

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) terhadap peningkatan S100B pada tikus *Sprague dawley* yang diinduksi *traumatic brain injury* (TBI).

#### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Induksi TBI dilakukan dengan anestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin 50 mg/kgBB yang dicampur dengan ceftriaxon. Kemudian dilakukan kraniektomi dengan diameter 5 cm kemudian dijatuhkan beban 10 gram di atasnya dengan sudut 90<sup>0</sup> melalui silider 25 cm sebanyak 1 kali. Ekstrak pegagan yang mengandung asiaticosida didapatkan dari hasil ekstraksi pegagan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pembuatan fitosom dilakukan melalui metode hidrasi dengan cara mencampurkan lecithin, etanol 70% serta ekstrak pegagan selanjutnya dilakukan proses sonikasi. Pembuatan hidrogel fitosom ekstrak pegagan menggunakan larutan gelatin 20% <sup>b/v</sup> pada suhu 25<sup>0</sup>C kemudian suhu diturunkan menjadi 4<sup>0</sup>C, lalu fitosom ekstrak pegagan ditambahkan kedalam gelatin dan ditambahkan glutaraldehid 10 mikroliter serta di aduk menggunakan *magnetic stirer*.

Hidrogel fitosom ekstrak pegagan diaplikasikan di atas meningen dari area kraniektomi. Dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah 90 mg/kgBB, mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Alfiantya *et al.*,

2014, yang menunjukkan bahwa ekstrak pegagan 90 mg/kgBB merupakan kadar minimal yang memberikan efek pada perbaikan mielin (Alfiantya *et al.*, 2014). Penelitian ini menggunakan 48 tikus *Sprague Dawley* jantan dengan masing-masing kelompok terdapat tiga tikus. Penggunaan jumlah minimal hewan coba didapatkan dari rumus Federrer ( $n \geq 3$ ).

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman herbal dengan salah satu komponen bahan aktifnya asiaticosida yang termasuk golongan triterpen. Asiaticosida bersifat polar sehingga diperlukan sistem penghantaran obat yang mampu menembus sawar darah otak atau *Blood Brain Barrier* (BBB) yang bersifat lipofilik (larut lemak) salah satunya dengan teknologi fitosom. Fitosom merupakan teknologi dalam pembuatan obat dengan menggabungkan ekstrak dari tanaman yang larut didalam fitokonstituen ke dalam fosfolipid untuk membentuk kompleks molekul lipid sehingga tercipta produk dengan tingkat absorpsi lebih baik daripada obat konvensional yang mampu mencapai ke dalam sel yang mengalami cedera. (Choudhury *et al.*, 2014; Jain *et al.*, 2017). Untuk membuat penghantaran obat secara lokal, maka dibuat formulasi fitosom ekstrak pegagan dengan hidrogel. Hidrogel bersifat biokompatibel dan dapat melepaskan obat secara berkelanjutan. Glutaraldehid berfungsi sebagai agen crosslink pengatur pelepasan obat dengan membentuk ikatan kovalen serta larut dalam air (Radhika *et al.*, 2017).

Hasil analisis statistika menggunakan uji One Way didapatkan bahwa pemberian hidrogel fitosom ekstrak pegagan memberikan efek pada tikus TBI yang ditandai dengan peningkatan S100B ( $p = 0,000$ ). Kemudian, dari uji post hoc Mann Whitney, terdapat perbedaan ekspresi S100B yang signifikan secara keseluruhan antar kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan

1 (hidrogel) , dan perlakuan 2 yang diterapi dengan hidrogel fitosom ekstrak pegagan.

Dari hasil analisis data, didapatkan bahwa pemberian hidrogel fitosom ekstrak pegagan mampu meningkatkan ekspresi S100B secara signifikan pada hari ke 1, 3,7 dan 14. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian hidrogel fitosom ekstrak pegagan mampu memodulasi proses neurogenesis pada TBI secara signifikan yang diamati melalui ekspresi S100B. Selain itu, *Asiaticoside* juga memiliki efek anti inflamasi, apabila inflamasi dipertahankan dalam waktu lama dapat memperburuk kerusakan jaringan BBB dan kerusakan pemulihan neurologis yang menyebabkan penurunan kognitif dan memori (Kumar and Loane, 2012).

Asiatikosida berikatan dengan reseptor TGF beta 1 kinase (TrkB) yang akan mengaktifkan PI3K dan AKT sehingga akan mengaktifkan siklus CREB. Aktivasi siklus CREB memediasi transkripsi BDNF yang merupakan *Ca<sup>2+</sup> dependent* (Khotimah *et al.*, 2009). BDNF merupakan faktor gliogenik yang mampu memodulasi transkripsi SOX2 (Islam *et al.*, 2009). Mekanisme downregulasi SOX2 dengan siRNA menginduksi transkripsi S100B yang berperan dalam perbaikan fungsi kognitif dan memori (Caglayan *et al.*, 2013). Mekanisme hidrogel *time release* fitosom ekstrak pegagan pada meningen otak terjadi akibat proses difusi dan degradasi karena putusya ikatan kovalen. Degradasi *cross-link* hidrogel secara lokal terjadi melalui aktivitas MMP (*Matrix Metalloproteinase*) sehingga fitosom akan terlepas (Holloway *et al.*, 2014).

## 6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dan wawasan tentang pengaruh hidrogel fitosom ekstrak pegagan pada tikus *traumatic brain injury* terhadap ekspresi S100B dalam memodulasi proses neurogenesis. Asiatikosida dalam pegagan mampu meningkatkan ekspresi S100B sehingga dapat digunakan sebagai terapi alternatif TBI.

## 6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini masih terdapat beberapa kekurangan yaitu tidak adanya penentuan *time release* secara *in vitro*. Time release hanya dilihat dari hasil pengecatan imunohistokimia dari otak yang diambil pada hari yang berbeda. Belum diketahuinya dosis optimum yang dapat memberikan efek terbaik dalam terapi TBI serta belum ditelitinya efek samping dan efek toksisitas yang mungkin dapat ditimbulkan dari pemberian hidrogel fitosom ekstrak pegagan. Selain itu, Model TBI masih menggunakan hewan coba tikus *Sprague Dawley* sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sebelum diaplikasikan untuk manusia.