

**PERBAIKAN NEURON HIPOKAMPUS PASCAHIPOKSIA SEREBRI
DENGAN PENGGUNAAN EKSTRAK AIR AKAR TANAMAN
AKAR KUCING (*ACALYPHA INDICA* LINN)**

**OLEH
LOLO SUSWATI**

TESIS
Untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar
MAGISTER ILMU BIOMEDIK (M. Biomed)

**PROGRAM PASCA SARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
2009**

**PERBAIKAN NEURON HIPOKAMPUS PASCAHIPOKSIA SEREBRI
DENGAN PENGGUNAAN EKSTRAK AIR AKAR TANAMAN
AKAR KUCING (*ACALYPHA INDICA* LINN)**

Lolo Suswati
NPM : 0606150763

Tesis disetujui :

Dewan Penguji

Pembimbing I : dr. Nurhadi Ibrahim, PhD



Pembimbing II : Dr.dr. Ernie H. Purwaningsih, MS



Penguji I : Dr. drg. Sri Redjeki, MS



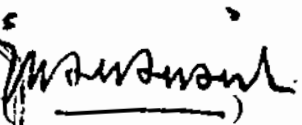
Penguji II : dr. Sri Widia A. Jusman, MS



Penguji III : Prof. dr. Franciscus D. Suyatna, Phd., SpFK



Ketua Program Magister Ilmu Biomedik FKUI
Dr.rer.physiol. dr.Septelia Inawati



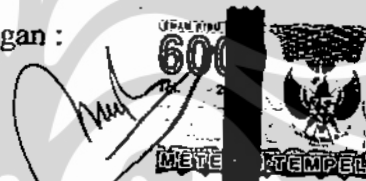
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Lolo Suswati

NPM : 0606150763

Tanda tangan :



Jakarta, Januari 2010

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

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

Nama : Lolo Suswati
NPM : 0606150763
Program Studi : Magister Ilmu Biomedik
Departemen : Fisiologi
Fakultas : Kedokteran
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 :

Perbaikan neuron hipokampus pascahipoksia serebri dengan penggunaan ekstrak air akar tanaman akar kucing (*Acalypha indica* Linn).

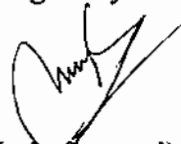
Dengan hak bebas royalti noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelola dalam bentuk *database*, merawat dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal : Januari 2009

Yang menyatakan



(Lolo Suswati)

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan pada Allah seru sekalian alam, atas segala nikmat yang telah diberikan. Sungguh hanya dengan pertolongan Allahlah penulis mampu menyelesaikan tesis ini. Atas kasih sayangNya pula penulis mampu menghadapi segala tantangan dan masalah, sehingga penulis dapat memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar magister ilmu biomedik pada Kekhususan Fisiologi Program Studi Ilmu Biomedik FKUI.

Pada kesempatan ini pula, penulis ingin menyampaikan penghargaan dan ucapan terimakasih kepada dr. Nurhadi Ibrahim, PhD, selaku pembimbing pertama dan Dr.dr Ernie H. Purwaningsih, MS selaku pembimbing ke dua yang telah memberikan bimbingan dan arahan dengan sabar serta mampu memberi semangat hingga penelitian ini selesai.

Kepada dr. Sri Widia A. Jayusman, MS selaku ketua Departemen Biokomia dan Biologi Molekuler beserta staf, terutama pak Ondi, pak Yatin, pak Usman dan mas Arif, penulis haturkan terimakasih yang sebesar-besarnya karena telah banyak membantu selama penelitian berlangsung. Tak lupa, penulis ucapkan terimakasih juga kepada dr. Aulia PhD, selaku pembimbing laboratorium yang baik dan sabar, dr. Frans Ferdinal, MS yang telah memperbolehkan penulis memakai sungkup hipoksia dalam penelitian ini.

Kepada pak Dino, pak Mugi dan mbak Ike, meskipun tidak setiap hari bertemu, atas kebaikan dan keakraban yang telah terjalin selama penelitian berlangsung sungguh merupakan energi tersendiri buat penulis, oleh karena itu saya ucapkan terimakasih, semoga Allah senantiasa memberi kegembiraan tersendiri dalam kehidupan kalian semua.

Pak Agus dan mas Dendi, terimakasih atas bantuan yang diberikan selama penulis belajar di laboratorium komputer Departemen Fisika FKUI. Seluruh staf akademik Departemen Fisiologi FKUI, penulis ucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya. Kepada seluruh staf administrasi dan umum Departemen Fisiologi FKUI, khususnya mbak Rini penulis benar-benar ingin mengucapkan terimakasih dengan tulus ikhlas atas segala bantuan yang telah diberikan selama penulis mengikuti kegiatan belajar.

Kepada sahabatku Yulisma Halim yang selalu siap sedia membantu dengan ikhlas, terimakasih sekali. Untuk Ibundaku tercinta yang selalu setia mendoakan dan

dengan ikhlas senantiasa mengingatkan penulis agar selalu belajar dan berbenah diri dalam setiap langkah hidup ini, terimakasih Bunda. Kepada seluruh perawat yang bekerja di IGD RSUD Tarakan, terimakasih, karena kalian semua telah memberikan kesempatan penulis untuk belajar dengan tenang meskipun beban pekerjaan kalian bertambah.

Terakhir, khusus buat orang-orang yang paling penulis kasihi, suamiku : Hario Mustiko, anak-anakku : M. Alif Huda, Banu Winata Karimullah dan Ikhlusul Yazid, Bunda ingin ucapkan rasa terimakasih yang tak terhingga pada kalian semua. Karena keikhlasan kalian semua Bunda tetap semangat, kuat dan ikhlas menjalani semua proses belajar ini. Bunda hargai pengorbanan dan kesabaran kalian mengiringi seluruh kegiatan hingga tugas ini selesai. Namun demikian, Bunda berharap semoga kalian semua juga ikhlas memaafkan atas segala ketidaksabaran dan kurangnya waktu Bunda buat kalian semua. Semoga Allah selalu menjaga dan meridoi setiap perjalanan hidup kita. Amin.

Kepada semua pihak yang tidak bisa penulis sebut satu persatu, terimakasih atas dukungan, kerjasama dan doa yang telah diberikan. Akhir kata, meskipun penulis sadar masih banyak kekurangan di sana sini, tetapi penulis berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan khususnya bagi masyarakat Indonesia. Amin.

ABSTRAK

Nama : Lolo Suswati
Program Studi : Ilmu Biomedik
Judul Tesis : Perbaikan Neuron Hipokampus Pascahipoksia Serebri dengan Penggunaan Ekstrak Air Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn.).

Latar Belakang : *Acalypha indica* Linn. merupakan tanaman yang mudah didapat, tumbuh sepanjang tahun dan bisa ditemukan di kebun, halaman rumah maupun tempat-tempat pembuangan sampah. Semua bagian dari tanaman ini bisa digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menangani berbagai masalah kesehatan. Pada penelitian sebelumnya didapatkan data bahwa ekstrak *Acalypha indica* Linn. terbukti memiliki efek sebagai neuroproteksi dan neuroterapi pada *neuromuscular junction* jaringan katak dan mampu menghambat efek neurotoksik pada jaringan katak. Oleh karena itu, ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. bisa mempengaruhi perbaikan neuron hipokampus pascahipoksia serebri.

Tujuan : untuk menganalisa kerusakan sel neuron hipokampus pascahipoksia serebri setelah pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn.

Metode penelitian : 30 ekor tikus *Sprague Dawley* terbagi secara acak dalam enam kelompok. Kelompok hipoksia, tikus dimasukkan ke dalam sungkup hipoksia yang mengandung gas campuran (O₂ 10 % dan nitrogen 90 %) selama tujuh hari, untuk kelompok reoksigenasi tikus dibiarkan menghirup udara bebas setelah perlakuan hipoksia. Tiga kelompok terapi lainnya, setelah perlakuan hipoksia tikus kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn pada dosis 300, 400 dan 500 mg/kg BB selama tujuh hari. Kriteria penilaian yang digunakan dalam studi ini adalah jumlah sel rusak neuron hipokampus dengan mengamati : bentuk sel, ada tidaknya kondensasi kromatin, piknotik dan rasio sitoplasma dengan inti setelah pewarnaan hemaktosilin eosin.

Hasil : ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB secara signifikan mampu memperbaiki kerusakan sel neuron (efek neuroterapi) hipokampus pascahipoksia serebral ($p = 0,01$).

Kesimpulan : ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn memiliki efek neuroterapi pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB.

Kata kunci : *Acalypha indica* Linn, hipoksia, neuron hipokampus dan, neuroterapi

ABSTRACT

Name : Lolo Suswati
Study Programme : Biomedical Science
Title : The Improvement of Hippocampus Neuron Post Serebral Hypoxia with Aqueous Extract of *Acalypha Indica* Linn Root

Background : *Acalypha indica* Linn is a common herb which can easily be found elsewhere in Indonesia. All the parts of plants are used in various traditional therapy for some diseases. Previous studies showed that *Acalypha indica* Linn extracts have neuro-protective and neuro-therapy effects on neuromuscular junction and inhibit neurotoxin on isolated frog tissues. Thus, administration of aqueous extracts of *A. indica* Linn root was assumed to improve hippocampus neuron injury after cerebral hypoxia.

Objective : To investigate the effects of aqueous extracts of *Acalypha indica* Linn root on hippocampus neuron injury after cerebral hypoxia in the rat.

Methods : Thirty male Sprague Dawley with 200-250 gr Body weight of rats were divided into six groups randomly. The rats were housed in hypoxic chamber containing gas mixture of 10 % O₂ and 90 % N₂ for seven days, followed by administration of 300, 400 and 500 mg/kg BW aqueous extracts of *A. indica* Linn root for seven days.. The other group was exposed to room air after hypoxia. The parameters measured were hippocampal cell damage ie : the quantity and type of hippocampal cell, chromatin condensation, pycnotic and cytoplasm nucleus ratio using hematoxyline eosin staining.

Result : The aqueous extracts of *A. indica* Linn root of 400 and 500 mg/kg BW improve hippocampus neuron injury (neurotherapy effect) after cerebral hypoxia significantly ($p = 0,01$).

Conclusion : The aqueous extracts of *A. indica* Linn roots have neurotherapy effects on hippocampal neuron after cerebral hypoxia of 400 and 500 mg/kg BW.

Key words : *Acalypha indica* Linn, hypoxia, hippocampal neuron, neurotherapy

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1. Latar belakang	1
2. Rumusan masalah	4
3. Hipotesis penelitian.....	4
4. Tujuan penelitian	4
5. Manfaat penelitian	5
6. Kerangka konsep.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
1. Hipoksia	7
1.1. Klasifikasi dan penyebab hipoksia	7
1.2. Jalur molekuler yang terlibat dalam oxygen sensing	7
1.3. Respon tubuh terhadap hipoksia	11
1.4. Pengaruh hipoksia terhadap otak	12
2. Hipokampus dan neurogenesis	22
3. Akar kucing	24
3.1. Manfaat akar kucing bagi kesehatan	26
3.2. Zat aktif akar kucing	26
BAB III METODE PENELITIAN	
1. Rancangan penelitian	29
2. Tempat dan waktu penelitian	29
3. Variabel dan sampel penelitian	29
4. Bahan dan alat penelitian	30
5. Cara kerja	31
6. Analisis data penelitian	36
7. Alur penelitian	37
BAB IV HASIL PENELITIAN	38

BAB V	PEMBAHASAN	54
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	
	1. Kesimpulan	59
	2. Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	63

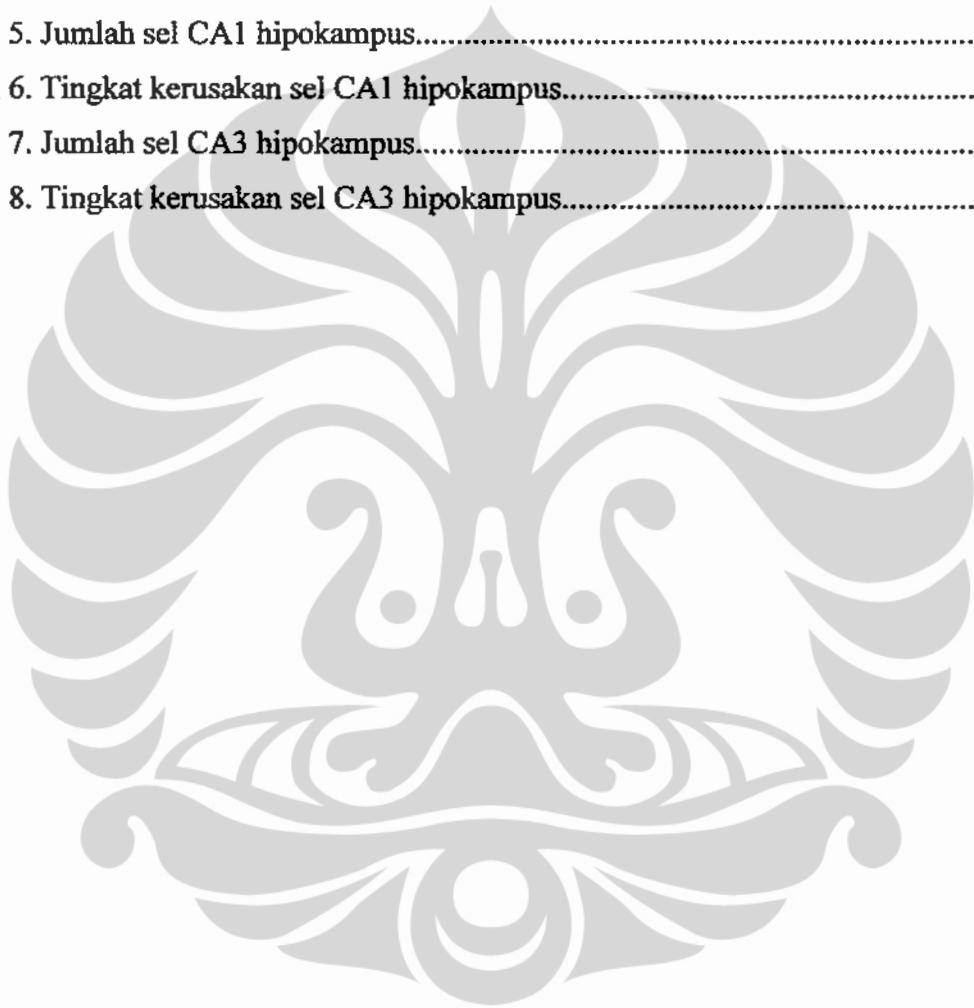


DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka konsep penelitian.....	5
Gambar 2. Regulasi HIF-1.....	9
Gambar 3. Jalur sinyal hipoksia.....	12
Gambar 4. Proses restrukturisasi vaskuler otak.....	14
Gambar 5. Jalur induksi permeabilitas kapiler otak.....	16
Gambar 6 Tipe-tipe injuri sel saraf.....	17
Gambar 7. Jalur kematian sel iskemia.....	19
Gambar 8. Perbedaan kematian sel apoptosis dengan <i>coagulation necrosis</i>	21
Gambar 9. Hipokampus	23
Gambar 10. Sirkuit dasar hipokampus	23
Gambar 11. Area neurogenesis dewasa.....	24
Gambar 12. Tanaman <i>Acalypha indica</i> Linn	25
Gambar 13. Irisan akar <i>Acalypha indica</i> Linn.....	25
Gambar 14. Rumus bangun <i>Acalyphine</i>	27
Gambar 15. Rumus bangun stigmasterol.....	28
Gambar 16. Skema alur penelitian.....	37
Gambar 17. Area hipokampus.....	38
Gambar 18. Rerata jumlah sel lapisan dalam girus dentatus.....	39
Gambar19. Rerata tingkat kerusakan sel lapisan dalam girus dentatus.....	40
Gambar 20. Sel lapisan dalam girus dentatus.....	42
Gambar 21. Rerata jumlah sel lapisan luar girus dentatus.....	43
Gambar 22. Rerata tingkat kerusakan sel lapisan luar girus dentatus.....	45
Gambar 23. Sel lapisan luar girus dentatus.....	46
Gambar 24. Diagram batang rerata jumlah sel CA1 hipokampus.....	47
Gambar 25. Rerata tingkat kerusakan sel CA1 hipokampus.....	48
Gambar 26. Sel CA1 hipokampus.....	49
Gambar 27. Rerata jumlah sel CA3.....	51
Gambar 28. Rerata tingkat kerusakan sel CA3 hipokampus.....	52
Gambar29. Sel CA3 hipokampus.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jumlah sel lapisan dalam girus dentatus hipokampus.....	39
Tabel 2. Tingkat kerusakan sel lapisan dalam girus dentatus hipokampus.....	40
Tabel 3. Jumlah sel lapisan luar girus dentatus hipokampus.....	43
Tabel 4. Tingkat kerusakan sel lapisan luar girus dentatus hipokampus.....	44
Tabel 5. Jumlah sel CA1 hipokampus.....	47
Tabel 6. Tingkat kerusakan sel CA1 hipokampus.....	48
Tabel 7. Jumlah sel CA3 hipokampus.....	50
Tabel 8. Tingkat kerusakan sel CA3 hipokampus.....	51



DAFTAR SINGKATAN

Ab VEGF	antibodi Vascular Endothelial Growth Factor
ADS	<i>antioxidant defense system</i>
Ang-2	<i>angiopoietin-2</i>
APAF-1	<i>apoptotic protease activating factor-1</i>
ATG	<i>autophagy genes</i>
ATP	adenosin trifosfat
Bax	<i>Bcl-2 associated x protein</i>
BBB	<i>blood brain barrier</i>
BMPs	<i>bone morphogenetic proteins</i>
BNIP3	<i>Bcl/adenovirus E1B 19 kDa interacting protein 3</i>
BrDU	<i>5-bromo-2-deoxyuridine</i>
cGMP	guanosin monofosfat siklik
CBF	<i>cerebral blood flow</i>
CBs	<i>carotid bodies</i>
CMR-Glu	<i>cerebral metabolic rate for glucosa</i>
DISCI	<i>disrupted-in-schizophrenia</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
ECC	<i>edematous cell change</i>
EGF	<i>ependymal growth factor</i>
eNOS	<i>endothelial nitric oxide synthase</i>
EPO	eritropoietin
FADD	<i>Fas-associated protein with death domain</i>
FGF-2	<i>fibroblast growth factor-2</i>
GABA	<i>gamma amino butiric acid</i>
GFAP	<i>glial fibrillary acidic protein</i>
GLUT-1	<i>glucosa transporter-1</i>
Hb	haemoglobin
HBS	<i>HIF-1 binding site</i>
HCC	<i>homogenizing cell change</i>
HE	<i>haematoxylin eosyn</i>
HIF-1	<i>hypoxia inducible factor-1</i>
HRE	<i>hypoxia response element</i>

ICC	<i>ischemic cell change</i>
iNOS	<i>inducible nitric oxide synthase</i>
K _{ATP} channels	<i>kalium-ATP dependent channels</i>
K _{Ca} channels	<i>kalium-Ca dependent channels</i>
Kv channels	<i>voltage gated kalium channels</i>
L-NMMA	<i>N^G-monomethyl-Larginine</i>
MMP-9	<i>matrix metaloproteinase-9</i>
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
NADPH	<i>dihidronikotinamid adenin dinukleotida fosfat</i>
NCCD	<i>nomenclature commitee on the cell death</i>
NEBs	<i>neuroepithelial bodies</i>
NO	<i>nitric oxide</i>
NOS	<i>nitric oxide synthase</i>
NSCs	<i>neural stem cells</i>
ODD	<i>oxygen-dependent degradation domain</i>
PaCO ₂	<i>arterial partial pressure of CO₂</i>
PARP	<i>poly (ADP-ribose) polymerase</i>
PAS	<i>Per-AHR-ARNT-Sim (Per : drosophila period, AHR : mammalian aryl hidrocarbon receptor, ARNT : protein aryl hidrocarbon receptor nuclear translocator, Sim : protein single minded).</i>
PCD	<i>programmed cell death</i>
PEST	<i>prolin glutamat serin treonin</i>
PHD	<i>prolyl 4-hidroksilase domain</i>
PLA ₂	<i>phospholipase A₂</i>
PtO ₂	<i>tissue partial pressure of oxygen</i>
pVHL	<i>protein Von Hippel-Lindau</i>
PvO ₂	<i>venous partial pressure of oxygen</i>
RMS	<i>rostral migratory stream</i>
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
SGZ	<i>subgranular zone</i>
SNP	<i>sodium nitropusside</i>
SOD	<i>superoxide dismutase</i>
SVZ	<i>subventricular zone</i>
TAD	<i>transactvation of domain</i>

Tie-2	<i>tirosin kinase-2</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
TRAIL	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VEGFR	<i>vascular endothelial growth factor receptor</i>



BAB I PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Pada kondisi dimana suplai oksigen ke jaringan tidak adekuat, maka akan terjadi kegagalan atau penurunan tekanan partial oksigen dan transpor oksigen atau ketidakmampuan jaringan menggunakan oksigen. Kondisi ini dinamakan hipoksia.^{1,2}

Hipoksia merupakan stres lingkungan yang mengancam kehidupan sel. Hal ini disebabkan karena terjadi peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif, selain terjadinya deplesi adenosin trifosfat (ADP) yang mengancam aktivitas sel.³ *Reactive Oxygen Species* merupakan senyawa turunan oksigen yang sangat reaktif termasuk di dalamnya adalah radikal bebas, seperti anion superoksida dan radikal hidroksil. Senyawa-senyawa ini mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Oleh karena itu ia bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Reaktifitas senyawa ini disebabkan karena elektron bebas yang tidak berpasangan yang akan berusaha menarik elektron dan molekul disekitarnya. Untuk mencapai kestabilan senyawa ini harus mencari elektron lain sebagai pasangan.

Reactive Oxygen Species memiliki berbagai efek di dalam jaringan tubuh baik yang bersifat menguntungkan maupun merugikan. Hal ini tergantung ketersediaan antioksidan dalam tubuh. Pada kadar normal ROS berfungsi sebagai caraka kedua pada berbagai fungsi seluler. Namun bila kadar ROS melampaui pertahanan antioksidan tubuh, ROS akan bereaksi dengan lipid, protein maupun DNA. Reaksi radikal oksigen dengan lipid akan memicu reaksi peroksidasi lipid yang dapat merusak membran sel, sedangkan reaksi radikal oksigen dengan protein mengakibatkan berkurang atau hilangnya aktivitas enzim. Sementara itu reaksi radikal oksigen dengan DNA akan menyebabkan kerusakan DNA.⁴

Untuk mengatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas ini tubuh memiliki mekanisme pertahanan antioksidan (*the Antioxidant Defense System/ADS*). *The Antioxidant Defense System* bekerja dengan cara menghentikan atau memutus reaksi berantai radikal bebas. Mekanisme pertahanan antioksidan yang terdapat dalam tubuh antara lain *superoxide dismutase* (SOD), *catalase*, *gluthatione peroksidase* dan *reductase*, *gluthatione*, vitamin E dan vitamin C.^{5,6} Salah satu contoh kerja ADS adalah : anion superoksida sebagai hasil reduksi satu elektron pada molekul oksigen

akan diubah oleh superoksida dismutase menjadi H₂O₂, yang kemudian akan diubah oleh katalase atau glutathion peroksidase menjadi H₂O.

Peningkatan ROS yang disebabkan oleh hipoksia akan meningkatkan stabilitas dan akumulasi HIF-1 α (*Hypoxia Inducible Factor-1 α*). HIF-1 α merupakan faktor transkripsi berbentuk heterodimer yang bekerja dibawah pengaruh konsentrasi oksigen.^{7,8} Pada kondisi normoksia, HIF-1 α akan didegradasi secara cepat oleh sistem proteasom ubikuitin, sedangkan pada kondisi hipoksia degradasi ini terhambat sehingga terjadi akumulasi HIF-1 α .

Peningkatan HIF-1 α mengakibatkan peningkatan protein-protein proapoptosis seperti BNIP3 (*Bcl/adenovirus E1B 19 kDa interacting protein 3*) dan protein Bax yang terinduksi karena bertambahnya sintesis protein p53. Protein BNIP3 maupun Bax akan memicu pelepasan sitokrom C dari mitokondria ke sitosol. Selanjutnya sitokrom C ini akan berikatan dengan *apoptotic protease activating factor 1* (Apaf-1), yang akan mengaktifkan *caspase-9* untuk kemudian akan mengaktifkan *caspase-3,6* dan 7 sebagai eksekutor apoptosis.⁹

Di sisi lain hipoksia juga meningkatkan proses inflamasi, akumulasi ROS dan meningkatkan glutamat ekstrasel akibat efek eksotoksisitas, yang pada akhirnya akan meningkatkan aktivitas *nitric oxide* (NO). Akumulasi ROS dan peningkatan aktivitas NO ini akan meningkatkan pembentukan peroksinitrit yang sangat toksik bagi sel.

Kerusakan sel akibat hipoksia bisa berbentuk nekrosis maupun apoptosis. Berbeda dengan apoptosis, nekrosis bisa melepaskan molekul-molekul kimia yang berbahaya ke dalam jaringan sekitar. Dalam proses nekrosis membran sel akan rusak, sehingga lisosom akan melepaskan enzim yang terkandung di dalamnya yang selanjutnya akan menghancurkan bagian-bagian sel lainnya. Hal yang paling buruk dari proses yang berhubungan dengan proses nekrosis ini adalah saat enzim-enzim ini dilepaskan ke sel-sel sekitarnya akan memicu reaksi kematian sel berantai.¹⁰

Kerusakan yang terjadi akibat hipoksia ini menyebabkan perubahan-perubahan struktur dan fungsi sel neuron yang berakibat pada terjadinya kelainan-kelainan neurologis dan tingkah laku. Perubahan ini bervariasi tergantung lama dan beratnya hipoksia yang terjadi. Pada sebuah studi dikatakan bahwa area otak yang paling rentan terhadap kondisi ini adalah hipokampus, neokorteks dan striatum. Pada hari ke 7 setelah hipoksia tampak sel-sel mati dan sel piknotik pada area CA1, CA2 dan CA3 hipokampus.¹¹ Selain sangat rentan terhadap hipoksia, hipokampus memiliki jenis-jenis sel yang beragam, terlibat dalam proses pembentukan memori dan

memiliki area yang mengandung sel-sel punca, sehingga area ini merupakan area yang sangat menarik untuk diteliti.

Terdapat berbagai penyebab hipoksia, diantaranya adalah karena tenggelam, tercekik, tersedak, henti jantung, keracunan monooksida, komplikasi obat-obatan anestesi dan gangguan vaskularisasi serebral (trauma kepala, stroke).^{12,13} Dari seluruh kasus hipoksia yang terjadi, hipoksia karena trauma kepala dan stroke merupakan kasus yang paling sering ditemukan yang mengakibatkan gangguan-gangguan neurologis.¹⁴

Saat ini banyak molekul-molekul yang digunakan untuk meningkatkan fungsi saraf pada kasus gangguan neurologis yang terjadi, misalnya penggunaan saponin pada kasus Alzheimer.¹⁵ Adanya bukti efek yang menguntungkan pada penggunaan flavonoid pada kasus yang berhubungan dengan arteriosklerosis dan neurodegenerasi.¹⁶ Selain itu, flavonoid juga diduga memiliki kemampuan untuk melindungi otak dari stres oksidatif dan mencegah apoptosis.^{17,18}

Akar kucing merupakan tanaman obat yang mengandung saponin, tannin maupun flavonoid dan dari beberapa penelitian telah diketahui memiliki kemampuan untuk mengatasi berbagai permasalahan kesehatan.^{19,20} Diantaranya adalah kemampuan sebagai anti diuretik,²¹ emetik,²² anti toksin,²³ mempengaruhi proses penyembuhan luka²⁴ dan kemampuan menghambat enzim asetilkolinesterase.²⁵ Tannin sendiri memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan makromolekul seperti protein, polisakarida, dan alkaloid.²⁶

Dari penelitian akar kucing yang telah dilakukan, aplikasi akar kucing pada kasus gangguan neurologis belum ada, sementara kandungan dari akar kucing yang ada diperkirakan bisa mempengaruhi aktifitas neuron. Hal ini telah terbukti bahwa ekstrak etanol daun akar kucing mampu menghambat proses kardiotoxik dan neurotoksik pada jaringan katak akibat dari racun ular Rosselli.²³ Pada penelitian selanjutnya didapatkan data bahwa *Acalypha indica* Linn mampu berikatan dengan PLA2 (*phospholipase A2*) venom ular Roselli.²⁷ PLA2 merupakan suatu enzim yang berperan dalam pembentukan mediator inflamasi. Oleh karena itu ekstrak tanaman ini sangat berpotensi sebagai agen anti inflamasi. Selain hal tersebut ekstrak air akar tanaman akar kucing telah terbukti mempunyai efek neuroprotektor dan neuroterapi baik secara *in vivo* (dalam dosis 300-500 mg/KgBB) maupun *eks vivo* (dalam dosis 15-20 mg).²⁸

Proses kerusakan sel yang terjadi akibat hipoksia seperti telah diuraikan di atas bisa dipengaruhi oleh unsur *Acalypha indica* Linn., karena ia memiliki efek anti inflamasi. Selain hal tersebut, diduga unsur tanaman ini juga mengandung antioksidan, sehingga dengan pemberian ekstrak tanaman ini kerusakan sel akibat hipoksia bisa diperbaiki. Bila hal ini terbukti, maka akan sangat membantu dalam pengobatan stroke maupun penyakit-penyakit lain yang berhubungan dengan hipoksia.

2. Rumusan Masalah

- 2.1. Apakah terdapat perbedaan antara jumlah sel rusak hipokampus tikus pascahipoksia serebri dan reoksigenasi 7 hari dengan yang mengalami hipoksia serebri?
- 2.2. Apakah terdapat perbedaan antara jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan setelah pemberian ekstrak *Acalypha indica* Linn. pada dosis yang berbeda dengan yang mengalami hipoksia serebri?
- 2.3. Apakah terdapat perbedaan antara jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan setelah pemberian ekstrak *Acalypha indica* Linn. pada dosis yang berbeda dengan yang tanpa hipoksia serebri?

