

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Di Indonesia, Stroke adalah penyebab nomer 1 kematian yang paling sering terjadi (Riskekdas, 2007). Stroke merupakan penyakit yang ditandai dengan hilangnya sirkulasi darah ke area otak secara tiba-tiba dan mengakibatkan penurunan fungsi neurologis (Cruz-Flore, 2011). Proses tersebut dapat menimbulkan berbagai kerusakan seperti neuron yang rusak, adanya proses infark dan iskemia pada jaringan otak serta terganggunya fungsi motoris pada pasien yang terkena stroke. Fungsi motoris yang terganggu dapat menyebabkan menurunnya kualitas hidup pada orang yang mengalaminya.

Kurangnya suplai darah oleh karena gangguan sirkulasi mengakibatkan kerusakan mitokondria yang mengakibatkan menurunnya produksi ATP. Menurunnya ATP mengakibatkan  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (Bano, *et al.*, 2005). Pada aktivitas seluler yang normal, terjadi pertukaran ion yang seimbang antara  $\text{Na}^+$  yang sebagian besar terletak di ekstraseluler dan  $\text{K}^+$  yang sebagian besar terletak di intraseluler.  $\text{Na}^+$  akan masuk ke dalam intrasel diikuti dengan  $\text{K}^+$  yang menuju ekstrasel yang mengakibatkan depolarisasi. Keseimbangan seluler juga ditandai dengan keluarnya  $\text{Na}^+$  dan masuknya  $\text{K}^+$  yang diperantarai oleh  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase yang membutuhkan ATP untuk aktivasinya. Dalam keadaan yang tidak normal misalnya terjadi penurunan ATP,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase tidak dapat bekerja sehingga  $\text{Na}^+$  tidak dapat keluar

dan  $K^+$  tidak dapat masuk ke dalam sel. Akibat dari ketidakseimbangan ini terjadilah depolarisasi yang terus menerus (Breton dan Rodriguez, 2012).

Depolarisasi membran sel juga berdampak pada pengeluaran glutamat. Depolarisasi yang terus menerus mengakibatkan semakin banyaknya glutamat yang dikeluarkan ke ekstraseluler. Glutamat sebenarnya juga memiliki mekanisme keseimbangan. Glutamat yang dikeluarkan kemudian akan *diuptake* kembali. *Uptake* glutamat membutuhkan ATP (Breton dan Rodriguez, 2012). Transportasi glutamat diperankan oleh astrosit, depolarisasi membran mengakibatkan astrosit mengalami pembengkakan dan pengambilan glutamat tidak terjadi. Hal-hal ini yang kemudian mengakibatkan akumulasi glutamat di ekstraseluler (Hazell, 2007).

Glutamat kemudian akan berikatan reseptornya yaitu NMDA (Zito dan Scheuss, 2009). Reseptor NMDA memiliki subunit yang berbeda-beda. Subunit NR2B, NR2C, dan NR2D yang memiliki fungsi berbeda-beda (Lynch dan Guttman, 2002). Reseptor NMDA mengakibatkan influks lebih lanjut pada  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  dan efluks  $K^+$ . Reseptor NMDA sangat permeabel terhadap  $Ca^{2+}$  sehingga  $Ca^{2+}$  masuk ke dalam sel dalam jumlah yang banyak.  $Ca^{2+}$  yang banyak mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel yang diperankan oleh NMDA dengan subunit NR2C dan NR2D, mengaktifkan Ras-GTP melalui NMDA subunit NR2B dan juga turut berkontribusi dalam *axonal sprouting* (Nakka *et al.*, 2008).

Kerusakan neuron kemudian dapat mengakibatkan perubahan pada fungsi tubuh yang meliputi gangguan fungsi fokal yang meliputi gejala motorik, berbicara dan bahasa, sensorik, visual, vestibular dan kognitif, serta gejala global seperti

kelumpuhan, dan lain-lain. salah satu kerusakan yang terjadi adalah fungsi motorik, dalam mempertahankan fungsi motorik yang normal dibutuhkan keutuhan neuron sebagai penyalur impuls saraf. Kerusakan yang terjadi pada girus presentralis lobus frontalis (korteks motorik primer) mengakibatkan gangguan fungsi motorik(Gofir, 2009).

Resveratrol merupakan senyawa yang bersifat neuroprotektif dan mencegah kerusakan neuron secara seluler. Fungsi motorik pada manusia juga selalu diperantarai oleh fungsi neuron yang bekerja sebagai perantara pengantar sinyal dari sistem saraf pusat pada sistem saraf perifer. Resveratrol memiliki efek yang baik terhadap saraf-saraf pada medulla spinalis yang mengalami inflamasi(Kaplan *et al* , 2005). Injuri pada medulla spinalis memutus pergerakan fungsi motorik yang menyebabkan pasien mengalami kecacatan baik permanen maupun sementara.

