

**KARYA TULIS ILMIAH**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI PEGAGAN, KAYU  
MANIS, DAN SPIRULINA TERHADAP NEUROGENESIS PADA TIKUS  
DENGAN CEDERA OTAK TRAUMATIK FASE SUBAKUT**

Diajukan sebagai syarat meraih gelar sarjana pada Fakultas Kedokteran  
Universitas Mataram



Oleh

Raditya Bayu Farizil Akhyar

H1A020094

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS MATARAM**

**MATARAM**

**2023**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI PEGAGAN, KAYU  
MANIS, DAN SPIRULINA TERHADAP NEUROGENESIS PADA TIKUS  
DENGAN CEDERA OTAK TRAUMATIK FASE SUBAKUT**

Raditya Bayu Farizil Akhyar, Rohadi, Bambang Priyanto

Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

e-mail: [bayuraditya140202@gmail.com](mailto:bayuraditya140202@gmail.com)

**Informasi Naskah**

Jumlah tabel : 2

Jumlah gambar : 1

Jumlah lampiran : 4

## ABSTRAK

### **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI PEGAGAN, KAYU MANIS, DAN SPIRULINA TERHADAP NEUROGENESIS PADA OTAK TIKUS DENGAN CEDERA OTAK TRAUMATIK FASE SUBAKUT**

Raditya Bayu Farizil Akhyar, Rohadi, Bambang Priyanto

**Latar Belakang:** Cedera otak traumatik (COT) merupakan kerusakan sementara atau permanen pada otak yang diakibatkan oleh adanya tekanan mekanik eksternal yang mengenai kranium dan komponen intrakranium. Setelah terjadi COT akan terjadi proses neurogenesis untuk menggantikan sel-sel otak yang rusak. Penelitian ini menguji ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina dalam neurogenesis.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental. Subjek penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley jantan berumur 10-12 minggu dengan berat 200-400 gram. Pemodelan cedera otak traumatik pada tikus menggunakan teknik marmarou, yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok tikus yang diberikan ekstrak kombinasi (N:6) dan kelompok tikus yang diberikan placebo (N:6). Setelah 10 hari perlakuan, otak tikus diambil kemudian dinilai persentase neurogenesisnya menggunakan penilaian IHC dengan marker antibodi NeuN. Analisis data menggunakan software SPSS.

**Hasil:** Tidak ada perbedaan signifikan persentase protein NeuN antara kelompok perlakuan dan placebo. Rata-rata persentase NeuN pada kelompok perlakuan adalah 71.66%, dan pada kelompok placebo 65.00 %. Uji korelasi menunjukkan tidak dijumpai korelasi yang bermakna,  $P > 0.05$  (Sig. 0.111).

**Simpulan:** Pemberian ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina tidak mempengaruhi neurogenesis pada otak tikus dengan cedera otak traumatis fase subakut.

**Kata Kunci:** Cedera otak traumatik, Neurogenesis, Pegagan, Kayu manis, Spirulina

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF THE COMBINED EXTRACT OF GOTU KOLA, CINNAMON, AND SPIRULINA IN NEUROGENESIS IN THE BRAIN OF RATS WITH SUBACUTE PHASE TRAUMATIC BRAIN INJURY

Raditya Bayu Farizil Akhyar, Rohadi, Bambang Priyanto

**Background:** Traumatic brain injury (TBI) is temporary or permanent damage to the brain caused by external mechanical stress on the cranium and intracranial components. After COT, there will be a process of neurogenesis to replace damaged brain cells. This study examines the combination of gotu kola, cinnamon, and spirulina extracts in neurogenesis.

**Methods:** This research is an experimental research. The subjects of this study were male Sprague Dawley rats aged 10-12 weeks weighing 200-400 grams. Modeling of traumatic brain injury in rats using the marmarou technique, which is divided into 2 groups, namely the group of rats given the combination extract (N: 6) and the group of rats given placebo (N: 6). After 10 days of treatment, the rat brain was taken and then assessed the percentage of neurogenesis using IHC assessment with NeuN antibody marker. Data analysis using SPSS software.

**Results:** There was no significant difference in the percentage of NeuN protein between the treatment and placebo groups. The average percentage of NeuN in the treatment group was 71.66%, and in the placebo group was 65.00%. Correlation test showed no significant correlation,  $P > 0.05$  (Sig. 0.111).

**Conclusion:** The treatment of combined extracts of gotu kola, cinnamon, and spirulina did not affect neurogenesis in the brains of rats with subacute phase traumatic brain injury.

**Keywords:** Traumatic brain injury, Neurogenesis, Gotu kola, Cinnamon, Spirulina

## PENDAHULUAN

Cedera otak traumatik atau *Traumatic Brain Injury* (TBI) merupakan salah satu penyebab utama kematian dan kecacatan neurologis pada otak di seluruh dunia. Cedera otak traumatik disebabkan oleh proses mekanik yang mengenai struktur serebri sehingga menyebabkan distorsi dan kerusakan pada periode awal trauma (Ferrara et al., 2022). Pasien yang mengalami cedera otak traumatik seringkali mengalami edema serebri yaitu akumulasi kelebihan cairan di intraseluler atau ekstraseluler ruang otak yang mengakibatkan meningkatnya tekanan intra kranial. Edema serebri ini ditemukan lebih dari 25% dari pasien yang mengalami cedera otak sehingga dibutuhkan penanganan segera untuk mencegah terjadinya kecacatan bahkan kematian akibat edema serebri tersebut (Ginsberg, 2017).

