

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengumpulan Tanaman Uji

Pada penelitian ini digunakan tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) yang diperoleh dari daerah Kalijati, Sumedang. Bagian dari tanaman yang digunakan adalah bijinya karena mengandung senyawa aktif yang berperan dalam proses meningkatkan daya ingat. Pada tahap awal dilakukan determinasi meliputi seluruh bagian tanaman seperti batang, daun, buah, dan biji kacang hijau yang dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Prodi Biologi, Universitas Padjajaran. Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran dari sampel tanaman yang diperoleh. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tersebut dinyatakan sebagai *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek dengan nama umum kacang hijau (Indonesia) yang termasuk ke dalam suku Leguminosae (**Lampiran 1**).

5.2. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan dengan cara mengumpulkan biji kacang hijau terlebih dahulu. Kemudian, dilakukan pencucian menggunakan air mengalir agar pengotor yang menempel pada biji dapat hilang. Lalu, biji kacang hijau dikeringkan dengan cara diangin-anginkan untuk membebaskan biji dari sisa-sisa air. Kemudian, dilakukan sortasi kering untuk membersihkan pengotor lainnya yang mungkin masih tertinggal saat pencucian. Tahap selanjutnya, biji kacang

hijau dihaluskan menggunakan *blender*. Proses penghalusan dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel dan memperbesar luas permukaan simplisia yang akan kontak dengan pelarut sehingga proses penarikan zat aktif yang terkandung didalamnya akan berlangsung secara maksimal. Setelah dihaluskan, serbuk biji kacang hijau disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

5.3. Pembuatan Ekstrak

Tahap yang selanjutnya dilakukan adalah proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan untuk menarik kandungan kimia terlarut yang berasal dari simplisia sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut pada pelarut yang digunakan. Terdapat dua metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu maserasi dan infusa. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap efek farmakologi yang diberikan.

Pemilihan metode maserasi dimaksudkan untuk melindungi senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Simplisia segar biji kacang hijau diekstraksi menggunakan metode maserasi selama tiga hari, dengan remaserasi setiap 24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95%, karena pelarut tersebut merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan non polar. Sebanyak 1,5 kg simplisia di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 18 L (perbandingan 1:4). Ekstrak cair yang diperoleh disaring dan filtratnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C - 45°C. Penggunaan suhu tersebut dimaksudkan untuk melindungi komponen yang tidak stabil terhadap suhu tinggi.

Proses evaporasi ini dilakukan hingga diperoleh ekstrak agak pekat. Kemudian, pemekatan dilanjutkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak pekat biji kacang hijau sebanyak 98,86 gram, sehingga diperoleh rendemen ekstrak 6.5%. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Ekstrak yang diperoleh dimasukkan ke dalam wadah dan ditutup rapat, lalu dimasukkan ke dalam lemari pendingin agar tidak rusak.

Sedangkan metode infusa dipilih karena disesuaikan dengan pemakaian dimasyarakat yaitu dengan cara direbus. Pembuatan infusa dilakukan dengan cara mengekstraksi simplisia nabati dengan air selama 15 menit terhitung mulai suhu 90°C sambil sesekali dilakukan pengadukan (Depkes RI, 1995:9). Infusa biji kacang hijau dibuat dalam 3 konsentrasi yaitu infusa 5 %, infusa 10 %, dan infusa 20%. Kemudian, ekstrak cair yang diperoleh disimpan dalam wadah.

5.4. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia, ekstrak etanol dan infusa biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). Hasil penapisan fitokimia dari simplisia, ekstrak etanol dan infusa biji kacang hijau dapat dilihat pada **tabel V.1**.

Dari data hasil penapisan fitokimia simplisia, ekstrak etanol dan infusa biji kacang hijau mengandung alkaloid, flavonoid, polifenolat, kuinon, tannin, monoterpen dan seskuiterpen. Senyawa yang berpengaruh dalam proses meningkatkan daya ingat adalah polifenol, flavonoid dan terpenoid (Aruna *et al*,

2012:107). Pada kedua ekstrak yang diperoleh melalui metode ekstraksi maserasi ataupun infusa masih sama-sama mengandung komponen tersebut.

Tabel V.1 Hasil penapisan fitokimia simplisia, ekstrak etanol, dan infusa biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek).