Resveratrol memiliki efek antioksidan. Resveratrol juga bisa menangkal ROS agar tidak bereaksi dengan sel neuron(Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011). ROS merupakan stress oksidatif yang juga bisa ditangkal oleh mekanisme *axonal sprouting* jalur respon pertahanan sel terhadap stress oksidatif.(Ng *et al*, 2012) Dengan adanya proses *axonal sprouting*, akson dapat mengalami regenerasi sehingga neuron dapat menerima impuls dengan lebih baik yang menyebabkan fungsi motoris pun dapat dilakukan dengan lebih baik pula. Selain itu resveratrol juga meningkatkan Bcl-2 yang dapat meningkatkan neurogenesis(Jun, 2008; Zhang *et al.*, 2006).

Penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi apakah ekstrak kulit dan biji anggur yang mengandung resveratrol dapat memperbaiki fungsi motoris pada hewan coba. Penelitian ini menggunakan 30 tikus karena perlakuan yang invasif sehingga dewan siding etik mengantisipasi hal tersebut. Perlakuan diberikan dengan memberikan ekstrak kulit dan biji anggur dengan ketiga dosis yang berbeda secara sonde setiap hari selama 14 hari. Rancangan penelitian ini adalah *pre and post test group, randomized trial*. Setelah 14 hari hewan coba diukur fungsi motorisnya dengan menggunakan uji fungsi motoris. Uji fungsi motoris dilakukan untuk mengamati kecacatan pada hewan coba yang mengidap stroke, yaitu *ladder rung walking test*. Uji ini dilakukan dengan mengamati terplesetnya kaki depan dan belakang tikus akibat gangguan fungsi motoris.

Penelitian ini juga mengamati perbedaan perlakuan pada dosis ekstrak kulit dan biji anggur yaitu 50mg/KgBB, 100mg/KgBB, 200mg/KgBB. Dengan menghitung selisih skor dari uji *ladder rung walking test* pasca stroke dan pasca sonde, peneliti dapat melihat perbaikan fungsi motoris pada hewan coba setelah diberikan ekstrak kulit dan biji anggur selama 14 hari.

Hasil penelitian ini adalah rerata selisih skor ladder rung walking test pasca stroke dan pasca sonde pada kelompok perlakuan N, K, Ra, Rb, dan Rc, berturut-turut sebesar  $0 \pm 0$ ,  $0.001028933 \pm 0.011664445$ ,  $0.123214286 \pm 0.019834983$ ,  $0.064744427 \pm 0.024296721$ ,  $0.03781401 \pm 0.006888803$ . Dari hasil tersebut ditemukan bahwa kontrol positif tidak mengalami perbaikan fungsi dalam 14 hari dan kontrol negatif tidak mengalami kerusakan fungsi selama 14 hari. Ketiga kelompok perlakuan mengalami perbaikan fungsi namun hasil yang didapatkan berbeda

dikarenakan perbedaan derajat penyakit stroke yang diderita oleh masing-masing hewan coba yang sangat bervariasi. Perbedaan yang sangat bervariasi tersebut dikarenakan metode induksi stroke yang digunakan tidak selalu memberikan derajat yang sama pada penyakit stroke terhadap hewan coba yang diinduksi stroke.

Pada analisis data *one-way* anova ditemukan bahwa hasil analisis data 5 kelompok perlakuan tersebut ditemukan signifikan sehingga bisa disimpulkan bahwa hipotesis(h1) diterima dan h0 ditolak. Dari data tersebut juga bisa dikatakan bahwa perlakuan berupa ekstrak kulit dan biji anggur pada hewan coba memberikan efek terapeutik dan memperbaiki fungsi motoric pada hewan coba.

Fungsi motoris yang diukur melalui uji *ladder rung walking test* dapat memberikan hasil yang representatif karena uji tersebut adalah salah satu dari beberapa uji fungsi motoris yang spesifik untuk melihat dampak dari penyakit stroke. Perbaikan fungsi motoris juga dapat diartikan sebagai perbaikan neuron atau regenerasi telah terjadi. Proses *axonal sprouting* juga terjadi pada neuron yang rusak sehingga pesan impuls pada neuron untuk melakukan pergerakan dapat tersampaikan dengan baik. Jalur restrukturisasi terhadap strukturisasi neuronal memiliki peran yang besar dalam perbaikan neuron dan fungsi motoris.

Jalur restrukturisasi terhadap sitoskeleton neuronal memiliki peran yang besar dalam memperbaiki akson yang rusak. Akson memiliki peran sebagai pembawa impuls saraf terhadap badan sel yang akan memproses pesan impuls listrik untuk fungsi motoris(Ng *et al*, 2012). Perbaikan pada jalur ini memiliki 2 komponen utama yang harus terpenuhi yaitu mikrotubul dan filament aktin. Filament

aktin yang terkumpul di ujung-ujung saraf akan membentuk akson-akson baru. Mikrotubul juga membantu pada strukturisasi akson sehingga akson dapat tumbuh dan berfungsi kembali seperti sediakala. Jika akson dapat tumbuh kembali, fungsi motoris pun dapat berangsur-angsur pulih(Schaefer *et al*, 2008).

Kedua komponen utama dalam proses ini juga dapat mengarahkan akson-akson untuk mengarah pada ujung saraf yang benar. Proses ini disebut juga *axonal guidance*. *Axonal guidance* memulai jalur untuk melokalisir aktin yang akan membentuk struktur untuk meregulasi protein adhesi. Protein adhesi juga akan membantu proses pertumbuhan akson yang baru(Schaefer *et al*, 2008).