Cedera otak traumatik merupakan sumber kecacatan dan disabilitas yang utama di seluruh dunia. Penyebab utama dari cedera otak adalah kecelakaan lalu lintas, olahraga, terjatuh, dan kecelakaan. Menurut laporan *Centers for Disease Control and Prevention*, penyebab terbanyak dari cedera otak terutama pada pria muda disebabkan oleh adanya benturan fisik pada otak (*physical forces*) seperti terjatuh, cedera saat berolahraga, kecelakaan kendaraan bermotor, dan insiden senjata api.

Berdasarkan data dari *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) ada sekitar 223.000 pasien rawat inap terkait cedera otak traumatik pada tahun 2019 dan sekitar 64.300 kematian akibat cedera otak traumatik pada tahun 2020 di Amerika Serikat. World Health Organization (WHO) pada tahun 2014 melaporkan bahwa sekitar 1,24 juta orang meninggal setiap tahun di jalan-jalan dunia, dengan 2-5 juta orang menderita luka-luka non-fatal dan cedera kepala termasuk dalam tiga penyebab kematian terbanyak pada orang-orang berusia 15-44 tahun (Galgano et al., 2017).

Saat ini telah banyak alat pelindung yang digunakan untuk mengurangi kematian akibat cedera otak, namun masih diperlukan upaya untuk mengurangi

insiden tersebut. Selain itu, diperlukan juga upaya untuk mengurangi tingkat keparahan yang berkaitan dengan cedera otak serta upaya untuk meningkatkan proses penyembuhan pasien mengingat cedera otak dapat menyebabkan kecacatan neurologis pada otak bahkan kematian (Zhang et al., 2018).

Konsep neuroproteksi pada cedera otak traumatik adalah suatu terapi farmakologi yang menginterupsi serangkaian patofisiologi cedera otak sehingga mampu meningkatkan proses penyembuhan. Hal ini berkaitan dengan berbagai hal, mulai dari rentang keparahan cedera, proses patofisiologi yang cepat, pendekatan yang kompleks karena berhubungan dengan berbagai jenis sel dan jaringan, serta presentasi yang tipikal dengan berbagai komorbid dan faktor lingkungan (Pan et al., 2020).

Mengingat besarnya dampak cedera otak traumatik ini, maka penting untuk mengetahui terapi yang relevan untuk mengurangi tingkat morbiditas dan mortalitas cedera otak traumatik. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kombinasi Pegagan, Kayu Manis, dan Spirulina Terhadap Neurogenesis pada Tikus dengan Cedera Otak Traumatik Fase Subakut” untuk mengetahui efek neurogenesis dari ekstrak kombinasi tersebut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post-test only* grup desain yang dilakukan dengan cara memberikan perlakuan berupa penjatuhan beban pada jaringan otak tikus, kemudian objek penelitian diberikan ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina selama 10 hari untuk selanjutnya diamati efek neurogenesis dari ekstrak kombinasi tersebut.

Sampel penelitian yang digunakan adalah dua belas ekor tikus jenis Sprague-Dawley yang berumur 10-12 minggu dan berat badan 200-400 gram, mendapatkan makanan standar (Comfeed AD-2) dan air sampai penelitian berlangsung. Kemudian tikus dibagi menjadi dua kelompok: (1) cedera otak dengan pemberian ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina, (2) cedera otak dengan pemberian placebo.

Total sampel penelitian yang digunakan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$n_1 = n_2 = 2 \left| \frac{(z\alpha + z\beta)s}{(x_1 - x_2)} \right|^2$$

$n_1$  = jumlah sampel kelompok 1

$n_2$  = jumlah sampel kelompok 2

$z\alpha$  = tingkat kemaknaan (tingkat kesalahan tipe i) = 5%

$z\beta$  = tingkat kesalahan (tingkat kesalahan tipe ii) = 95%

$x_1 - x_2$  = perbedaan klinis yang diinginkan dan dianggap bermakna ( $x_1 = 120$ ,  $x_2 = 80$ )

$s$  = simpang baku kedua kelompok = 18

Maka besar sampel yang digunakan adalah

$$n = 2 \left( (1,96 + 1,64) \times 18 / (120 - 80) \right)^2$$

$$n = 2 (64,8/40)^2$$

$$n = 2 (2,6244)$$

$$n = 5,2488$$

Dibulatkan menjadi  $n = 5$ , Maka total sampel 2 kelompok = 10

Setiap kelompok diberikan faktor koreksi sebesar 20% (1 ekor hewan coba) sehingga setiap kelompok memiliki jumlah hewan coba sebanyak 6 ekor.

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *random sampling* yaitu dengan cara membagi secara acak sepuluh ekor tikus Sprague-Dawley ke dalam dua kelompok: (1) dengan pemberian ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina, (2) pemberian placebo.

