonghe P. Genes and loci involved in febrile seizure and related epilepsy syndromes. *Hum Mutat* 2006;27:391-401
19. Killian M, Frey H. Central monoamines and convulsive threshold in mice and rats. *Neuropharmac* 1973; 12:p681-692.
20. Champ NV, D'Hooge, Verhoye M, Peeters RR, De Deyn PP, Van Der Linden A. Simultaneous electroencephalographic recording and functional magnetic resonance imaging during PTZ-induced seizures in rats. *Neuroimage* 2003; 19: 627-636.
21. Yananli HR, Terzioglu B, Goren MZ, Aker RG, Aypak C. Extracellular Hypothalamic γ -Aminobutyric Acid (GABA) and L-Glutamic Acid Concentrations in Response to Bicuculline in a Genetic Absence Epilepsy Rat Model. *J Pharmacol Sci* 2008;106:p301-309.
22. Blaylock RL. Food additive excitotoxins and degenerative brain disorders 1999.
23. Zhang YM, Lu XF, Ren C, et al. Review of allergic reaction to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double-blind placebo-controlled study. *J Nutr*, 2000;130:1058S-62S
24. Ashcroft FM. Ion channels and disease. 2000. London: Academic press
25. Bajad, Singla, Bedi. Liquid chromatographic Method for determination of Piperine in Rat Plasma: application to pharmacokinetics. *J Chromatography* 2002; 776: 245-249
26. Pallant J. Survival Manual A step by step guide to data analysis using SPSS. 2nd ed. Allen & Unwin 83 Alexander street, 2005
27. Hanafiah KA. Rancangan Percobaan : Teori dan aplikasi. Edisi ke-2. Jakarta : Rajawali Press, 1993:9
28. Nitz DA, Mc Naughton BL. Hippocampal EEG and unit activity responses to modulation of serotonergic median raphe in the freely behaving rat, *Learning and Memory*. 1999;6:p153-167.
29. Timofeev I, Grenier F, Steriade M. Spike-Wave Complexes and Fast Components of Cortically Generated seizures. IV. Paroxysmal Fast Runs in Cortical and Thalamic Neurons. *J Neurophysiol*. 1998;80:p1495-1513
30. Isaac M. Serotonergic 5-HT_{2C} receptors as potential therapeutic target for the design antiepileptic drugs. *Curr Topics Med Chem* 2005; 5: 59-67
31. Heisler Lora K, Pronchuk, Nonogaki K, Zhou L, Raber J, Tung L, Yeo GSH, O'Rahilly, Colmers WF, Elmquist JK, Tecott LH. Serotonin Activates the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis via Serotonin 2C Receptor Stimulation. *The journal of Neuroscience*, 2007;27(26):p6956-6964

LAMPIRAN

Lampiran 1: Variable amplitudo

Berikut adalah nilai variabel amplitudo per detik pada kelompok kontrol, perlakuan 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB pada waktu perekaman yang berbeda:

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
amplitudo awal	kontrol	6	3.6383	.45486	.18570	3.1610	4.1157	3.23	4.52
	P100	6	3.5017	.60628	.24751	2.8654	4.1379	2.85	4.28
	P200	6	3.3750	.65062	.26562	2.6922	4.0578	2.55	4.55
	P400	6	2.4883	.67502	.27558	1.7799	3.1967	1.55	3.20
	Total	24	3.2508	.72611	.14822	2.9442	3.5574	1.55	4.55
amplitudo setelah 10 menit	kontrol	6	3.6200	.44276	.18076	3.1553	4.0847	3.04	4.20
	P100	6	3.3217	.88885	.36287	2.3889	4.2545	2.39	4.45
	P200	6	2.9267	.59200	.24168	2.3054	3.5479	2.34	3.98
	P400	6	2.0433	.51914	.21194	1.4985	2.5881	1.50	3.02
	Total	24	2.9779	.84620	.17273	2.6206	3.3352	1.50	4.45
amplitudo setelah 20 menit	kontrol	6	4.7533	.63349	.25862	4.0885	5.4181	3.60	5.43
	P100	6	3.0650	.94170	.38445	2.0768	4.0532	2.18	4.63
	P200	6	3.0867	.37468	.15296	2.6935	3.4799	2.80	3.81
	P400	6	2.1017	.56226	.22954	1.5116	2.6917	1.56	3.08
	Total	24	3.2517	1.15270	.23529	2.7649	3.7384	1.56	5.43
amplitudo setelah 30 menit	kontrol	6	6.7850	.91688	.37431	5.8228	7.7472	5.71	8.11
	P100	6	2.8900	1.02659	.41910	1.8127	3.9673	2.14	4.43
	P200	6	2.5133	.61148	.24964	1.8716	3.1550	1.66	3.41
	P400	6	1.8900	.67252	.27455	1.1842	2.5958	1.33	3.13
	Total	24	3.5196	2.10556	.42980	2.6305	4.4087	1.33	8.11

Uji normalitas data

	Kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
amplitudo awal	kontrol	.790	6	.048
	P100	.900	6	.376
	P200	.858	6	.184
	P400	.914	6	.463

Hasil uji normalitas data Shapiro Wilk menunjukkan bahwa variabel amplitudo berdistribusi normal pada: amplitudo awal dosis piperin 100, 200, dan 400 dengan nilai $p > 0.05$.