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak	
		Maserasi	Infusa
Alkaloid	√	√	√
Flavonoid	√	√	√
Polifenolat	√	√	√
Kuinon	√	√	√
Tanin	√	√	√
Saponin	√	-	√
Monoterpen dan Seskuiterpen	√	√	√
Triterpen dan Steroid	-	-	-

Keterangan :

(√) terdeteksi

(-) tidak terdeteksi

5.5. Pengujian Daya Ingat Metode Labirin Y

Pada penelitian ini, pengujian daya ingat dilakukan menggunakan metode labirin. Labirin yang digunakan adalah labirin yang disusun membentuk huruf Y dengan sudut 120° dan memiliki tiga saluran dengan panjang 70 cm, lebar 10 cm, dan tinggi 10 cm. Masing-masing sudut pada setiap saluran dipasang pintu yang dapat diatur untuk dibuka dan ditutup kembali, sehingga hewan dapat mendorongnya untuk menemukan tempat disimpannya makanan. Pengujian daya ingat pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode labirin Y karena metode ini cukup efisien untuk melihat kemampuan mengingat berdasarkan waktu yang dibutuhkan hewan untuk menemukan makanan pada salah satu ujung labirin Y. Gambar dari alat labirin Y dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Perlakuan awal pada hewan uji yaitu dengan melakukan pelatihan menggunakan alat labirin Y selama 7 hari sebelum diberikan sediaan. Hal tersebut merupakan proses dimana hewan mulai mempelajari dan mencatat (*encoding*) dari informasi yang diperoleh. Setelah itu, proses pembelajaran mencit tetap dilanjutkan yang diikuti dengan pemberian sediaan uji selama 10 hari. Setiap akan melakukan pelatihan, alat labirin dibersihkan terlebih dahulu untuk menghilangkan jejak yang tertinggal dari hewan sebelumnya.

Pengujian dilakukan pada 7 kelompok mencit dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol yang diberikan suspensi CMC-Na. Kelompok 2 merupakan kelompok uji yang diberi suspensi ekstrak etanol biji kacang hijau dengan dosis 0,35g/kg BB mencit. Kelompok 3 merupakan kelompok uji yang diberi suspensi ekstrak etanol biji kacang hijau dosis 0,7g/kg BB mencit. Kelompok 4 merupakan kelompok uji yang diberi suspensi ekstrak etanol biji kacang hijau dosis 1,4g/kg BB mencit. Kelompok 5 merupakan kelompok uji infusa biji kacang hijau 5% yang setara dengan dosis 1,25g/kg BB mencit. Kelompok 6 merupakan kelompok uji infusa biji kacang hijau 10% yang setara dengan dosis 2,5g/kg BB mencit. Kelompok 7 merupakan kelompok uji infusa biji kacang hijau 20% yang setara dengan dosis 5g/kg BB mencit.

Pengujian daya ingat dilakukan pada hari ke-18. Pengujian daya ingat tersebut digunakan untuk mengetahui kemampuan mencit dalam memperoleh kembali informasi yang telah disimpan (*retrieval*). Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah waktu yang diperlukan mencit untuk menemukan makanan

pada salah satu ujung lengan pada alat labirin Y. Hasil data pengamatan yang diperoleh dari pengujian daya ingat dapat dilihat pada **tabel V.2**.

Tabel V.2 Rata-rata waktu yang diperlukan mencit untuk menemukan makanan setelah pemberian sediaan uji di hentikan

Kelompok	Rata-Rata Waktu Menemukan Makanan (menit) ± Standar deviasi	P
Kontrol n=4	4,96 ± 3,95	-
Ekstrak Dosis 0,35g/kg BB n=4	1,32 ± 1,03	0,001*
Ekstrak Dosis 0,7g/kg BB n = 4	0,58 ± 0,41	0,001*
Ekstrak Dosis 1,4g/kg BB n=4	0,24 ± 0,13	0,001*
Infusa Dosis 1,25g/kg BB n=4	0,36 ± 0,20	0,000*
Infusa Dosis 2,5g/kg BB n=4	0,28 ± 0,10	0,000*
Infusa Dosis 5g/kg BB n=4	0,25 ± 0,05	0,000*

Keterangan :

P = Signifikansi perbedaan waktu menemukan makanan dibandingkan kelompok kontrol

* = Perbedaan bermakna terhadap kontrol (P < 0.05)