## **HASIL**

Subjek pada penelitian ini adalah tikus Sprague-Dawley yang memenuhi kriteria penelitian yang sudah ditentukan. Penelitian dilakukan selama 10 hari mulai tanggal 25 April-6 Mei 2023 dengan jumlah sampel 12 ekor tikus. Data yang digunakan merupakan data primer yang diambil secara langsung dengan melakukan percobaan. Sampel tikus dibagi menjadi 2 kelompok yakni 6 tikus diberikan perlakuan dan 6 sampel tikus placebo. Namun saat berlangsungnya penelitian, 1 tikus placebo mati pada hari ke-7 sehingga sampel yang didapatkan hanya 5 tikus placebo.

### **Persentase Neurogenesis pada Sel Otak Tikus Pasca Cedera Otak Traumatik Fase Subakut**

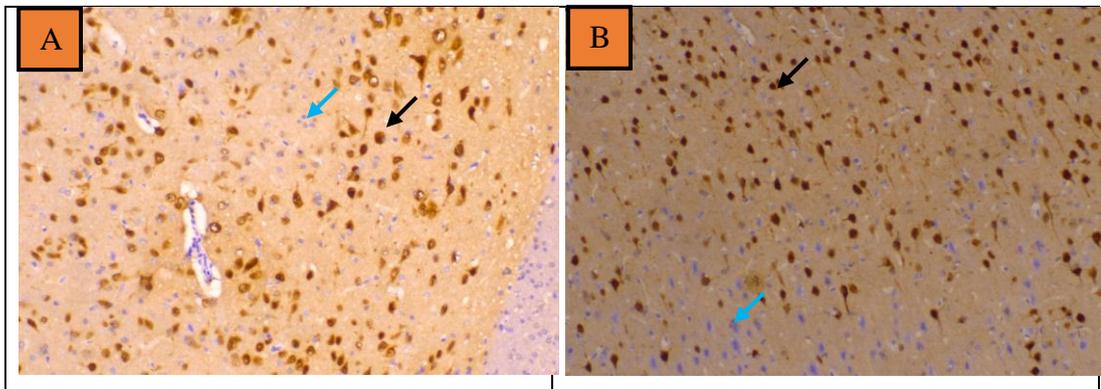
Gambaran persentase neurogenesis dinilai dan dihitung dari sediaan pada daerah hot spot yaitu daerah yang paling banyak terpulas kemudian diamati menggunakan mikroskop pada setiap lapang pandang menggunakan perbesaran 200x dan dilakukan pengukuran persentase neurogenesis pada semua kelompok.

**Tabel 1. Persentase Neurogenesis pada Sel Otak Tikus Pasca Cedera Otak Traumatik Fase Subakut**

<b>Jenis Sampel</b>	<b>Kode</b>	<b>Persentase Neurogenesis (%)</b>
<b>Perlakuan</b>	PR 1	60
	PR 2	70
	PR 3	80
	PR 4	80
	PR 5	70
	PR 6	70
	<b>Rata-rata</b>	<b>71.66</b>
<b>Placebo</b>	PC 1	50
	PC 2	70
	PC 3	80
	PC 4	85
	PC 5	40
	<b>Rata-rata</b>	<b>65.00</b>

Berdasarkan tabel di atas didapatkan perbedaan rata-rata persentase neurogenesis pada kedua jenis sampel. Pada kelompok perlakuan rata-rata persentase neurogenesis sebesar 71.66 %. Sementara itu pada kelompok placebo didapatkan rata-rata persentase neurogenesis sebesar 65.00 %.

### Gambar Histologi IHC NeuN pada Otak Tikus



**Gambar 1. Gambaran pulasan IHC NeuN pada Sel Otak Tikus Pasca Cedera Otak Traumatik Fase Subakut. (A) Kelompok Perlakuan (perbesaran 200x), (B) Kelompok Placebo (perbesaran 200x). Panah hitam menunjukkan sel IHC NeuN terpulas positif dan panah biru menunjukkan sel IHC NeuN terpulas negatif**

Pulasan imunohistokimia inti sel pada sel otak tikus pasca cedera otak traumatik fase subakut dengan perbesaran 200x menunjukkan sel IHC NeuN positif akan terpulas berwarna coklat (ditunjukkan panah hitam) sedangkan sel IHC NeuN negatif akan terpulas berwarna biru (ditunjukkan panah biru) seperti yang disajikan pada (Gambar 1).

### Analisis Data

Dilakukan analisis korelasi untuk melihat hubungan pemberian intervensi dengan NeuN pada fase subakut. Pada kelompok kontrol dianggap dosis intervensi adalah 0 dan kelompok intervensi, dosisnya adalah 1. Hasil analisis bivariat dengan uji korelasi spearman disajikan dalam tabel berikut.

**Tabel 2. Hasil uji hipotesis dengan uji korelasi spearman rank**

<b>Koefisien korelasi</b>	<b>0.791</b>
<b>Sig. (2-tailed)</b>	<b>0.111</b>

Tabel hasil uji korelasi pada kelompok subakut menunjukkan bahwa secara statistik tidak dijumpai korelasi yang bermakna, nilai signifikansi  $> 0.05$  (Sig. 0.111). Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina tidak berkorelasi terhadap neurogenesis pada otak tikus dengan cedera otak fase subakut.