Uji homogenitas varians

	Levene	df1	df2	Sig.
	Statistic			
amplitudo awal	.755	3	20	.533

Hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa distribusi data amplitudo awal memiliki varians yang homogen dengan nilai $p > 0.05$.

Uji kemaknaan anova

		Sum of	df	Mean	F	Sig.
		Squares		Square		
amplitudo awal	Between Groups	4.859	3	1.620	4.458	.015
	Within Groups	7.267	20	.363		
	Total	12.127	23			

Hasil uji anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada amplitudo pada waktu awal perekaman dengan nilai waktu awal $p 0,015$ sehingga untuk menit ke-10, menit ke 20 dan menit ke 30 yang akan dibandingkan antar kelompok adalah *difference from baseline*, yaitu perbandingan menit ke-40 dengan menit awal, perbandingan menit ke-50 dengan menit awal dan perbandingan menit ke-60 dengan menit awal.

Berikut nilai perbedaan amplitudo dengan baseline(menit ke-30), pada menit ke-40, menit ke-50 dan menit ke-60 setelah pemberian piperin.

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
AMP40_ A	kontrol	6	-.0183	.42523	.17360	-.50	.54
	P100	6	-.1800	.56242	.22961	-.79	.68
	P200	6	-.4483	.33737	.13773	-1.04	-.09
	P400	6	-.4450	.45781	.18690	-1.11	-.05
	Total	24	-.2729	.46183	.09427	-1.11	.68
AMP50_ A	kontrol	6	1.1150	.60698	.24780	.06	1.83
	P100	6	-.4367	.67227	.27445	-1.36	.35
	P200	6	-.2883	.35437	.14467	-.74	.25
	P400	6	-.3867	.55070	.22482	-1.13	.25
	Total	24	.0008	.84043	.17155	-1.36	1.83
AMP60_ A	kontrol	6	3.1467	.86127	.35161	2.19	4.57
	P100	6	-.6117	.86296	.35231	-2.01	.41
	P200	6	-.8617	.65000	.26536	-1.56	.23
	P400	6	-.5983	.45296	.18492	-1.08	.02
	Total	24	.2688	1.83083	.37372	-2.01	4.57

Uji normalias data

	Kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statisti c	df	Sig.
AMP40_A	kontrol	.907	6	.417
	P100	.942	6	.676
	P200	.927	6	.554
	P400	.823	6	.094
AMP50_A	kontrol	.944	6	.688
	P100	.938	6	.641
	P200	.977	6	.937
	P400	.925	6	.539
AMP60_A	kontrol	.946	6	.705
	P100	.950	6	.737
	P200	.943	6	.680
	P400	.922	6	.517

Hasil uji normalitas data Shapiro Wilk menunjukkan bahwa data perbandingan amplitudo menit ke-40 dengan menit awal, perbandingan amplitudo menit ke-50 dengan menit awal dan perbandingan amplitudo menit ke-60 dengan amplitudo awal adalah berdistribusi normal dengan nilai uji Shapiro Wilk $p > 0.05$

Uji homogenitas varians

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
AMP40_A	1.146	3	20	.355
AMP50_A	.668	3	20	.582
AMP60_A	.513	3	20	.678

Hasil homogenitas varians menunjukkan bahwa perbandingan data amplitudo menit ke-40, menit ke-50 dan menit ke-60 dengan menit awal adalah memiliki varians yang homogen.

Uji kemaknaan anova

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
AMP40_A	Between Groups	.803	3	.268	1.305	.300
	Within Groups	4.103	20	.205		
	Total	4.906	23			
AMP50_A	Between Groups	9.999	3	3.333	10.673	.000
	Within Groups	6.246	20	.312		
	Total	16.245	23			
AMP60_A	Between Groups	66.523	3	22.174	41.953	.000
	Within Groups	10.571	20	.529		
	Total	77.094	23			

Hasil uji anova menunjukkan bahwa perbandingan amplitudo menit ke-40 dengan awal tidak terdapat hasil yang berbeda bermakna $p=0.300$, sedangkan perbandingan amplitudo menit ke-50 dengan menit awal terdapat hasil yang berbeda bermakna dengan nilai $p<0.001$, demikian juga dengan perbandingan amplitudo menit ke-60 dengan menit awal terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $p<0.001$.