3. Hipotesis

- 3.1. Terdapat perbedaan antara jumlah sel rusak hipokampus tikus pascahipoksia serebri dan reoksigenasi 7 hari dengan yang mengalami hipoksia serebri.
- 3.2. Terdapat perbedaan jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan setelah pemberian ekstrak *Acalypha indica* Linn. pada dosis yang berbeda dengan yang mengalami hipoksia.
- 3.3. Terdapat perbedaan antara jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan setelah pemberian ekstrak *Acalypha indica* Linn. pada dosis yang berbeda dengan yang tanpa hipoksia serebri.

4. Tujuan Penelitian

- 4.1. Tujuan : Menganalisis perbedaan jumlah sel neuron hipokampus pascahipoksia serebri yang rusak dengan jumlah sel neuron hipokampus pascahipoksia serebri yang rusak dan setelah pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn pada beberapa dosis yang berbeda.

4.2. Tujuan khusus : membandingkan dan menganalisis ;

4.2.1. Perbedaan jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan reoksigenasi 7 hari dengan yang mengalami hipoksia serebri.

4.4.3. Perbedaan jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan setelah pemberian ekstrak *Acalypha indica* Linn. pada dosis yang berbeda dengan yang mengalami hipoksia serebri.

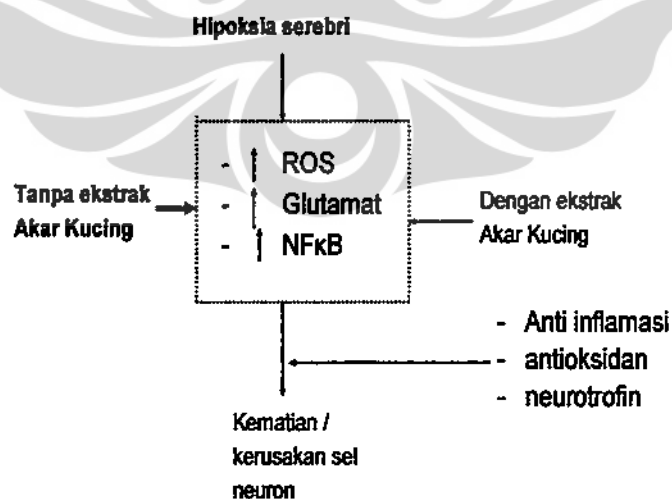
4.2.4. Perbedaan jumlah sel rusak hipokampus pascahipoksia serebri dan setelah pemberian ekstrak *Acalypha indica* Linn. pada dosis yang berbeda dengan yang tanpa hipoksia serebri.

4.2.5. Membuktikan ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. berpengaruh terhadap perbaikan neuron hipokampus pascahipoksia serebri.

5. Manfaat Penelitian

Diharapkan bahwa penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan strategi terapi baru dalam penatalaksanaan penyakit-penyakit yang berhubungan dengan persyarafan khususnya gangguan persyarafan di otak yang disebabkan oleh hipoksia.

6. Kerangka Konsep



Gambar 1 : Kerangka Konsep Penelitian (ROS, glutamat dan NFκB tidak diperiksa).

Definisi Operasional

- 6.1. Hipoksia serebral tikus adalah kondisi kekurangan oksigen pada otak tikus yang diberikan dengan memasukkan tikus ke dalam sungkup hipoksia yang dihubungkan dengan tangki gas yang mengandung campuran gas oksigen 10 % dan gas nitrogen 90 %.
- 6.2. Ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn, yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn, dari tanaman akar *Acalypha indica* Linn, yang ada di Indonesia. Determinasi sampel tanaman *Acalypha indica* Linn. dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Pusat Penelitian Biologi-Bogor. Ekstraksi dilakukan di Departemen Ilmu Farmasi Kedokteran FKUI.
- 6.3. Sel neuron hipokampus yang rusak yaitu sel yang memiliki bentuk tidak beraturan, adanya kondensasi kromatin atau piknotik, batas sitoplasma dan inti tidak jelas.
- 6.4. Sel neuron hipokampus normal yaitu sel yang memiliki bentuk beraturan (bulat/lonjong), memiliki batas sitoplasma dengan inti jelas, tidak terdapat kondensasi kromatin atau piknotik.
- 6.5. Reoksigenasi adalah pemberian oksigen 21 % melalui udara bebas setelah perlakuan hipoksia.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

1. Hipoksia

Molekul oksigen merupakan hal yang utama bagi perkembangan dan pertumbuhan organisme multiseluler. Mamalia memiliki kemampuan untuk menjaga keseimbangan oksigen pada tingkat jaringan melalui berbagai proses. Proses-proses ini meliputi penangkapan, pengikatan dan transportasi molekul oksigen. Salah satu proses yang paling penting adalah kemampuan untuk mengindra dan merespon terhadap perubahan kadar oksigen. Mekanisme penginderaan ini dikembangkan untuk menjaga keseimbangan sel dan jaringan.³

Kemampuan untuk mengindra dan merespon perubahan oksigen diperlukan untuk kelangsungan hidup organisme prokariot maupun eukariot, terutama dalam beradaptasi terhadap kadar oksigen yang rendah.

Konsentrasi oksigen jaringan otak regional tidak homogen, distribusi frekuensi oksigen otak lebih rendah dari konsentrasi oksigen vena sistemik. Oleh karena itu, pada paparan hipoksia ringan dan singkat, kebutuhan oksigen otak regional bisa terpenuhi melalui mekanisme kompensasi tubuh hanya dengan meningkatkan aliran darah otak. Perbedaan kadar oksigen yang berbeda-beda pada setiap jaringan ini menyebabkan sulitnya hipoksia didefinisikan, akan tetapi pada prinsipnya hipoksia merupakan suatu kondisi dimana suplai oksigen kurang dari yang dibutuhkan oleh sel sehingga mempengaruhi fungsi biologis tubuh.²⁹

1.1. Klasifikasi dan penyebab hipoksia

Ditinjau dari penyebabnya, hipoksia bisa diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok. 1) Hipoksia hipoksemik, terjadi karena tekanan parsial O₂ arteri yang rendah sebagai akibat dari penyakit paru atau pada dataran tinggi. 2) Hipoksia anemik, kemampuan darah mengangkut O₂ turun akibat anemia. 3) Hipoksia iskemik, penurunan perfusi jaringan baik lokal maupun umum sebagai akibat adanya sumbatan atau kelainan-kelainan paru. 4) Hipoksia histotoksik / sitotoksik, terjadi penurunan kemampuan sel untuk menggunakan oksigen akibat intoksikasi (misalnya intoksikasi sianida).^{1,2}

1.2. Jalur molekuler yang terlibat dalam *oxygen sensing*

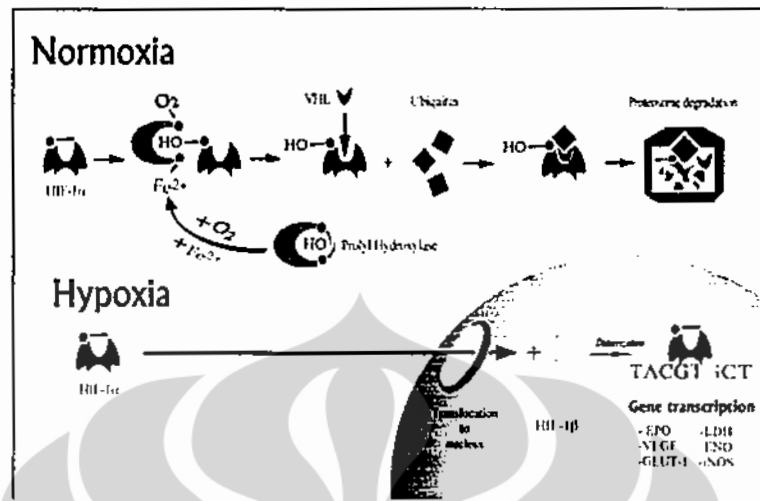
Hipoksia berpotensi mempengaruhi ekspresi gen-gen dalam genom. Ekspresi gen disesuaikan dengan ketersediaan oksigen melalui beberapa mekanisme termasuk

pengaturan transkripsi gen oleh HIF-1.³ HIF-1 adalah protein heterodimer yang tersusun oleh subunit α dan β . Regulasi HIF terjadi melalui hidroksilasi yang tergantung pada oksigen.

HIF-1 α merupakan molekul yang mengandung 826 asam amino dengan berat 120 kDa. Pada bagian N-terminal mengandung domain *basic* (aa17-30), domain *helix-loop-helix* (aa 31-71) dan domain PAS (aa 85-298) dengan PAS-A (aa85-158) dan PAS-B (aa 228-298). HIF-1 α memiliki dua domain transaktivasi yaitu N-terminal dan C-terminal TAD. C-terminal mengandung domain yang berperan dalam degradasi HIF-1 α pada kondisi normoksia, yaitu domain ODD (*oxygen-dependent degradation domain*). ODD ini mengandung dua *PEST-like motifs* yaitu sekuens yang kaya akan prolin(P), glutamat (E), serin (S) dan treonin (T). Waktu paruh HIF-1 α pada kondisi normoksia kurang dari 10 menit, oleh karena itu protein ini sangat sulit dideteksi dalam kondisi normoksia.

Di bawah kondisi normoksia, HIF-1 α dihidroksilasi oleh domain *HIF-1 prolyl 4-hidroksilase* (PHD) yang merupakan dioksigenase dengan oksigen, Fe dan 2-oksooglutarat sebagai substratnya. Protein supresor tumor Von Hippel- Lindau (pVHL), suatu ubikuitin protein ligase, akan mengenal HIF-1 α yang telah dimodifikasi pada 2 residu prolin (Pro 402 pada N-terminal dan Pro 564 pada C-terminal) dan kemudian terikat pada domain ODD yang selanjutnya HIF-1 α ini akan didegradasi. Jadi HIF-1 α hancur melalui jalur ubikuitin ini.

Pada kondisi hipoksia terjadi penurunan oksigen level, hidroksilasi HIF menurun sehingga HIF-1 α tidak mengikat pVHL lebih lama. Hal ini mengakibatkan konsentrasi HIF-1 α meningkat. Selanjutnya, HIF-1 α ini akan mengalami dimerisasi dengan HIF-1 β membentuk HIF-1 dan berikatan dengan *hypoxia response element* (HRE) pada gen target dan berperan penting dalam aktivitas transkripsi puluhan gen seperti eritropoietin (EPO), *vascular endotelial growth factor* (VEGF) dan reseptor-reseptornya, *glucosa transporter-1* (Glut-1), NOS (*nitric oxide synthase*), *tyrosin hydroxilase* dan gen-gen lainnya. Dimerisasi antara HIF-1 α dengan HIF-1 β ini terjadi di inti. Setelah HIF-1 α bertranslokasi ke inti dan berdimerisasi dengan HIF-1 β membentuk HIF-1, protein ini akan terikat pada HBS (*HIF-1 binding site*) di dalam HRE yang berlokasi di daerah promoter atau *enhancer* dari gen target yang kemudian akan mengaktifasi transkripsi. Jadi HIF-1 merupakan regulator utama ekspresi gen-gen yang diatur oleh oksigen.^{30,31} Regulasi HIF-1 bisa dijelaskan secara singkat melalui Gambar 2.



Gambar 2. Regulasi HIF-1³

Dalam proses mekanisme adaptasi terhadap hipoksia, HIF-1 ini menginduksi aktivasi ekspresi gen VEGF dan VEGFR-1 yang kemudian menyebabkan proliferasi sel-sel endotel dan pertumbuhan pembuluh-pembuluh darah baru yang berasal dari jaringan yang sehat menuju ke area *penumbra*. VEGF dan reseptor-reseptornya diregulasi oleh hipoksia dalam otak setelah iskemia serebral.³²

Gangguan respon HIF-1 akan mengakibatkan ketidakmampuan untuk beradaptasi terhadap hipoksia dan memperkecil kemampuan untuk menyesuaikan aktivitas neuronal dengan densitas kapiler. Akibatnya terjadi ketidakmampuan memelihara densitas kapiler, sehingga plastisitas kapiler berkurang.

Hipoksia juga merangsang pelepasan ROS dari mitokondria yang mengatur respon transkripsi dan translasi. Konversi O₂ ke dalam ROS akan merubah status *redox* seluler dan fungsi *ion channel*. Transpor elektron dalam mitokondria dimediasi oleh protein-protein yang berada di bawah *redox center* seperti *succinate-coenzyme q reductase* (komplek II) dan *coenzyme q-cytochrome c reductase* (komplek III). Produksi ROS dalam mitokondria terjadi terutama di kompleks III dalam proses transpor elektron, meskipun tempat-tempat lain seperti kompleks II juga menghasilkan ROS. Pada turunan ubiquinol dari ubiquinone dalam mitokondria, radikal bebas (ubisemiquinone) dihasilkan secara normal selama proses transport elektron. Inhibisi ROS dibawah kondisi hipoksia menghambat beberapa respon transkripsi. Oleh karena itu selama hipoksia produksi ROS pada kompleks III meningkat.

Terdapat dua sistem penghasil ROS yang bekerja sebagai O₂ sensor : NADPH oksidase dan mitokondria. Pertama, NADPH oksidase bekerja dengan

mengubah kecepatan produksi anion superoksida. Kedua, konsentrasi O₂ yang rendah akan menurunkan aktivitas sitokrom oksidase pada kompleks IV dalam rantai transpor elektron. Hal ini akan menyebabkan depolarisasi mitokondria yang menyebabkan pelepasan Ca. Mitokondria mengkonsumsi semua O₂ yang bisa dipergunakan dan merupakan sumber utama superoksida karena transfer elektron yang tidak efisien sepanjang proses rantai respiratori.²⁹

Jalur sinyal lain yang terlibat dalam mekanisme *oxygen sensing* ini adalah ekspresi gen kanal ion yang terinduksi oleh aktifitas HIF-1. Perubahan O₂ tension lokal bisa menginduksi modifikasi aktifitas elektrik pada sel-sel neurosekretori. Eksitasi sel-sel neurosekretori oleh hipoksia terutama tergantung pada adanya saluran-saluran ion membran yang aktivitasnya dimodulasi oleh P_{O₂} yang rendah. Terdapat banyak tipe saluran kalium yang terlibat pada O₂ sensing akut, diantaranya adalah *Kv channels / shaker family* dan *KCa channels*.

Regulasi dan aktifitas kanal-kanal ion ini berbeda-beda tergantung dari jenis dan lokasi kanal ion. Sebagai contoh pada vaskuler pulmoner, mekanisme yang terjadi adalah inhibisi satu atau lebih tipe saluran kalium yang akan merangsang depolarisasi membran sehingga *voltage gated Ca channels* terbuka dan selanjutnya akan terjadi kontraksi miosit. Akan tetapi pada pembuluh darah dan jantung, komponen utama yang terlibat dalam mekanisme ini adalah *KATP channels* miosit. Saluran ini membuka saat terpapar hipoksia karena adanya deplesi ATP. Perbedaan aktifitas kanal ion ini diduga karena kandungan subunit alpha dan beta pada kanal ion tersebut yang juga berbeda.

Semua aktifitas kanal ion ini diduga juga diregulasi oleh HIF-1. Hal ini didukung oleh ditemukannya *Hypoxia Response Elements in 5'-flanking region of the $\alpha 1H Ca^{2+}$ channels*. Dimana *$\alpha 1H Ca^{2+}$ channels* merupakan gen kanal ion kalsium tipe T, sedangkan HRE merupakan *DNA binding site* dari HIF. Ekspresi gen ini menyerupai ekspresi gen eritropoietin dan ekspresi gen-gen yang sensitif terhadap oksigen lainnya.²⁹

1.3. Respon tubuh terhadap Hipoksia

Respon terhadap hipoksia dibedakan dalam dua tingkatan, pada tingkat sistemik bersifat akut dan respon pada tingkat seluler bersifat kronik-adaptif. Respon akut hipoksia terutama terjadi pada sistem respirasi dan kardiovaskuler yang berlangsung secara cepat dalam hitungan detik sampai beberapa menit. Hal tersebut

dimaksudkan untuk menjaga suplai O₂ tetap adekuat terutama bagi organ-organ spesifik seperti jantung dan otak. Respon akut ini tergantung pada modulasi saluran ion yang diregulasi oleh O₂, yang memediasi perubahan adaptif meliputi eksitabilitas, kontraktilitas dan aktivitas sekretori.³² *Ion channels* berperan dalam proses pelepasan neurotransmitter dari sel-sel neurosekretori yang berperan dalam induksi respon akut terhadap hipoksia.³³

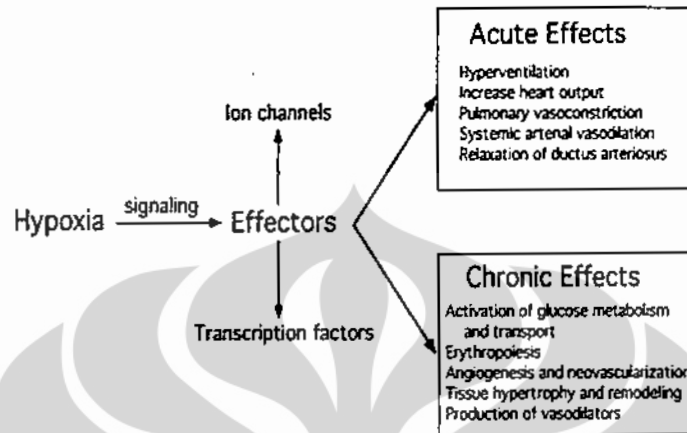
Pada tingkat sistemik hipoksia diindera oleh kemoreseptor pusat maupun perifer. Kemoreseptor pusat melibatkan talamus, hipotalamus, pons dan medula, sedangkan kemoreseptor perifer meliputi kemoreseptor arteri : *aortic bodies* dan *carotid bodies* (CBs), dan kemoreseptor jalan nafas : *neuroepithelial bodies* (NEBs) serta otot polos pada arteri pulmonar.

Di dalam CBs terdapat sel-sel glomus yang mengandung sel-sel *neurosecretory* yang bersifat sensitif terhadap perubahan O₂. Kemoreseptor arteri merupakan *K⁺ channels* yang terdapat pada membran sel. Inhibisi saluran kalium ini akan menimbulkan depolarisasi membran yang menyebabkan peningkatan influks kalsium dan pelepasan neurotransmitter dari sel-sel neurosekretori arteri. Neurotransmitter yang dilepaskan akan diteruskan ke otak yang selanjutnya akan menginduksi respon terhadap hipoksia. Respon-respon ini diantaranya adalah hiperventilasi, peningkatan kardiak output, vasokonstriksi pulmoner dan vasodilatasi arteri sistemik.²⁹

Oksigen sensor lain yang terdapat pada kemoreseptor CBs adalah protein hem yang mengandung besi yaitu sitokrom yang terdapat pada mitokondria dan NADPH oksidase yang terdapat pada NEBs. Oksigen sensor ini akan menghambat saluran-saluran kalium yang terdapat pada membran sel CBs dan NEBs, sehingga terjadi pelepasan neurotransmitter sebagai respon terhadap hipoksia.

Respon kronis hipoksia terjadi beberapa jam sampai beberapa hari melalui pengaturan ekspresi sejumlah gen yang mengkode enzim, faktor-faktor pertumbuhan dan transporter yang menginduksi modifikasi molekuler dan seluler untuk menurunkan kebutuhan sel akan O₂ dan ketergantungan sel terhadap O₂ serta meningkatkan suplai O₂ ke jaringan. Efek yang timbul dalam respon kronis hipoksia ini adalah aktivasi metabolisme dan transportasi glukosa, peningkatan aktivitas eritropoiesis, hipertrofi jaringan dan peningkatan produksi vasodilator. Induksi molekuler dan seluler ini juga melibatkan VEGF dalam mekanisme adaptasi melalui

berbagai peran, diantaranya adalah angiogenesis, restrukturisasi vaskuler dan peningkatan permeabilitas kapiler.³⁴⁻³⁷



Gambar 3. Jalur Sinyal Hipoksia²⁹

1.4. Pengaruh Hipoksia terhadap Otak

1.4.1. Mekanisme Adaptasi Otak terhadap Hipoksia

Mekanisme yang terlibat dalam proses adaptasi terhadap lingkungan oksigen yang rendah (hipoksia) terjadi secara cepat dan melibatkan mekanisme transkripsional dan postranskripsional. Paparan hipoksia secara kronis mengarah pada adaptasi struktural dan fungsional dalam otak. Berbeda dengan adaptasi sistemik, adaptasi organ spesifik terutama ditemukan pada otak dan paru-paru.

Otak hidup dalam lingkungan yang secara predominan kadar oksigennya rendah, yang secara fisiologis tetap terjaga. Tekanan O₂ dijaga pada tingkat yang cukup untuk keperluan metabolisme. Rata-rata PtO₂ (tekanan parsial oksigen jaringan) otak lebih kecil dibandingkan dengan PvO₂ (tekanan parsial oksigen vena). Hal ini menyebabkan : 1) kecepatan aliran darah melalui kapiler lebih cepat. 2) aliran darah ke jaringan terbatas, aliran darah ke berbagai regio otak dikontrol pada kecepatan perfusi istirahat yang rendah.

Dalam kondisi hipoksia serebrovaskuler bekerja untuk memelihara O₂ jaringan dan suplai energi yang diperlukan untuk mendukung fungsi neuron tetap optimal. Segera setelah terpapar hipoksia terjadi disoksigenasi Hb, penurunan PtO₂, vasodilatasi serebrovaskuler untuk meningkatkan CBF (*cerebral blood flow*) sehingga volume darah serebral meningkat, waktu transit rata-rata kapiler lebih cepat, CMR Glu (*cerebral metabolic rate for glucose*) meningkat. Jika paparan hipoksia terjadi

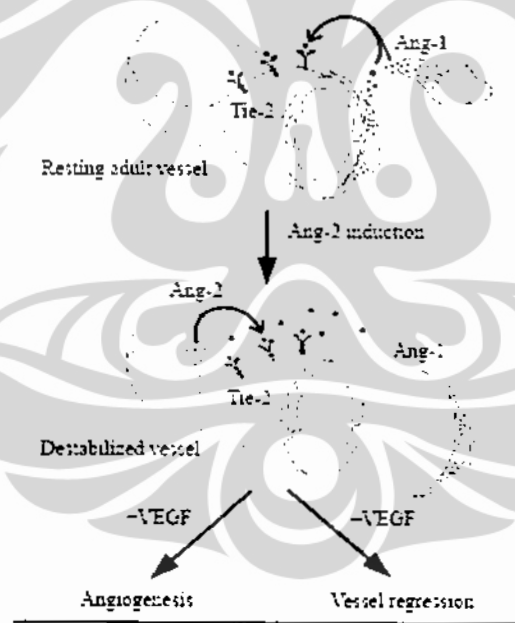
dalam jangka lama, respon adaptif kronis terhadap hipoksia akan terinduksi. Terjadi remodeling vaskuler, CBF tetap meningkat, transport glukosa melintasi *blood brain barrier* dan CMR Glu juga meningkat, glikolisis meningkat untuk menjaga keseimbangan asam basa yang disebabkan oleh penurunan PaCO₂ (tekanan parsial CO₂ arteri) yang diinduksi oleh hiperventilasi dan terjadi penurunan konsumsi energi mitokondria (ditandai oleh penurunan densitas mitokondrial saraf dan penurunan enzim sitokrom oksidase otak).

Pada kasus prolonged hipoksia peningkatan hematokrit sebenarnya cukup untuk mengembalikan *oxygen delivery* ke otak, tetapi hal ini tidak cukup untuk mengembalikan oksigenasi jaringan karena tekanan parsial oksigen yang relatif rendah tidak cukup memfasilitasi difusi oksigen dengan baik. Dengan adanya peningkatan vaskularitas otak akan menyebabkan jarak interkapiler lebih kecil sehingga oksigenasi jaringan meningkat.

Dari beberapa penelitian telah didapatkan bukti adanya struktur-struktur yang menyerupai pembuluh darah yang berasal dari pembuluh-pembuluh darah parenkim otak yang kemudian menginvasi ke arah inti area iskemia.³² Hasil ini mendukung pendapat bahwa iskemia serebral bisa menyebabkan aktivasi angiogenesis. Bukti lain yang mendukung pendapat ini adalah adanya jaringan otak manusia yang telah meninggal karena stroke terdapat mikrovesel-mikrovesel baru pada hemisfer ipsilateral yang tidak ditemukan pada hemisfer kontralateral. Jumlah pembuluh-pembuluh darah ini berhubungan dengan lamanya pasien bertahan hidup setelah serangan stroke. Hal ini menggambarkan adanya efek respon fisiologis terhadap iskemia yang menguntungkan.³⁵ Dari data ini bisa disimpulkan bahwa paparan hipoksia yang tidak menyebabkan kerusakan jaringan, cukup untuk meningkatkan densitas kapiler otak.³⁴

Restrukturisasi kapiler ini memerlukan sekurang-kurangnya 1 minggu paparan hipoksia dan restrukturisasi ini lengkap setelah 2 minggu dan atau sebelum 3 minggu paparan hipoksia. Namun restrukturisasi vaskuler ini akan hilang setelah 2 – 3 minggu *recovery*.³⁵ Dari hasil ini bisa disimpulkan bahwa restrukturisasi vaskuler otak yang terjadi sehubungan dengan paparan hipoksia bersifat *reversible*. Sebenarnya telah banyak ditemukan bukti-bukti yang mendukung pendapat bahwa paparan hipoksia yang tidak menyebabkan kerusakan jaringan, cukup untuk meningkatkan densitas kapiler otak.³⁷

Restrukturisasi vaskuler yang terjadi seperti tersebut dikontrol oleh VEGF dan angiopoietin-2 yang terinduksi oleh hipoksia. Secara normal angiopoietin-1 dihasilkan oleh *pericytes* dan sel-sel yang berada disekitarnya untuk menjaga stabilitas mekanik kapiler melalui interaksi dengan reseptor Tie-2 (tirosin kinase-2). Bila terjadi perubahan kemampuan penggunaan O₂, maka Ang-2 (angiopoietin-2) akan terinduksi dan ia akan mengikat Tie-2 tanpa mengalami fosforilasi / aktivasi sehingga Ang-1 terhambat untuk berikatan dengan Tie-2 (Ang-1 terbloking). Hal ini mengakibatkan pelepasan *pericytes* sehingga destabilitas kapiler terjadi. Selama paparan hipoksia, terjadi akumulasi HIF-1 yang akan menginduksi produk VEGF yang akan menyebabkan proliferasi sel endotel sehingga proses restrukturisasi vaskuler bisa terjadi. Tetapi setelah reoksigenisasi pascaadaptasi hipoksia, produksi VEGF berhenti sehingga vaskuler mengalami regresi dan apoptosis.³⁴ Proses ini secara singkat bisa dilihat seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses Restrukturisasi Vaskuler Otak³⁴

1.4.2. Pengaruh Buruk Hipoksia terhadap Otak

Hipoksia yang berat tidak bisa diatasi melalui beberapa mekanisme adaptasi seperti tersebut di atas. Bila kebutuhan oksigen otak tetap tak terpenuhi maka akan terjadi kerusakan struktur dan fungsi dari sel neuron. Kerusakan ini bervariasi tergantung lamanya paparan hipoksia. Dari beberapa hasil penelitian didapatkan gambaran bahwa terdapat perbedaan tingkat kerusakan sel dari berbagai area otak.

Kerusakan terutama terjadi pada sel-sel neuron yang berada pada area hipokampus, neokorteks dan striatum. Kerusakan-kerusakan yang terjadi karena nekrosis dan apoptosis.¹¹

1.4.2.1. Pengaruh hipoksia terhadap *Blood brain barrier* (sawar darah otak)

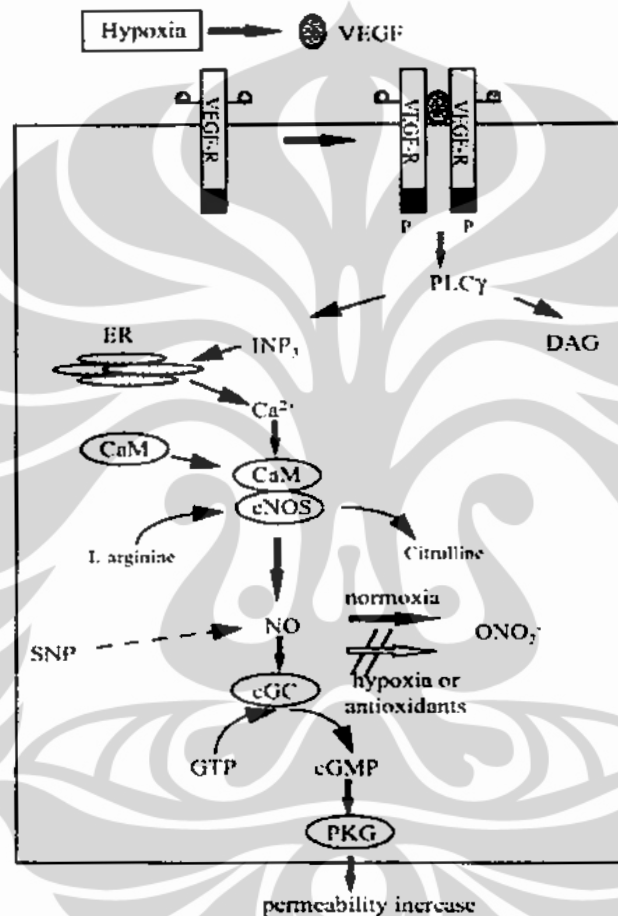
Hipoksia menyebabkan sawar darah otak beberapa kali lebih permeabel terhadap molekul-molekul kecil seperti inulin dan sukrosa. Terdapat bukti bahwa kematian sel-sel neuron pada awalnya terjadi tanpa diikuti perubahan-perubahan vaskuler otak. Dalam penelitian yang sama didapatkan pula bukti bahwa peningkatan edem otak merefleksikan adanya kerusakan sawar darah otak yang disebabkan oleh rusaknya neuron, glia dan sel-sel endotel.³⁸

Peningkatan permeabilitas ini disebabkan langsung oleh kerja sel-sel endotel. Hal ini diperkirakan juga dapat memediasi penambahan transistosis, pembentukan gap antara sel-sel endotel dan induksi fenestrasi pada area *nonfenestrated endothelium*. Seperti diketahui bahwa sel-sel endotelium serebral membentuk BBB (*blood brain barrier*) yang meregulasi homeostasis sistem saraf pusat. Kemampuan *barrier* ini dihasilkan dari *tight intercellular junctions* antara sel-sel endotel, rendahnya jumlah vesikel pinosit dan tidak adanya fenestrasi.