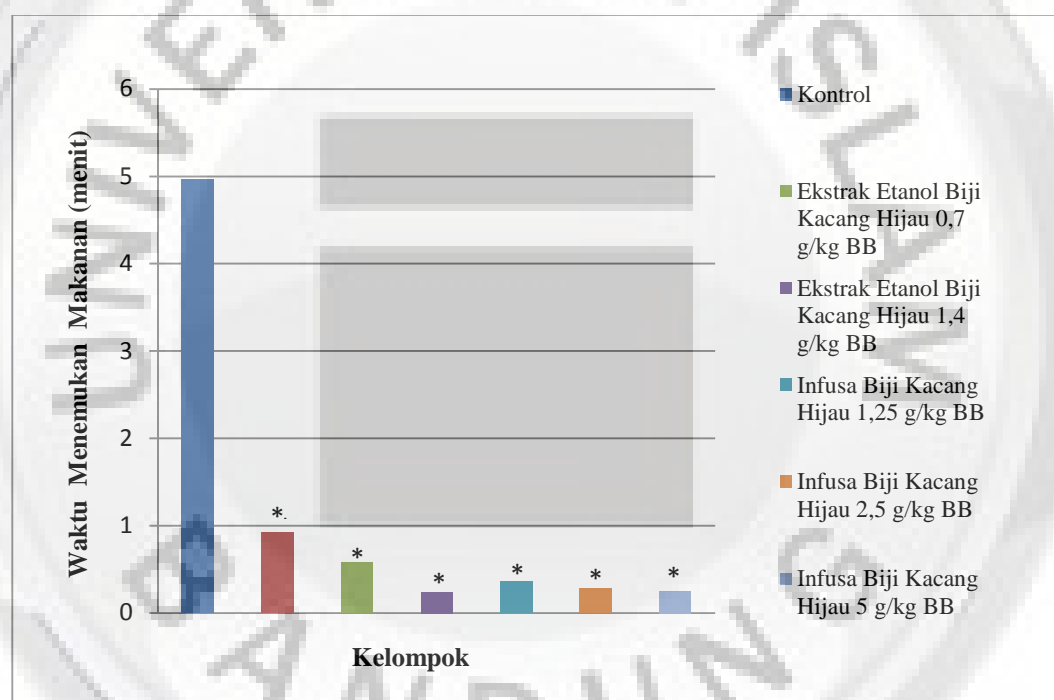
Nilai signifikansi diperoleh dari uji analisis data dengan menggunakan uji statistika analisis varians (ANOVA) dengan kepercayaan 95% dengan menggunakan perangkat lunak *SPSS for windows Release 20.0*. Hasil analisa statistik dengan metode ANOVA dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

Dari hasil perhitungan menggunakan uji ANOVA diperoleh nilai $p < 0.05$ sehingga dapat terlihat adanya perbedaan bermakna pada hasil uji. Kemudian analisis statistika dengan metode ANOVA dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbedaan bermakna pada masing-masing kelompok uji.

Berdasarkan hasil pengamatan pada **tabel V.2**, waktu tempuh yang diperlukan mencit untuk menemukan makanan pada kelompok yang diberi sediaan uji menunjukkan waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol, rata-rata waktu yang dibutuhkan mencit untuk dapat menemukan makanan adalah $4,96 \pm 3,95$ menit. Sedangkan untuk kelompok mencit yang diberikan ekstrak etanol biji kacang hijau dengan dosis $0,35\text{g/kg BB}$ adalah $1,32 \pm 1,03$ menit. Pada kelompok mencit yang diberikan ekstrak etanol biji kacang hijau dengan dosis $0,7\text{g/kg BB}$ adalah $0,58 \pm 0,41$ menit. Pada kelompok mencit yang diberikan ekstrak etanol dosis $1,4\text{g/kg BB}$ adalah $0,24 \pm 0,13$ menit. Untuk kelompok mencit yang diberikan infusa biji kacang hijau dengan dosis $1,25\text{g/kg BB}$, waktu yang dibutuhkan untuk menemukan makanan adalah $0,36 \pm 0,20$ menit. Pada kelompok mencit yang diberikan infusa biji kacang hijau dengan dosis $2,5\text{g/kg BB}$ adalah $0,28 \pm 0,10$ menit. Dan pada kelompok mencit yang diberikan infusa biji kacang hijau dengan dosis 5g/kg BB adalah $0,25 \pm 0,05$ menit.

Pada **Gambar V.1**, berdasarkan pengamatan waktu yang diperlukan mencit untuk menemukan makanan pada kelompok kontrol memiliki puncak tertinggi dibandingkan dengan seluruh kelompok uji. Berdasarkan nilai signifikansi secara uji LSD memberikan nilai $p < 0.05$, dimana hal tersebut

menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan untuk setiap kelompok uji antar dosisnya tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistika dengan nilai $p > 0.05$. Hasil uji LSD dari data pengamatan dapat dilihat pada **Lampiran 4**. Hal ini menunjukkan bahwa efek yang dihasilkan dari pemberian ekstrak etanol dan infusa biji kacang hijau untuk setiap dosisnya memberikan efek yang sama.