## PEMBAHASAN

Hasil analisis penelitian ini berdasarkan gambaran histopatologi persentase neurogenesis sel otak tikus, didapatkan hasil yang tidak bermakna sehingga H1 ditolak dan H0 diterima. Hal ini dikarenakan tidak terdapat korelasi yang bermakna antara kelompok perlakuan dan placebo dengan persentase neurogenesis sel otak tikus pasca mengalami cedera otak traumatik fase subakut ( $p \text{ value} > 0.05$ ). Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina terhadap neurogenesis pada otak tikus dengan cedera otak traumatis fase subakut.

Berdasarkan sejumlah literatur dan studi yang telah dilakukan, didapatkan bahwa pegagan, kayu manis dan spirulina sejatinya memiliki potensi sebagai terapi efektif untuk pengobatan cedera otak traumatik. Kandungan senyawa triterpenoid pada pegagan yang terdiri dari asiatikosida, asam asiatik, asam madekasid, madekasosida, dan brahmosida memiliki efek melindungi saraf dari kerusakan akibat radikal bebas dan reaksi oksidatif sehingga dapat dimanfaatkan sebagai neuroprotektif. Sementara komponen bioaktif lain seperti flavonoid, tanin dan saponin berfungsi sebagai antibakteri (Seevaratnam et al., 2012). Secara khusus salah satu komponen senyawa aktif pada pegagan yang memiliki sifat sebagai neuroprotektor adalah madekasosida. Senyawa ini bekerja dengan cara mengurangi daerah infark pada otak, mengurangi defisit neurologis, dan memperbaiki apoptosis neuron (Luo et al., 2014).

Kayu manis memiliki efek neuroprotektif dan potensi terapeutik yang menjanjikan untuk penyakit neurodegeneratif. Salah satu yang telah terbukti bahwa kayu manis telah mampu mengurangi stres oksidatif dan peradangan pada saraf. Senyawa bioaktif pada kayu manis memiliki efek pemulihan yang signifikan melalui modulasi jalur kritis untuk meningkatkan kelangsungan hidup sel, termasuk jalur pensinyalan insulin, sistem pertahanan antioksidan, dan jalur apoptosis (Li et al., 2013).

Beberapa studi menunjukkan bahwa pemberian spirulina mampu mengurangi peradangan sistemik akut lipopolisakarida (LPS) pada tikus. Aktivitas neuroprotektif spirulina dalam degenerasi saraf juga telah ditunjukkan pada model *in vivo* lainnya yang diduga dimediasi oleh aktivitas antioksidan serta terkait dengan peningkatan superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase (Trotta et al., 2022). Studi klinis awal juga menunjukkan bahwa spirulina dapat membantu mengurangi kelelahan mental, melindungi dinding pembuluh darah otak dari kerusakan endotel dan mengatur tekanan internal, sehingga berkontribusi terhadap pencegahan dan/atau mitigasi kondisi serebrovaskular (Sorrenti et al., 2021).

Akan tetapi, pada penelitian ini tidak didapatkan adanya korelasi peningkatan neurogenesis dengan pemberian ekstrak kombinasi tersebut. Terdapat beberapa faktor yang dapat menyebabkan hasil penelitian ini menjadi tidak signifikan. Faktor pertama adalah proses neurogenesis yang belum terbentuk pada fase subakut. Proses neurogenesis pada orang dewasa merupakan proses yang membutuhkan waktu yang panjang. Proses pembentukan sel-sel saraf baru harus melalui beberapa tahap perkembangan sebelum nantinya dapat berfungsi sepenuhnya. Proses neurogenesis berawal dari proliferasi sel kemudian bermigrasi dan berubah membentuk sel baru di hippocampus. Proses ini diperkirakan memakan waktu sekitar 28 hari (Emsley et al., 2005). Segera setelah cedera, kematian sel terjadi bersamaan dengan penurunan jalur penghambatan kortikal selama 1 hingga 2 hari yang diperkirakan merekrut atau melepaskan jaringan neuron baru (Nahmani & Turrigiano, 2014).

Pada akhirnya, aktivitas jalur kortikal beralih dari inhibisi menjadi eksitatori yang diikuti oleh proliferasi neuron dan sinaptogenesis. Baik sel neuron maupun non-neuron (yaitu, progenitor endotel, sel glial, dan sel inflamasi) direkrut untuk menggantikan sel yang rusak dan melakukan revaskularisasi (Burda & Sofroniew, 2014). Beberapa minggu pasca cedera, penanda sinapsis baru dan tunas aksonal akan kembali diregulasi sehingga memungkinkan terjadinya remodeling dan perubahan kortikal untuk proses pemulihan. Penelitian

oleh (Cassela et al., 2014) pada beberapa model cedera tikus menunjukkan bahwa perubahan morfologis jangka panjang terjadi pada hipokampus setelah TBI, termasuk pertumbuhan soma sel dan perekrutan neuron ke hipokampus.