Cascade sinyal permeabilitas mikrovaskuler ini diinduksi oleh VEGF dan melibatkan NO (*nitric oxide*) sebagai *second messenger*. VEGF menyebabkan pelepasan NO dari sel-sel endotel yang terlibat dalam aktivasi tirosin dan *phosphoinositide 3 kinase*. *Nitric oxide* yang dihasilkan ini selanjutnya akan meningkatkan permeabilitas vaskuler. Data ini didapatkan melalui penelitian dengan pemberian L-NMMA (N^G -monomethyl-L arginine), molekul inhibitor khusus sintesis NO. Pemberian 100 μ M L-NMMA menghapus efek peningkatan permeabilitas kapiler yang terinduksi oleh hipoksia. Dari data ini jelas bahwa perubahan permeabilitas yang terjadi sebenarnya dimediasi oleh pembentukan NO sebagai hasil dari induksi VEGF.³⁴

Nitric oxide disintesis dari asam amino L-arginin secara konstitutif dengan eNOS (*endothelial NO synthase*) atau dengan iNOS (*inducible NO synthase*). Bagaimana mekanisme NO memodulasi peningkatan permeabilitas sesungguhnya belum jelas, tetapi jelas bahwa NO mengaktivasi guanilat siklase sel yang menyebabkan peningkatan level cGMP sitosol. Peningkatan cGMP sitosol ini nanti

yang akan mengaktifasi protein kinase G untuk meningkatkan permeabilitas. SNP (*sodium nitroprusside*), yang dikenal sebagai sumber eksogen NO juga bisa menginduksi peningkatan permeabilitas.³⁴ Jalur yang menginduksi permeabilitas sel endotel mikrovesel otak yang diinduksi oleh hipoksia bisa secara singkat dijelaskan seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Jalur induksi permeabilitas kapiler otak³⁴

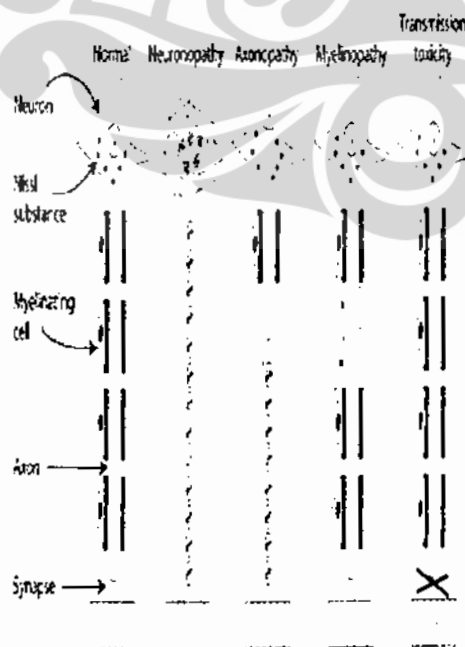
Perubahan permeabilitas kapiler otak ini akan mengakibatkan udem otak sehingga secara tidak langsung akan mengakibatkan kerusakan sel-sel neuron otak.

1.4.2.2. Perubahan struktural dan fungsional sel saraf

Injuri saraf bisa disebabkan oleh berbagai hal, diantaranya adalah keracunan zat-zat toksik, mutasi pada gen-gen tertentu dan hipoksia. Hipoksia menyebabkan kerusakan lapisan sel-sel endotel dengan ekstrasvasasi protein 30 menit setelah resirkulasi. Pada akhirnya kondisi ini akan mengakibatkan terjadinya udem otak.

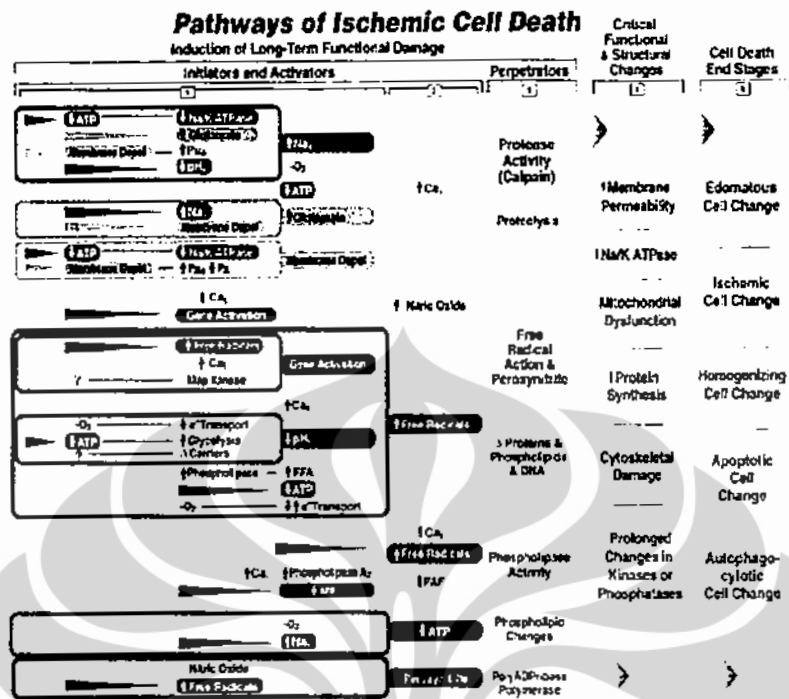
Meskipun belum didapatkan bukti yang mendukung bahwa edem yang terjadi menjadi penyebab secara langsung sel-sel saraf rusak, namun didapatkan gambaran bahwa terdapat korelasi kuat antara luas infark otak dengan udem yang terjadi. Kerusakan-kerusakan sel endotel yang terjadi diduga disebabkan peningkatan produksi radikal bebas.³⁹

Terdapat empat tipe injuri sel saraf, yaitu : 1) *Axonopathy*, merupakan suatu kondisi dimana terjadi degenerasi akson dan myelin yang mengelilingi akson tetapi badan sel saraf sendiri masih utuh. Substansi yang bisa menginduksi *axonopathy*, yaitu : γ -diketones, karbon disulfida, β,β' -iminodipropinonitrik, akrilamid, *organophosphorus ester*, *pyridine ethion* dan substansi yang berhubungan dengan neurotoksitas mikrotubul misalnya *vinristine*, *colchicines* dan *taxol*. 2) *Myelinopathy*, yaitu terpisahnya *lamellae myelin*, udem antar mielin dan hilangnya mielin serta demielinisasi. Substansi yang menyebabkan demielinisasi adalah : *hexakloropene* dan *tellurium*. 3) *Neuropathy*, yaitu terjadi kerusakan sel saraf secara keseluruhan termasuk semua yang berhubungan dengan proses selulernya dan tidak ada potensial yang dihasilkan. 4) Gangguan neurotransmisi, tergantung pada tempat serangan pada neuron. Substrat yang menyebabkan gangguan neurotransmisi : nikotin, kokain dan asam amino eksitatori seperti glutamat.¹⁴



Gambar 6. Tipe-tipe injuri sel saraf¹⁴

Proses injuri sel saraf terjadi melalui empat tahap, pertama adalah tahap induksi, meliputi beberapa perubahan yang diinisiasi oleh kondisi iskemia dan reperfusi. Termasuk didalamnya adalah inhibisi transpor elektron, penurunan ATP, penurunan pH, peningkatan kalsium sel, pelepasan glutamat, peningkatan asam arakidonat dan aktivasi gen yang menyebabkan pembentukan sitokin, pembentukan enzim-enzim yang terlibat dalam produksi radikal bebas dan akumulasi leukosit. Perubahan-perubahan ini menyebabkan lima kejadian yang menyebabkan kerusakan sel saraf yang disebut *perpetrators*. Kerusakan yang disebabkan oleh kerja radikal bebas dan produk piroksinitritnya, kerusakan karena kerja Ca^{2+} -dependent protease *calpain*, kerusakan karena aktifitas fosfolipase, kerusakan karena aktifitas PARP (*poly-ADPribose polymerase*) dan kerusakan yang disebabkan oleh aktivasi jalur apoptotik. Tahap kedua adalah tahapan yang melibatkan perubahan jangka panjang pada makromolekul atau metabolit-metabolit yang disebabkan oleh *perpetrators*. Tahap ketiga merupakan efek kerusakan jangka panjang yang melibatkan perubahan makromolekul dan metabolit serta beberapa proses induksi fungsi dan struktur sel yang mengarah pada tahap akhir dari kerusakan sel. Target perubahan fungsi dan struktur ini termasuk plasmalemma, mitokondria, sitoskeleton, sintesis protein dan aktifitas kinase. Tahap empat merupakan tahap akhir dari kerusakan sel saraf dimana telah terjadi perubahan morfologi dan biokimia yang terjadi secara progresif. Meskipun telah diketahui berbagai penyebab tersebut namun, bagaimana *perpetrators* mempengaruhi struktur dan fungsi dan apa serta bagaimana setiap perubahan ini berkontribusi pada kerusakan sel saraf belum semua jelas.³⁸ Dari berbagai penyebab kematian sel saraf tersebut, melalui berbagai penelitian telah didapatkan gambaran berbagai jalur kematian sel iskemia. Jalur tersebut bisa digambarkan seperti Gambar 7



Gambar 7. Jalur Kematian sel Iskemia³⁸

Terdapat perbedaan karakteristik morfologi dan biokimia kematian sel saraf yang disebabkan oleh iskemia. Perbedaan-perbedaan tersebut adalah :

1.4.2.2.1. Karakteristik morfologi kematian sel nekrotik

Kematian sel nekrotik terbagi menjadi : 1) *Edematous/pale cell change* (ECC), yaitu sitoplasma yang sangat bengkak, beberapa mitokondria bengkak dengan disrupsi krista tetapi sebagian lainnya tetap bulat dan hanya sedikit keriput. Struktur retikulum endoplasma, aparatus golgi dan polisome tidak lengkap dan kadang-kadang melekat pada ribosom yang tetap eksis dan kadang juga terakumulasi dekat dengan nukleus. Mikrotubul dan struktur-struktur filamen tidak ada dan sitoplasma hampir hilang. Membran plasma ireguler dan kadang tampak hancur. Inti normal atau dengan kromatin yang bersatu secara tidak beraturan atau kondisi yang sering disebut sebagai kromatolisis perifer. 2) *Ischemic cell death* (ICC) yang ditandai dengan nukleus dan sitoplasma gelap dan keriput, membran plasma dan membran inti ireguler dan kadang sel berbentuk segitiga (dilihat dalam dua dimensi). Sitoplasma secara umum berisi vakuol-vakuol berukuran besar (diameter 1-2 μm), beberapa mitokondria bengkak dengan disrupsi krista, retikulum endoplasma sulit diidentifikasi. 3) *Homogenizing cell change* (HCC) / *ghost cells* yang ditandai oleh inti mengkerut dan sedikit lebih gelap dari normal dan kadang-kadang membran terfragmentasi. Benang-benang

kromatin menggumpal secara tidak beraturan. Sitoplasma sedikit berkurang dengan vesikel-vesikel kecil. Beberapa mitokondria keriput, organel-organel sel lainnya sulit dikenali. Membran sel dirupsi, sel-sel tampak lebih pucat dibandingkan dengan sel normal dan tampak *weakly eosinophilic* dilihat dengan mikroskop elektron. Karakteristik-karakteristik ini sering disebut sebagai gambaran sel hantu (*ghost cells*).³⁹ Selain tiga kategori kematian sel nekrosis tersebut, terdapat juga tujuh klasifikasi sel nekrosis lain yaitu : 1) *Coagulative necrosis*, nekrosis yang disebabkan oleh kondisi hipoksia. Sisa kerangka selnya masih bisa dikenali dengan mikroskop cahaya. 2) *Liquefactive necrosis*, kematian sel yang berhubungan dengan destruksi sel dan pembentukan nanah, misalnya pada kasus pneumonia. 3) *Gummatous necrosis*, nekrosis yang disebabkan oleh *spirochaeta*. 4) *Haemorrhagic necrosis*, disebabkan oleh blokade aliran darah vena pada sebuah organ atau jaringan. 5) *Caseous necrosis*, merupakan bentuk khusus *coagulation necrosis* yang disebabkan oleh mikobakteria. 6) *Fatty necrosis*, merupakan hasil kerja dari lipase pada jaringan lemak. 7) *Fibrinoid necrosis* yang disebabkan oleh kerusakan vaskuler yang dimediasi oleh imunitas.¹⁰

1.4.2.2.2. Karakteristik kematian sel apoptosis

Perubahan morfologi kematian sel ini ditandai oleh penurunan volume sel (piknosis), kondensasi kromatin, fragmentasi nukleus (karyoreksis), sedikit atau tidak ada modifikasi organel-organel sitoplasma, membran plasma *blebbing* atau membran plasma masih intak sampai tahap akhir proses apoptosis terjadi.³⁹ Terdapat badan-badan apoptotik yaitu struktur yang berisi sitoplasma dan masa kromatin yang lebih gelap dibandingkan dengan yang normal. Sebelum badan apoptosis ini terbentuk sitoplasma jadi lebih gelap dan piknotik.³⁸ Perubahan biokimia, *double-stranded DNA* hancur dan berubah bentuk ke dalam segmen-segmen nukleosomal yang bisa terdeteksi secara khusus dengan metode pemeriksaan imunohistokimia. Pengukuran fragmentasi DNA atau aktivasi *caspase* ini sangat membantu diagnosis apoptosis. Secara khusus kematian sel nekrosis yang disebabkan oleh hipoksia (*Coagulation necrosis*) bisa dibedakan dengan kematian sel karena apoptosis seperti Gambar 8 :

Apoptosis vs. Coagulation Necrosis		
	Apoptosis	Necrosis
Stimulus	Physiological (Developmental, Atrophy, Selected Pathological)	Hypoxia, Toxins
Histology	Single cells, shrinkage, chromatin condensation, apoptotic bodies	Cell swelling, groups of cells, tissue disruption
Organelles	Intact	Swelling of mitochondria & ER
Nucleus	Chromatin condensation, inter-nucleosomal breaks, laddering (karyorrhexis)	Disappearance, Random DNA breaks (karyolysis)
Outcome	Phagocytosis of apoptotic bodies	Inflammation, regeneration, or repair by fibrosis

Gambar 8. Perbedaan kematian sel apoptosis dengan *Coagulation necrosis*⁴⁰

1.4.2.2.3. Karakteristik kematian sel *Autophagy*

Kematian sel *autophagy* merupakan bentuk kematian sel non-apoptotik *programmed cell death (PCD)*. Perubahan morfologi yang terjadi adalah tidak terjadi kondensasi kromatin, terdapat vakuolisasi sitoplasma secara masif. Vakuol-vakuol ini berukuran besar dan memiliki dua membran yang berisi organel-organel sitoplasma yang mengalami degenerasi, autofagosom atau proliferasi lisosom dan nukleus dengan gumpalan kromatin yang berbentuk ireguler.³⁸ Pemeriksaan biokimia yang mendukung karakter kematian sel ini adalah pemeriksaan protein yang mengaktifasi atau menginhibisi autofagositosis, misalnya protein S6 atau gen ATG yang diperlukan untuk induksi *autophagy* dan generasi, maturasi serta resiklus autofagosom. Faktor-faktor yang terlibat dalam pengontrolan *autophagy* : nutrien, hormonal, temperatur dan konsentrasi oksigen. Terdapat beberapa sinyal proapoptotik yang bisa menginduksi *autophagy* misalnya komponen-komponen jalur apoptosis ekstrinsik : TRAIL, TNF dan FADD.⁴¹ Selain berperan dalam PCD, *autophagy* juga terlibat dalam mekanisme perbaikan dengan cara mendegradasi organel-organel sel yang rusak. *Autophagy* terlibat juga dalam proses pertumbuhan dan perkembangan serta homeosasis, membantu memelihara keseimbangan antara sintesis, degradasi dan resiklus produk-produk seluler.⁴²

Dari ketiga kriteria kematian sel tersebut di atas, menurut NCCD (*The Nomenclature Committee on the Cell Death*) sel bisa dikatakan mati bila ditemukan kriteria molekuler dan morfologi seperti : 1) Sel dengan integritas membran plasma sel hilang. 2) Sel dengan inti yang terfragmentasi. 3) Fragmen-fragmen inti tertelan oleh sel-sel sekitarnya.³⁹

1.4.2.3. Iskemia otak

Iskemia otak akan menyebabkan beberapa kondisi yang mengakibatkan kematian sel neuron. Kondisi tersebut diantaranya adalah terjadinya peningkatan ROS, peningkatan glutamat dan inflamasi. Peningkatan glutamat yang disebabkan oleh iskemia otak akan menyebabkan kanal ion NMDA dan AMPA terbuka sehingga akan terjadi peningkatan ion kalsium intraseluler. Peningkatan kalsium ini akan meningkatkan aktivitas NO.

Salah satu radikal bebas otak yang paling dominan adalah anion superoksida. Dalam kondisi iskemia anion ini akan bereaksi dengan NO untuk menghasilkan peroksinitrit yang sangat toksik bagi sel.

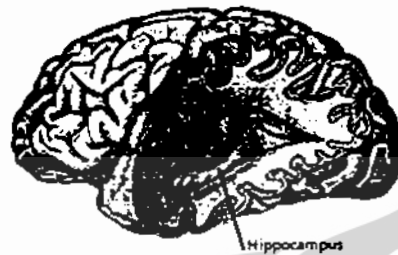
Peningkatan mediator-mediator inflamasi yang disebabkan oleh iskemia akan menginduksi peningkatan ekspresi faktor transkripsi NFκB, yang selanjutnya akan merangsang peningkatan produksi sitokin dan molekul adesi. Peningkatan sitokin dan molekul adesi ini akan menginduksi produk enzim-enzim proteolitik yang pada akhirnya juga akan merusak sel-sel neuron otak.

2. Hipokampus dan neurogenesis

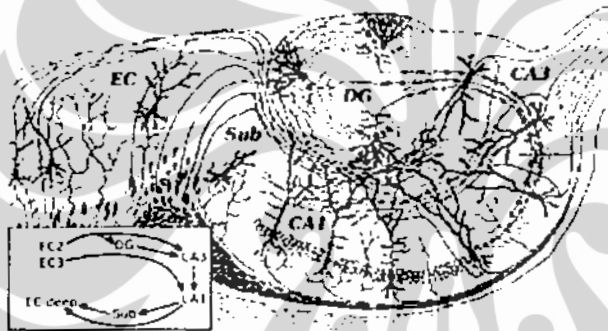
Hipokampus merupakan komponen utama otak manusia dan mamalia, yang terletak pada lobus temporal otak bagian tengah. Ia merupakan bagian sistem limbik yang berperan penting dalam *long term-memory*.⁴³ Kerusakan-kerusakan hipokampus diantaranya bisa disebabkan oleh hipoksia, encephalitis dan epilepsi. Manusia yang menderita kerusakan hipokampus akan mengalami amnesia dan tidak mampu membentuk serta mempertahankan memori baru.

Karena hipokampus memiliki tipe-tipe sel yang berbeda yang terorganisasi dalam lapisan dalam hipokampus, area ini sering dipakai sebagai model sistem pembelajaran neurofisiologi. Pembentukan plastisitas yang dikenal sebagai LTP (*Long-Term Potentiation*) pertamakali juga ditemukan di hipokampus.⁴³ *Long term*

potentiation dipercaya sebagai suatu mekanisme kerja neuron yang utama yang berhubungan dengan memori.



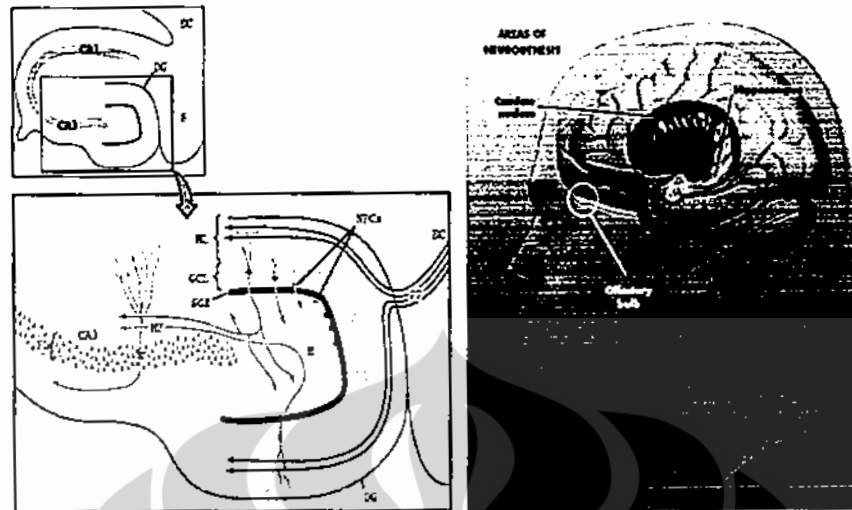
Gambar 9 : Hipokampus⁴³



Gambar 10 : Sirkuit dasar hipokampus.⁴³ DG : *dentate gyrus*, CA : *cornu ammonis*, sub : *subiculum*, EC : *entorhinal cortex*.

Aliran informasi dan target keluaran utama hipokampus adalah dari dan ke *entorhinal cortex*. Korteks ini memiliki hubungan yang sangat kuat dengan bagian-bagian korteks otak lainnya. Aliran informasi terjadi secara *unidirectional*, yaitu pertama informasi diterima di girus dentatus, lalu diteruskan ke area CA3, CA1 dilanjutkan ke *subiculum* dan ke luar hipokampus melalui korteks entorhinal.

Terdapat dua area otak yang mengandung sel-sel punca saraf, salah satunya terletak di girus dentatus hipokampus yaitu area SGZ (*subgranule zone*), disamping area yang terletak di ventrikel lateral otak yang disebut SVZ (*subventricular zone*). Neuron-neuron baru yang dihasilkan selama masa dewasa pada area otak mamalia ini disebabkan oleh proliferasi dan diferensiasi stem sel saraf dewasa.⁴⁴⁻⁴⁹ Oleh karena itu neurogenesis bisa terjadi sepanjang proses kehidupan manusia.



Gambar 11. Area Neurogenesis Dewasa^{45,46}

Proses neurogenesis dewasa bisa dipengaruhi oleh faktor-faktor fisiologis maupun patologis dalam berbagai tingkatan. Faktor fisiologis diantaranya adalah faktor pertumbuhan, stres, olah raga, pembelajaran dan perbaikan lingkungan, sedangkan faktor patologis yang mempengaruhi proses neurogenesis diantaranya adalah hipoksia, epilepsi dan neurodegenerasi. Neuron-neuron baru yang terbentuk secara fungsional terintegrasi ke dalam sirkuit yang telah ada. Hal ini melahirkan hipotesis bahwa neuron-neuron immatur bisa berkontribusi untuk membentuk *learning* dan memori tertentu.⁴⁶

NSCs (*neuro stem cells*) dewasa merupakan sel-sel dari sistem saraf dewasa yang bisa memperbarui diri sendiri dan berdiferensiasi ke dalam semua tipe sel-sel saraf, termasuk neuron, astrosit dan oligodendrosit. Neuron merupakan komponen fungsional dari sistem saraf dan bertanggung jawab untuk memproses dan mentransmisikan informasi sedangkan astrosit dan oligodendrosit yang secara kolektif dikenal sebagai glia, memegang peran pendukung utama bagi fungsi sebenarnya dari sistem persarafan.

Secara *in vivo* terdapat hipotesis bahwa lingkungan mikro SVZ dan SGZ yang dikenal sebagai *Neurogenic niche*, memiliki faktor – faktor khusus yang memungkinkan diferensiasi dan integrasi saraf baru.⁴⁷

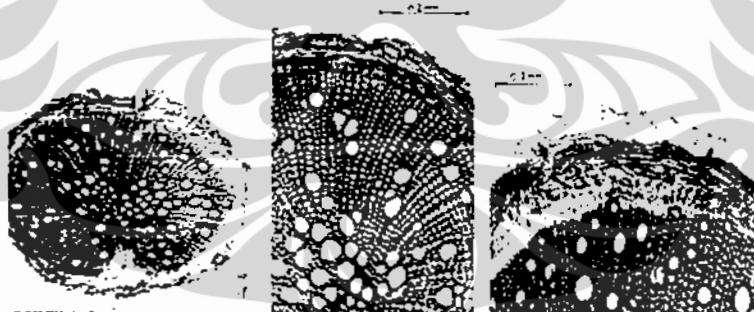
3. Akar Kucing

Akar Kucing merupakan gulma yang sangat umum ditemukan dan tumbuh liar di pinggir jalan, di tempat pembuangan sampah, lapangan rumput maupun di

lereng gunung. Tumbuhan tegak dengan tinggi antara 30-100 cm, bercabang dengan garis memanjang kasar, berambut halus. Daun tunggal, bertangkai panjang, letak tersebar. Bunga majemuk berkelamin satu, keluar dari ketiak daun, kecil-kecil dalam rangkaian berbentuk bulir. Buahnya buah kotak, bulat dan hitam. Biji bulat panjang berwarna coklat pucat. Akarnya akar tunggang, berwarna putih kotor.^{19,20,22} Tanaman ini dapat diperbanyak dengan biji. Akar tanaman ini sangat disukai oleh kucing dan anjing. Seluruh unsur tanaman ini bisa dipakai sebagai sumber pengobatan.



Gambar 12. Tanaman Akar Kucing⁵⁰



Gambar 13. Irisan akar *Acalypha indica* Linn⁵¹

Klasifikasi tanaman Akar Kucing :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Acalypha</i>
Jenis	: <i>Acalypha indica</i> Linn.

Kandungan zat-zat kimia dalam tanaman ini diantaranya adalah : acalphyamid (sebagai asetat), aurantia-mide dan asetatnya, *succinimide calypho lactat*, *2-methyl anthraquinone*, asam *tri-O-methylellagic*, b-sitosterol dan b-D-glukosid (daun), glukosid sianogenetik, *acalyphine*, 2 alkaloid, viz, *acalyphine* dan *triacetonamine*, minyak esensial n-octacosamol, kaempferol, quebrachitol, b-sitosterol asetat dan tannin (seluruh tanaman), stigmasterol (akar).¹⁹

3.1. Manfaat Akar Kucing (*Acalipha indica* Linn.) bagi Kesehatan

Tanaman Akar Kucing digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan, bahkan di India penggunaan akar kucing ini merupakan salah satu tanaman obat terkenal yang dipakai dalam sistem pengobatan Siddha. Selain di Indonesia dan India penggunaan akar kucing sebagai obat tradisional juga terdapat di Banglades, Thailand, Pilipin, Malaysia, Sudan, Somalia, Nigeria, Kongo dan negara-negara Afrika timur maupun selatan lainnya.¹⁹

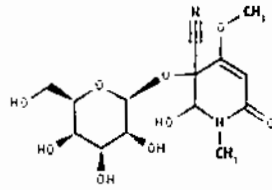
Penggunaan sebagai obat tradisional diantaranya adalah : 1) buah : dipergunakan untuk pengobatan asthma, batuk, bronkitis dan sakit telinga, 2) tanaman dan buah : dipergunakan untuk ekspektoran, *laxative*, pneumonia dan reumatik, 3) daun : untuk mengatasi penyakit-penyakit kulit seperti skabies, bisul, luka berdarah, gigitan ular, diare, konstipasi, mimisan, muntah darah, berak darah, kencing darah, pengurang rasa sakit, obat cacing dan sebagai anti muntah.^{19,20,22}

Meskipun bermanfaat bagi kesehatan tubuh, tanaman ini sebenarnya juga beracun. Tanaman ini menyebabkan warna coklat gelap pada darah, kontak dengan tanaman ini menyebabkan infeksi kulit. Pada dosis tinggi menimbulkan gejala-gejala keracunan seperti : badan lemah, muntah dan diare. Efek selanjutnya akan timbul sakit kepala, mengantuk, disorientasi, anggota badan lemah dan terjadi penurunan kesadaran.⁵⁰

3.2. Zat aktif Akar *Acalypha indica* Linn, yang diduga berkasiat sebagai obat

3.2.1. *Acalyphine*

Unsur *Acalyphine* (sejenis sianogenik glikosid) terdiri dari : 2-hydroxy-4-methoxy-1-methyl-6-oxo-3-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-2H-pyridine-3-carbonitrile. Struktur kimia *Acalyphine* tampak pada Gambar 14 :



Gambar 14. Rumus bangun *Acalyphine*⁵²

Acalyphine mampu berinteraksi secara langsung dengan asam amino pada posisi Lys 69, Asp 49, Gly 30, Tyr 69, Asp 69 dan ion kalsium pada PLA2 (*Phospholipase A2*) dari ular Roseli dan PLA2 pankreas sapi. PLA2 merupakan enzim khusus yang mengkatalisis hidrolisis fosfolipid membran untuk membentuk lisofosfolipid dan asam arakidonat. Pengelepasan asam arakidonat oleh PLA2 diikuti oleh peningkatan produksi eikosanoid. Peningkatan eikosanoid mengimplikasikan status inflamasi, dan oleh karena itu PLA2 bekerja sebagai target bagi obat-obat anti inflamatori.²⁷

Interaksi antara *Acalyphine* dengan PLA2 bersifat katalitik dan diduga berpotensi sebagai antagonis venom ular Roseli dan bekerja sebagai agen inflamatori. Interaksi ini membentuk kompleks inhibitor dengan protein (*Acalyphine* dengan asam amino PLA2), sehingga bila terbukti *Acalyphine* mampu berinteraksi secara langsung dengan asam amino maka ia sangat berpotensi sebagai agen pengobatan bagi berbagai penyakit.²⁷

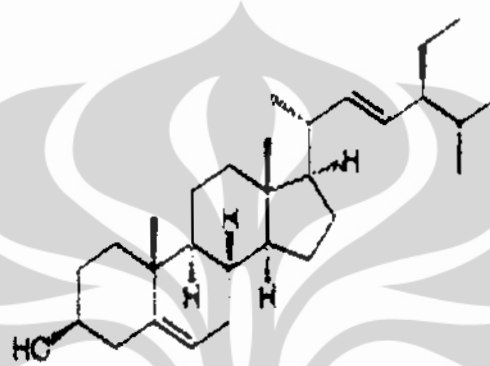
3.2.2. Stigmasterol

Stigmasterol merupakan pitosterol dengan berat molekul 412.691 Kda dan dengan formula C₂₉H₄₈O. Pitosterol merupakan satu dari kelompok sterol tanaman yang secara kimia mirip dengan kolesterol binatang. Molekul ini merupakan sterol tanaman yang tidak tersaturasi dan tidak larut dalam air tetapi ia larut dalam sebagian besar pelarut organik dan berisi satu kelompok fungsional alkohol. Terdapat pada lemak atau minyak dari berbagai tanaman herba, sayur-sayuran dan kacang-kacangan. Stigmasterol digunakan sebagai prekursor sintesis progesteron buatan dan berperan dalam biosintesis androgen, estrogen dan kortikoid.