Dosis yang paling optimal untuk mengembalikan fungsi motoris adalah kelompok Ra yaitu dosis 50mg/KgBB. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil tes *post-hoc Tukey* dan Bonferroni yang memberikan hasil yang signifikan ( $p < 0.05$ ) pada kelompok Ra dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, positif, Rb dan Rc. Pada kelompok Rb dan Rc, hewan coba juga mengalami perbaikan fungsi motoris. Hal itu bisa dilihat dengan hasil yang signifikan pada uji *post-hoc tukey* dan bonferonni. Pada kelompok N tidak ada kerusakan fungsi motoris karena kelompok tersebut tidak diinduksi stroke dan dikondisikan untuk tidak mengalami cedera dalam berbagai kondisi apapun. Pada kelompok K, yang tikusnya diinduksi stroke dan tidak diberikan ekstrak kulit dan biji anggur, tidak mengalami perbaikan fungsi motoris. Hal tersebut mengeksklusi mekanisme perbaikan dari lingkungan ataupun dari faktor internal dari hewan coba sendiri. Karena ketiga kelompok perlakuan tersebut memberikan hasil yang signifikan, maka peneliti memutuskan bahwa dengan dosis terendah sudah dapat memberikan efek perbaikan fungsi motoris. Dalam hal itu kita

bisa menyimpulkan bahwa dosis yang terendah saja dapat mengembalikan fungsi motoris dengan optimal.

Penelitian ini sudah dapat membuktikan bahwa ekstrak kulit dan biji anggur dapat memberikan efek regenerasi pada hewan coba yang diinduksi stroke dengan mengamati uji fungsi motoris yaitu *ladder rung walking test*. Namun penelitian ini masih membutuhkan studi lanjutan berupa uji toksisitas, efek samping dan tolerabilitas pada manusia sebelum diaplikasikan sebagai obat pada manusia yang menderita stroke iskemik. Jalur secara molekuler juga harus ditelusuri lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme regenerasi yang terjadi untuk memulihkan fungsi motoris pada manusia yang mengalami stroke iskemik.

## 6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Penelitian ini meneliti tentang efek pemberian ekstrak kulit dan biji anggur (*Vitis vinifera*) sebagai terapi rehabilitasi pasca stroke iskemik. Untuk menilai hasil dari penelitian ini, variabel tergantung yang diamati adalah perbaikan fungsi motorik. Penilaian skor *ladder rung walking test* bertujuan untuk melihat apakah ekstrak kulit dan biji anggur mampu memperbaiki fungsi motoric yang mengalami penurunan. Hasil yang didapatkan adalah pemberian ekstrak kulit dan biji anggur mampu menurunkan memperbaiki fungsi motoric secara signifikan.

Sesuai dengan hasil yang telah didapatkan dari penelitian ini, maka ekstrak kulit dan biji anggur merupakan kandidat pengobatan alternatif yang poten untuk pasien setelah mengalami stroke iskemik. Namun, untuk bisa diaplikasikan ke

manusia, penelitian ini masih memerlukan penelitian-penelitian lanjutan. Sehingga, penelitian ini juga bisa dijadikan dasar teori dan bahan pertimbangan bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian lanjutan dengan pembahasan yang lebih mendalam terkait dengan efek ekstrak kulit dan biji anggur dalam mengobati kerusakan akibat stroke iskemik. Selain itu, penelitian ini juga bisa dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi pasien untuk memilih macam pengobatan yang hendak digunakan.

### **6.3 Keterbatasan Penelitian**

Ekstrak kulit dan biji anggur, menurut literatur, mengandung resveratrol. Resveratrol merupakan senyawa polifenol tanaman yang memiliki peran penting dalam memperbaiki fungsi motoris yang mengalami kecacatan. Penelitian ini hanya melihat perbaikan yang terjadi setelah pemberian ekstrak, berdasarkan mekanisme perbaikan fungsi motoris yang diperankan oleh resveratrol. Dalam ekstrak kulit dan biji anggur, mengandung banyak sekali zat-zat lain yang mungkin juga memiliki pengaruh yang baik terhadap perbaikan fungsi motoris setelah stroke iskemik. Penelitian ini hanya melakukan pengecekan kandungan resveratrol dalam ekstrak menggunakan uji TLC. Uji ini merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengetahui keberadaan zat dalam suatu ekstrak. Idealnya, dilakukan suatu uji yang dapat mengukur kadar resveratrol dalam ekstrak secara kuantitatif. Selain itu, sebaiknya perlu dilakukan pengecekan kadar zat-zat lain yang ditemukan dalam ekstrak kulit dan biji anggur. Tujuannya adalah untuk mengetahui keberadaan dan jumlah zat lain yang terkandung dalam ekstrak. Tidak menutup kemungkinan akan

ditemukan zat lain yang memiliki kerja yang sinergis dengan kerja resveratrol, atau bahkan memiliki scara kerja yang bersifat antagonis dengan resveratrol.