Proses pembentukan sel neuron baru akan dihasilkan di area seperti hipokampus, amigdala, dan nucleus accumbens kemudian menjadi matur dan berintegrasi di area-area tersebut. Daerah kortikal prefrontal berperan dalam mengatur serangkaian perubahan neuroplastisitas yang didefinisikan sebagai kemampuan sirkuit saraf untuk membuat perubahan adaptif baik pada tingkat struktural dan fungsional, mulai dari perubahan molekuler, sinaptik, dan seluler selama beberapa bulan pasca cedera (Jurkowski et al., 2020).

Pada penelitian fase subakut ini dilakukan penelitian selama 10 hari dimana diperkirakan proses neurogenesis maupun neuroplastisitas belum sepenuhnya terbentuk karena proses tersebut memerlukan waktu beberapa minggu hingga bulan. Hal ini sebagaimana dijelaskan oleh (García-González et al., 2021) bahwa sel-sel neuron baru yang dihasilkan di nucleus accumbens didapati meningkat secara signifikan setelah 6 minggu pasca terjadinya cedera.

Faktor kedua yang diperkirakan membuat hasil penelitian pada fase subakut ini menjadi kurang signifikan adalah penggunaan marker NeuN. Protein NeuN telah digunakan sebagai penanda spesifik neuron universal untuk mempelajari diferensiasi sel induk (Gusel'nikova & Korzhevskiy, 2015). Analisis imunohistokimia (IHC) yang komprehensif menunjukkan bahwa ekspresi protein NeuN diekspresikan dalam inti sel saraf yang matur di hampir setiap bagian dari sistem saraf vertebrata, termasuk sel saraf di sumsum tulang belakang, korteks serebral, hippocampus, talamus dorsal, caudate/putamen, dan cerebellum. Terkadang, sitoplasma juga dapat mengalami pewarnaan tetapi dalam tingkat yang lebih rendah dibandingkan dengan inti (Duan et al., 2016).

Menurut (Gusel'nikova & Korzhevskiy, 2015), marker NeuN tidak mewarnai inti sel saraf yang belum matur sampai sel-sel tersebut menyelesaikan proses perkembangannya. Proses tersebut menurut penelitian (Emsley et al., 2005)

diperkirakan memakan waktu sekitar 28 hari. Akan tetapi, pada penelitian lain oleh (Wang et al., 2023) menunjukkan bahwa pada hari ke-14, sebagian besar (80%) sel prekursor saraf/ neural progenitor cells (NPC) telah berdiferensiasi menjadi neuron matur.

Studi oleh (Wang et al., 2023) mengamati proses perkembangan diferensiasi sel prekursor saraf (NPC) menjadi neuron pada titik waktu yang berbeda dengan menggunakan penanda neuron selama periode 21 hari. Persentase sel yang mengekspresikan penanda NPC, yaitu Nestin dan PAX6, menurun dari 80% menjadi 50% dalam 3 hari pertama diferensiasi. Kemudian sejak hari ke-7 dan seterusnya, mayoritas (> 80%) sel terwarnai negatif untuk kedua penanda NPC tersebut yang menunjukkan bahwa sel telah matur dari sel induk prekursor. Sel-sel diwarnai dengan dua penanda neuronal, Tuj-1 (pan-neuronal marker) dan MAP2 (dendritic-specific marker). Sejak hari ke-3 diferensiasi, ekspresi Tuj-1 dan MAP2 meningkat. Pada hari ke-7, 60% sel diwarnai positif untuk Tuj-1 dan 40% sel untuk MAP2. Pada hari ke-14, 80% sel diwarnai positif untuk Tuj-1 dan MAP2 yang menunjukkan sebagian besar sel telah berdiferensiasi menjadi neuron dewasa. Kondisi ini akan tetap stabil dari hari ke-14 dan seterusnya.

Pada penelitian subakut ini, lama perlakuan adalah 10 hari dimana sel-sel saraf yang baru terbentuk diperkirakan belum matur sehingga mengakibatkan pewarnaan NeuN menjadi tidak maksimal. Akan tetapi, ada hal yang menarik dari hasil penelitian ini yaitu didapatkan adanya perbedaan persentase pulasan IHC NeuN pada kelompok penelitian fase subakut yang dilakukan penelitian selama 10 hari dengan kelompok fase kronis selama 21 hari yang dilakukan oleh kawan kami pada penelitian payung ini. Hasil persentase pulasan IHC NeuN pada kelompok perlakuan fase kronis didapatkan persentase yang lebih rendah dibandingkan pada kelompok perlakuan fase subakut. Pada kelompok perlakuan subakut didapatkan nilai rata-rata pulasan IHC NeuN sebesar 71.66% sedangkan pada kelompok kronis didapatkan rata-rata 48.00%.

Menurut (Wang et al., 2023), diferensiasi sel prekursor saraf (NPC) menjadi neuron yang matur akan tetap stabil dari hari ke-14 dan seterusnya.

Namun, pada penelitian ini justru didapatkan penurunan rata-rata neurogenesis pada kelompok perlakuan kronis yang dilakukan penelitian selama 21 hari. Hal ini mengindikasikan kemungkinan adanya faktor-faktor yang dapat merusak neuron yang telah matur dalam perjalanannya selama 21 hari fase kronis sehingga menyebabkan sel-sel tersebut tidak terpulask dengan baik.