Pemberian makanan yang mengandung stigmasterol dalam waktu enam minggu menurunkan 23-30 % absorpsi kolesterol dan sitosterol.⁵³ Telah diketahui

pula bahwa stigmasterol mampu menghambat biosintesis kolesterol melalui inhibisi sterol *Δ24-reductase* pada manusia dan melalui Caco-2 dan HL-60 pada *cell lines*.⁵⁴

Stigmasterol juga mampu berinteraksi secara langsung dengan asam amino PLA2 ular Roseli pada posisi Asp 49 dan His 48.⁵¹ Oleh karena itu stigmasterol juga mampu membuat kompleks protein inhibitor. Dengan demikian stigmasterol juga diduga berpotensi sebagai antidot venom ular Roseli dan agen obat anti inflamatori.



Gambar 15. Rumus bangun Stigmasterol⁵⁴

BAB III METODE PENELITIAN

1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental secara *in vivo* pada tikus jantan galur Sprague Dawley model hipoksia selama 7 hari dengan pemberian ekstrak air akar tanaman akar kucing (*Acalypha indica* Linn). Tikus Sprague Dawley jantan dengan berat 200-250 gram yang dibagi secara acak menjadi enam kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol atau tanpa perlakuan yang selanjutnya disebut kelompok K. Kelompok kedua adalah kelompok hipoksia 7 hari (kelompok H), kelompok tiga adalah kelompok hipoksia 7 hari + reoksigenasi 7 hari (kelompok R). Sedangkan tiga kelompok lainnya adalah kelompok hipoksia 7 hari + 7 hari pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. yang terbagi dalam tiga kelompok dosis yang berbeda yaitu terapi 300 mg/kg BB, terapi 400 mg/kg BB dan terapi 500 mg/kg BB, (kelompok T 300, T 400 dan T 500).

2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Biokimia, Histologi dan Laboratorium komputer Departemen Ilmu Fisika Kedokteran FKUI, jalan Salemba Raya, Jakarta Pusat. Penelitian berlangsung sekitar satu tahun, mulai Desember 2008 sampai dengan Desember 2009.

3. Variabel dan Sampel Penelitian

Sebagai variabel *dependent* pada penelitian ini adalah sel neuron CA1, CA3 dan girus dentatus hipokampus yang rusak, sedangkan variabel *independent* adalah ekstrak air akar tanaman Akar Kucing.

Penetapan jumlah sampel tikus pada tiap kelompok ditetapkan dengan menggunakan rumus Federer. Apabila *t* merupakan jumlah kelompok perlakuan, sedangkan *n* merupakan jumlah tikus tiap kelompok maka *n* dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Jadi jumlah sampel yang dapat digunakan paling sedikit adalah empat ekor tikus untuk tiap kelompok, pada penelitian ini jumlah sampel adalah lima ekor tikus tiap kelompok.

4. Bahan dan Alat Penelitian

4.1. Bahan Penelitian

- 4.1.1. 30 ekor tikus didapat dari laboratorium LKM Depkes RI Jakarta. Sampel yang digunakan adalah jaringan hipokampus tikus.
- 4.1.2. Eter 100 %
- 4.1.3. Tanaman akar kucing didapat dari Depok, Jawa Barat dan telah dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Bogor.
- 4.1.4. Gas campuran khusus dalam tangki gas yang mengandung unsur oksigen 10 % dan nitrogen 90 % dari PT. Samator, Jakarta.
- 4.1.5. Aqua sebagai campuran ekstrak untuk cekok tikus.
- 4.1.6. Bahan untuk pembuatan sediaan mikroskopik (histoteknik) dan pewarnaan standar HE :
 - Alkohol 50%, 70%, 80%, 90%, 100%
 - Benzil Alkohol
 - Benzol-histoplast
 - Xylol
 - Larutan Hematoksilin Harris
 - Campuran asam-alkohol
 - Air
 - Larutan ammonium atau lithium karbonat
 - Eosin
- 4.1.7. Bahan fiksatif : formal salin 10 %.

4.2. Alat Penelitian

- 4.2.1. Rotavapor Buchi, cawan arloji, spuit 3 cc
- 4.2.2. Sungkup Hipoksia (*Plexiglass Hypoxic Chamber*), dua set : ukuran besar dan kecil, masing-masing dengan kapasitas enam dan empat ekor tikus (Prof. Hui-Jin Chen, *Shanghai Institute for Pediatric Research*, Shanghai – P.R. China).

- 4.2.3. *Digital Oxygen Meter*, OX – 12B, No. 05213, MIEI Shanghai P.R. China.
- 4.2.4. Timbangan.
- 4.2.5. Spuit 10 cc dengan sonde, tabung yang berukuran 1 cc, mikro pipet.
- 4.2.6. Alat-alat bedah mikro : gunting, pinset anatomis dan *cirurgis*, klem arteri, bisturi.
- 4.2.7. Pompa fiksasi satu set, gelas beker.
- 4.2.8. Mikrotom
- 4.2.9. Mikroskop cahaya dan komputer yang telah dimodifikasi membentuk program *Image Pro Express 4.5*, Laboratorium Komputer Departemen Ilmu Fisika FKUI.
- 4.2.10. *Cell Counter*

5. Cara Kerja

5.1. Seleksi Hewan Coba

Sesuai dengan rancangan penelitian, tikus dibagi dalam enam kelompok yang dipilih secara acak. Satu minggu sebelum mendapat perlakuan tikus dipelihara di ruang Laboratorium Departemen Biokimia FKUI. Sebelum dan selama perlakuan kesehatan tikus dijaga dengan memberikan makanan standar termasuk vitamin dan minuman secara *ad libitum*.

5.2. Prosedur Hipoksia

- 5.2.1. Lantai dasar sungkup-hipoksia diberi serbuk kayu, tempat minum dan makan diisi secukupnya dan kipas angin dinyalakan untuk menjaga sirkulasi udara dalam sungkup.
- 5.2.2. Pintu sungkup ditutup, sungkup-hipoksia dihubungkan dengan tangki gas yang berisi campuran gas 10 % oksigen dan 90 % nitrogen, kemudian aliran oksigen dan nitrogen dibuka dengan kecepatan 3 L/menit.
- 5.2.3. Selang ekspirasi sungkup oksigen dihubungkan dengan *water seal bottle* yang berisi larutan kalsium karbonat jenuh (*soda lime*) yang selanjutnya botol ini dihubungkan dengan udara luar melalui suatu pipa.
- 5.2.4. Sirkulasi udara diamati melalui pergerakan air (*undulasi*) dalam *water seal bottle* dan kondisi kaca sungkup-hipoksia yang tetap kering.

5.2.5. Kadar oksigen dalam sungkup diamati dengan oksigenmeter, setelah kadar oksigen stabil 10 % aliran campuran gas diturunkan jadi 1-2 L/menit.

5.2.6. Enam ekor tikus ditempatkan ke dalam sungkup-hipoksia.

5.2.7. Setiap dua hari secara berkala sungkup dibersihkan, serbuk gergaji diganti, makanan dan minuman tikus diisi secukupnya. Selama sungkup dibersihkan tikus ditempatkan pada sungkup kompensasi yang sudah dipersiapkan dalam kondisi hipoksia.

5.2.8. Setelah 7 hari tikus dipindahkan ke sungkup yang lebih kecil untuk dibius dengan eter dan langsung dipersiapkan untuk pembedahan (pengambilan jaringan hipokampus) bagi kelompok H sedangkan kelompok R maupun T300, T400 dan T500 tikus dipindahkan ke kandang biasa dengan udara bebas. Kelompok T diberikan ekstrak air Akar Kucing sesuai dosis yang telah ditentukan.

5.3. Pembuatan Ekstrak Akar Kucing²⁷

Kadar simplisia (akar tanaman *Acalypha Indica* Linn, kering) sebesar 10 % didekok dua kali @ 30 menit.

5.3.1. Ekstrak dikeringkan dengan rotavapor, kemudian ditimbang untuk penentuan rendemen.

5.3.2. Dari ekstrak kering dibuat larutan koloidal dengan konsentrasi ekstrak sebesar 200 mg/mL.

5.3.3. Sebagian ekstrak diuji fitokimia standar.

5.4. Pemberian Ekstrak Akar Kucing

5.4.1. Setelah 7 hari perlakuan hipoksia selesai, tikus ditimbang.

5.4.2. Hitung kebutuhan ekstrak air akar kucing sesuai dengan dosis, misalnya BB tikus 230 gr untuk kelompok dosis 300 mg/kg BB maka ekstrak yang diberikan adalah : $230 \times 300 / 1000 = 69$ mg. Ekstrak air akar kucing yang tersedia 200 mg/mL. Maka kebutuhan ekstrak adalah $69 / 200 = 0,345$ cc \rightarrow dibulatkan menjadi 0,35 cc.

5.4.3. Ambil aqua 1 cc masukkan ke dalam tabung yang berukuran 1 cc.

5.4.4. Dengan mikropipet ambil kembali aqua tadi sebanyak 0,35 cc.

5.4.5. Dengan mikropipet masukkan ekstrak akar kucing sebanyak 0,35 cc ke dalam tabung yang berisi sisa aqua tadi lalu campurkan.

5.4.6. Hisap dengan spuit + sonde ekstrak yang telah tercampur dengan aqua tadi lalu masukkan ke dalam mulut tikus secara perlahan.

5.5. Pengambilan Jaringan Hipokampus

5.5.1. Tikus dianestesi dengan menggunakan gas eter dalam sungkup tertutup.

5.5.2. Setelah tikus tertidur, diletakkan di meja untuk operasi hewan percobaan.

5.5.3. Dilakukan torakotomi dengan insisi kulit, jaringan otot di garis tengah dada dan pemotongan tulang rawan iga (di *costosternal joint*).

5.5.4. Setelah rongga dada terbuka, identifikasi ventrikel kiri jantung dan diinsersikan jarum dari pompa *syringe* untuk fiksasi intravital.

5.5.5. Cairan fiksatif mengalir dari gelas beker ke mesin pompa menuju jarum yang telah difiksir ke ventrikel kiri jantung. Proses ini berlangsung selama 30 menit.

5.5.6. Dilakukan insisi kulit kepala dan tengkorak, kemudian organ otak diangkat.

5.5.7. Organ otak kemudian dipotong vertikal menjadi 3 bagian, selanjutnya diletakkan dalam wadah berisi cairan formal salin 10 %. Bagian hipokampus di dapat dari bagian tengah otak dari tiga potongan tersebut.

5.5.8. Didiamkan dalam suhu ruangan selama 24 jam, untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan sediaan mikroskopik.

5.6 Proses Pembuatan Sediaan Mikroskopik (Histoteknik) Jaringan Hipokampus

5.6.1. Dehidrasi dengan alkohol bertingkat (Alkohol 50%, 70%, 80%, 90%, 100%).

5.6.2. Pembeningan dengan Benzil Alkohol.

5.6.3. Pembenaman dalam *Benzol-histoplast*.

5.6.4. Pencetakan dalam blok parafin (*histoplast*).

5.6.5. Blok dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 6-8 μm , dilanjutkan dengan perekatan ke kaca obyek sesuai dengan protokol pewarnaan lanjutan (HE).

5.7 Pewarnaan HE untuk sediaan organ otak (hipokampus) :

5.7.1. Potongan jaringan hipokampus direkatkan ke kaca obyektif.

5.7.2. Deparafinisasi dengan menggunakan *xylol*.

5.7.3. Hidrasi dalam larutan alkohol dengan gradasi yang menurun dari 100%-95%-90%-80%-70%.

5.7.4. Inkubasi dalam larutan hematoxylin Harris selama 15 menit.

5.7.5. Bilas dalam air mengalir, celup dalam campuran asam-alkohol secara cepat 3-10 celup.

5.7.6. Bilas dalam air mengalir, celup sebanyak 3-5 kali dalam larutan ammonium atau lithium karbonat.

5.7.7. Cuci dalam air mengalir selama 10-20 menit. Inkubasi dalam eosin (15 detik-2 menit).

5.7.8. Dehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi yang meningkat secara perlahan, masing-masing selama dua menit.

5.7.9. Inkubasi dalam *xylol* 2 x 2 menit lalu tutup dengan kaca penutup (*cover glass*).

5.8. Protokol Penghitungan Sel rusak pada CA1, CA3 dan Lapisan-Dalam dan Lapisan-Luar Girus Dentatus Hipokampus dengan Mikroskop Cahaya :

5.8.1. Slide jaringan hipokampus yang telah terwarnai HE diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya.

5.8.2. Dilakukan identifikasi area hipokampus dengan pembesaran 100 kali.

5.8.3. Identifikasi area yang diinginkan (lapisan luar dan lapisan dalam girus dentatus, CA1 dan CA3) dengan pembesaran 400 kali dan kemudian tentukan batas area dengan ketentuan :

- Lapisan dalam girus dentatus diambil dari bagian atas ujung lapisan dalam girus dentatus (bagian paling jauh dari area pertemuan lapisan dalam-girus dentatus dengan lapisan-luar girus dentatus) dalam satu lapang pandang mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.
- Lapisan luar-girus dentatus diambil dari bagian atas ujung lapisan luar-girus dentatus (bagian paling jauh dari area pertemuan lapisan

dalam girus dentatus dengan lapisan-luar girus dentatus) dalam satu lapang pandang mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.

- Area CA3 yang diambil adalah area yang berada di atas area polimorf girus dentatus dengan menarik garis sejajar antara lapisan dalam dan lapisan-luar girus dentatus dalam satu lapang pandang mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.
- Area CA1 yang diambil adalah area yang berada di samping atas lapisan-dalam girus dentatus dengan menarik garis sejajar antara CA1 dengan lapisan-dalam girus dentatus dalam satu lapang pandang mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.

5.8.4. Dalam batas yang telah ditentukan seperti di atas dan dengan pembesaran tetap 400 kali, lalu dihitung jumlah sel dengan menggunakan *cell counter*, dilakukan oleh dua orang *observer*, hasil yang diambil adalah rata-rata dari penghitungan yang telah didapat dari dua orang *observer* tersebut. Sel rusak didapat dari jumlah total sel dikurangi sel normal.

5.8.5. Selanjutnya sel diamati dengan pembesaran 1000 kali dengan menggunakan minyak emersi untuk mendapatkan gambaran yang jelas tentang kondisi sel yang rusak. Area yang diamati adalah area yang telah ditentukan sesuai dengan poin 5.8.3. seperti tersebut di atas. Diamati bentuk dan ukuran sel, batas sitoplasma dengan inti, gambaran inti (ada tidaknya kondensasi kromatin, gambaran piknotik).

5.9. Protokol Pengambilan gambar Sel CA1, CA3 dan Lapisan-Dalam dan Luar Girus Dentatus Hipokampus dengan mikroskop cahaya yang telah dihubungkan dengan *TV Tunner* yang dilengkapi dengan kamera *CCTV*.

- 5.9.1. Slide jaringan hipokampus yang telah terwarnai HE diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya yang telah dihubungkan dengan kamera *CCTV*.
- 5.9.2. Identifikasi area hipokampus dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali
- 5.9.3. Identifikasi area lapisan-luar dan dalam girus dentatus, CA1 dan CA3 hipokampus dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 200 kali.

5.9.4. Diambil gambar untuk dokumentasi (lapisan-dalam dan lapisan-luar girus dentatus, CA1 dan CA3) dengan menggunakan mikroskop cahaya yang telah dihubungkan dengan *TV Tunner* yang dilengkapi dengan kamera *CCTV*, dengan ketentuan :

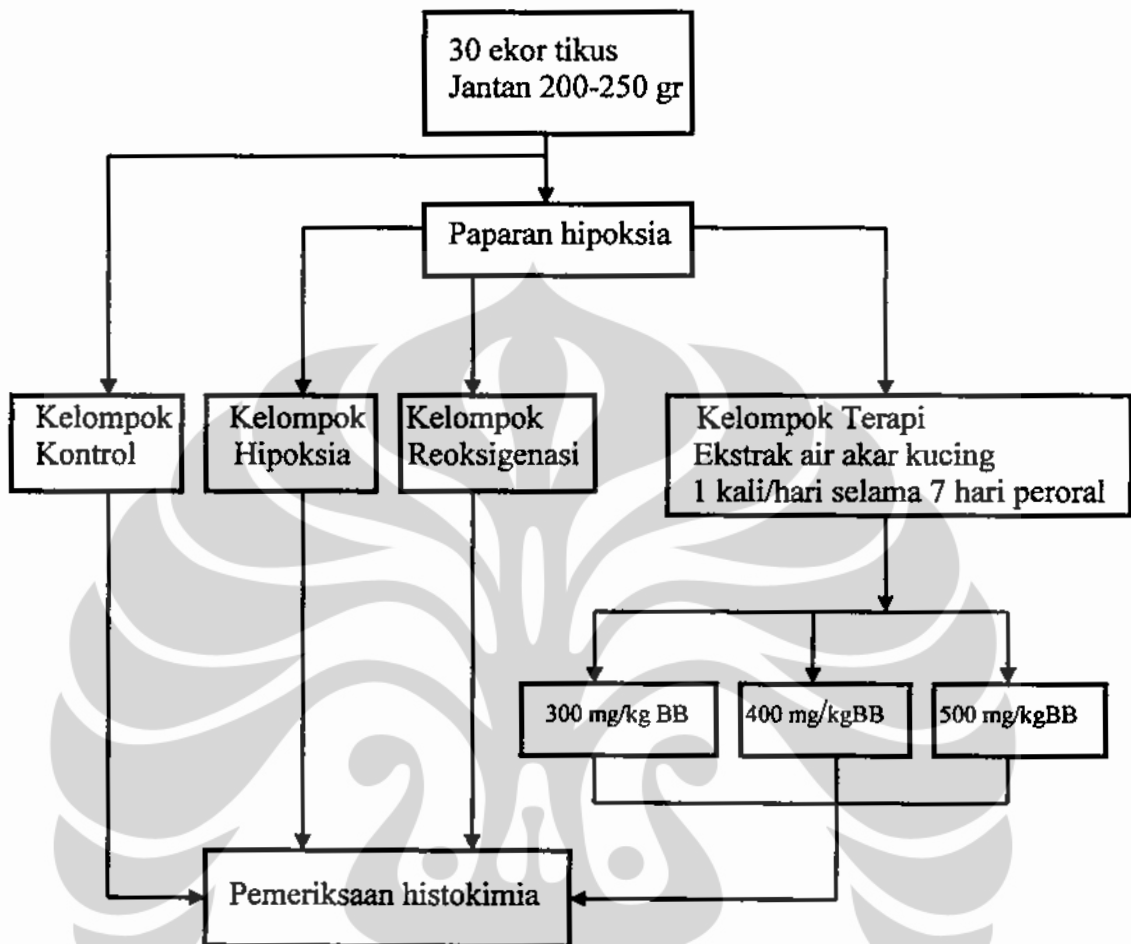
- Lapisan-dalam girus dentatus diambil gambar sel dari ujung lapisan dalam girus dentatus (bagian paling jauh dari area pertemuan lapisan-dalam girus dentatus dengan lapisan-luar girus dentatus) dalam satu lapang pandang yang terekam oleh kamera komputer.
- Lapisan-luar girus dentatus diambil gambar sel dari ujung lapisan luar girus dentatus (bagian paling jauh dari area pertemuan lapisan dalam girus dentatus dengan lapisan-luar girus dentatus) dalam satu lapang pandang yang terekam oleh kamera komputer.
- Area CA3 yang diambil adalah area yang berada di atas area polimorf girus dentatus dengan menarik garis sejajar antara lapisan dalam dan lapisan-luar girus dentatus, dan diambil gambar sel dalam satu lapang pandang yang terekam oleh kamera komputer.
- Area CA1 yang diambil adalah area yang berada di samping atas lapisan-dalam girus dentatus dengan menarik garis sejajar antara CA1 dengan lapisan-dalam girus dentatus, diambil gambar sel dalam satu lapang pandang yang terekam oleh kamera komputer.

5.9.5. Setelah diperoleh gambar seluruh sampel, hitung prosentase jumlah sel rusak setiap area dengan cara : jumlah sel rusak dibagi jumlah total sel dikali 100, sebagai pembanding data yang diperoleh dari penghitungan jumlah sel rusak secara manual dengan menggunakan mikroskop cahaya biasa (poin 5.8.4.).

6. Analisis Data Penelitian

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program statistik komputer SPSS 12.0. Evaluasi perbedaan sel hipokampus antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji statistik Anova setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Bila terdapat data yang tidak homogen akan dilakukan transformasi data dan apabila setelah transformasi data distribusi tetap tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. $P < 0,05$ dianggap bermakna secara statistik.

7. Alur Penelitian



Gambar 16. Skema alur penelitian

BAB IV HASIL PENELITIAN

1. Sampel

Sampel yang diteliti adalah jaringan hipokampus tikus galur *Sprague Dawley*, melalui metode pewarnaan haematoksilin eosin yang diperiksa dengan menggunakan mikroskop cahaya. Kriteria penilaian yang dipakai adalah : jumlah sel dengan mengamati bentuk sel, batas sitoplasma dan inti, gambaran inti (ada tidaknya kondensasi kromatin, piknotik). Area yang diperiksa tampak seperti pada Gambar 17.



Gambar 17. Area hipokampus (dalam pembesaran 200 kali)

2. Gambaran Morfologi Sel Hipokampus

Semua pengamatan area diambil dalam pembesaran 400 kali untuk penghitungan jumlah sel, sedangkan untuk pengamatan perubahan bentuk sel dilakukan dalam pembesaran 1000 kali. Jumlah total sel didapat dari jumlah rata-rata sel yang dihitung oleh dua orang *observer* pada area yang telah ditentukan, dengan menghitung semua sel, baik sel dalam bentuk normal maupun tidak normal. Selanjutnya dihitung jumlah sel yang rusak dengan cara : jumlah sel total dikurangi jumlah sel normal.

Namun dalam pelaksanaan penghitungan sel rusak oleh dua orang *observer* didapatkan perbedaan data yang cukup jauh, oleh karena itu data yang didapat dikonversikan dengan jumlah sel rusak yang didapat dari penghitungan berdasarkan

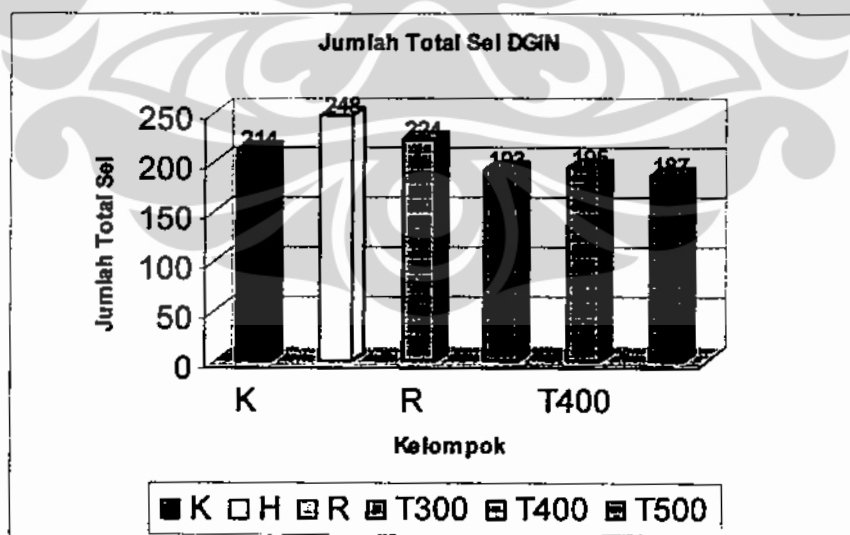
foto dokumen yang telah diambil melalui mikroskop cahaya yang telah disambungkan dengan *TV Tunner* dan *CCTV*. Data yang didapatkan dari kedua sumber ini memiliki perbedaan jumlah yang sangat jauh berbeda, oleh karena itu masing-masing hasil yang didapatkan dijadikan dalam bentuk prosentase lalu diambil rata-rata prosentase dari kedua cara penghitungan tersebut. Hasil penghitungan tersebut adalah sebagai berikut :

2.1. Sel lapisan dalam girus dentatus

2.1.1. Jumlah total sel lapisan dalam girus dentatus hipokampus / lapang pandang

Tabel 1. Jumlah total sel lapisan dalam girus dentatus hipokampus (DGIN)

No.	Kel. Kontrol	Kel. H	Kel. R	Kel. T 300	Kel. T400	Kel. T500
1	214	360	322	205	194	180
2	164	268	210	212	210	214
3	221	150	272	178	182	213
4	174	209	212	204	178	219
5	298	257	106	166	215	111
rerata	214	248	224	193	195	187



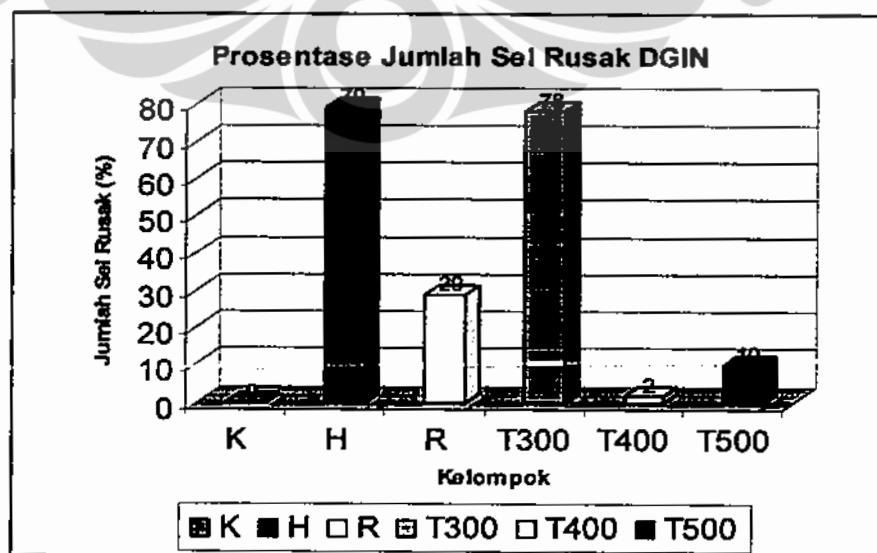
Gambar 18. Diagram batang rerata jumlah sel lapisan dalam girus dentatus hipokampus; kelompok K, H (kelompok hipoksia), R (kelompok reoksigenasi), T300 (kelompok terapi 300 mg/kg BB), T400 (kelompok terapi 400 mg/kg BB) dan kelompok T500 (kelompok terapi 500 mg/kg BB).

Rerata jumlah sel lapisan dalam girus dentatus adalah sebagai berikut : kelompok kontrol 214, kelompok H (hipoksia) 248, kelompok R (hipoksia + Reoksigenasi) 224, kelompok T300 (kelompok terapi 300 mg/kg BB) 193, kelompok T400 (terapi 400 mg/kg BB) 195 dan kelompok T500 (terapi 500 mg/kg BB) 187. Hasil tersebut bisa dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 18, dimana rerata kelompok hipoksia memiliki jumlah sel paling banyak disusul oleh kelompok reperfusi tujuh hari. Rerata jumlah sel yang dimiliki oleh dua kelompok ini melebihi rerata jumlah sel kontrol, sementara ke tiga kelompok terapi memiliki rerata jumlah sel di bawah kontrol. Meskipun demikian, diantara kelompok rerata jumlah sel lapisan dalam girus dentatus ini secara statistik tidak terdapat perbedaan secara bermakna ($p > 0,05$).