Uji Multiple Comparisons Bonferroni

Dependent Variable	(I) Kelompok perlakuan	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
AMP50_A	kontrol	P100	1.5517(*)	.32265	.001
		P200	1.4033(*)	.32265	.002
		P400	1.5017(*)	.32265	.001
	P100	kontrol	-1.5517(*)	.32265	.001
		P200	-.1483	.32265	1.000
		P400	-.0500	.32265	1.000
	P200	kontrol	-1.4033(*)	.32265	.002
		P100	.1483	.32265	1.000
		P400	.0983	.32265	1.000
	P400	kontrol	-1.5017(*)	.32265	.001
		P100	.0500	.32265	1.000
		P200	-.0983	.32265	1.000
AMP60_A	kontrol	P100	3.7583(*)	.41974	.000
		P200	4.0083(*)	.41974	.000
		P400	3.7450(*)	.41974	.000
	P100	kontrol	-3.7583(*)	.41974	.000
		P200	.2500	.41974	1.000
		P400	-.0133	.41974	1.000
	P200	kontrol	-4.0083(*)	.41974	.000
		P100	-.2500	.41974	1.000
		P400	-.2633	.41974	1.000
	P400	kontrol	-3.7450(*)	.41974	.000
		P100	.0133	.41974	1.000
		P200	.2633	.41974	1.000

Kesimpulan uji Bonferroni:

1. Perbandingan amplitudo menit ke-50 dengan awal menunjukkan bahwa: terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan pip 100 dengan nilai $p=0.001$, terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan pip 200 dengan nilai $p=0.002$ dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pip 400 dengan nilai $p=0.001$
2. Perbandingan amplitudo menit ke-60 dengan awal menunjukkan bahwa: terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pip 100 dengan nilai $p<0.001$, terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dan pip 200 dengan nilai $p<0.001$ dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan pip 400 dengan nilai $p<0.001$.

Lampiran 2: Variabel frekuensi

Berikut adalah nilai variabel frekuensi per detik pada kelompok kontrol, perlakuan 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB pada waktu perekaman yang berbeda:

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minim um	Maxim um
						Lower Bound	Upper Bound		
Frek awal	kontrol	6	12.2800	.60210	.24580	11.6481	12.9119	11.33	12.83
	P100	6	12.9100	.34963	.14274	12.5431	13.2769	12.50	13.33
	P200	6	13.4717	.37526	.15320	13.0779	13.8655	13.00	14.00
	P400	6	13.7783	.50428	.20587	13.2491	14.3075	13.00	14.33
	Total	24	13.1100	.72943	.14889	12.8020	13.4180	11.33	14.33
Frek stlh 10 menit	kontrol	6	12.2817	.18038	.07364	12.0924	12.4710	12.00	12.55
	P100	6	12.5900	.66399	.27107	11.8932	13.2868	12.00	13.83
	P200	6	14.1050	.80870	.33015	13.2563	14.9537	12.67	14.75
	P400	6	13.8100	1.04719	.42751	12.7110	14.9090	12.69	15.29
	Total	24	13.1967	1.05417	.21518	12.7515	13.6418	12.00	15.29
Frek stlh 20 menit	kontrol	6	10.6167	.71093	.29024	9.8706	11.3627	9.57	11.50
	P100	6	11.9133	1.02432	.41818	10.8384	12.9883	10.67	13.67
	P200	6	14.6750	1.00683	.41104	13.6184	15.7316	12.75	15.50
	P400	6	14.5183	1.03021	.42058	13.4372	15.5995	13.25	15.67
	Total	24	12.9308	1.97667	.40349	12.0962	13.7655	9.57	15.67
Frek stlh 30 menit	kontrol	6	8.9600	.89633	.36592	8.0194	9.9006	7.42	9.88
	P100	6	11.8000	1.24579	.50859	10.4926	13.1074	10.60	13.80
	P200	6	15.2167	.75402	.30783	14.4254	16.0080	13.71	15.67
	P400	6	15.6267	.26726	.10911	15.3462	15.9071	15.30	16.00
	Total	24	12.9008	2.89068	.59006	11.6802	14.1215	7.42	16.00

Uji normalitas data.

	Kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
frekuensi awal	kontrol	.854	6	.168
	P100	.912	6	.450
	P200	.970	6	.892
	P400	.944	6	.690

Shapiro Wilk menunjukkan variabel frekuensi memiliki distribusi yang normal pada frekuensi awal dengan nilai $p > 0.05$.