Gambar V.1 Waktu mencit menemukan makanan

Keterangan :

* = Berbeda bermakna dengan kontrol ($P < 0.05$)

Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa pada semua kelompok uji ekstrak dan infusa terjadi efek peningkatan daya ingat pada mencit yang ditunjukkan oleh waktu yang diperlukan mencit untuk memperoleh makanan lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol, sehingga terlihat adanya

pengaruh pemberian ekstrak dan infusa biji kacang hijau dalam proses mengingat mencit.

Proses pembentukan ingatan terdiri dari 3 tahap, yaitu proses pencatatan (*encoding*), penyimpanan (*storage*), dan pemanggilan kembali informasi yang disimpan (*retrieval*). Pada tahap *encoding*, informasi sensori yang diperoleh akan dicatat dan dipelajari, kemudian makna dari informasi tersebut akan ditentukan oleh area hipokampus. Proses penyimpanan informasi tersebut terbagi menjadi 2 macam, yaitu ingatan jangka pendek dan ingatan jangka panjang (Sherwood, 2009: 171).

Proses pembelajaran mencit terhadap alat labirin Y pada hari ke-0 hingga hari ke-7 dianggap sebagai proses adaptasi mencit terhadap alat. Selain itu, pada tahap ini juga terjadi proses *encoding* serta penyimpanan informasi yang baru diperoleh. Kemudian, informasi yang diperoleh tersebut akan disimpan didalam otak dalam bentuk ingatan jangka pendek. Mekanisme dari pembentukan ingatan jangka pendek ini hanya melibatkan modifikasi transien fungsi sinaps yang ada, meliputi perubahan jumlah neurotransmitter yang dikeluarkan seperti peningkatan jumlah asetilkolin (Sherwood, 2009 : 172).

Informasi yang diperoleh dari ingatan jangka pendek dapat mengalami konsolidasi atau perubahan menjadi ingatan jangka panjang melalui latihan aktif atau pengulangan (Sherwood, 2009: 172). Proses konsolidasi ini dilakukan melalui latihan aktif mencit setiap harinya selama 10 hari pada labirin Y untuk dapat menemukan makanan pada salah satu ujung labirin Y. Dimana, proses

peletakkan makanan pada labirin menggunakan salah satu ujung labirin yang sama seperti kondisi yang akan digunakan pada saat pengujian daya ingat. Pada proses konsolidasi terjadi proses pemindahan ingatan ke bagian hipokampus agar ingatan yang diperoleh lebih bertahan dalam jangka waktu yang lama. Penyimpanan ingatan jangka panjang melibatkan perubahan fungsional seperti peningkatan transmisi sinaps atau perubahan struktural yang relatif permanen antara neuron-neuron yang sudah ada, seperti pembentukan sinaps baru (Sherwood, 2009: 178).

Kandungan biji kacang hijau yang berperan dalam proses peningkatan memori diantaranya adalah senyawa golongan polifenol, flavonoid dan terpenoid (Aruna *et al*, 2012: 107). Polifenol, flavonoid, dan terpenoid dapat memberikan efek neuroprotektif dengan cara mencegah terjadinya kerusakan pada sel-sel neuron (Herlina, 2010: 21). Mekanisme kerja lainnya dari flavonoid yaitu berperan dalam mengendalikan penyimpanan memori dalam area hipokampus dan korteks limbik melalui interaksi penghantaran sinyal atau sensitisasi pada sistem saraf (Spencer, 2009: 1152).

Kandungan nutrisi lainnya yang terdapat dalam biji kacang hijau adalah vitamin B₁ (thiamin), vitamin B₂ (riboflavin), vitamin B₃ (niasin), vitamin B₆ (piridoksin) (N, Kavya *et al*, 2014:238-239). Dimana, vitamin-vitamin tersebut termasuk ke dalam senyawa golongan fenolat. Vitamin B₁ (thiamin) berperan dalam memodulasi mood dan kemampuan belajar. Vitamin B₂ (riboflavin) dan vitamin B₃ (niasin) berperan dalam mengaktifkan fungsi otak salah satunya dengan memperkuat penyimpanan memori. Dan vitamin B₆ (piridoksin) berperan

dalam meningkatkan konsentrasi, serta berperan dalam sintesis neurotransmitter seperti serotonin (Bourre, 2006: 378-379).