2.1.2. Prosentase tingkat kerusakan sel lapisan dalam girus dentatus

Tabel 2. Prosentase tingkat kerusakan sel girus dentatus lapisan dalam hipokampus (DGIN)

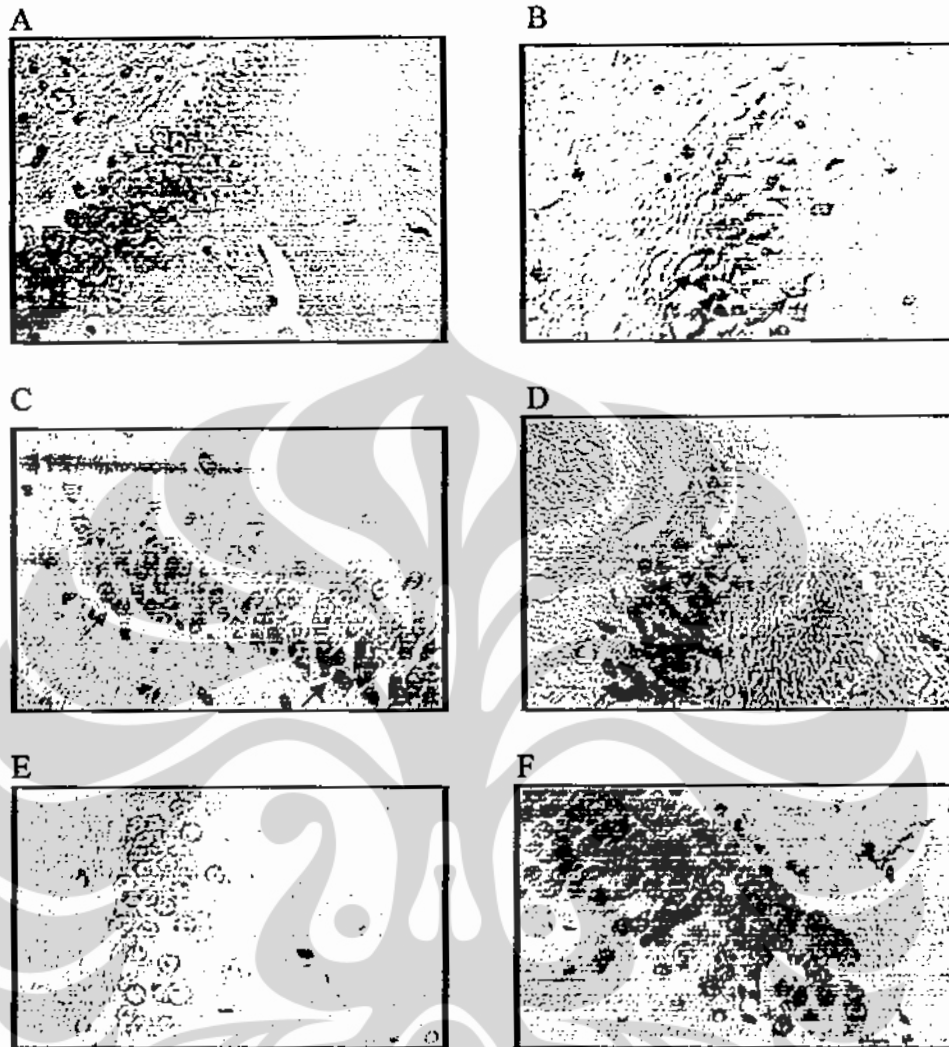
No	Kel. K	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	0	90	65	40	5	10
2	0	95	20	90	0	5
3	0	80	20	70	5	5
4	0	70	30	95	0	25
5	0	60	10	95	0	5
rerata	0	79	29	78	2	10



Gambar 19. Prosentase kerusakan sel DGIN

Rerata prosentase tingkat kerusakan sel lapisan-dalam girus dentatus hipokampus kelompok H = 79 %, kelompok R = 29 %, kelompok T300 = 78 %, kelompok T400 = 2 % dan kelompok T500 = 10 % (tampak pada Tabel 2 dan Gambar 19). Dari data tersebut didapatkan rerata tingkat kerusakan kelompok hipoksia dan kelompok terapi 300 mg/kg BB tinggi yaitu lebih dari 50 % sel rusak, disusul kelompok reoksigenasi. Pada kelompok T400 dan T500, yaitu kelompok terapi 400 mg/kgBB dan 500 mg/kg BB terdapat penurunan prosentase tingkat kerusakan yang sangat tajam dibandingkan dengan kelompok non terapi dan terapi 300 mg/kg BB. Dari uji statistik didapatkan bahwa prosentase tingkat kerusakan sel lapisan dalam girus dentatus hipokampus kelompok hipoksia berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan nilai $p=0,000$. Pada kelompok terapi didapatkan : kelompok terapi 300 mg/kg BB tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok hipoksia ($p=683$), sedangkan pada kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB memiliki prosentase kerusakan sel berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok hipoksia dengan nilai $p = 0,01$.

Gambar 20 menunjukkan gambar sel lapisan-dalam girus dentatus hipokampus yang diteliti, diambil melalui mikroskop cahaya dengan perangkat *TV Tunner* yang disambungkan ke dalam komputer yang telah diprogram dengan *CCTV*.



Gambar 20. Sel lapisan-dalam girus dentatus hipokampus : A. Sel normal; B. Sel hipoksia tujuh hari; C. Sel hipoksia tujuh hari + reoksigenasi tujuh hari; D-F. Sel hipoksia tujuh hari + ekstrak akar kucing 300 mg/kg BB; 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Gambar diambil pada pembesaran 200 kali.

Pada Gambar 20 A dapat dilihat bentuk sel lapisan dalam girus dentatus normal, sel berbentuk bulat dengan inti terang (benang-benang kromatin tersebar rata) dan anak inti jelas (tidak piknotik). Gambar 20 B adalah gambar sel yang diinduksi hipoksia selama tujuh hari dengan campuran gas 10% oksigen dengan 90 % nitrogen. Sel tampak mengalami perubahan bentuk menjadi tidak beraturan, sebagian besar sel mengalami kondensasi kromatin dengan anak inti sulit dikenali (anak panah biru), terdapat vakuol (anak panah merah) tetapi masih terdapat beberapa sel dengan inti dan anak inti tampak jelas (anak panah hijau). Gambar 20 C merupakan gambar sel yang telah dihipoksia selama tujuh hari ditambah dengan reoksigenasi tujuh hari. Di sini terlihat inti dan anak inti yang jelas (anak panah hijau) lebih banyak dibandingkan

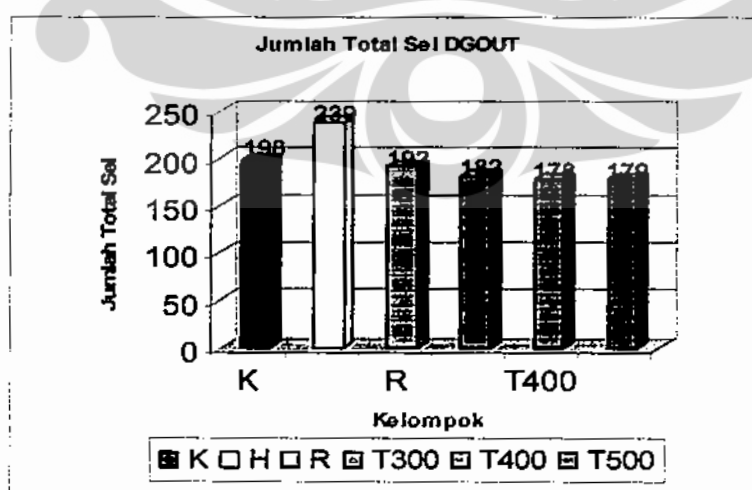
pada kelompok H, namun masih banyak sel dengan kondensasi kromatin dan anak inti yang sulit dikenali (anak panah biru). Sedangkan Gambar 20 D, E dan F adalah sel-sel yang mengalami paparan hipoksia tujuh hari dan terapi ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. dengan masing-masing dosis, 300 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Pada dosis 300 mg/kg BB (Gambar 20 D), tampak volume sel lebih kecil dibandingkan dengan kontrol dan sebagian besar sel kondensasi kromatin masih tampak jelas (anak panah biru). Pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB gambaran sel hampir sama dengan sel-sel kontrol.

2.2. Sel lapisan luar-girus dentatus hipokampus

2.2.1. Rerata jumlah sel lapisan-luar girus dentatus (DGOUT)

Tabel 3. Jumlah sel girus dentatus lapisan luar hipokampus (DGOUT)

No.	Kel. K	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	199	348	241	187	169	188
2	124	247	160	195	189	271
3	201	145	254	180	159	184
4	174	193	200	195	181	148
5	296	262	106	157	192	108
Rerata	198	239	192	182	178	179



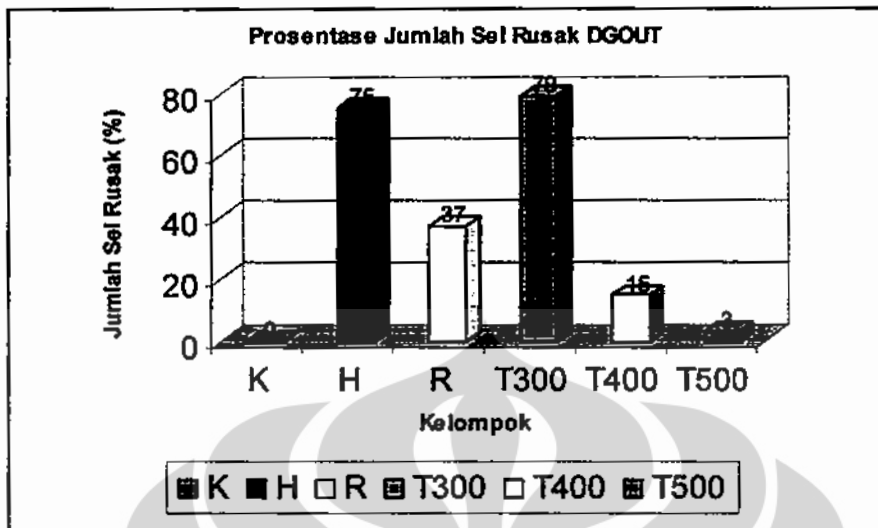
Gambar 21. Diagram batang rerata jumlah sel lapisan-luar girus dentatus hipokampus; K (kelompok kontrol), H (kelompok hipoksia tujuh hari), R (kelompok hipoksia tujuh hari + reoksigenasi tujuh hari), T300 (kelompok terapi 300 mg/kg BB), T400 (kelompok terapi 400 mg/kg BB) dan T500 (kelompok terapi 500 mg/kg BB).

Hasil penghitungan rerata jumlah sel lapisan-luar girus dentatus kelompok kontrol adalah 198, kelompok H 239, kelompok R 192, kelompok T300 = 182, kelompok T400 = 178 dan kelompok T500 = 179, hal ini dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 21. Dari data yang didapat, kelompok hipoksia memiliki jumlah sel paling tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun kelompok reoksigenasi dan terapi. Sementara itu kelompok reoksigenasi yang tidak mendapatkan ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. memiliki rerata jumlah sel mendekati kontrol. Pada ke tiga kelompok terapi rerata jumlah sel tidak mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. Rerata jumlah ketiga kelompok terapi ini di bawah rerata jumlah sel pada kelompok kontrol. Hasil uji statistik didapatkan bahwa diantara ke lima kelompok perlakuan jumlah sel lapisan luar girus dentatus hipokampus tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p>0,05$).

2.2.2. Prosentase tingkat kerusakan sel lapisan luar girus dentatus

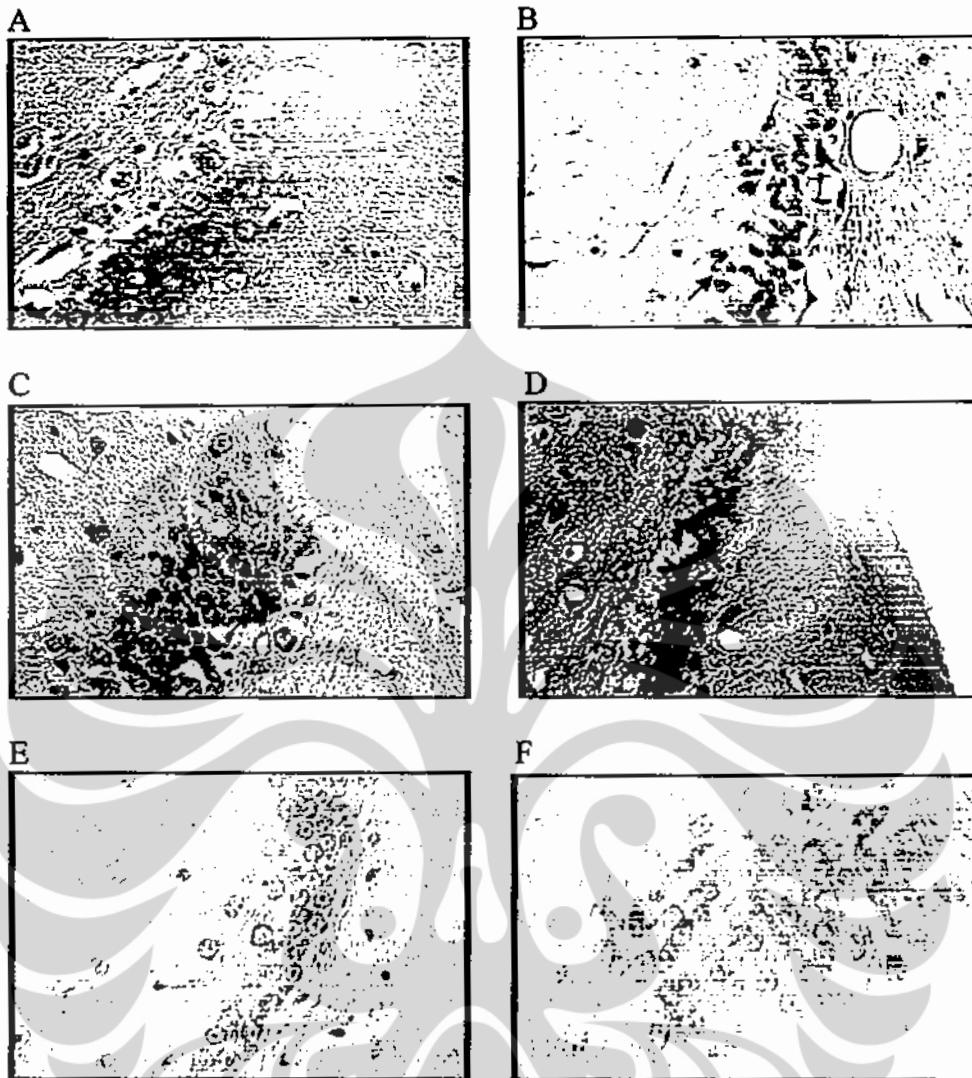
Tabel 4. Prosentase tingkat kerusakan sel girus dentatus lapisan luar hipokampus (DGOUT)

No	Kel. kontrol	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
1	0	95	5	80	70	0
2	0	95	90	85	0	5
3	0	95	70	30	5	10
4	0	85	20	100	0	0
5	0	5	0	100	0	
Rerata	0	75	37	79	15	3



Gambar 22. Presentase kerusakan sel DGOUT

Rerata prosentase kerusakan sel lapisan-luar girus dentatus adalah sebagai berikut : kelompok H = 75 %, kelompok R = 37 %, kelompok T300 = 79 %, kelompok T400 = 15 % dan kelompok T500 = 3 % (seperti tampak pada Tabel 4 dan Gambar 22). Dari kelima kelompok yang terpapar hipoksia, kerusakan sel paling tinggi terjadi pada kelompok T300 (terapi 300 mg/kg BB), disusul oleh kelompok H. Terjadi penurunan prosentase kerusakan sel yang sangat tajam pada dua kelompok terapi lainnya yaitu kelompok terapi 400 mg/kg BB dan kelompok terapi 500 mg/kg BB. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna antara kelompok hipoksia dengan kelompok kontrol dengan nilai $p=0,000$. Sedangkan pada kelompok terapi : terdapat perbedaan bermakna secara statistik prosentase sel rusak antara kelompok terapi 400 mg/kg BB dengan kelompok hipoksia ($p=0,001$), demikian pula pada kelompok terapi 500 mg/kg BB terdapat perbedaan bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok hipoksia ($p=0,000$). Akan tetapi kelompok terapi 300 mg/kg BB prosentase jumlah sel rusak tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok hipoksia dengan nilai $p=0,832$.



Gambar 23. Sel lapisan luar girus dentatus hipokampus. A. Sel normal; B. Sel hipoksia tujuh hari; C. Sel hipoksia tujuh hari + reoksigenasi tujuh hari; D-F. Sel hipoksia tujuh hari + ekstrak akar kucing 300 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Gambar diambil dalam pembesaran 200 kali

Gambar 23 merupakan gambaran sel lapisan-luar girus dentatus hipokampus. Gambaran sel-sel normal tampak pada Gambar 23 A, dimana sel tampak bulat dengan inti jelas (kromatin tersebar rata) dan anak inti jelas (tidak piknotik). Gambar 23 B adalah sel girus dentatus lapisan-luar pada kelompok hiposia, dimana tampak jelas tanda-tanda kerusakan, yaitu bentuk sel berubah dengan kondisi benang-benang kromatin dan anak inti yang sulit dikenali (anak panah biru) yang terjadi hampir merata pada seluruh area. Pada Gambar 23 C, kelompok reoksigenasi tampak sel dengan kondensasi kromatin (anak panah biru) masih cukup banyak, namun sel dengan membran inti dan anak inti jelas dengan bentuk sel bulat (anak panah hijau) lebih banyak dibandingkan dengan kelompok hipoksia. Gambar 23 D, sel yang

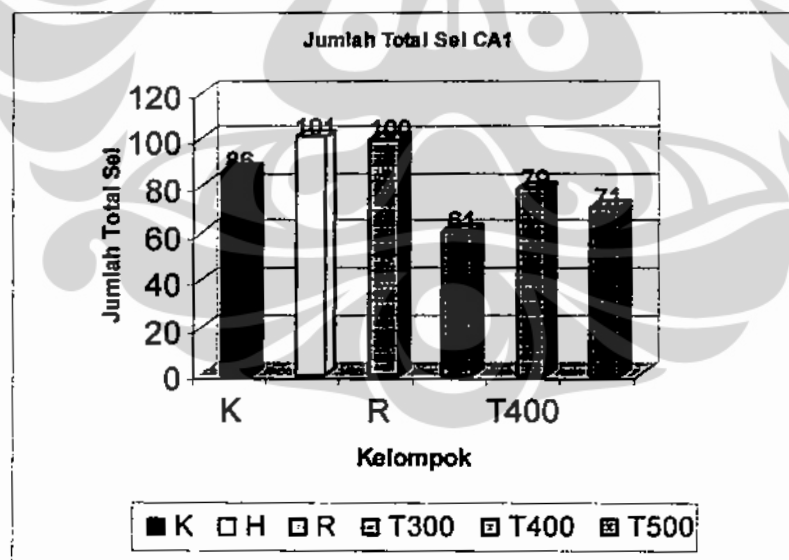
terpapar hipoksia dan mendapatkan ekstrak 300 mg/kg BB, hampir seluruh sel mengalami perubahan bentuk, inti dan anak inti sulit dikenali. Seperti pada area lapisan-dalam girus dentatus, lapisan-luar girus dentatus pada kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB hampir tidak tampak kerusakan sel (Gambar 23 E dan F).

3.3. Sel CA1 hipokampus

3.3.1. Rerata jumlah sel CA1 hipokampus

Tabel 5. Jumlah sel CA1 hipokampus

No.	Kontrol	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	86	153	100	76	86	74
2	86	105	71	63	77	77
3	82	63	80	51	85	74
4	90	88	133	65	77	71
5	87	99	117	50	74	63
Rerata	86	101	100	61	79	71



Gambar 24. Rerata jumlah sel CA1 hipokampus

Hasil penghitungan jumlah sel pada area CA1 hipokampus adalah sebagai berikut : kelompok kontrol 86, kelompok H = 101, kelompok R = 100, kelompok T300 = 61, kelompok T400 = 79 dan kelompok T500 = 71 (seperti tampak pada Tabel 5 dan Gambar 24). Dari data ini dapat dilihat bahwa sel-sel CA1 hipokampus yang terpapar hipoksia memiliki rerata jumlah sel lebih tinggi dibandingkan dengan

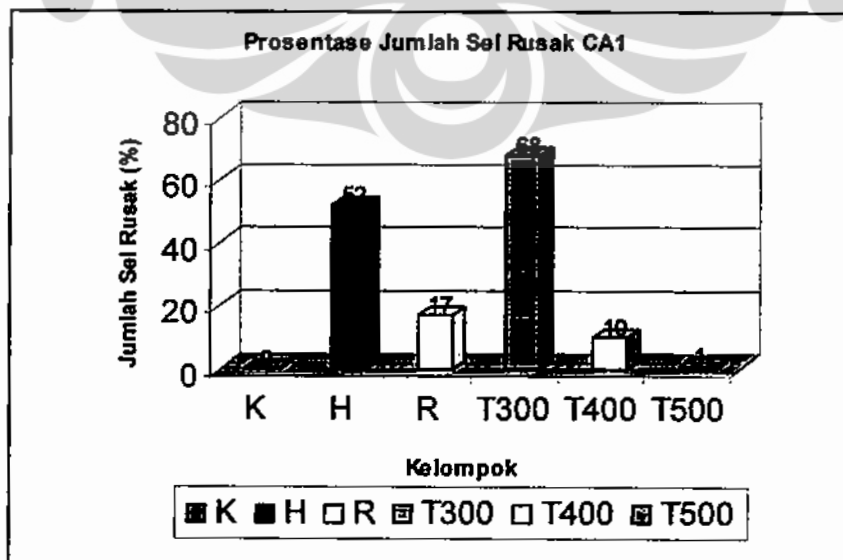
kontrol. Hal ini juga tampak pada kelompok reoksigenasi, sedangkan kelompok terapi 300 mg/kg BB jumlah sel menurun dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB meskipun rerata jumlah sel turun tetapi masih di atas kelompok terapi 300 mg/kg BB.

Dari hasil uji statistik didapatkan bahwa rerata jumlah sel pada area CA1 hipokampus terdapat perbedaan bermakna secara statistik pada : kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok T300 (terapi 300 mg/kg BB) dengan nilai $p = 0,036$; kelompok H dibandingkan dengan kelompok T300 ($p = 0,002$) ; kelompok H dibandingkan dengan kelompok T500 ($p = 0,015$); kelompok R (kelompok reoksigenasi) dibandingkan dengan kelompok T300 ($p = 0,002$) dan kelompok R dibandingkan dengan kelompok T500 (terapi 500 mg/kg BB) dengan nilai $p = 0,019$.

2.3.2. Prosentase tingkat kerusakan sel CA1 hipokampus

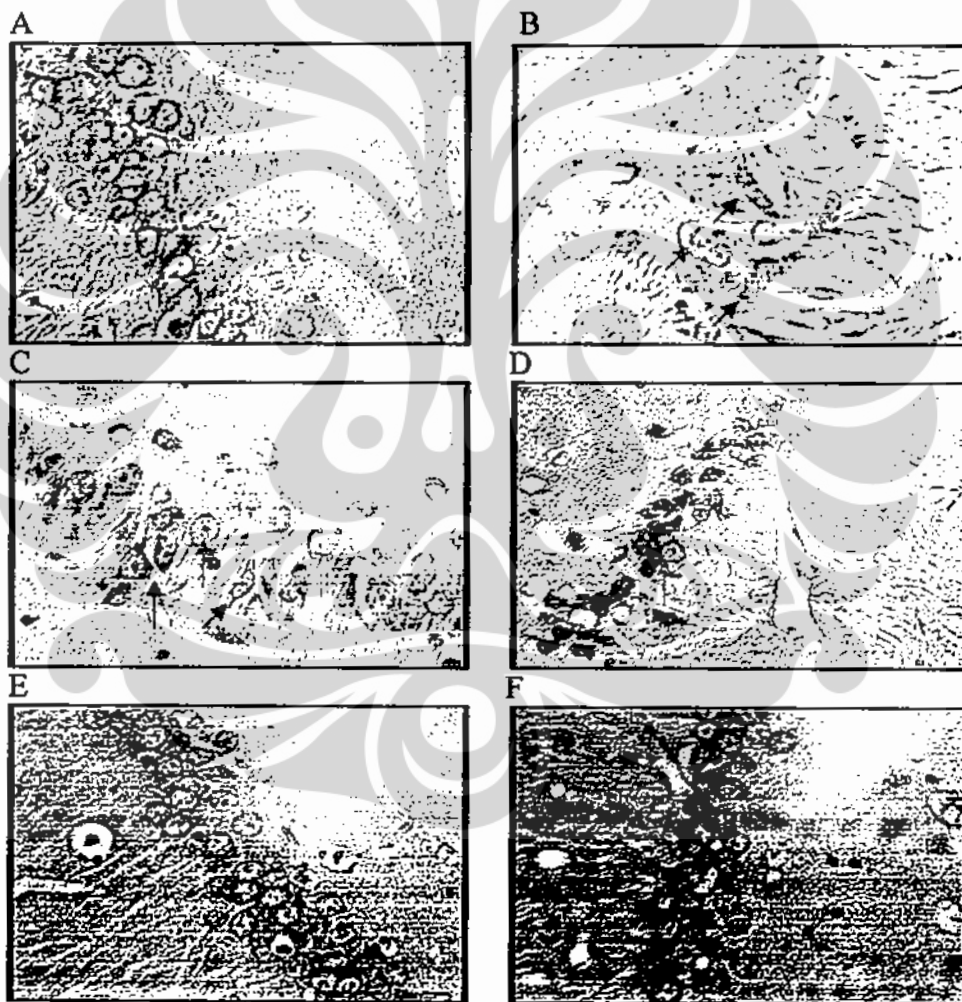
Tabel 6. Prosentase tingkat kerusakan sel CA1 hipokampus

No	Kontrol	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	0	100	25	10	30	5
2	0	10	10	90	10	0
3	0	70	10	70	10	0
4	0	70	30	75	0	0
5	0	10	10	95	0	0
Rerata	0	52	17	68	10	1



Gambar 25. Prosentase kerusakan sel CA1

Dari hasil pengamatan prosentase kerusakan sel CA1 hipokampus didapatkan hasil sebagai berikut : kelompok H = 52 %, kelompok R = 17 %, kelompok T300 = 68 %, kelompok T400 = 10 % dan kelompok T500 = 1 % (seperti tampak pada Tabel 6 dan Gambar 25). Tingkat kerusakan paling tinggi terjadi pada kelompok H dan kelompok T300. Seperti pada area girus dentatus kerusakan yang terjadi pada kelompok T400 dan kelompok T500 sangat kecil. Dari hasil uji statistik didapatkan hasil : terdapat perbedaan bermakna secara statistik sel rusak antara kelompok kontrol dengan kelompok terapi ($p = 0,001$).



Gambar 26. Sel CA1 hipokampus. A. Sel normal; B. Sel hipoksia tujuh hari; C. Sel hipoksia tujuh hari + reoksigenasi tujuh hari; D-F. Sel hipoksia tujuh hari + ekstrak akar kucing 300 mg/kg BB; 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Gambar diambil dalam pembesaran 200 kali.

Bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 26 A), Gambar 26 B (kelompok hipoksia tujuh hari) terlihat sel-sel yang bentuknya tidak beraturan dengan

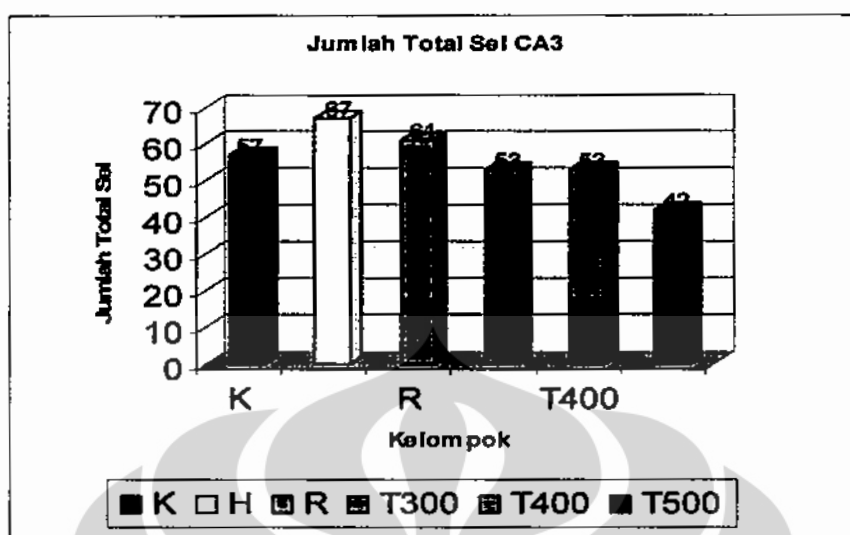
kondensasi kromatin dan anak inti sulit dikenali (anak panah biru), akan tetapi sebagian sel yang ada masih berbentuk normal dengan membran inti dan anak inti tampak jelas (anak panah hijau). Gambar 26 C (kelompok R), sebagian besar sel masih tampak membran inti dan anak inti jelas (anak panah hijau) akan tetapi terdapat sel-sel yang memiliki sitoplasma lebih banyak dibandingkan dengan sitoplasma pada sel-sel normal, hal ini disertai dengan perubahan bentuk sel (anak panah merah). Pada kelompok ini juga terdapat anak inti yang piknotik (anak panah kuning). Pada kelompok terapi 300 mg/kg BB (Gambar 26 D), perubahan bentuk sel tampak sekali, sel-sel cenderung memanjang dengan benang-benang kromatin menggumpal (anak panah biru), anak inti piknotik (anak panah kuning), meskipun masih terdapat juga sel normal (anak panah hijau). Gambar 26 E (kelompok terapi 400 mg/kg BB), sebagian besar gambaran sel normal, tetapi masih terdapat sel-sel dengan benang-benang kromatin yang menggumpal (anak panah biru), sedangkan kelompok terapi 500 mg/kg BB, hampir tak didapati sel yang rusak.

3.4. Sel CA3 hipokampus

2.4.1. Rerata jumlah sel CA3 hipokampus

Tabel 7. Jumlah sel CA3 hipokampus

No.	Kontrol	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	57	107	84	43	76	41
2	57	67	57	49	53	40
3	57	33	58	50	49	45
4	51	53	53	54	39	44
5	64	79	57	69	50	41
rerata	57	67	61	53	53	42



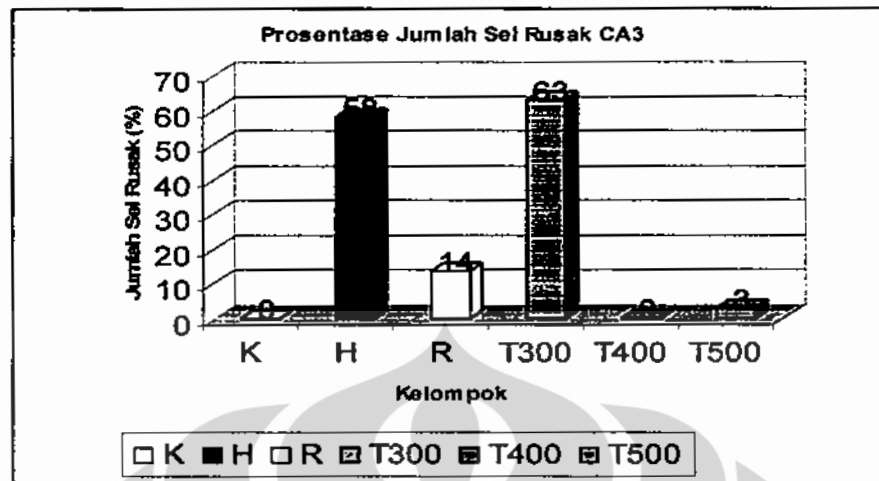
Gambar 27. Jumlah sel CA3 hipokampus.