Uji homogenitas varians

	Levene	df1	df2	Sig.
	Statistic			
frekuensi awal	1.085	3	20	.378

Hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa frekuensi memiliki varians yang homogen dengan nilai $p > 0.05$.

Uji kemaknaan anova.

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
frekuensi awal	Between Groups	7.838	3	2.613	11.878	.000
	Within Groups	4.399	20	.220		
	Total	12.238	23			

Hasil uji kemaknaan anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada frekuensi awal dengan nilai $p < 0.001$ sehingga untuk menit ke-10, menit ke 20 dan menit ke 30 yang akan dibandingkan antar kelompok adalah *difference from baseline*, yaitu perbandingan frekuensi menit ke-40 dengan menit awal, perbandingan frekuensi menit ke-50 dengan menit awal dan perbandingan frekuensi menit ke-60 dengan menit awal.

Berikut nilai perbedaan frekuensi dengan baseline(menit ke-30), pada menit ke-40, menit ke-50 dan menit ke-60 setelah pemberian piperin.

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
frek40_a	kontrol	6	.0017	.59388	.24245	-.63	.80
	P100	6	-.3200	.90098	.36782	-1.13	1.33
	P200	6	.6333	.75171	.30688	-.53	1.67
	P400	6	.0317	1.42321	.58102	-1.19	1.89
	Total	24	.0867	.96958	.19792	-1.19	1.89
FREK50_A	kontrol	6	-1.6633	1.24805	.50951	-3.10	.17
	P100	6	-.9967	1.07271	.43793	-2.66	.67
	P200	6	1.2033	.93414	.38136	-.45	2.33
	P400	6	.7400	1.30664	.53344	-.62	2.40
	Total	24	-.1792	1.61790	.33025	-3.10	2.40
FREK60_A	kontrol	6	-3.3200	.57383	.23426	-4.33	-2.83
	P100	6	-1.1100	1.22305	.49931	-2.53	.80
	P200	6	1.7450	.76772	.31342	.51	2.67
	P400	6	1.8483	.50649	.20678	1.34	2.50
	Total	24	-.2092	2.32753	.47511	-4.33	2.67

Uji normalitas data Shapiro Wilk

	Kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
frek40_a	kontrol	.869	6	.224
	P100	.856	6	.177
	P200	.975	6	.926
	P400	.773	6	.033
FREK50_A	kontrol	.930	6	.580
	P100	.928	6	.562
	P200	.926	6	.552
	P400	.883	6	.283
FREK60_A	kontrol	.834	6	.116
	P100	.946	6	.711
	P200	.961	6	.827
	P400	.863	6	.201

Hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa data perbandingan frekuensi menit ke-40, menit ke-50, menit ke-60 dengan menit awal adalah berdistribusi normal dengan nilai uji Shapiro Wilk $p > 0.05$, kecuali pada delta frekuensi menit ke-40

dan awal pada dosis piperin 400 memiliki distribusi tidak normal dengan nilai $p=0.033$.

Uji homogenitas varians

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
frek40_a	3.048	3	20	.052
FREK50_A	.730	3	20	.546
FREK60_A	2.098	3	20	.133

Hasil uji homogenitas varians menunjukkan bahwa data memiliki varians yang homogen dengan nilai $p > 0.05$.



Uji kemaknaan anova

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
frek40_a	Between Groups	2.847	3	.949	1.011	.409
	Within Groups	18.775	20	.939		
	Total	21.622	23			
FREK50_A	Between Groups	33.763	3	11.254	8.513	.001
	Within Groups	26.441	20	1.322		
	Total	60.205	23			
FREK60_A	Between Groups	111.245	3	37.082	55.531	.000
	Within Groups	13.355	20	.668		
	Total	124.600	23			

Hasil uji anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada perbandingan frekuensi menit ke-40 dengan menit awal $p=0.409$. Sedangkan terdapat perbedaan yang bermakna pada data perbandingan frekuensi menit ke-50 dengan frekuensi menit awal. Demikian juga terdapat perbedaan yang bermakna pada data perbandingan frekuensi menit ke-60 dengan frekuensi menit awal.

