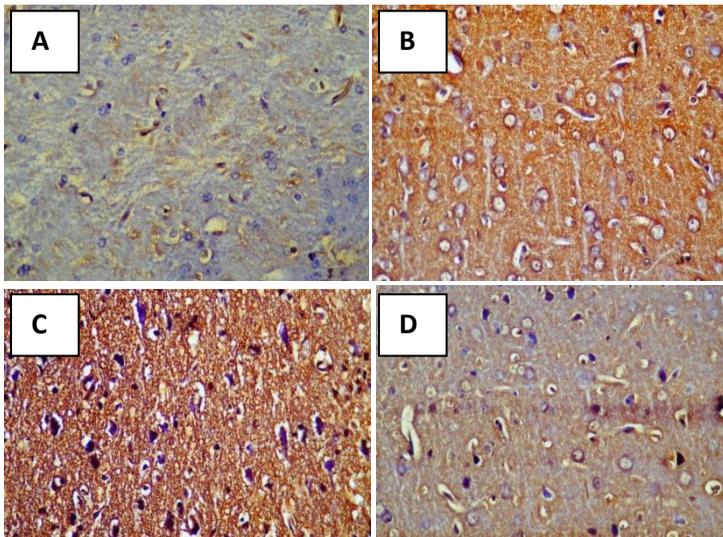


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan terapi pada tikus model *traumatic brain injury* dengan menggunakan ekstrak manggis dan minocycline sebagai gold standart. Pengamatan yang dilakukan yaitu ekspresi malondialdehida (MDA) pada organ otak tikus dan aktivitas protease serum dalam darah.

4.1 Ekspresi MDA Otak Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Model TBI pada Terapi Ekstrak Kulit Manggis



Gambar 4.1 Perhitungan ekspresi MDA otak tikus dengan perbesaran 400x

Pada tikus cedera otak traumatis terjadi proses inflamasi dan mengaktifasi mediator inflamasi seperti sel T. Sel T mengekspresikan CD^{4+} untuk mengenali antigen. Sel T mengaktifasi makrofag untuk memproduksi sitokin proinflamatory [47]. *Reactive Oxygen Species* (ROS) juga dihasilkan selama proses inflamasi terjadi diakibatkan radikal bebas. Stres oksidatif pada susunan saraf pusat sangat mematikan, sebab otak manusia terutama memakai metabolisme oksidatif. Meskipun berat otak hanya 2% dari berat tubuh, otak menggunakan sekitar 50% dari seluruh oksigen tubuh. Faktor lain yang sangat berbahaya yaitu stres oksidatif pada otak

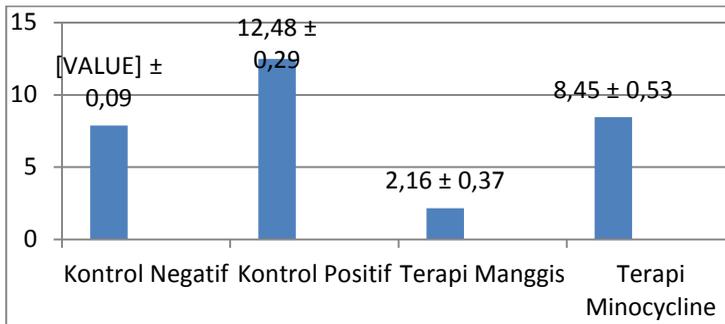
dengan adanya kandungan PUFA (polyunsaturated fatty acid) yang tinggi, hampir mempengaruhi 50% dari seluruh struktur jaringan otak. Poly Unsaturates Fatty Acid didegradasi oleh radikal bebas yang merupakan produk ROS seperti radikal hidroksil (-OH), radikal superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) kemudian membentuk malondialdehid (MDA) [48]. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan bahwa sel mengalami stress oksidatif [49] dan ditunjukkan dengan perubahan gambaran sel otak tikus berwarna biru. Ekstrak kulit manggis memiliki kandungan antioksidan dan antiinflamasi. Antioksidan akan menghambat proses aktivasi sel inflamasi sehingga aktivasi makrofag dalam memproduksi sitokin juga berkurang dan terhambatannya juga produksi radikal bebas. Penghambatan radikal bebas oleh antioksidan buah manggis melalui proses penghambatan reaksi oksidasi sehingga menurunkan kadar MDA. Hal ini dapat dibuktikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rata-rata jumlah sel yang mengekspresikan malondialdehida (MDA) pada organ otak tikus model TBI.

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Ekspresi MDA (%)
Kontrol Negatif (Sehat) (A)	7,87 ± 0,09
Kontrol Positif TBI (B)	12,48 ± 0,29
Kontrol TBI dan Terapi Ekstrak Kulit Manggis (C)	2,16 ± 0,37
Kontrol TBI dan Terapi Minocycline (D)	8,45 ± 0,53

Keterangan : nilai ekspresi MDA kelompok B menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan dengan perlakuan kelompok lainnya.