Dari hasil penghitungan sel area CA3 hipokampus didapatkan rerata jumlah sel CA3 adalah sebagai berikut : kelompok kontrol 57, kelompok H = 67, kelompok R 61, kelompok T300 = 53, kelompok T400 = 53 dan kelompok T500 = 42 (tampak pada Tabel 7 dan Gambar 27). Seperti tiga area lain yang telah diamati, rerata jumlah sel yang ada pada area CA3 hipokampus yang terpapar hipoksia tujuh hari (kelompok H) meningkat dibandingkan dengan kontrol. Pada kelompok R jumlah sel juga masih di atas rerata jumlah sel kontrol. Diantara kelompok perlakuan yang ada jumlah sel paling sedikit terdapat pada kelompok T500. Kelompok T500 ini memiliki jumlah sel berbeda bermakna secara statistik bila dibandingkan dengan kelompok H ($p = 0,01$) dan berbeda secara bermakna bila dibandingkan dengan kelompok R ($p = 0,04$).

2.4.2. Prosentase tingkat kerusakan sel CA3 hipokampus

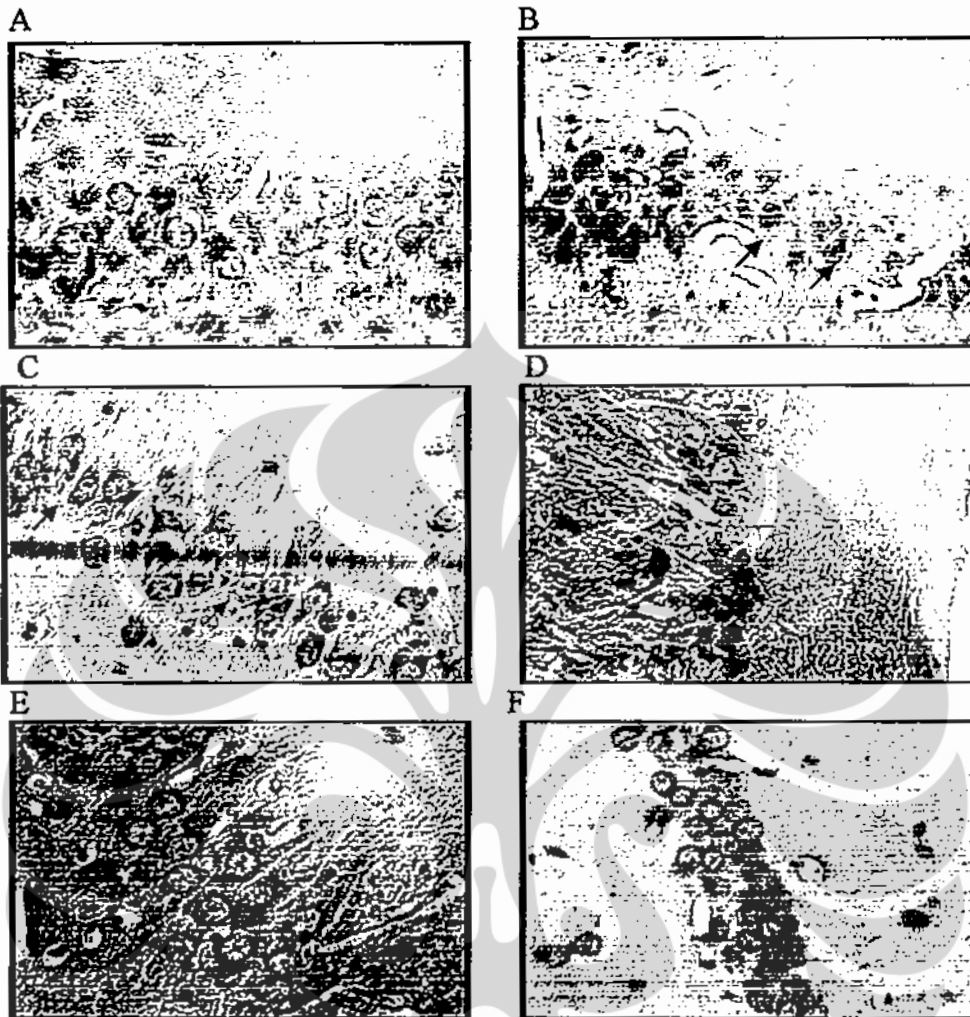
Tabel 8. Prosentase tingkat kerusakan sel CA3 hipokampus

No	Kontrol	Kel.H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	0	90	30	30	0	0
2	0	100	20	90	0	5
3	0	10	10	5	0	0
4	0	90	10	90	0	10
5	0	0	0	100	0	0
Rerata	0	58	14	63	0	3



Gambar 28. Prosentase kerusakan sel CA3

Pada pengamatan kondisi sel area CA3 hipokampus didapatkan hasil prosentase kerusakan sel sebagai berikut : kelompok H=58 %, kelompok R=14 %, kelompok T300=63 %, kelompok T400 =0 % dan kelompok T500 =3 % (tampak pada Tabel 8 dan Gambar 28). Dari data ini dapat dilihat bahwa kelompok H dan kelompok T300 (terapi 300 mg/kg BB), jumlah sel yang rusak melebihi 50 %, sedangkan kelompok reoksigenasi jumlah sel yang rusak masih lebih sedikit bila dibandingkan dengan kelompok hipoksia. Kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB pada area CA3 hipokampus juga menunjukkan fenomena yang sama seperti ke tiga area lain yang telah diamati, yaitu terjadi penurunan jumlah sel yang rusak. Dari hasil uji statistik didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna secara statistik jumlah sel rusak kelompok R dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p = 0,002$).



Gambar 29. Sel CA3 hipokampus. A. Sel normal; B. Sel hipoksia tujuh hari; C. Sel hipoksia tujuh hari + reoksigenasi tujuh hari; D-F. Sel hipoksia tujuh hari + ekstrak akar kucing 300 mg/kg BB; 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Gambar diambil dalam pembesaran 200 kali.

Gambar 29 B adalah sel-sel kelompok H, sebagian besar sel mengalami perubahan morfologi seperti kondensasi kromatin (panah biru), cairan sitoplasma yang lebih banyak dibandingkan dengan sel yang normal (panah merah) meskipun masih banyak sel-sel dengan inti dan anak inti jelas (panah hijau). Pada Gambar 29 C (kelompok R), sebagian besar sel memiliki membran inti dan anak inti yang jelas dan berbentuk bulat (anak panah hijau), tetapi masih terdapat sel dengan bentuk cenderung memanjang dengan sitoplasma lebih banyak dibandingkan dengan sel normal (panah merah). Gambar 29 D (kelompok T300), sel yang mengalami kondensasi kromatin (panah biru) lebih banyak dibandingkan dengan kelompok H dan R meskipun masih terdapat beberapa sel normal (panah hijau). Pada kelompok T400 dan T500 (Gambar 29 E dan F), terlihat sel-sel normal.

BAB V PEMBAHASAN

Sejumlah besar tanam-tanaman digunakan sebagai agen pengobatan di berbagai belahan dunia. Khusus di Indonesia telah dikenal istilah Tanobat atau tanam-tanaman yang berkhasiat sebagai obat, yang telah dikenal dan digunakan oleh masyarakat Indonesia secara luas. Namun penggunaan unsur tanam-tanaman ini sebagai obat-obatan belum maksimal karena dipakai hanya atas dasar pengalaman dan tidak didukung oleh suatu metode pemakaian yang efektif. Telah diketahui bahwa tanam-tanaman secara alamiah membentuk dan mengakumulasi berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosid, tannin, minyak volatil dan zat-zat yang berisi mineral dan vitamin yang berguna bagi kesehatan tubuh. Namun kandungan bioaktif yang ada dalam dosis tertentu justru bersifat toksik, meskipun dalam dosis tertentu pula ia bersifat sebagai agen obat. Oleh karena itu diperlukan suatu kerja dan perhatian yang lebih dan terus menerus, sehingga adanya kekayaan sumber hayati yang ada di Indonesia tidaklah sia-sia.

Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn.) merupakan salah satu tanaman yang cukup mudah didapat di Indonesia. Unsur tanaman ini telah lama diketahui memiliki kemampuan untuk mengatasi berbagai permasalahan kesehatan,^{19,20} diantaranya adalah kemampuan sebagai anti diuretik,²¹ emetik,²² anti toksin,²³ mempengaruhi proses penyembuhan luka²⁴ dan kemampuan menghambat enzim asetilkolinesterase.²⁵ Kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman ini diantaranya adalah *acalyphine* dan stigmasterol (akar).¹⁹ *Acalyphine* dan stigmasterol mampu berinteraksi secara langsung dengan asam amino sehingga ia sangat berpotensi sebagai agen pengobatan bagi berbagai penyakit.⁵²

Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek penggunaan ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. terhadap perbaikan sel-sel hipokampus pascahipoksia tujuh hari. Hipoksia menyebabkan kerusakan lapisan sel-sel endotel (sebagai akibat adanya akumulasi ROS)⁴⁰ yang pada akhirnya akan menyebabkan sawar darah otak beberapa kali lebih permeabel terhadap molekul-molekul kecil seperti inulin dan sukrosa. Peningkatan permeabilitas ini disebabkan langsung oleh adanya penambahan transitoris, pendeknya jarak antara sel-sel endotel dan induksi fenestrasi pada area *nonfenestrated endothelium*. Pada akhirnya kondisi ini akan mengakibatkan terjadinya udem otak. Kondisi ini secara tidak langsung menyebabkan sel-sel saraf rusak.

Kerusakan yang terjadi akibat hipoksia ini akan menyebabkan perubahan-perubahan morfologi sel-sel saraf.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. mempengaruhi jumlah dan perbaikan sel-sel saraf hipokampus pascahipoksia. Pada lapisan-dalam sel girus dentatus hipokampus, perbaikan sangat jelas terjadi hampir di seluruh kelompok baik kelompok reoksigenasi maupun kelompok terapi. Jumlah sel yang mengalami kerusakan pada kelompok reoksigenasi lebih kecil dibandingkan dengan kelompok hipoksia. Hal ini bisa dipahami bahwa perbaikan secara fisiologis telah terjadi, karena sesungguhnya tubuh memiliki berbagai mekanisme untuk memperbaiki diri.⁵ Selain hal tersebut, hal ini juga menunjukkan bahwa perlakuan hipoksia tujuh hari yang dilakukan pada penelitian ini menyebabkan kerusakan sel-sel saraf yang masih bersifat *reversible* (masih bisa diperbaiki).

Meskipun terjadi penurunan tingkat kerusakan pada kelompok reoksigenasi, namun prosentase jumlah sel rusak masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB. Hal ini bisa berarti bahwa perbaikan fisiologis yang terjadi belumlah maksimal. Perubahan ini secara statistik berbeda bermakna ($p=0,000$). Namun, jumlah sel yang rusak pada lapisan-dalam girus dentatus hipokampus pada kelompok terapi 300 mg/kg BB masih tinggi. Hal ini diduga bahwa efek neuroterapi pada dosis ini belum tampak. Hal ini sedikit berbeda bila dibandingkan dengan hasil penelitian Purwaningsih et al²⁸ yang mendapatkan data bahwa pemakaian ekstrak akar *Acalypha indica* Linn. dalam dosis 300 mg/kg BB sudah menimbulkan efek neuroterapi. Namun pada penelitian ini pemakaian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. baru tampak efektif dalam dosis 400 dan 500 mg/kg BB. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Annie S.K et al,²³ bahwa pemberian ekstrak *Acalypha Indica* Linn. pada dosis 500 mg/kg BB menghambat proses nekrosis dan degranulasi sel tikus akibat racun ular Rosselli.

Pada area lapisan-luar girus dentatus hipokampus juga didapatkan hasil yang mirip pada area lapisan-dalam girus dentatus hipokampus. Efek neuroterapi juga baru tampak pada pemberian dosis 400 dan 500 mg/kg BB. Hal ini terbukti bahwa pada kelompok dosis terapi 400 dan 500 mg/kg BB ini tingkat kerusakan sel sangat kecil dan bahkan gambaran sel sudah menyerupai gambaran sel normal (lihat Gambar 23 E dan 23 F). Perbedaan kerusakan sel ini juga berbeda bermakna secara statistik dengan nilai $p < 0,05$. Namun seperti pada area lapisan-dalam girus dentatus kelompok terapi

300 mg/kg BB jumlah kerusakan sel tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok hipoksia ($p > 0,05$).

Untuk area CA1 hipokampus kerusakan sel yang terjadi pada kelompok terapi 300 mg/kg BB lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok hipoksia. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn pada dosis ini memang tidak efektif. Hal ini didukung oleh data jumlah sel yang mengalami kerusakan yang terjadi pada kelompok terapi 300 mg/kg BB jauh di atas kerusakan yang terjadi pada kelompok reoksigenasi. Perbaikan fisiologis juga tampak pada area ini, hal ini didukung oleh adanya penurunan tingkat kerusakan sel yang terjadi pada kelompok reoksigenasi bila dibandingkan dengan kelompok hipoksia. Namun perbaikan fisiologis ini juga belum maksimal bila dibandingkan dengan kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB. Meskipun pada kelompok terapi 400 mg/kg BB masih terdapat sel dengan benang-benang kromatin yang menggumpal, namun pada dosis 500 mg/kg BB gambar sel jauh lebih baik bila dibandingkan dengan kelompok hipoksia dan kelompok reoksigenasi dan bahkan sel-sel yang ada seperti sel-sel pada kelompok kontrol (lihat Gambar 26 F). Perbedaan tingkat kerusakan sel CA1 hipokampus ini berbeda bermakna secara statistik dengan nilai $p = 0,001$.

Pada area CA3 hipokampus, didapatkan gambaran menyerupai kondisi sel pada area CA1 hipokampus. Pada area ini juga didapatkan jumlah sel rusak paling tinggi terjadi pada kelompok terapi 300 mg/kg BB. Tingkat kerusakan sel pada kelompok reoksigenasi juga di bawah tingkat kerusakan sel pada kelompok hipoksia. Pada kelompok terapi 400 mg/kg BB tidak ditemukan adanya tanda-tanda kerusakan sel, gambaran sel sama dengan gambaran sel kelompok kontrol. Tingkat kerusakan sel pada kelompok terapi 500 mg/kg BB juga sangat sedikit, jauh di bawah kerusakan sel pada kelompok reoksigenasi. Perbedaan tingkat kerusakan sel pada CA3 hipokampus ini berbeda bermakna secara statistik ($p = 0,002$).

Secara menyeluruh perubahan struktur yang terjadi adalah sebagai berikut : sel-sel pada kelompok kontrol tampak sel berbentuk bulat dengan inti terang (benang-benang kromatin tersebar rata) dan anak inti jelas (tidak piknotik) serta batas sitoplasma dengan inti jelas. Pada kelompok hipoksia (induksi), sebagian besar sel tampak mengalami perubahan bentuk menjadi tidak beraturan, sel mengalami kondensasi kromatin dengan anak inti sulit dikenali dan ditemukan adanya vakuol. Gambaran kerusakan sel pada kelompok reoksigenasi masih tampak seperti bentuk sel yang tidak beraturan dengan kondensasi kromatin dan anak inti yang sulit ditemukan

meskipun sebagian besar sel masih berbentuk normal. Gambaran sel pada kelompok terapi 300 mg/kg BB, ukuran sel lebih kecil dibandingkan dengan sel pada kelompok kontrol, banyak ditemukan adanya perubahan struktur sel seperti adanya kondensasi kromatin dengan anak inti yang sulit dikenali. Sementara itu gambaran sel pada kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB, secara keseluruhan menyerupai gambaran sel pada kelompok kontrol.

Dari ke empat area yang diteliti, terdapat data yang mendukung adanya perbaikan struktur sel-sel hipokampus pada kelompok tikus yang mendapatkan ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. dalam dosis 400 dan 500 mg/kg BB, dengan demikian bisa dikatakan bahwa kandungan ekstrak akar tanaman *Acalypha indica* Linn. memiliki efek neuroterapi dan hal ini makin memperkuat hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Purwaningsih et al.²⁸

Dalam penelitian ini efek neuroterapi terjadi bisa melalui mekanisme kerja antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman ini, karena kerusakan sel saraf yang terjadi pascahipoksia bisa disebabkan oleh adanya peningkatan ROS. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian terbaru yang mengatakan bahwa penggunaan ekstrak air dan alkohol akar *Acalypha indica* Linn. secara signifikan memiliki aktifitas antioksidan dibandingkan dengan penggunaan asam askorbat.⁵⁵ Anion superoksida sebagai salah satu radikal bebas otak akan diubah oleh superoksida dismutase (yang diduga diaktifkan oleh *acalyphine* dan atau stigmasterol) menjadi H₂O₂, yang kemudian akan diubah oleh katalase atau glutathion peroksidase menjadi H₂O, sehingga kematian sel yang disebabkan oleh peroksinitrit sebagai hasil reaksi anion superoksida dengan NO akan menurun.

Namun tidak menutup kemungkinan perbaikan sel terjadi oleh karena kerja dari zat aktif baik *acalyphine* maupun stigmasterol sebagai agen inflamatori untuk menghambat proses inflamasi yang disebabkan oleh hipoksia. Seperti telah kita ketahui bahwa *acalyphine* dan stigmasterol mampu berikatan dengan peptida dan ion kalsium PLA₂. Sebagian besar inflamasi yang terjadi berhubungan dengan gangguan yang melibatkan kerja PLA₂ baik secara langsung maupun tidak langsung.²⁷ PLA₂ merupakan enzim khusus yang mengkatalisa hidrolisis fosfolipid membran sel yang selanjutnya akan menghasilkan lisofosfolipid dan asam lemak bebas seperti asam arakidonat. Peningkatan asam arakidonat akan mengaktifasi sel-sel inflamatori. Proses inflamasi yang terjadi akan menyebabkan peningkatan ekspresi faktor transkripsi NFκB, yang selanjutnya faktor transkripsi ini akan menginduksi sitokin

seperti IL-1 dan molekul adesi yang bisa menginduksi produksi enzim-enzim proteolitik yang sangat membahayakan integritas sel. Dengan terbentuknya kompleks antara *acalyphine* atau stigmasterol dengan PLA2 maka, aktivitas PLA2 akan terganggu sehingga pembentukan mediator-mediator inflamasi terhambat. Dengan demikian kerusakan sel yang disebabkan oleh proses inflamasi tidak terjadi. Namun demikian masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan bagaimana mekanisme kerja ekstrak tanaman ini sehingga ia mampu berfungsi sebagai agen neuroterapi, apakah perbaikan yang terjadi disebabkan oleh aktivitas antioksidan, anti inflamasi atau terdapat faktor lain yang mendukung terjadinya perbaikan neuron hipokampus pascahipoksia.

Faktor ini bisa disebabkan oleh peningkatan faktor-faktor neurogenik seperti BDNF, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF) yang dihasilkan oleh sel-sel endotel baru yang terbentuk dari proses angiogenesis hasil dari induksi HIF-1. Faktor-faktor ini memiliki sifat angiogenik dan *chemotactic* serta mampu meningkatkan kemampuan neuroblast untuk bertahan. Unsur *Acalypha indica* Linn diduga mampu mendukung sel neuroblast untuk berintegrasi dengan jaringan, sehingga kemampuan neuroblast untuk bertahan semakin tinggi.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

- 1.1. Jumlah sel rusak kelompok reoksigenasi tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok hipoksia ($p = 0,552$).
- 1.2. Jumlah sel rusak kelompok terapi 300 mg/kg BB tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan kelompok hipoksia ($p=0,683$), tetapi pada kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB kerusakan sel neuron hipokampus berbeda bermakna secara statistik dibanding dengan kelompok hipoksia ($p = 0,01$).
- 1.3. Jumlah sel rusak terapi 300 mg/kg BB berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,001$) tetapi pada kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB kerusakan sel neuron hipokampus tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p = 0,222$).
- 1.4. Ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB mampu memperbaiki kerusakan sel neuron hipokampus pascahipoksia serebral. Hal ini dibuktikan dengan jumlah sel hipokampus yang rusak (baik pada area lapisan-dalam girus dentatus, lapisan-luar girus dentatus, CA1 maupun CA3 hipokampus) berbeda bermakna secara statistik bila dibandingkan dengan kelompok hipoksia ($p = 0,01$) dan tidak berbeda bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p = 0,222$).

2. Saran

- 2.1. Perlu dilakukan penelitian tambahan mengenai efek neuroprotektor ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. pascahipoksia serebral.
- 2.2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. terhadap ekspresi protein-protein proapoptotik.
- 2.3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh penggunaan ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. terhadap neurogenesis sel-sel saraf hipokampus.
- 2.4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang bisa menjelaskan mengenai mekanisme kerja efek neuroterapi ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn.

DAFTAR PUSTAKA

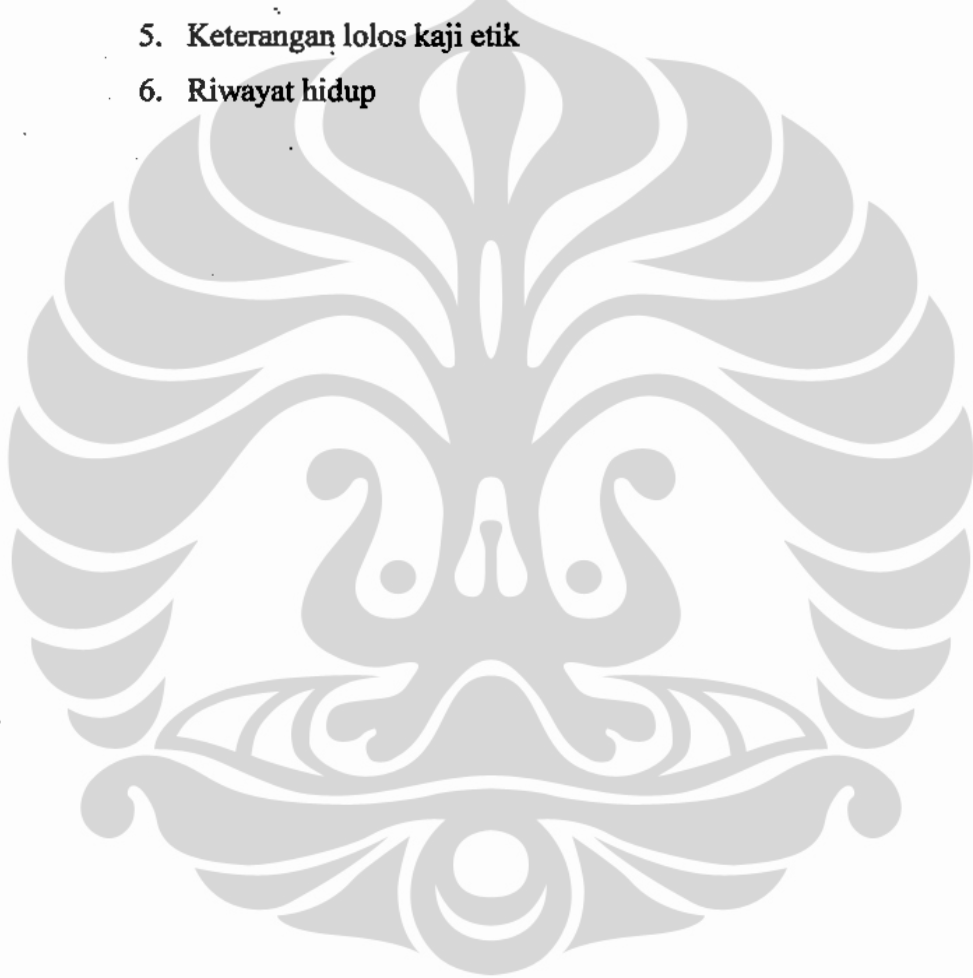
1. Anonym. Hypoxia (medical). [homepage on the internet]. 2007 [cited 2007 Dec 13]. Available from : URL: http://en.wikipedia.org/Hypoxia_%28medical%29.htm
2. Sanja Jelic, MD. Hypoxia / Hypoxemia. [homepage on the internet]. 2007 [cited 2007 Dec 13]. Available from: URL: www.batnet.com. Htm.
3. Giaccia AJ, Simon MC, Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function and disease. *Genes and Development* 2004;18:2183-94.
4. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK. Free radicals and antioxidants in human health current status and future prospects. *J Assoc Physiabi India*. 2004;52:794-804.
5. Hernani Raharjo, M. Tanaman berkasiat antioksidan. 2005. Jakarta. Penebar Swadaya.
6. McKersie, Bryan D. Oxidative stress. 1996 [cited 2007 Dec 13]. Available from: <http://cropsoil.psu.edu/courses/AGRO518/Oxygen.htm>.
7. Zagorska A, Dulak J. HIF-1 : the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochemica Polonica* 2004;51(3):563-78.
8. Haddad JJ. Oxygen-sensing mechanisms and the regulation of redox-responsive transcription factors in development and pathophysiology. *Respir Res* 2002;3:26-53.
9. Greijer AE, Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *Journal of clinical pathology* 2004;57:1009-14.
10. Anonym. Necrosis. Wikipedia the free encyclopedia. 2007 [cited 2007 Dec 13]. Available from: <file:///E:/Nekrosis/Necrosis 1.htm>.
11. Rybnikova EA et al. Expression of early gene proteins, structural changes in brain neurons in hypobaric hypoxia and correcting effects of preconditioning. *Neurosci and Behav Physiol* 2005;35(4):383-388.
12. Bethesda MD. Cerebral Hypoxia : NINDS Cerebral hypoxia information page. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. 2007
13. Henderson Price Sylvia/ Wilson Lorraine McCarty. Patofisiologi, Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit, edisi 2 (alih bahasa : Aji Darma). 1991. EGC, Jakarta.
14. Guntera Alain Albert. Phytochemical Investigation of Plants Suspected to Cause the FTS of African Elephants : *Heliotropium* of *Alitolium* Forssk. (Boraginaceae) and *Blumea* *Gariopina* DC. (Asteraceae). *Universite de Lausanne*. 2003; 66-69.
15. Anonym. Steroidal Saponins for Treating Alzheimer's Disease. [homepage on the internet]. 2007. [cited 2007 Dec 13]. Available from: <http://www.wipo.int/Pctdb/en/wo.jsp?IA=613>. htm
16. Kikuchi M, Kashii S, Honda T, et al. Protective effect of methycobamine, a vitamin B 12 analog, against glutamate-induced neurotoxicity in retinal cell culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:848-54.
17. Kikuchi M, Kashii S, Mundai, M. Protective effect of FK506 against glutamate-induced neurotoxicity in retinal cell culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;29:1227-32.

18. Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, et al. Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. *Nutrition* 2005;21:749-55.
19. CCRH Quarterly Bulletin. Drug Standardisation Special – 1. 2000; 22 (1e2).
20. Anonym. Akar kucing. [homepage on the internet]. 2007. [cited 2007 Dec 13]. Available from: www.net.id/Ind/pd-tanobat/viewphp?mnu:2&id:231-18k.htm.
21. A. K. Das I, Ahmed, N.N. BiswasI, Dev S. I, and Masud M. Diuretic Activity of *Acalypha Indica* Linn. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005;4(1)
22. Maraotong. *Acalypha indica* Linn. [homepage on the internet]. 2006. [cited 2007 Dec 13]. Available from: www.bpi.da.gov.ph/publications/mp/pdf/m/maraotong.pdf. 2006.
23. Shirwaikar K. Annie, Rajendran, Bodla Ramagopal and Kumar C. Dinesh. Neutralization Potential of Viper Russell's Russell's (Russell's Viper) Venom by Ethanol Leaf Extract of *Acalypha Indica*. Department of Pharmacognosy, College of Pharmaceutical Sciences, Manipal, Karnataka, India. 2003;3
24. Anonym. Antimicrobial and Wound Healing Studies of Root Extracts of *Acalypha indica* Linn. Maharaji College. 2006;3
25. Bambina. *Acalypha indica* Linn. [homepage on the internet]. 2006. [cited 2007 Dec 13]. Available from : www.thaivisa.com/forum/lofiversion/index.php/181084.html.-19k. 2006.
26. Satosi yoneda, Haruo kawamoto and Fumiaki nakatsuba. Synthesis of high molecular mass condensed tannin by cationic polymerization of flavan 3,4-carbonate. Department of Socio-environment energy science, Kitashirakawa Oiwake-cho, Sakyo-ku Kyoto, Japan. 1996
27. Nithya N, Praba G, Velmuruga D. Modeling studies on phospholipase A2-inhibitor complexes. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysic.* 2008;45:256-2625.
28. Purwaningsih EH, Ibrahim N, Zain H. Efek neuroprotektor dan neuroterapi ekstrak akar *Acalypha indica* Linn (akar kucing) secara *eks vivo* dan *in vivo*. Laporan akhir riset unggulan Universitas Indonesia; 2007.
29. Lopez-Barneo J, Toro R, Levitsky KL, Chiara MD, Ortega-Saenz P. Regulation of oxygen sensing by ion channels. *J Appl Physiol* 2004;96:1187-95.
30. Sharp FR, Bernaudin M. HIF-1 and oxygen sensing in the brain. *Neuroscience* 2004 Jun; 5:437-46.
31. Guo Shao, Cui YG, Lu Guo-Wei. Alterations of Hypoxia-inducible factor-1 alpha in the hippocampus of mice acutely and repeatedly exposed to hypoxia. *Dev Neurosci* 2005;14:255-261.
32. Hugo JHM, Myriam B, Edwige P, Werner R. Hypoxia-induced Vascular Endothelial Growth Factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia. *American Journal of Pathology* 2000;156 :3:965-977.
33. Kelly IO, Peers C, Kemp PJ. O2-sensitive K channels in neuroepithelial body-derived small cell carcinoma cell of the human lung. *J Appl Physiol* 1998;275:L709-L716.
34. Silvia F, Matthias C, Marion W, Dieter R, Wolfgang S, Gerhard FK. Hypoxia induces permeability in brain microvessel endothelial cells via VEGF and NO. *Am J Physiol* 1999;276:812-820.
35. LaManna Joseph C., Juan C, Paola P. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain. *The Journal of Experimental Biology* 2004;207:3163-3169.
36. Sami IH, Martin AH, LaManna Joseph C. Hypoxia-induced brain angiogenesis in the adult rat. *Journal of Physiology* 1995;485.2:525-530.