Uji Multiple Comparisons Bonferroni

Dependent Variable	(I) Kelompok perlakuan	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
FREK50_A	kontrol	P100	-.6667	.66384	1.000
		P200	-2.8667(*)	.66384	.002
		P400	-2.4033(*)	.66384	.010
	P100	kontrol	.6667	.66384	1.000
		P200	-2.2000(*)	.66384	.021
		P400	-1.7367	.66384	.099
	P200	kontrol	2.8667(*)	.66384	.002
		P100	2.2000(*)	.66384	.021
		P400	.4633	.66384	1.000
	P400	kontrol	2.4033(*)	.66384	.010
		P100	1.7367	.66384	.099
		P200	-.4633	.66384	1.000
FREK60_A	kontrol	P100	-2.2100(*)	.47179	.001
		P200	-5.0650(*)	.47179	.000
		P400	-5.1683(*)	.47179	.000
	P100	kontrol	2.2100(*)	.47179	.001
		P200	-2.8550(*)	.47179	.000
		P400	-2.9583(*)	.47179	.000
	P200	kontrol	5.0650(*)	.47179	.000
		P100	2.8550(*)	.47179	.000
		P400	-.1033	.47179	1.000
	P400	kontrol	5.1683(*)	.47179	.000
		P100	2.9583(*)	.47179	.000
		P200	.1033	.47179	1.000

Kesimpulan uji bonferroni:

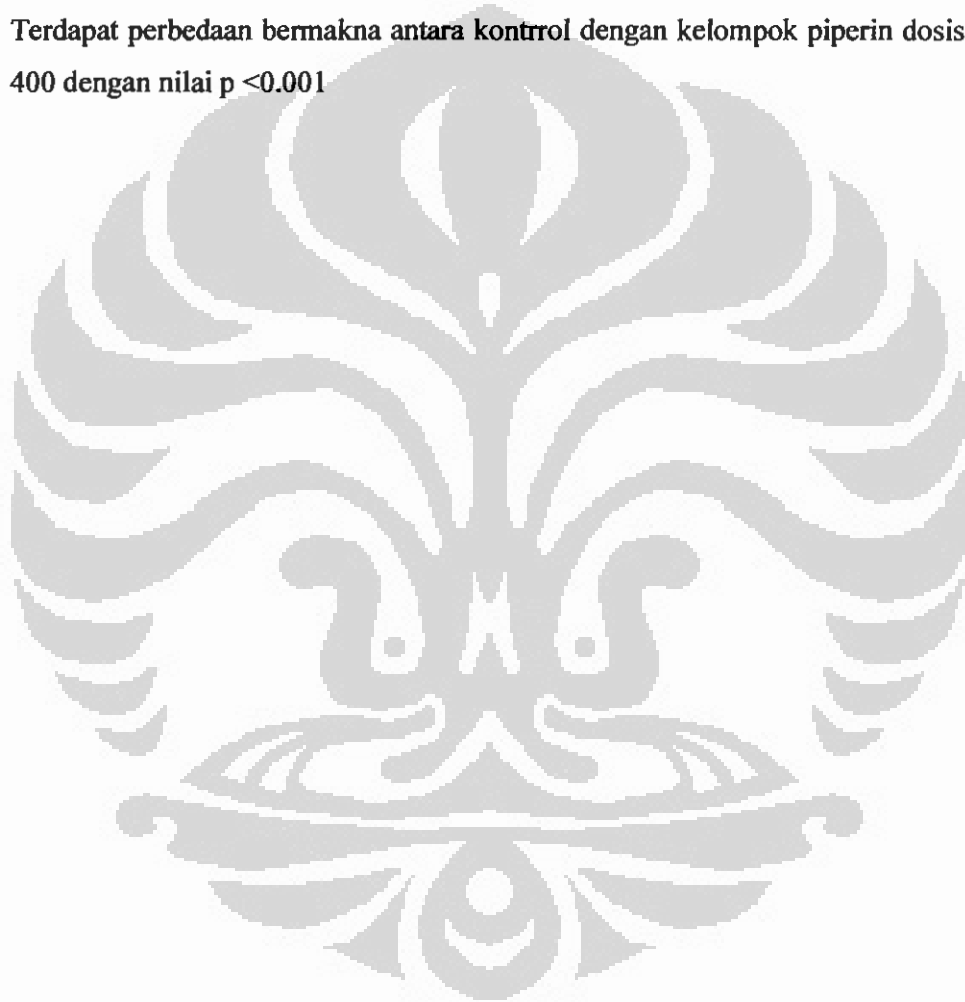
Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa perbandingan frekuensi menit ke-50 dengan frekuensi menit awal :

- Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan kelompok piperin dosis 100 dengan nilai $p=1$,
- Terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan kelompok piperin dosis 200 dengan nilai $p=0.002$

- Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan piperin 400 dengan nilai $p=0.010$.