Beberapa studi telah mengungkapkan bahwa gambaran ekspresi protein NeuN dapat mengalami penurunan akibat kondisi patologis seperti iskemia dan trauma yang menyebabkan kematian atau kehilangan neuron. Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh (Ünal-Çevik et al., 2004) mengungkapkan bahwa gambaran penurunan ekspresi antibodi NeuN tidak selalu mengindikasikan kematian atau kehilangan neuron, melainkan juga dapat disebabkan oleh berkurangnya ekspresi protein NeuN atau hilangnya antigenitas NeuN akibat cedera otak iskemik.

Adanya stres kimia dan fisik juga dapat memengaruhi kelangsungan hidup dari neuron. Dalam satu penelitian oleh (Collombet et al., 2006) menemukan sekitar 49% neuron hipokampus tikus mengalami kerusakan akibat paparan soman, yaitu sejenis neurotoksin pada dosis 1,2 kali LD50. Selain itu, penelitian lain juga menemukan bahwa paparan radiasi pada hewan coba dapat menurunkan jumlah neuron hipokampus yang positif terhadap NeuN secara signifikan. Namun, imunoreaktivitas untuk penanda neuron lainnya, seperti calbindin D28k dan synaptophysin1, tidak mengalami penurunan yang signifikan (Wu, Kai-Liang et al., 2010).

Faktor ketiga yang diperkirakan berkaitan dengan hasil penelitian ini adalah tidak adanya serial dosis sehingga dosis yang diberikan menjadi kurang efektif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Thaakur & Sravanthi, 2010) dilakukan pemberian ekstrak spirulina per oral (p.o) kepada tikus yang dibagi ke dalam 3 kelompok dosis yang berbeda yaitu 40, 90, dan 180 mg/kg. Kelompok tikus yang diberikan ekstrak Spirulina dengan dosis 180 mg/kg secara signifikan mampu mengurangi kadar malondialdehid (MDA) dan memulihkan aktivitas penurunan superoksida dismutase otak (SOD), katalase (CAT), dan glutathione

tereduksi (GSH) yang menunjukkan bahwa spirulina memiliki potensi perlindungan terhadap cedera iskemia serebral.

Faktor selanjutnya ini adalah penggunaan ketamin sebagai agen anestesi. Sebagai antagonis reseptor N-metil-D-aspartat (NMDA), ketamin telah dikaitkan dengan efek neurotoksik dan neuroprotektif (Wang et al., 2017). Efek ketamin pada neurogenesis di hipokamus juga sedikit dirancukan dengan bukti bahwa ketamin dapat mengganggu proliferasi neural stem cells (NSC), namun juga dapat meningkatkan diferensiasi saraf. Pada penelitian oleh (Peters et al., 2018) menunjukkan bahwa ketamin dapat meningkatkan proliferasi sel di subgranular zone (SGZ), memperbaiki defisit kognitif pasca cedera, namun menurunkan jumlah neuron yang baru.

Faktor lainnya yang dapat memengaruhi proses neurogenesis adalah tingkat stres atau pengalaman tikus. Stres adalah respon yang tidak spesifik dari tubuh terhadap tuntutan yang diterima. Salah satu faktor pencetus terjadinya stres adalah faktor lingkungan seperti kapasitas kandang yang kecil dan persaingan antar sesama tikus. Pada penelitian ini terdapat 1 tikus placebo yang mati pada hari ke-7 sehingga ketika terminasi didapatkan hanya 5 sampel otak tikus placebo. Penyebab tikus tersebut mati diduga akibat persaingan dalam mendapatkan makanan sehingga menimbulkan sifat kanibalisme karena ditemukan adanya bekas luka gigitan pada kepala tikus. Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh (Widyaswari & Probosari, 2013) dimana terdapat 1 sampel tikus yang mati akibat kanibalisme dikarenakan faktor lingkungan yaitu penggunaan 1 kandang untuk 3 tikus. Menurut (Schoenfeld & Gould, 2012), mekanisme stres terhadap neurogenesis melibatkan Hipotalamus-Hipofisis-Adrenal (HPA) Aksis yang menghasilkan glukokortikoid. Stress akan meningkatkan kadar sitokin seperti interleukin 1 (IL1) pada otak. Peningkatan IL1 kemudian akan mengaktifkan HPA Aksis sebagai respon dari stress. IL1 merupakan sitokin pro inflamasi yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal yang dapat menghambat proliferasi dan diferensiasi sel saraf serta mempercepat kematian sel saraf (Schoenfeld & Gould, 2012).

## **KESIMPULAN**

Pemberian ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina tidak mempengaruhi neurogenesis pada sel otak tikus dengan cedera otak traumatik fase subakut.