37. Jaime AB, Jonathan A, Alberto A, Carl R, Thomas AW. Increased brain capillaries in chronic hypoxia. *J Appl Physiol* 1999;86:1211-1219.
38. Lipton Peter. Ischemic cell death in brain neuron. *Physiol Rev* 1999;79:1431-1568.
39. Kroemer G, El Deiry W, Golstein P. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. 2005;12:1463-1467.
40. Patel Vimal A., Longacre A., Hsio Kevin. Apoptotic cells, at all stages of the death process, trigger characteristic signaling events that are divergent from and dominant to those triggered by necrotic cells. *J.Biol.Chem.*10.1074/jbc.2005;M50:834-2200
41. Levine Beth and Yuan Yunying. Autophagy in cell death: an innocent convict? *American Society for Clinical Investigation*. 2005;115(10):2679-2688.
42. Anonym. Autophagy (cellular). *Wikipedia, the free encyclopedia*.2009. [cited 2009 June 13]. Available from : file://E:/NF terapan/Autophagy/Autophagy-2.htm
43. Anonym. Hippocampus. *Wikipedia, the free encyclopedia*. 2007 [cited 2007 Dec 13]. Available from: file://E:/Hippocampus/Hippocampus 1.htm.
44. Anonym. Adult Neurogenesis. *Society for neuroscience*. Washington DC 20005. 2009.
45. Zhao c, Deng Wei, Gage FH. Mechanism and functional implications of adult neurogenesis. *Laboratory of genetics, Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, USA*. 2008;132(4):645-660.
46. Grandpre Tadzia. Adult neurogenesis : do new neurons develop in the brain? 2007
47. James B Aimone. Adult neurogenesis. *Scholarpedia*. 2007;2(2):2100.
48. Mo. Neurogenesis in the adult human brain. *Word press com. Neurophilosophy*.2007.
49. Anonym. Adult neurogenesis newly adult-born neurons are functionally similar to mature neurons. *Health and medicine: Science News*. 2006;21
50. Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. *Acalypha indica* L. 2007;2: 1003 -1753.
51. Windra W.P. *Acalypha indica* Linn. *L.I.G.N.A.* 068114173.2009
52. Anonym. Acalyphin. *PubChem ID 8141589*. [homepage on the internet]. 2009.[cited 2009 June13]. Available from: InChIKey=QZRKNNXRNBTO DR-UHFFFAOYAC
53. Ashok K, Guorong X, Akira H, Teuro M Gerald s. Stigmasterol reduces plasma cholesterol levels and inhibits hepatic synthesis and intestinal absorption in the rat 2006;55(3):292-299.
54. Anonym. Stigmasterol. *Wikipedia, the free encyclopedia*. *PubChem 5280794*. 2009.
55. N. Balakrishnan, A B Panda, N R Raj, A Shrivastava, R Prathani. The evaluation of nitric oxide scavenging activity of *Acalypha indica* Linn root. *Asian J. Research Chem.* 2(2):April-June 2009;2(2):0974-4169.

DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil penghitungan jumlah total sel
2. Hasil analisa uji statistik jumlah total sel
3. Hasil penghitungan prosentase sel rusak
4. Hasil analisa uji statistik prosentase sel rusak
5. Keterangan lolos kaji etik
6. Riwayat hidup



Lampiran :

Jumlah sel girus dentatus lapisan dalam hipokampus (DGIN) :

Sampel ke	Kelompok	Jumlah sel
1	Ca	214
2	Cb	164
3	Cc	221
4	Cd	174
5	Ce	298
6	Ia	360
7	Ib	268
8	Ic	150
9	Id	209
10	Ie	257
11	IIa	322
12	IIb	210
13	IIc	272
14	IId	212
15	IIe	106
16	IIIa	205
17	IIIb	212
18	IIIc	178
19	IIId	204
20	IIIe	166
21	IVa	194
22	IVb	210
23	IVc	182
24	IVd	178
25	IVe	215
26	Va	180
27	Vb	214
28	Vc	213
29	Vd	219
30	Ve	111

Jumlah sel girus dentatus lapisan luar hipokampus (DGOUT) :

Sampel ke	Kelompok	Jumlah sel
1	Ca	199
2	Cb	124
3	Cc	201
4	Cd	174
5	Ce	296
6	Ia	348
7	Ib	247
8	Ic	145
9	Id	193
10	Ie	262
11	IIa	241
12	IIb	160
13	IIc	254
14	IId	200
15	IIe	106
16	IIIa	187
17	IIIb	195
18	IIIc	180
19	IIId	195
20	IIIe	157
21	IVa	169
22	IVb	189
23	IVc	159
24	IVd	181
25	IVe	192
26	Va	188
27	Vb	271
28	Vc	184
29	Vd	148
30	Ve	108

Jumlah sel CA1 hipokampus :

Sampel ke	Kelompok	Jumlah sel
1	Ca	86
2	Cb	86
3	Cc	82
4	Cd	90
5	Ce	87
6	Ia	153
7	Ib	105
8	Ic	63
9	Id	88
10	Ie	99
11	IIa	100
12	IIb	71
13	IIc	80
14	IId	133
15	IIE	117
16	IIIa	76
17	IIIb	63
18	IIIc	51
19	IIId	65
20	IIIe	50
21	IVa	86
22	IVb	77
23	IVc	85
24	IVd	77
25	IVe	74
26	Va	74
27	Vb	77
28	Vc	74
29	Vd	71
30	Ve	63

Jumlah sel CA3 hipokampus :

Sampel ke	Kelompok	Jumlah sel
1	Ca	57
2	Cb	57
3	Cc	57
4	Cd	51
5	Ce	64
6	Ia	107
7	Ib	67
8	Ic	33
9	Id	53
10	Ie	79
11	Ila	84
12	Ilb	57
13	Ilc	58
14	Ild	53
15	Ile	57
16	Illa	43
17	IIIb	49
18	IIIc	50
19	IIId	54
20	IIIe	69
21	IVa	76
22	IVb	53
23	IVc	49
24	IVd	39
25	IVe	50
26	Va	41
27	Vb	40
28	Vc	45
29	Vd	44
30	Ve	41

Tabel 1 Jumlah sel girus dentatus lapisan dalam hipokampus (DGIN)

No.	Kel. Kontrol	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
a	214	360	322	205	194	180
b	164	268	210	212	210	214
c	221	150	272	178	182	213
d	174	209	212	204	178	219
e	298	257	106	166	215	111
rerata	214	248	224	193	195	187

Tabel 3 Jumlah sel girus dentatus lapisan luar hipokampus (DGOUT)

No.	Kel. Kontrol	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
a	199	348	241	187	169	188
b	124	247	160	195	189	271
c	201	145	254	180	159	184
d	174	193	200	195	181	148
e	296	262	106	157	192	108
rerata	198	239	192	182	178	179

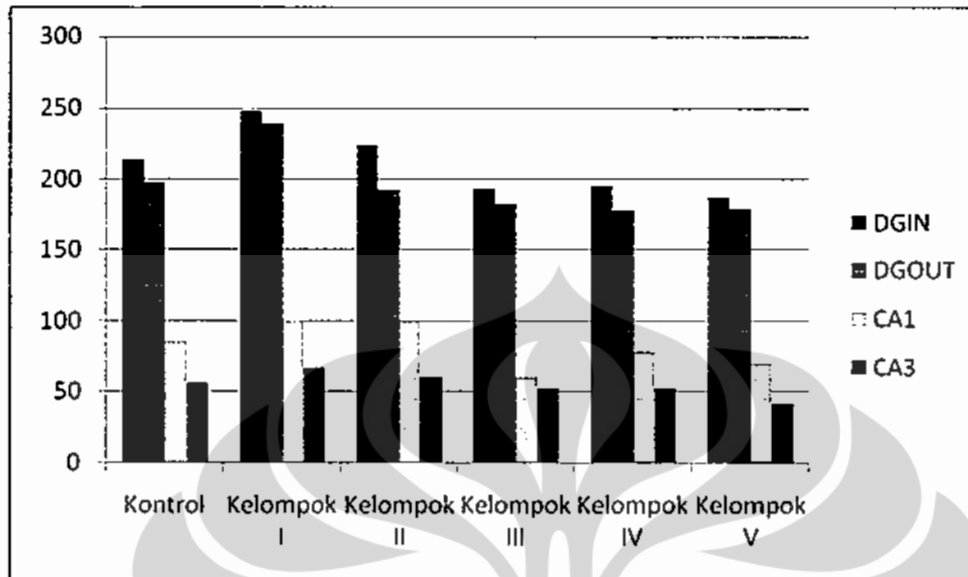
Tabel 5 Jumlah sel CA1 hipokampus

No.	Kel. Kontrol	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
a	86	153	100	76	86	74
b	86	105	71	63	77	77
c	82	63	80	51	85	74
d	90	88	133	65	77	71
e	87	99	117	50	74	63
rerata	86	101	100	61	79	71

Tabel 7 Jumlah sel CA3 hipokampus

No.	Kel. Kontrol	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
a	57	107	84	43	76	41
b	57	67	57	49	53	40
c	57	33	58	50	49	45
d	51	53	53	54	39	44
e	64	79	57	69	50	41
rerata	57	67	61	53	53	42

Diagram batang rerata jumlah sel saraf



Uji Normalitas

Tests of Normality

kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
DGIN	Kontrol	.249	5	.200*	.900	5	.408
	Kelompok I	.202	5	.200*	.980	5	.934
	Kelompok II	.229	5	.200*	.960	5	.810
	Kelompok III	.310	5	.131	.871	5	.269
	Kelompok IV	.206	5	.200*	.909	5	.464
	Kelompok V	.313	5	.122	.775	5	.050
DGOUT	Kontrol	.286	5	.200*	.932	5	.612
	Kelompok I	.182	5	.200*	.981	5	.939
	Kelompok II	.189	5	.200*	.944	5	.695
	Kelompok III	.229	5	.200*	.843	5	.174
	Kelompok IV	.186	5	.200*	.932	5	.613
	Kelompok V	.246	5	.200*	.956	5	.777
CA1	Kontrol	.272	5	.200*	.942	5	.680
	Kelompok I	.259	5	.200*	.942	5	.684
	Kelompok II	.185	5	.200*	.960	5	.807
	Kelompok III	.223	5	.200*	.916	5	.504
	Kelompok IV	.299	5	.163	.855	5	.210
	Kelompok V	.259	5	.200*	.876	5	.292
CA3	Kontrol	.317	5	.111	.880	5	.311
	Kelompok I	.144	5	.200*	.994	5	.993
	Kelompok II	.419	5	.004	.689	5	.007
	Kelompok III	.259	5	.200*	.895	5	.381
	Kelompok IV	.312	5	.127	.872	5	.274
	Kelompok V	.310	5	.131	.871	5	.272

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Oleh karena DGIN $p = 0.408 > 0,05$, DGOUT $p = 0.612 > 0,05$, CA1 $p = 0.680 > 0,05$ dan CA3 $p = 0.311 > 0,05$ maka semua kelompok memiliki sebaran data normal.

Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DGIN	Based on Mean	1.835	5	24	.189
	Based on Median	1.173	5	24	.351
	Based on Median and with adjusted df	1.173	5	15.757	.366
	Based on trimmed mean	1.661	5	24	.182
DGOUT	Based on Mean	1.678	5	24	.178
	Based on Median	1.458	5	24	.240
	Based on Median and with adjusted df	1.458	5	15.978	.258
	Based on trimmed mean	1.699	5	24	.173
CA1	Based on Mean	3.261	5	24	.022
	Based on Median	2.937	5	24	.033
	Based on Median and with adjusted df	2.937	5	7.890	.086
	Based on trimmed mean	3.181	5	24	.024
CA3	Based on Mean	2.828	5	24	.038
	Based on Median	2.178	5	24	.090
	Based on Median and with adjusted df	2.178	5	13.068	.120
	Based on trimmed mean	2.691	5	24	.048

Karena pada DGIN mempunyai nilai $p = 0,189 > 0,05$, karena pada DGOUT mempunyai nilai $p = 0,178 > 0,05$, pada CA1 mempunyai nilai $p = 0,022 < 0,05$ dan karena pada CA3 mempunyai nilai $p = 0,038 < 0,05$ maka terdapat 2 kelompok yang memiliki varians data yang berbeda secara bermakna.

Data normal, tetapi varians data tidak homogen. Kemudian dilakukan transformasi data dengan fungsi akar kuadrat untuk mendapatkan varians data yang homogen. Hasil uji homogenitas pada data data hasil transformasi didapatkan DGIN nilai $p = 0,435 > 0,05$, pada DGOUT nilai $p = 0,422 > 0,05$, pada CA1 nilai $p = 0,148 > 0,05$ dan karena pada CA3 nilai $p = 0,195 > 0,05$ maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan varians antara kelompok data yang dibandingkan atau varians data adalah sama. Sehingga syarat uji anova *one way* terpenuhi.

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
DGIN	Between Groups	13648.400	5	2729.680	.904	.494
	Within Groups	72436.800	24	3018.200		
	Total	86085.200	29			
DGOUT	Between Groups	13135.500	5	2627.100	.899	.498
	Within Groups	70143.200	24	2922.633		
	Total	83278.700	29			
CA1	Between Groups	6352.967	5	1270.593	3.969	.009
	Within Groups	7682.400	24	320.100		
	Total	14035.367	29			
CA3	Between Groups	1902.300	5	380.460	1.842	.143
	Within Groups	4958.400	24	206.600		
	Total	6860.700	29			

Pada uji anova DGIN nilai $p = 0,494 > 0,05$, pada DGOUT nilai $p = 0,498 > 0,05$, pada CA1 mempunyai nilai $p = 0,009 < 0,05$ dan pada CA3 mempunyai nilai $p = 0,143 > 0,05$.

Karena terdapat nilai $p = 0,009 < 0.05$ maka paling tidak terdapat perbedaan rerata jumlah sel secara bermakna pada dua kelompok.

Untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan rerata jumlah sel saraf secara bermakna dilakukan uji post hoc LSD.

Multiple Comparisons
LSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
DGIN	Kontrol	Kelompok I	-34.6	34.7459	0.3293	-106.3121	37.1121
		Kelompok II	-10.2	34.7459	0.7716	-81.9121	61.5121
		Kelompok III	21.2	34.7459	0.5475	-50.5121	92.9121
		Kelompok IV	18.4	34.7459	0.6013	-53.3121	90.1121
		Kelompok V	26.8	34.7459	0.4480	-44.9121	98.5121
	Kelompok I	Kontrol	34.6	34.7459	0.3293	-37.1121	106.3121
		Kelompok II	24.4	34.7459	0.4893	-47.3121	96.1121
		Kelompok III	55.8	34.7459	0.1214	-15.9121	127.5121
		Kelompok IV	53	34.7459	0.1402	-18.7121	124.7121
		Kelompok V	61.4	34.7459	0.0899	-10.3121	133.1121
	Kelompok II	Kontrol	10.2	34.7459	0.7716	-61.5121	81.9121
		Kelompok I	-24.4	34.7459	0.4893	-96.1121	47.3121
		Kelompok III	31.4	34.7459	0.3751	-40.3121	103.1121
		Kelompok IV	28.8	34.7459	0.4185	-43.1121	100.3121
		Kelompok V	37	34.7459	0.2975	-34.7121	108.7121
	Kelompok III	Kontrol	-21.2	34.7459	0.5475	-92.9121	50.5121
		Kelompok I	-55.8	34.7459	0.1214	-127.5121	15.9121
		Kelompok II	-31.4	34.7459	0.3751	-103.1121	40.3121
		Kelompok IV	-2.8	34.7459	0.9364	-74.5121	68.9121
		Kelompok V	5.6	34.7459	0.8733	-66.1121	77.3121
	Kelompok IV	Kontrol	-18.4	34.7459	0.6013	-90.1121	53.3121
		Kelompok I	-53	34.7459	0.1402	-124.7121	18.7121
		Kelompok II	-28.8	34.7459	0.4185	-100.3121	43.1121
		Kelompok III	2.8	34.7459	0.9364	-68.9121	74.5121
		Kelompok V	8.4	34.7459	0.8110	-63.3121	80.1121
Kelompok V	Kontrol	-26.8	34.7459	0.4480	-98.5121	44.9121	
	Kelompok I	-61.4	34.7459	0.0899	-133.1121	10.3121	
	Kelompok II	-37	34.7459	0.2975	-108.7121	34.7121	
	Kelompok III	-5.6	34.7459	0.8733	-77.3121	66.1121	
	Kelompok IV	-8.4	34.7459	0.8110	-80.1121	63.3121	

Hasil analisa post hoc DGIN menunjukkan bahwa :

Perbedaan rerata sel saraf pada kelompok kontrol tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan semua Kelompok.

Perbedaan rerata sel saraf pada kelompok I tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan semua kelompok.

Perbedaan rerata sel saraf kelompok II tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan semua Kelompok.

Perbedaan rerata sel saraf pada kelompok III tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan semua kelompok.

Perbedaan rerata sel saraf pada kelompok IV tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan semua Kelompok.

Perbedaan rerata sel saraf kelompok V tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan semua Kelompok.

DGOUT	Kontrol	Kelompok I	-40.2	34.1914	0.2512	-110.7676	30.3676
		Kelompok II	6.6	34.1914	0.8486	-63.9676	77.1676
		Kelompok III	16	34.1914	0.6440	-54.5676	86.5676
		Kelompok IV	20.8	34.1914	0.5487	-49.7676	91.3676
		Kelompok V	19	34.1914	0.5836	-51.5676	89.5676
	Kelompok I	Kontrol	40.2	34.1914	0.2512	-30.3676	110.7676
		Kelompok II	45.8	34.1914	0.1837	-23.7676	117.3676
		Kelompok III	56.2	34.1914	0.1133	-14.3676	126.7676
		Kelompok IV	61	34.1914	0.0871	-9.5676	131.5676
		Kelompok V	59.2	34.1914	0.0962	-11.3676	129.7676
	Kelompok II	Kontrol	-6.8	34.1914	0.8486	-77.1676	63.9676
		Kelompok I	-46.8	34.1914	0.1837	-117.3676	23.7676
		Kelompok III	9.4	34.1914	0.7857	-61.1676	79.9676
		Kelompok IV	14.2	34.1914	0.6816	-58.3676	84.7676
		Kelompok V	12.4	34.1914	0.7200	-58.1676	82.9676
	Kelompok III	Kontrol	-16	34.1914	0.6440	-86.5676	54.5676
		Kelompok I	-56.2	34.1914	0.1133	-126.7676	14.3676
		Kelompok II	-9.4	34.1914	0.7857	-79.9676	61.1676
		Kelompok IV	4.8	34.1914	0.8895	-65.7676	75.3676
		Kelompok V	3	34.1914	0.9308	-67.5676	73.5676
	Kelompok IV	Kontrol	-20.8	34.1914	0.5487	-91.3676	49.7676
		Kelompok I	-61	34.1914	0.0871	-131.5676	9.5676
		Kelompok II	-14.2	34.1914	0.6816	-84.7676	56.3676
		Kelompok III	-4.8	34.1914	0.8895	-75.3676	65.7676
		Kelompok V	-1.8	34.1914	0.9585	-72.3676	68.7676
Kelompok V	Kontrol	-19	34.1914	0.5836	-89.5676	51.5676	
	Kelompok I	-59.2	34.1914	0.0962	-129.7676	11.3676	
	Kelompok II	-12.4	34.1914	0.7200	-82.9676	58.1676	
	Kelompok III	-3	34.1914	0.9308	-73.5676	67.5676	
	Kelompok IV	1.8	34.1914	0.9585	-68.7676	72.3676	

Hasil analisa post hoc DGOUT menunjukkan bahwa :
Semua nilai $p > 0,05$ maka perbedaan rerata sel saraf tidak berbeda secara bermakna pada seluruh kelompok.

CA1	Kontrol	Kelompok I	-15.4	11.3155	0.1862	-38.7540	7.9540
		Kelompok II	-14	11.3155	0.2280	-37.3540	9.3540
		Kelompok III	25.2	11.3155	0.0358	1.8460	48.5540
		Kelompok IV	6.4	11.3155	0.5769	-16.9540	29.7540
		Kelompok V	14.4	11.3155	0.2154	-8.9540	37.7540
	Kelompok I	Kontrol	15.4	11.3155	0.1862	-7.9540	38.7540
		Kelompok II	1.4	11.3155	0.9026	-21.9540	24.7540
		Kelompok III	40.6	11.3155	0.0015	17.2460	63.9540
		Kelompok IV	21.8	11.3155	0.0680	-1.5540	45.1540
		Kelompok V	29.8	11.3155	0.0146	6.4460	53.1540
	Kelompok II	Kontrol	14	11.3155	0.2280	-9.3540	37.3540
		Kelompok I	-1.4	11.3155	0.9026	-24.7540	21.9540
		Kelompok III	39.2	11.3155	0.0020	15.8460	62.5540
		Kelompok IV	20.4	11.3155	0.0840	-2.9540	43.7540
		Kelompok V	28.4	11.3155	0.0192	5.0460	51.7540
	Kelompok III	Kontrol	-25.2	11.3155	0.0358	-48.5540	-1.8460
		Kelompok I	-40.6	11.3155	0.0015	-63.9540	-17.2460
		Kelompok II	-39.2	11.3155	0.0020	-62.5540	-15.8460
		Kelompok IV	-18.8	11.3155	0.1096	-42.1540	4.5540
		Kelompok V	-10.8	11.3155	0.3494	-34.1540	12.5540
	Kelompok IV	Kontrol	-8.4	11.3155	0.5769	-29.7540	16.9540
		Kelompok I	-21.8	11.3155	0.0680	-45.1540	1.5540
		Kelompok II	-20.4	11.3155	0.0840	-43.7540	2.9540
		Kelompok III	18.8	11.3155	0.1096	-4.5540	42.1540
		Kelompok V	8	11.3155	0.4864	-15.3540	31.3540
Kelompok V	Kontrol	-14.4	11.3155	0.2154	-37.7540	8.9540	
	Kelompok I	-29.8	11.3155	0.0146	-53.1540	-6.4460	
	Kelompok II	-28.4	11.3155	0.0192	-51.7540	-5.0460	
	Kelompok III	10.8	11.3155	0.3494	-12.5540	34.1540	
	Kelompok IV	-8	11.3155	0.4864	-31.3540	15.3540	

Hasil analisa post hoc CA1 menunjukkan bahwa terdapat kelompok dengan perbedaan rerata sel saraf berbeda secara bermakna pada :

- Kelompok kontrol dengan Kelompok III ($p = 0,036$).
- Kelompok I dengan Kelompok III ($p = 0,002$).
- Kelompok I dengan Kelompok V ($p = 0,015$).
- Kelompok II dengan Kelompok III ($p = 0,002$).
- Kelompok II dengan Kelompok V ($p = 0,019$).

CA3	Kontrol	Kelompok I	-10.6	9.0907	0.2551	-29.3622	8.1622
		Kelompok II	-4.6	9.0907	0.6175	-23.3622	14.1622
		Kelompok III	4.2	9.0907	0.6482	-14.5622	22.9622
		Kelompok IV	3.8	9.0907	0.6797	-14.9622	22.5622
		Kelompok V	15	9.0907	0.1120	-3.7622	33.7622
	Kelompok I	Kontrol	10.6	9.0907	0.2551	-8.1622	29.3622
		Kelompok II	6	9.0907	0.5155	-12.7622	24.7622
		Kelompok III	14.8	9.0907	0.1168	-3.9622	33.5622
		Kelompok IV	14.4	9.0907	0.1263	-4.3622	33.1622
		Kelompok V	25.6	9.0907	0.0096	6.8378	44.3622
	Kelompok II	Kontrol	4.6	9.0907	0.6175	-14.1622	23.3622
		Kelompok I	-8	9.0907	0.5155	-24.7622	12.7622
		Kelompok III	8.8	9.0907	0.3427	-9.9622	27.5622
		Kelompok IV	8.4	9.0907	0.3647	-10.3622	27.1622
		Kelompok V	19.6	9.0907	0.0413	0.8378	38.3622
	Kelompok III	Kontrol	-4.2	9.0907	0.6482	-22.9622	14.5622
		Kelompok I	-14.8	9.0907	0.1166	-33.5622	3.9622
		Kelompok II	-8.8	9.0907	0.3427	-27.5622	9.9622
		Kelompok IV	-0.4	9.0907	0.9653	-19.1622	18.3622
		Kelompok V	10.8	9.0907	0.2484	-7.9622	29.5622
Kelompok IV	Kontrol	-3.8	9.0907	0.6797	-22.5622	14.9622	
	Kelompok I	-14.4	9.0907	0.1263	-33.1622	4.3622	
	Kelompok II	-8.4	9.0907	0.3647	-27.1622	10.3622	
	Kelompok III	0.4	9.0907	0.9653	-18.3622	19.1622	
	Kelompok V	11.2	9.0907	0.2299	-7.5622	29.9622	
Kelompok V	Kontrol	-15	9.0907	0.1120	-33.7622	3.7622	
	Kelompok I	-25.6	9.0907	0.0096	-44.3622	-6.8378	
	Kelompok II	-19.6	9.0907	0.0413	-38.3622	-0.8378	
	Kelompok III	-10.8	9.0907	0.2464	-29.5622	7.9622	
	Kelompok IV	-11.2	9.0907	0.2299	-29.9622	7.5622	

* The mean difference is significant at the .05 level.

Hasil analisa post hoc CA3 menunjukkan bahwa terdapat kelompok dengan perbedaan rerata sel saraf berbeda secara bermakna pada :

Kelompok I dengan kelompok V ($p = 0,01$).

Kelompok II dengan kelompok V ($p = 0,04$).

Tabel 2. Prosentase tingkat kerusakan sel girus dentatus lapisan dalam hipokampus (DGIN)

No	Kel. K	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	0	90	65	40	5	10
2	0	95	20	90	0	5
3	0	80	20	70	5	5
4	0	70	30	95	0	25
5	0	60	10	95	0	5
rerata	0	79	29	78	2	10

Tabel 4. Prosentase tingkat kerusakan sel girus dentatus lapisan luar hipokampus (DGOUT)

No	Kel. kontrol	Kel. I	Kel. II	Kel. III	Kel. IV	Kel. V
1	0	95	5	80	70	0
2	0	95	90	85	0	5
3	0	95	70	30	5	10
4	0	85	20	100	0	0
5	0	5	0	100	0	
Rerata	0	75	37	79	15	3

Tabel 6. Prosentase tingkat kerusakan sel CA1 hipokampus

No	Kontrol	Kel. H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	0	100	25	10	30	5
2	0	10	10	90	10	0
3	0	70	10	70	10	0
4	0	70	30	75	0	0
5	0	10	10	95	0	0
Rerata	0	52	17	68	10	1

Tabel 8. Prosentase tingkat kerusakan sel CA3 hipokampus

No	Kontrol	Kel.H	Kel. R	Kel. T300	Kel. T400	Kel. T500
1	0	90	30	30	0	0
2	0	100	20	90	0	5
3	0	10	10	5	0	0
4	0	90	10	90	0	10
5	0	0	0	100	0	0
Rerata	0	58	14	63	0	3

Oneway Anova

Descriptives

jumlah kerusakan sel DGIN

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	5% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	5	.20	.447	.200	-.36	.76	0	1
kel. 1	5	11.40	6.983	3.123	2.73	20.07	0	18
kel. 2	5	9.74	3.491	1.561	5.40	14.07	6	14
kel. 3	5	10.26	4.377	1.958	4.83	15.70	3	14
kel. 4	5	3.75	5.168	2.311	-2.67	10.16	0	13
kel. 5	5	3.66	2.650	1.185	.37	6.95	0	7
Total	30	6.50	5.802	1.059	4.33	8.67	0	18

Test of Homogeneity of Variances

jumlah kerusakan sel DGIN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.674	5	24	.179

ANOVA

jumlah kerusakan sel DGIN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	520.001	5	104.000	5.472	.002
Within Groups	456.147	24	19.006		
Total	976.147	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah kerusakan sel DGIN

LSD

(I) kelompok perlak	(J) kelompok perlak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	kel. 1	-11.20*	2.757	.000	-16.89	-5.51
	kel. 2	-9.54*	2.757	.002	-15.23	-3.85
	kel. 3	-10.06*	2.757	.001	-15.75	-4.37
	kel. 4	-3.55	2.757	.211	-9.24	2.14
	kel. 5	-3.46	2.757	.222	-9.15	2.23
kel. 1	kontrol	11.20*	2.757	.000	5.51	16.89
	kel. 2	1.66	2.757	.552	-4.03	7.35
	kel. 3	1.14	2.757	.683	-4.55	6.83
	kel. 4	7.65*	2.757	.010	1.96	13.35
	kel. 5	7.74*	2.757	.010	2.05	13.43
kel. 2	kontrol	9.54*	2.757	.002	3.85	15.23
	kel. 1	-1.66	2.757	.552	-7.35	4.03
	kel. 3	-.52	2.757	.852	-6.21	5.17
	kel. 4	5.99*	2.757	.040	.30	11.68
	kel. 5	6.08*	2.757	.037	.39	11.77
kel. 3	kontrol	10.06*	2.757	.001	4.37	15.75
	kel. 1	-1.14	2.757	.683	-6.83	4.55
	kel. 2	.52	2.757	.852	-5.17	6.21
	kel. 4	6.51*	2.757	.027	.82	12.20
	kel. 5	6.60*	2.757	.025	.91	12.29
kel. 4	kontrol	3.55	2.757	.211	-2.14	9.24
	kel. 1	-7.65*	2.757	.010	-13.35	-1.96
	kel. 2	-5.99*	2.757	.040	-11.68	-.30
	kel. 3	-6.51*	2.757	.027	-12.20	-.82
	kel. 5	.09	2.757	.975	-5.60	5.78
kel. 5	kontrol	3.46	2.757	.222	-2.23	9.15
	kel. 1	-7.74*	2.757	.010	-13.43	-2.05
	kel. 2	-6.08*	2.757	.037	-11.77	-.39
	kel. 3	-6.60*	2.757	.025	-12.29	-.91
	kel. 4	-.09	2.757	.975	-5.78	5.60

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway Anova

Descriptives

jumlah sel rusak DGOUT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	5% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
kel.1	5	12.34	5.479	2.450	5.53	19.14	4	18
kel.2	5	7.03	5.639	2.522	.02	14.03	0	13
kel.3	5	11.79	2.569	1.149	8.60	14.99	7	14
kel.4	5	2.74	4.704	2.104	-3.10	8.58	0	11
kel.5	5	1.60	2.194	.981	-1.13	4.32	0	4
Total	30	5.92	6.117	1.117	3.63	8.20	0	18

Test of Homogeneity of Variances

jumlah sel rusak DGOUT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.619	5	24	.050

ANOVA

jumlah sel rusak DGOUT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	703.837	5	140.767	8.858	.000
Within Groups	381.401	24	15.892		
Total	1085.238	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sel rusak DGOUT

LSD

(I) kelompok terap	(J) kelompok terap	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	kel.1	-12.34*	2.521	.000	-17.54	-7.13
	kel.2	-7.03*	2.521	.010	-12.23	-1.82
	kel.3	-11.79*	2.521	.000	-17.00	-6.59
	kel.4	-2.74	2.521	.288	-7.94	2.47
	kel.5	-1.60	2.521	.532	-6.80	3.61
kel.1	kontrol	12.34*	2.521	.000	7.13	17.54
	kel.2	5.31*	2.521	.046	.11	10.51
	kel.3	.54	2.521	.832	-4.66	5.75
	kel.4	9.60*	2.521	.001	4.39	14.80
	kel.5	10.74*	2.521	.000	5.54	15.94
kel.2	kontrol	7.03*	2.521	.010	1.82	12.23
	kel.1	-5.31*	2.521	.046	-10.51	-.11
	kel.3	-4.77	2.521	.071	-9.97	.43
	kel.4	4.29	2.521	.102	-.92	9.49
	kel.5	5.43*	2.521	.042	.23	10.63
kel.3	kontrol	11.79*	2.521	.000	6.59	17.00
	kel.1	-.54	2.521	.832	-5.75	4.66
	kel.2	4.77	2.521	.071	-.43	9.97
	kel.4	9.06*	2.521	.001	3.85	14.26
	kel.5	10.20*	2.521	.000	4.99	15.40
kel.4	kontrol	2.74	2.521	.288	-2.47	7.94
	kel.1	-9.60*	2.521	.001	-14.80	-4.39
	kel.2	-4.29	2.521	.102	-9.49	.92
	kel.3	-9.06*	2.521	.001	-14.26	-3.85
	kel.5	1.14	2.521	.655	-4.06	6.34
kel.5	kontrol	1.60	2.521	.532	-3.61	6.80
	kel.1	-10.74*	2.521	.000	-15.94	-5.54
	kel.2	-5.43*	2.521	.042	-10.63	-.23
	kel.3	-10.20*	2.521	.000	-15.40	-4.99
	kel.4	-1.14	2.521	.655	-6.34	4.06

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway Anova

Descriptives

jumlah sel rusak CA1

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	5% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
kel.1	5	6.67	3.791	1.695	1.96	11.38	3	12
kel.2	5	4.05	1.572	.703	2.10	6.00	3	6
kel.3	5	6.06	1.891	.846	3.71	8.41	3	8
kel.4	5	1.62	2.339	1.046	-1.28	4.52	0	5
kel.5	5	.40	.894	.400	-.71	1.51	0	2
Total	30	3.13	3.292	.601	1.90	4.36	0	12

Test of Homogeneity of Variances

jumlah sel rusak CA1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.646	5	24	.014

KERUSAKAN SEL PADA DAERAH CA1

Dari uji Anova diketahui data prosentase jumlah kerusakan sel pada daerah CA1 tidak memenuhi syarat kesamaan varians (p value = 0,014 atau $<$ dari pada tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$.) Dengan demikian tidak bisa dilakukan pengujian dengan Anova untuk mengetahui kerusakan sel pada daerah CA1, selanjutnya dilakukan uji statistik non parametrik dengan uji Kruskal Wallis.