Hasil uji Bonferroni menunjukkan bahwa perbandingan frekuensi menit ke-60 dengan frekuensi menit awal :

- Terdapat perbedaan bermakna antara kontrol dengan kelompok piperin dosis 100 dengan nilai $p=0.001$
- Terdapat perbedaan bermakna antara kontrol dengan kelompok piperin dosis 200 dengan nilai $p < 0.001$
- Terdapat perbedaan bermakna antara kontrol dengan kelompok piperin dosis 400 dengan nilai $p < 0.001$





DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama Lengkap : Ratna Pelawati, SKp
 NPM : 6105010183
 Alamat : Jl.Kebon Manggis I No H8 Matraman Jak-Tim
 Umur/ kelamin/ Agama : 30 tahun/Perempuan/Islam
 Tempat/tgl lahir : Jakarta, 15 Februari 1978

Riwayat Pendidikan

1. SDN Kalisari 03 Pagi, Jakarta Timur Lulus tahun 1990
2. SMP Negeri 103 Jakarta Timur Lulus tahun 1993
3. SMA Negeri 39 Jakarta Timur Lulus tahun 1996
4. S1 Keperawatan FIK-UI Jakarta Lulus tahun 2000
5. 2005-sekarang : Kekhususan Fisiologi Program Studi Ilmu Biomedik
Program pasca sarjana Fakultas Kedokteran UI

Jakarta, 20 Juni 2008

(Ratna Pelawati, SKp)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ratna Pelawati

NPM : 6105010183

Program Studi: Magister Ilmu Biomedik

Departemen : Fisiologi

Fakultas : Kedokteran Universitas Indonesia

Jenis karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

EFEK PROTEKTIF PIPERIN TERHADAP PENINGKATAN KEGIATAN LISTRIK OTAK TIKUS KEJANG AKIBAT INDUKDI OLEH BICUCULLINE
Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengelihatmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa izin sari saya selama tetap mencantumkan saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta

Pada tanggal: 20 Juni 2008

Yang menyatakan



(Ratna Pelawati)

Universitas Indonesia

THE PROTECTIVE EFFECT OF PIPPERINE ON ELECTRICAL ACTIVITY OF THE BRAIN OF THE SEIZURE'S RATS INDUCED BY BICUCULLINE

Ratna Pelawati*, Nurhadi Ibrahim**, Frans D. Suyatna***

*Student of Magister of Biomedical Science, Faculty of Medicine University of Indonesia

**Department of Physiology, Faculty of Medicine University of Indonesia

***Department of Pharmacology Faculty of Medicine University of Indonesia

Jln. Salemba Raya 6, Jakarta 10430

ABSTRACT

This study is conducted to investigate the protective effect of piperine on the electrical activity of the brain's of seizure's rat induced by bicuculline based on the alteration of frequency and amplitude of electroencephalogram, compared with the control group. Twenty four Sprague Dawley rats were divided into four treated groups; the control group was given bicuculline parenterally without piperine and 3 treated groups were given piperine orally of with 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400mg/kgBW before the administration of bicuculline.

Control group showed the increasing of amplitude and decreasing of frequency followed with spike appearance in EEG wave. The administration of piperine of 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400mg/kgBW in the treated group showed absence of spike wave, decreased amplitude and increased frequency at the EEG record. From 3 doses of treated group, piperine 100mg/kgBW at the 60th minutes after administrated, showed the highest protective effect in decreasing the amplitude and increasing frequency of EEG wave, compared with 200mg/kgBW and 400mg/kgBW piperine groups.

Keywords: piperine, amplitude, frequency, electroencephalogram and bicuculline

The prevalence of disease with seizure symptom in Indonesia is quite high. D'Hooge et al found that piperine contained in black pepper have anticonvulsant effect². They also found the major component of black pepper: alkaloid piperine. Shin et al conducted a study of piperine activity as an inhibitor in Central Nervous System.³ Piperine was also showed have an activity of broad pharmacological effect such as sedative, muscle relaxant, depressing nervous reflex, influencing respiratory system and increasing digestive absorbtion.^{2,3}

Piperine produced by different country have different efficacy, so that this study consider it is necessary to find out the effect of piperine extract from original Java pepper.

In the study of Pei using mice, piperine dose 50-400mg/kgBW showed anticonvulsant effect, with the inducer are stricnine and picrotoxin. Meanwhile the study of prevention effect of piperine (extract from Java pepper) against the increasing of electrical activity of seizure's rats brain on treated animal induced by bicuculline, never done in Indonesia.

Bicuculline is an inhibitory amino acid antagonist which potent in blocking GABA receptor, so that the bicuculline has a potential induced seizures. The

mechanisms of the appearance of the seizure caused by bicuculline is by the inhibition of GABA activity so that maintain the excitation of post synaptic potential membran. Kupferberg found that administering bicuculline with the dose 2,7 mg/kgBW sc will induced clonic seizure in treated animals.^{5,6,7} So that, this study is using bicuculline as an inducer in clonic seizure.

METHODS

Animal test

Animal test using in this study are three months olds male Sprague Dawley rats, with weight 180-230 gr, healthy condition and never been used in study before. Before the test, rats must be in quite condition in recording, and have normal result of recorded EEG wave. After running a test, the rats must be separated and not used in further test. Rats divided into 4 groups, contain 6 each; 1 control group and 3 treated group.