## **SARAN**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh pemberian ekstrak kombinasi pegagan, kayu manis, dan spirulina terhadap neurogenesis pada sel otak tikus dengan cedera otak traumatik fase subakut.
2. Menentukan dosis yang sesuai dan menggunakan serial dosis.
3. Menggunakan marker neurogenesis yang sesuai dengan waktu terminasi.
4. Penyesuaian jumlah tikus dalam setiap kandang agar tidak terjadi kanibalisme serta menurunkan resiko stres pada tikus

## DAFTAR PUSTAKA

1. Burda, J. E., & Sofroniew, M. V. (2014). Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. In *Neuron* (Vol. 81, Issue 2, pp. 229–248). <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.034>
2. Casella, E. M., Thomas, T. C., Vanino, D. L., Fellows-Mayle, W., Lifshitz, J., Card, J. P., & Adelson, P. D. (2014). Traumatic brain injury alters long-term hippocampal neuron morphology in juvenile, but not immature, rats. *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*, 30(8), 1333–1342. <https://doi.org/10.1007/s00381-014-2446-z>
3. Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Injury Prevention and Control: Traumatic Brain Injury. Available at: <http://www.cdc.gov/ncipc/tbi/TBI.htm>
4. Duan, W., Zhang, Y. P., Hou, Z., Huang, C., Zhu, H., Zhang, C. Q., & Yin, Q. (2016). Novel Insights into NeuN: from Neuronal Marker to Splicing Regulator. In *Molecular Neurobiology* (Vol. 53, Issue 3, pp. 1637–1647). Humana Press Inc. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9122-5>
5. Emsley, J. G., Mitchell, B. D., Kempermann, G., & Macklis, J. D. (2005). Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells. *Progress in Neurobiology*, 75(5), 321–341. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.04.002>
6. Ferrara, M., Bertozzi, G., Volonnino, G., di Fazio, N., Frati, P., Cipolloni, L., la Russa, R., & Fineschi, V. (2022). Glymphatic System a Window on TBI Pathophysiology: A Systematic Review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 16). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23169138>
7. Galgano, M., Toshkezi, G., & Qiu, X. (2017). Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors. In *Cell*

Transplantation 2017, Vol. 26(7) 1118-1130 (pp. 83–118). CRC Press.  
<https://doi.org/10.1177/0963689717714102>

8. García-González, D., Dumitru, I., Zuccotti, A., Yen, T. Y., Herranz-Pérez, V., Tan, L. L., Neitz, A., García-Verdugo, J. M., Kuner, R., Alfonso, J., & Monyer, H. (2021). Neurogenesis of medium spiny neurons in the nucleus accumbens continues into adulthood and is enhanced by pathological pain. *Molecular Psychiatry*, 26(9), 4616–4632. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0823-4>
9. Ginsberg, L. (2017). *Lecture Notes Neurologi Edisi 9 Erlangga*. 113–115.
10. Gusel'nikova, V. V., & Korzhevskiy, D. E. (2015). NeuN As a Neuronal Nuclear Antigen and Neuron Differentiation Marker. In *Acta naturae* (Vol. 7, Issue 2, pp. 42–47). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26085943/>
11. Jurkowski, M. P., Bettio, L., K. Woo, E., Patten, A., Yau, S. Y., & Gil-Mohapel, J. (2020). Beyond the Hippocampus and the SVZ: Adult Neurogenesis Throughout the Brain. In *Frontiers in Cellular Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.576444>
12. Li, Y. Q., Kong, D. X., & Wu, H. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269-278.
13. Luo, Y., Yang, Y. P., Liu, J., Li, W. H., Yang, J., Sui, X., ... & Wang, Y. A. (2014). Neuroprotective effects of madecassoside against focal cerebral ischemia reperfusion injury in rats. *Brain research*, 1565, 37-47.
14. Nahmani, M., & Turrigiano, G. G. (2014). Adult cortical plasticity following injury: Recapitulation of critical period mechanisms? In *Neuroscience* (Vol. 283, pp. 4–16). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.029>
15. Pan, W., Cao, Z., Liu, D., & Jiao, Y. (2020). Protective Effect of Diphenhydramine against Traumatic Brain Injury in Rats via Modulation of Oxidative Stress and Inflammation. *Pharmacology*, 105(1–2), 47–53. <https://doi.org/10.1159/000502767>

16. Peters, A. J., Villasana, L. E., & Schnell, E. (2018). Ketamine Alters Hippocampal Cell Proliferation and Improves Learning in Mice after Traumatic Brain Injury. *Anesthesiology*, 129(2), 1278–1295. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002197>
17. Schoenfeld, T. J., & Gould, E. (2012). Stress, stress hormones, and adult neurogenesis. *Experimental Neurology*, 233(1), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.01.008>
18. Seevaratnam V, Banumathi P, Premalatha M.R, Sundaram S.P, Arumugam T. (2012). Functional Properties of Centella Asiatica (L.). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4: 8-14
19. Sorrenti, V., Castagna, D. A., Fortinguerra, S., Buriani, A., Scapagnini, G., & Willcox, D. C. (2021). Spirulina microalgae and brain health: A scoping review of experimental and clinical evidence. In *Marine Drugs* (Vol. 19, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/md19060293>
20. Thaakur, S., & Sravanthi, R. (2010). Neuroprotective effect of Spirulina in cerebral ischemia–reperfusion injury in rats. *Journal of Neural Transmission*, 117(9), 1083–1091. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0440-5>
21. Trotta, T., Porro, C., Cianciulli, A., & Panaro, M. A. (2022). Beneficial Effects of Spirulina Consumption on Brain Health. In *Nutrients* (Vol. 14, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nu14030676>
22. Ünal-Çevik, I., Kiliç, M., Gürsoy-Özdemir, Y., Gurer, G., & Dalkara, T. (2004). Loss of NeuN immunoreactivity after cerebral ischemia does not indicate neuronal cell loss: A cautionary note. *Brain Research*, 1015(1–2), 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.04.032>
23. Wang, J., Daniszewski, M., Hao, M. M., Hernández, D., Pébay, A., Gleeson, P. A., & Fourriere, L. (2023). Organelle mapping in dendrites of human iPSC-derived neurons reveals dynamic functional dendritic Golgi structures. *Cell Reports*, 42(7). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112709>