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan



Gambar 4.2 Grafik jumlah ekspresi MDA pada otak tikus

Rata-rata kadar MDA pada kelompok A adalah $7,87 \pm 0,09$. Nilai tersebut menunjukkan standar nilai kadar MDA tikus dalam keadaan normal. Nilai rata-rata kadar MDA kelompok B merupakan nilai tertinggi $12,48 \pm 0,29$ dan pengujian dengan uji BNJ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata dibandingkan dengan kelompok perlakuan A, C dan D. Hasil analisis statistika (Lampiran 11) menunjukkan bahwa kelompok B memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan ekspresi MDA otak tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dijatuhkan silinder besi dengan berat 40 gram dan diameter 4 mm dapat menyebabkan inflamasi pada otak tikus.

Kelompok terapi yaitu kelompok C dan kelompok D menunjukkan penurunan ekspresi MDA setelah pemberian terapi ekstrak kulit manggis dan minocycline. Namun pada terapi yang dilakukan, terapi kulit manggis lebih bagus dari terapi minocycline. Hal ini dapat disebabkan karena terdapat kandungan antioksidan yang tinggi dalam ekstrak kulit manggis yang dapat menangkal radikal bebas yang ditunjukkan dengan penurunan kadar MDA otak tikus yang mengalami cedera. Antioksidan dalam kandungan ekstrak kulit manggis berfungsi sebagai scavenger (penangkap) radikal bebas sehingga dapat membantu menurunkan kadar radikal bebas yang tinggi dalam otak tikus akibat cedera otak traumatis. Mekanisme penghambatan radikal bebas oleh antioksidan ekstrak kulit buah manggis yaitu menghambat proses oksidasi melalui penghambatan inisiasi dan propagasi reaksi oksidasi dari radikal bebas dan ROS. Antioksidan dalam ekstrak kulit manggis yaitu xanton dapat

menyumbangkan atom hidrogen untuk menangkap radikal hidroksil (OH) agar tidak menjadi reaktif sehingga menghambat radikal bebas. Komponen xanton bekerja melalui penangkapan O^- pada peroksida nitrit ($ONOO^-$) yang terbentuk dari nitrit oksida (NO) dengan superoksida (O_2^-) yang bersifat radikal bebas. Kandungan antioksidan ekstrak kulit manggis menghambat proses inisiasi sehingga dapat mencegah pembentukan radikal lipid yang bersifat tidak stabil karena hilangnya satu atom hidrogen (H) dari molekul lipid akibat radikal hidroksi (OH^-), mencegah proses propagasi sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan oksigen dan secara tidak langsung menurunkan kadar MDA otak tikus.

4.2 Pengaruh Terapi Ekstrak Kulit Manggis Terhadap Aktivitas Protease Serum Darah Tikus Model TBI

Aktivitas protease merupakan kemampuan protease dalam menghidrolisis ikatan peptida pada protein. Metode yang digunakan dalam analisis aktivitas protease adalah spektrofotometri. Metode tersebut didasarkan atas hidrolisis secara enzimatik oleh protease yang diuji dari larutan substrat kasein pada pH 7, dan diikuti dengan pengendapan substrat yang tidak terhidrolisis menggunakan asam trikloroasetat (TCA) 4% untuk menghentikan reaksi. Hasil hidrolisis dari larutan substrat kasein adalah L-tirosin. Oleh karena itu, pada pengukuran aktivitas protease digunakan kurva baku tirosin dengan $\lambda = 275$ nm karena hasil akhir (produk) terukur oleh spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum 275 nm.

Unit aktivitas protease dari serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) didefinisikan sebagai banyaknya unit tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis ikatan peptide pada protein oleh protease hasil isolasi dari duodenum tikus (*Rattus norvegicus*) pada kondisi optimum yaitu pH 6,5, suhu 37^0 C, dan waktu inkubasi 60 menit. Pada kurva standar tirosin diperoleh persamaan garis $y = 0.015x - 0.013$. Persamaan garis digunakan untuk menghitung konsentrasi tirosin terukur dari penelitian, sehingga dapat dihitung

aktivitas protease untuk masing-masing perlakuan. Perhitungan aktivitas protease secara lengkap disajikan pada **Lampiran 9**.

Hasil analisis secara statistik *One Way Analysis of Variant* (ANOVA) menggunakan *software SPSS.17* menunjukkan bahwa pemberian terapi ekstrak kulit manggis secara signifikan dapat menurunkan aktivitas protease pada serum darah tikus model TBI dan terdapat perbedaan pada setiap perlakuan ($p < 0,01$). Hasil analisis secara statistik *One Way Analysis of Variant* (ANOVA) secara lengkap disajikan pada **Tabel 11.3**. Analisis statistik lanjutan dilakukan menggunakan *Tukey/Beda Nyata Jujur* (BNJ) menunjukkan aktivitas protease berbeda secara signifikan ($p < 0,01$) antar perlakuan. Namun, penurunan aktivitas protease tertinggi diperoleh dari kelompok perlakuan terapi ekstrak kulit manggis, sehingga terapi dari ekstrak kulit manggis merupakan terapi yang lebih baik dibandingkan dengan minocycline.