Laboratory treatment

Control group is administered by CMC (Carboxymethyl Cellulose) 1% without piperine administration. In the 1 control group and 3 treated group is administered by piperine. Rats was shaved in the location of SC injection of bicuculline with dose 2,7 mg/kgBW after 30 minutes piperine administration. Recording of EEG is carries at the minutes of -30, -40, -50 and -60 after piperine administration in 3 treated group. Recording is also carried on the control group.

Operational definition

In this experimental study, used seizure signed with the appearance of spike wave, alteration of amplitude and frequency in recorded EEG wave as a parameter. Measurement of amplitude carried by counting the wave appear manually with magnifying glass. Amplitude is measure by count the distance of lowest point to the highest point from the baseline, the value for one animal is the mean of 10 seconds recording. Meanwhile the measure of frequency carried by counting the repeat of wave appear on 10 seconds, the value for one animal is the mean of 10 second.

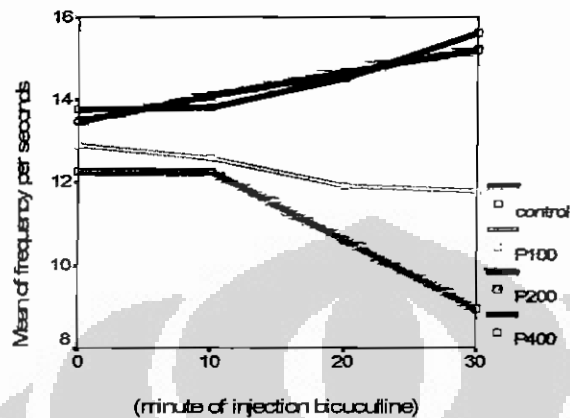
Data management

The data is processed by anova test to investigate the mean difference between more than 2 treated group with the control group.

RESULTS

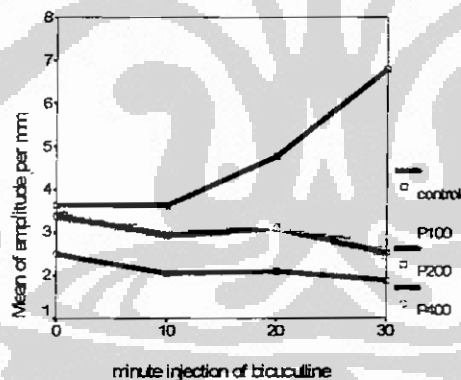
EEG recording in control group and control group 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400mg/kgBW showed that seizure signed with spike wave only happened in control group.

Here are the following picture of mean frequency per seconds on the different treated group and different recording.



Picture 1. Mean of frequency per seconds

Here are the following picture of mean amplitude per mm on the different treated group and different recording



Picture 2. Mean of amplitude per mm

Picture of comparing mean frequency and amplitude above showed that piperine administration 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400mg/kgBW decreasing the amplitude and increasing frequency. And then continue with statistical test to search the most effective dose.

Statistical Analysis

Amplitude variable

Anova test showed the significant difference in amplitude on the beginning of recording ($p < 0.015$) so that in the minute of 40, 50 and 60 which will compare on each

group is the difference of first recording value (different from baseline), baseline is on the minute of 30.

The result of anova test showed the difference of amplitude in the beginning of 40 minutes group is not significant in statistic, meanwhile amplitude of the beginning of 50 minutes group showed the significant in statistic ($p < 0.001$), similar with the 60th minutes group showed significant difference $p < 0.001$.

The result of Bonferroni test the 50th minute showed that the difference is significant between control group and piperine 100mg/kgBW ($p = 0.001$), there is significant difference between piperine 200mg/kgBW ($p = 0.002$) and there is significant difference between control group with piperine 400mg/kgBW ($p = 0.001$)

The result of Bonferroni test the 60th minute showed that the difference is significant between control group and piperine 100mg/kgBW ($p < 0.001$), there is significant difference between piperine 200mg/kgBW ($p < 0.001$) and there is significant difference between control group with piperine 400mg/kgBW ($p < 0.001$) The analysis already showed significant different of the 50th minutes group, and showed more significant different of the 60th minutes group. That is describe that piperine reach the peak after 60th minutes administration, had decreased amplitude and increased frequency more effective after 1 hour. Bonferroni test showed that administration of piperine dose 100mg/kgBW were effective so the higher dose not necessary to administer.

Frequency variable

The result of anova significantly test showed that there is a significant difference in the beginning of the recording ($p < 0.001$) so that for the 40th minutes, 50th and 60th which will compare in each group is the initial value (difference from baseline), meanwhile the baseline is in the 30th minutes.