Oneway Anova

Descriptives

jumlah sel rusak sel CA 3

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
kelompok 1	5	5.33	4.243	1.898	.06	10.60	0	10
kelompok 2	5	2.60	1.816	.812	.35	4.86	0	5
kelompok 3	5	5.46	2.701	1.208	2.10	8.81	2	8
kelompok 4	5	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
kelompok 5	5	.68	.958	.428	-.51	1.87	0	2
Total	30	2.34	3.108	.567	1.18	3.51	0	10

Test of Homogeneity of Variances

jumlah sel rusak sel CA 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.585	5	24	.000

KERUSAKAN SEL PADA DAERAH CA3

Dari Anova diketahui data jumlah kerusakan sel pada daerah CA3 tidak memenuhi syarat kesamaan varians (p value = 0,000 atau $<$ dari pada tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$.) Dengan demikian tidak bisa dilakukan pengujian dengan Anova untuk mengetahui kerusakan sel pada daerah CA3, selanjutnya dilakukan uji statistik non parametrik dengan uji Kruskal Wallis.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
tingkat kerusakan sel DGIN	30	33.00	36.615	0	95
tingkat kerusakan sel DGOUT	30	34.83	41.905	0	100
tingkat kerusakan sel CA 1	30	24.6667	33.44922	.00	100.00
tingkat kerusakan sel CA 3	30	23.0000	36.75642	.00	100.00
kelompok terapi	30	3.50	1.737	1	6

Ranks

	kelompok terapi	N	Mean Rank
tingkat kerusakan sel DGIN	kel. kontrol	5	4.50
	kel. 1	5	25.00
	kel. 2	5	17.70
	kel. 3	5	25.60
	kel. 4	5	7.10
	kel. 5	5	13.10
	Total	30	
tingkat kerusakan sel DGOUT	kel. kontrol	5	6.50
	kel. 1	5	23.80
	kel. 2	5	16.90
	kel. 3	5	24.70
	kel. 4	5	10.90
	kel. 5	5	10.20
	Total	30	
tingkat kerusakan sel CA 1	kel. kontrol	5	6.00
	kel. 1	5	22.60
	kel. 2	5	18.60
	kel. 3	5	25.10
	kel. 4	5	13.50
	kel. 5	5	7.20
	Total	30	
tingkat kerusakan sel CA 3	kel. kontrol	5	8.00
	kel. 1	5	22.00
	kel. 2	5	18.50
	kel. 3	5	24.50
	kel. 4	5	8.00
	kel. 5	5	12.00
	Total	30	

Test Statistics

	tingkat kerusakan sel DGIN	tingkat kerusakan sel DGOUT	tingkat kerusakan sel CA 1	tingkat kerusakan sel CA 3
Chi-Square	26.097	19.767	21.845	19.052
df	5	5	5	5
Asymp. Sig.	.000	.001	.001	.002

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: kelompok



UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax. : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : 322 /PT02.FK/ETIK/2009

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL -- CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:

"Manfaat Ekstrak Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha Indica* Linn) pada Pada Perubahan Struktur Neuron Hipokampus Post Hipoksia Serebral".

Peneliti Utama : Lolo Suswati, Skep
Name of the principal investigator

**Nama Institusi : Program Magister Ilmu Biomedik FKUI
Kekhususan Fisiologi**

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Jakarta, 14 September 2009



Chairman
Ketua

Prof. Dr. Dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.

RIWAYAT HIDUP



Nama lengkap : Lolo Suswati
NPM : 0606150763
Tempat dan tanggal lahir : Jakarta, 27 Januari 1968
Agama : Islam
Status : Menikah
Alamat : Jl. Keuangan VI no. 49 Cilandak Barat Jakarta
Selatan
Pekerjaan : PNS
Alamat Institusi : Jl. Kyai Caringin No 7 Jakarta Pusat
Riwayat Pendidikan :
- FIK STIKIM, Jakarta : 2004
- Magister Ilmu Biomedik FKUI : 2010
Riwayat Pekerjaan : Perawat di RSUD Tarakan Jakarta sejak tahun
1983 sampai sekarang
Sumber dana : Pribadi

Jakarta, Januari 2010

(Lolo Suswati)

**PERBAIKAN NEURON HIPOKAMPUS PASCAHIPOKSIA SEREBRI
DENGAN PENGGUNAAN EKSTRAK AIR AKAR TANAMAN
AKAR KUCING (*ACALYPHA INDICA* LINN)**

Ibrahim N.*, Purwaningsih EH[^], Lolo Suswati[#]

* Departemen Fisiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

[^] Departemen Farmasi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

[#] RSUD Tarakan Jakarta

ABSTRACT

Background : *Acalypha indica* Linn is a common herb which can easily be found elsewhere in Indonesia. All the parts of plants are used in various traditional therapy for some diseases. Previous studies showed that *Acalypha indica* Linn extracts have neuro-protective and neuro-therapy effects on neuromuscular junction and inhibit neurotoxin on isolated frog tissues. Thus, administration of aqueous extracts of *A. indica* Linn root was assumed to improve hippocampus neuron injury after cerebral hypoxia.

Objective : To investigate the effects of aqueous extracts of *Acalypha indica* Linn root on hippocampus neuron injury after cerebral hypoxia in the rat.

Methods : Thirty male Sprague Dawley rats were divided into six groups randomly. The rats were housed in hypoxic chamber containing gas mixture of 10 % O₂ and 90 % N₂ for seven days, followed by administration of 300, 400 and 500 mg/kg BW aqueous extracts of *A. indica* Linn root for seven days. The other group was exposed to room air after hypoxia. The parameters measured were hippocampal cell damage using hematoxyline eosin staining.

Result : The aqueous extracts of *A. indica* Linn root of 400 and 500 mg/kg BW improve hippocampus neuron injury (neurotherapy effect) after cerebral hypoxia significantly (p = 0,01).

Conclusion : The aqueous extracts of *A. indica* Linn roots have neurotherapy effects on hippocampal neuron after cerebral hypoxia of 400 and 500 mg/kg BW.

Key words : *Acalypha indica* Linn, hypoxia, hippocampal neuron, neurotherapy

ABSTRAK

Latar Belakang : Semua bagian dari tanaman *Acalypha indica* Linn. dapat digunakan untuk menangani berbagai masalah kesehatan. Tanaman ini memiliki efek sebagai neuroproteksi dan neuroterapi pada *neuromuscular junction* dan mampu menghambat efek neurotoksik pada jaringan katak. Oleh karena itu, ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. bisa mempengaruhi perbaikan neuron hipokampus pascahipoksia serebri.

Tujuan : untuk menganalisa kerusakan sel neuron hipokampus pascahipoksia serebri setelah pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn.

Metode penelitian : 30 ekor tikus *Sprague Dawley* terbagi secara acak dalam enam kelompok. Perlakuan hipoksia dilakukan dengan memasukkan tikus ke dalam sungkup hipoksia yang mengandung gas campuran (O₂ 10 % dan nitrogen 90 %) selama tujuh hari, dilanjutkan dengan pemberian ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. pada dosis 300, 400 dan 500 mg/kg BB selama tujuh hari. Kriteria penilaian yang digunakan dalam studi ini adalah jumlah sel rusak neuron hipokampus setelah pewarnaan hemaktosilin eosin.

Hasil : ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB secara signifikan mampu memperbaiki kerusakan sel neuron (efek neuroterapi) hipokampus pascahipoksia serebral (p = 0,01).

Kesimpulan : ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn memiliki efek neuroterapi pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB.

Kata kunci : *Acalypha indica* Linn, hipoksia, neuron hipokampus dan, neuroterapi

PENDAHULUAN

Hipoksia merupakan stres lingkungan yang dapat mengancam kelangsungan hidup sel. Hal ini disebabkan karena terjadi peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif, selain terjadinya deplesi adenosin trifosfat (ATP) yang mengancam aktivitas sel.¹ Selain hal tersebut efek eksotoksisitas yang disebabkan oleh hipoksia akan meningkatkan aktivitas *nitric oxide* (NO). Akumulasi ROS dan peningkatan aktivitas NO ini akan meningkatkan pembentukan peroksinitrit yang sangat toksik dan mengakibatkan kerusakan sel. Hal ini akan memicu terbentuknya mediator-mediator proinflamasi.

Peningkatan produksi radikal bebas yang disebabkan oleh hipoksia diduga menyebabkan kerusakan lapisan sel-sel endotel. Kerusakan sel-sel endotel ini akan menyebabkan terjadinya udem otak yang secara tidak langsung akan merusak sel-sel saraf. Proses injuri sel saraf yang terjadi bisa melalui empat tahap² : pertama adalah tahap induksi, meliputi beberapa perubahan yang diinisiasi oleh kondisi iskemia dan reperfusi. Termasuk didalamnya adalah inhibisi transpor elektron, penurunan ATP, penurunan pH, peningkatan kalsium sel, pelepasan glutamat, peningkatan asam arakidonat dan aktivasi gen yang menyebabkan pembentukan sitokin, pembentukan enzim-enzim yang terlibat dalam produksi radikal bebas dan akumulasi leukosit. Perubahan-perubahan ini disebabkan oleh lima kejadian yang mengakibatkan kerusakan sel saraf yang disebut *perpetrators*. Kerusakan yang disebabkan oleh kerja radikal bebas dan produk pirosinitritnya, kerusakan karena kerja Ca^{2+} -dependent *protease calpain*, kerusakan karena aktifitas fosfolipase, kerusakan karena aktifitas PARP (*poly-ADPribose polymerase*) dan kerusakan yang disebabkan oleh aktivasi jalur apoptotik.

Tahap kedua adalah tahapan yang melibatkan perubahan jangka panjang pada makromolekul atau metabolit-metabolit yang disebabkan oleh *perpetrators*. Tahap ketiga merupakan efek kerusakan jangka panjang yang melibatkan perubahan makromolekul dan metabolit serta beberapa proses induksi fungsi dan struktur sel yang mengarah pada tahap akhir dari kerusakan sel. Target perubahan fungsi dan struktur ini termasuk plasmalemma, mitokondria, sitoskeleton, sintesis protein dan aktifitas kinase. Tahap empat merupakan tahap akhir dari kerusakan sel saraf dimana telah terjadi perubahan morfologi dan biokimia yang terjadi secara progresif.

Pada kondisi hipoksia berat, sel akan kekurangan oksigen yang mengakibatkan sel iskemia dan bahkan sel tersebut mati atau nekrosis. Pada sebuah studi dikatakan bahwa area otak yang paling rentan terhadap kondisi ini adalah hipokampus, neokorteks dan striatum. Pada hari ke 7 setelah hipoksia tampak sel-sel mati dan sel piknotik pada area CA1, CA2 dan CA3 hipokampus.³

Hipokampus merupakan komponen utama otak manusia dan mamalia, yang terletak pada lobus temporal otak bagian tengah. Ia merupakan bagian sistem limbik yang berperan penting dalam *long term-memory*. Kerusakan-kerusakan hipokampus diantaranya bisa disebabkan oleh hipoksia, ensepalitis dan epilepsi. Manusia yang menderita kerusakan hipokampus akan mengalami amnesia dan tidak mampu membentuk serta mempertahankan memori baru.

Karena hipokampus memiliki tipe-tipe sel yang berbeda yang terorganisasi dalam lapisan dalam hipokampus, area ini sering dipakai sebagai model sistem pembelajaran neurofisiologi. Pembentukan plastisitas yang dikenal sebagai LTP (*Long-Term Potentiation*) pertamakali juga ditemukan di hipokampus. *Long term potentiation* dipercaya sebagai suatu mekanisme kerja neuron yang utama yang berhubungan dengan memori.

Terdapat dua area otak yang mengandung sel-sel punca saraf, salah satunya terletak di girus dentatus hipokampus yaitu area SGZ (*subgranule zone*), disamping area yang terletak di ventrikel lateral otak yang disebut SVZ (*subventricular zone*). Neuron-neuron baru yang dihasilkan selama masa dewasa pada otak mamalia ini disebabkan oleh proliferasi dan diferensiasi stem sel saraf dewasa.⁴⁻⁷ Oleh karena itu neurogenesis bisa terjadi sepanjang proses kehidupan manusia. Hal ini sangat mendukung terjadinya perbaikan struktural maupun fungsional sel-sel saraf otak dewasa.

Akar Kucing merupakan gulma yang sangat umum ditemukan dan tumbuh liar di pinggir jalan, di tempat pembuangan sampah, lapangan rumput maupun di lereng gunung. Tumbuhan tegak dengan tinggi antara 30-100 cm, bercabang dengan garis memanjang kasar, berambut halus. Daun tunggal, bertangkai panjang, letak tersebar. Bunga majemuk berkelamin satu, keluar dari ketiak daun, kecil-kecil dalam rangkaian berbentuk bulir. Buahnya buah kotak, bulat dan hitam. Biji bulat panjang berwarna coklat pucat. Akarnya akar tunggang, berwarna putih kotor.^{8,9}

Seluruh unsur *Acalypha indica* Linn. bisa dipakai sebagai sumber pengobatan. Tanaman ini memiliki efek sebagai anti diuretik,¹⁰ emetik,⁹ anti toksin,¹¹ dan mampu menghambat proses kardi toksik dan neurotoksik pada jaringan katak akibat dari racun ular Rosselli.¹²

Pada penelitian terdahulu didapatkan bukti bahwa *Acalypha indica* Linn. mampu berikatan dengan PLA2 (*phospholipase A2*) venom ular Roselli¹⁷ dan telah terbukti mempunyai efek neuroprotektor dan neuroterapi pada *neuromuscular junction* katak baik secara *in vivo* (dalam dosis 300-500 mg/KgBB) maupun *eks vivo* (dalam dosis 15-20 mg).¹³

Zat aktif Akar *Acalypha indica* Linn. yaitu *Acalyphine* (sejenis sianogenik glikosid) dan stigmasterol mampu berinteraksi secara langsung dengan asam amino dan ion kalsium pada PLA2 (*Phospholipase A2*) dan oleh karena itu *A. indica* Linn. bisa menjadi agen obat-obatan anti inflamatori.¹²

METODE PENELITIAN

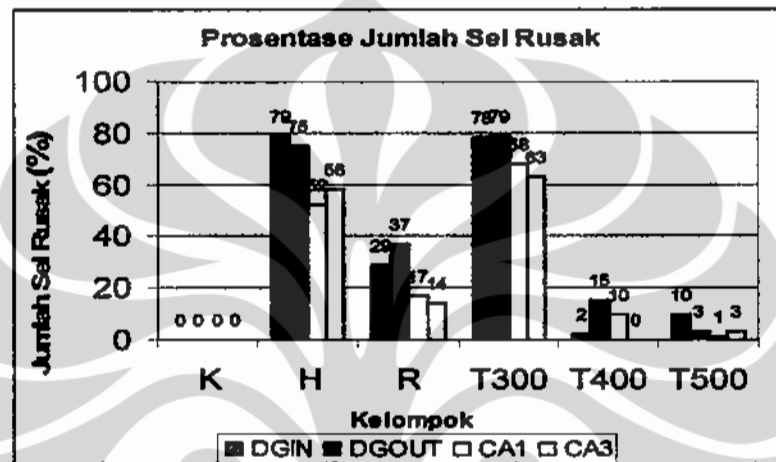
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental secara *in vivo*. Sampel yang dipakai adalah 30 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley (200-250 gr) yang terbagi secara acak dalam enam kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol (K), kedua adalah kelompok hipoksia 7 hari (H), ketiga adalah kelompok hipoksia 7 hari + reoksigenasi 7 hari (R). Sedangkan tiga kelompok lainnya adalah kelompok hipoksia 7 hari + 7 hari pemberian ekstrak air akar *A. indica* Linn. yang terbagi dalam tiga kelompok dosis yang berbeda yaitu terapi 300 mg/kg BB, terapi 400 mg/kg BB dan terapi 500 mg/kg BB, (T 300, T 400 dan T 500).

Hipoksia dilakukan dengan memasukkan tikus ke dalam sungkup hipoksia yang mengandung gas campuran (10 % O₂ dan 90 % N₂ yang diperoleh dari PT. Samator, Jakarta) dengan menggunakan *Plexiglass Hypoxic Chamber* dari *Shanghai Institute for Pediatric Research*.

Reoksigenasi didapatkan dengan cara mengeluarkan tikus dari sungkup hipoksia, lalu tikus dipindahkan ke kandang biasa dengan udara bebas selama 7 hari. Ekstrak air akar *A. indica* Linn. diberikan peroral dengan menggunakan sonde. Ekstraksi akar *A. indica* Linn. dilakukan di Departemen Farmasi FKUI. Unsur tanaman ini telah dideterminasi di laboratorium Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Bogor. Metode pewarnaan yang dipakai adalah pewarnaan HE standard.

Sebagai variabel *dependent* pada penelitian ini adalah sel neuron CA1, CA3 dan girus dentatus hipokampus yang rusak (sel neuron yang berbentuk tidak beraturan, batas sitoplasma dan inti tidak jelas, terdapat kondensasi kromatin atau piknotik), sedangkan variabel *independent* adalah ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. Analisa data dilakukan dengan menggunakan uji statistik Anova dan apabila terdapat data yang tidak homogen akan dilakukan transformasi data dan bila tetap tidak bisa maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* ($P < 0,05$).

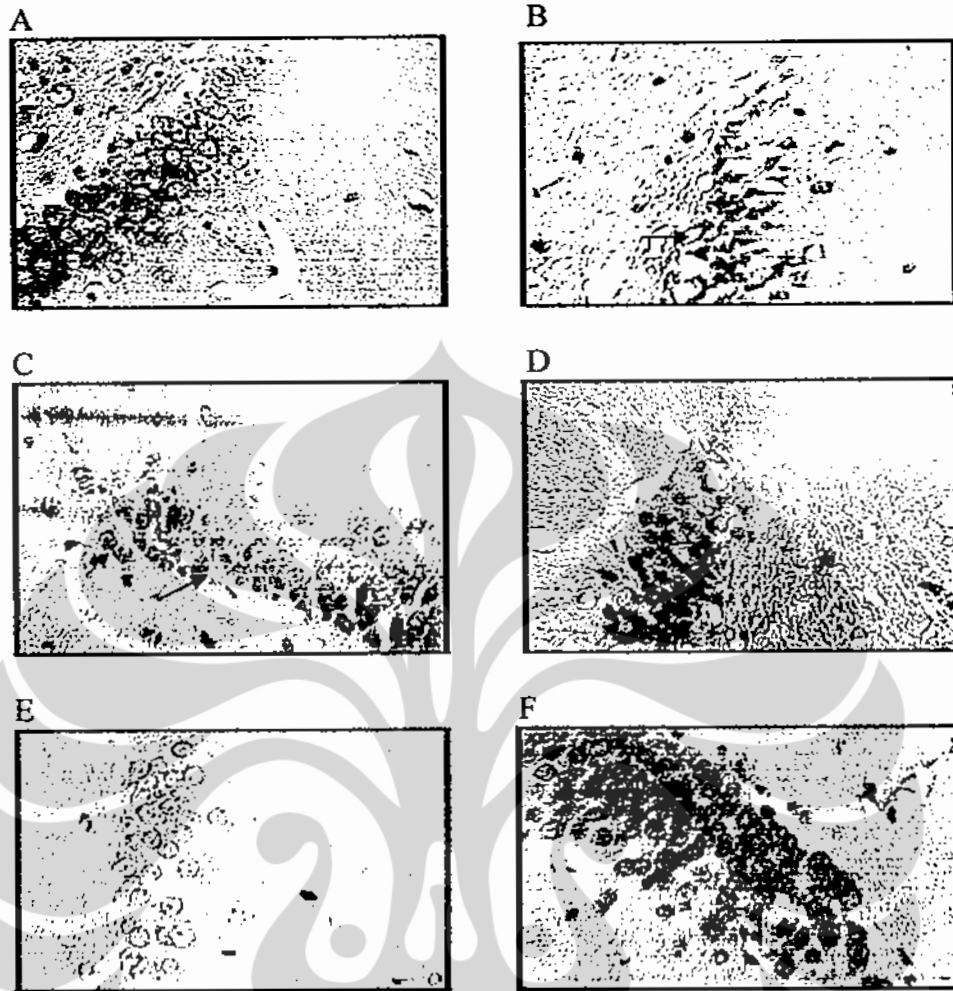
HASIL



Gambar 1. Diagram batang Prosentase Jumlah Sel Rusak

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan yang sangat tajam tingkat kerusakan sel neuron hipokampus kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB dibandingkan dengan kelompok hipoksia (Gambar 1), perbedaan ini cukup signifikan ($p=0,01$) dan tidak berbeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,222$). Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perbaikan sel neuron hipokampus dengan pemberian ekstrak air akar *A. indica* Linn pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB. Namun pada dosis 300 mg/kg BB ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. belum mempunyai efek terapi.

Sel-sel neuron hipokampus kelompok hipoksia tampak sekali berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 2 A dan B). Pada kelompok hipoksia batas sitoplasma dan inti sulit dikenali, kondensasi kromatin jelas dan anak inti sulit dikenali. Hal ini juga tampak pada kelompok reoksigenasi dan terapi 300 mg/kg BB. Namun berbeda sekali dengan kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB, tampak sel-sel neuron hipokampus hampir sama dengan sel-sel pada kelompok kontrol (Gambar 2 A, E dan F).



Gambar 2. A. Sel normal; B. Sel hipoksia tujuh hari; C. Sel reoksigenasi tujuh hari; D-F. Sel kelompok terapi ekstrak akar kucing 300 mg/kg BB; 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB. Gambar diambil pada pembesaran 200 kali. ↗ menunjukkan adanya vakuolisasi, ↗ kondensasi kromatin dan ↗ sel normal.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini didapatkan data : sel-sel pada kelompok kontrol tampak sel berbentuk bulat dengan inti terang (benang-benang kromatin tersebar rata) dan anak inti jelas (tidak piknotik) serta batas sitoplasma dengan inti jelas. Pada kelompok hipoksia : sebagian besar sel tampak mengalami perubahan bentuk menjadi tidak beraturan, sel mengalami kondensasi kromatin dengan anak inti sulit dikenali dan ditemukan adanya vakuol. Gambaran kerusakan sel pada kelompok reoksigenasi masih tampak seperti bentuk sel yang tidak beraturan dengan kondensasi kromatin dan anak inti yang sulit ditemukan meskipun sebagian besar sel masih berbentuk normal. Gambaran sel pada kelompok terapi 300 mg/kg BB, ukuran sel lebih kecil dibandingkan dengan sel pada kelompok kontrol, masih banyak ditemukan adanya perubahan struktur sel seperti adanya kondensasi kromatin dengan anak inti yang sulit dikenali. Sementara itu gambaran sel pada kelompok terapi 400 dan 500 mg/kg BB, secara keseluruhan menyerupai gambaran sel pada kelompok kontrol.

Dari ke empat area yang diteliti, terdapat data yang mendukung adanya perbaikan struktur sel-sel hipokampus pada kelompok tikus yang mendapatkan

ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. dalam dosis 400 dan 500 mg/kg BB, dengan demikian bisa dikatakan bahwa kandungan ekstrak akar tanaman *Acalypha indica* Linn. memiliki efek neuroterapi dan hal ini makin memperkuat hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Purwaningsih et al.²⁷

Dalam penelitian ini efek neuroterapi terjadi bisa melalui mekanisme kerja antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tanaman ini, karena kerusakan sel saraf yang terjadi pascahipoksia bisa disebabkan oleh adanya peningkatan ROS. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian terbaru yang mengatakan bahwa penggunaan ekstrak air dan alkohol akar *Acalypha indica* Linn. secara signifikan memiliki aktifitas antioksidan dibandingkan dengan penggunaan asam askorbat.¹⁴ Anion superoksida sebagai salah satu radikal bebas otak akan diubah oleh superoksida dismutase menjadi H₂O₂, yang kemudian akan diubah oleh katalase atau glutathion peroksidase menjadi H₂O, sehingga kematian sel yang disebabkan oleh peroksinitrit sebagai hasil reaksi anion superoksida dengan NO akan menurun.

Namun tidak menutup kemungkinan perbaikan sel terjadi oleh karena kerja dari zat aktif baik *acalyphin* maupun stigmasterol sebagai agen inflamatori untuk menghambat proses inflamasi yang disebabkan oleh hipoksia. Seperti telah kita ketahui bahwa *acalyphin* dan stigmasterol mampu berikatan dengan peptida dan ion kalsium PLA₂.²⁷ PLA₂ merupakan enzim khusus yang mengkatalisa hidrolisis fosfolipid membran sel yang selanjutnya akan menghasilkan lisofosfolipid dan asam lemak bebas seperti asam arakidonat, sebagai salah satu mediator inflamasi.

Inflamasi akan menyebabkan peningkatan ekspresi faktor transkripsi NFκB, yang selanjutnya akan meningkatkan produk sitokin seperti IL-1 dan molekul adesi yang bisa menginduksi produksi enzim-enzim proteolitik yang sangat membahayakan integritas sel. Dengan terbentuknya kompleks antara *acalyphin* atau stigmasterol dengan PLA₂ maka, aktivitas PLA₂ akan terganggu sehingga pembentukan mediator-mediator inflamasi terhambat. Dengan demikian kerusakan sel yang disebabkan oleh proses inflamasi tidak terjadi. Namun demikian masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan bagaimana mekanisme kerja ekstrak tanaman ini sehingga ia mampu berfungsi sebagai agen neuroterapi.

KESIMPULAN

Ekstrak air akar *Acalypha indica* Linn. pada dosis 400 dan 500 mg/kg BB mampu memperbaiki kerusakan sel neuron hipokampus pascahipoksia serebral. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak air akar *A. indica* Linn memiliki efek neuroterapi.

SARAN

Tanaman Akar Kucing merupakan tanaman yang banyak dan mudah didapat di Indonesia dan terbukti mampu memperbaiki kerusakan sel-sel neuron hipokampus pascahipoksia. Meskipun belum diketahui mekanisme kerja secara detail, akan tetapi tanaman ini dapat digunakan sebagai salah satu alternatif terapi stroke.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif *Acalypha indica* Linn. sehingga penggunaan unsur tanaman ini bisa lebih efektif dan berkembang.