The result of anova test showed that difference in frequency with the initial recording at the 40th minutes showed that there is not significant difference, in the other side, the difference in frequency at initial value of the 50th minutes showed the significant difference ($p = 0.001$), either the frequency of initial minutes of 60th minutes group showed the significant difference as well.

The result of Bonferroni test showed the difference in frequency with the initial value of 50th minutes group showed no significant between control and pip 100 ($p = 1$), meanwhile there is a significant difference between control and pip 200 ($p = 0.002$) and there is significant difference between control and the pip 400 ($p = 0.010$).

The result of Bonferroni test showed the difference in frequency with the initial value of 60th minutes group showed no significant between control and pip 100 ($p = 0.001$), meanwhile there is a significant difference between control and pip 200 ($p < 0.001$) and there is significant difference between control and the pip 400 ($p < 0.001$).

This is describe that piperine administration after 60th minutes can showed the decrease of amplitude and the increase in frequency significantly. From the

Bonferroni test showed that piperine dose 100mg/kgBW was effective already, so the higher dose is not necessary.

The statistical result of amplitude variable and frequency describe that administering the 100mg/kgBW were the most effective dose in decreasing amplitude significantly and increasing frequency significantly after 60th minutes.

DISCUSSIONS

The recording of EEG is showed that the administering dose 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400mg/kgBW would increased the frequency significantly and decrease amplitude significantly.

At the table, the recording seizure is sign with spike is very sure that the seizure is only exist in control group, and meanwhile the treated group the piperine 100mg/kgBW, 200mg/kgBW and 400mg/kgBW the spike wave was not appear.

Bicuculline administration as an antagonist receptor GABA_A, inhibit GABA effect, The mechanism is through inactivation of GABA_A receptor, and inactivate Cl⁻ channel. The impact is maintenance excitation of postsynaptic neurons is continuously firing. Neurons reach hyperexcitability, so that there is huge increasing of excitation in cortical neurons. Increasing thalamo-cortical connection. Extreme sincronization on thalamic neurons and cortex through thalamo-cortical connection. At the end is increasing amplitude of EEG recording sign with spike wave (seizure).

The result of this study is that piperine would decrease the electrical activity of seizure's rat brains. According to Pei and Nitz this is related to the increase of the concentration of 5-HT (Serotonin)

At the previous study by Shin et al, the rats is injected peritoneal by stricnine 1,2 mg/kgBW, Control group without piperine and treated group is administering by piperine. This dosage can caused tonic of rat and more than 50% rats die in the control group. Meanwhile in the treated group with piperine administering of piperine for all of the rat, they still survive.

The mechanism is predict through increasing the inhibitory amino acid increasing serotonergic system. Nitz et al, in their study on effect of serotonin, found that the releasing of serotonin cause inhibition on hyppocampus interneurons which caused by modulation of K⁺ channel by the serotonin receptor.

Isaac and Lora found that GABA on the seizure state inhibited by bicuculline will reactivate by piperine, through the activation of 5-HT_{2C} receptors, so that K⁺ channel open and conductance of K⁺ increase, causing the more negative of postsynaptic membrane. In the end, hyperexcitable neurons will back to the original state with

normal excitability, asynchron action potential and producing increasing of frequency and decreasing of amplitude in the EEG recording (alert state)

The result of this study, from the 3 doses tested, piperine dose 100mg/kgBW at the 60th minutes showed the highest protective effect in decreasing amplitude and increasing frequency compare with dose piperine 200mg/kgBW and dose 400mg/kgBW. This study found that administration of piperine have to wait until 60 minutes as conducted by Pei and Kupferberg which study the mechanism of antiepileptic effect of piperine, rats was given by piperine (1000mg/kgBW, ip) and then monoamine concentration was count. The result is the concentration of 5-HT and 5-hydroxyndoleacetic acid (5-HIAA) increase, and reach the peak after 1 hour. After that, 5-HT concentration and 5-HIAA decrease dramatically and reach normal value in 12 hours.

CONCLUSIONS

Amplitude of EEG in control group compare with treated group given by varied dose of piperine showed significant difference statistically.

Piperine decreased the activity of electrical in rats brain induced by bicuculline either by dose 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW or 400mg/kgBW which proved by appearance of spike wave, decrease of amplitude and increase of frequency at the EEG recording on treated group given by piperine, compare with control group without piperine.

From 3 dose tested, piperine dose 100mg/kgBW at he50th minutes after piperine administration showed the highest protective effect in decreasing amplitude and increasing frequency compared with the dose 200mg/kgBW and 400 mg/kgBW. This study found that piperine administration necessary to wait until 60 minutes.