24. Wu, K. L., Li, Y. Q., Tabassum, A., Lu, W. Y., Aubert, I., & Wong, C. S. (2010). Loss of neuronal protein expression in mouse hippocampus after irradiation. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 69(3), 272–280. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181d1afe4>
25. Zhang, M. H., Zhou, X. M., Cui, J. Z., Wang, K. J., Feng, Y., & Zhang, H. A. (2018). Neuroprotective effects of dexmedetomidine on traumatic brain injury: Involvement of neuronal apoptosis and HSP70 expression. *Molecular Medicine Reports*, 17(6), 8079–8086. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8898>

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Surat Persetujuan Etik



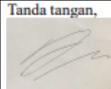
KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS MATARAM  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
Jalan Pendidikan No.37, Telp. 640874 Fax. 641717 Mataram 83125 - NTB

#### SURAT KEPUTUSAN PERSETUJUAN ETIK

No: 445/UN18.F8/ETIK/2023

Tanggal: 31 Oktober 2023

Dengan ini menyatakan bahwa protokol dan dokumen yang berhubungan dengan protokol berikut ini telah mendapatkan persetujuan etik :

No. Protokol	UNRAM2351023	Sponsor : Mandiri
Judul Penelitian	Peran Obat Kombinasi Pegagan, Kayu Manis, dan Spirulina dalam Meningkatkan Neurogenesis pada Tikus dengan Cedera Otak Traumatik pada Fase Sub Akut	
Ketua Peneliti	Raditya Bayu Farizil Akhyar	
Anggota Peneliti	Dr. dr. Rohadi, Sp.BS (K), FICS, FINPS dan dr. Bambang Priyanto, Sp.BS(K)	
Tempat Penelitian	Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram	
Masa Berlaku	31 Oktober 2023 – 31 Oktober 2024	
Jenis Review	<input checked="" type="checkbox"/> Exempted <input type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard	
Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK Unram	Nama :	Tanda tangan,
	dr. Ario Danianto, Sp. OG	 
Wakil Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK Unram	Nama :	Tanda tangan,
	dr. Linda Silvana Sari, M.Biomed., Sp.A	 

#### Catatan :

1. Peneliti wajib menyerahkan hasil penelitian selambat – lambatnya 1 (satu) bulan setelah selesai penelitian kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unram. Apabila laporan penelitian tidak diserahkan, maka Komisi Etik berhak untuk membatalkan persetujuan yang diberikan.
2. Apabila pelaksanaan penelitian tidak sesuai dengan usulan kegiatan, Komisi Etik tidak bertanggung jawab terhadap kelayakan etik penelitian tersebut.
3. Apabila ada perubahan prosedur/kegiatan penelitian, mohon agar mengusulkan kembali proposal kelayakan etik kepada Komisi Etik.
4. Penyalahgunaan terhadap Surat Keputusan Persetujuan Telaah Etik menjadi tanggung jawab peneliti.

### Lampiran 2. Tabel statistik SPSS

#### Correlations

		Perlakuan	Placebo
Spearman's rho	Perlakuan	Correlation	1.000
		Coefficient	.791
		Sig. (2-tailed)	.111
		N	6
Placebo	Perlakuan	Correlation	.791
		Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.111
		N	5

### Lampiran 3. Berat Badan Tikus dan Dosis

#### Berat Badan Tikus Kelompok Subakut serta Dosis Pemberian Ekstrak Kombinasi dan Placebo

No.	Hewan	Kode	BB (gram)	Dosis (ml)
1.	Perlakuan 1	PR 1 SA	250	1.25
2.	Perlakuan 2	PR 2 SA	300	1.5
3.	Perlakuan 3	PR 3 SA	260	1.25
4.	Perlakuan 4	PR 4 SA	305	1.5
5.	Perlakuan 5	PR 5 SA	296	1.5
6.	Perlakuan 6	PR 6 SA	225	1.0
7.	Placebo 1	PC 1 SA	240	1.2
8.	Placebo 2	PC 2 SA	330	1.6
9.	Placebo 3	PC 3 SA	255	1.25
10.	Placebo 4	PC 4 SA	210	1.0
11.	Placebo 5	PC 5 SA	290	1.45
12.	Placebo 6	PC 6 SA	205	1.0

Dosis pemberian: 1 ml/200g BB/hari

### Lampiran 4. Hasil perhitungan neurogenesis

#### Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia NeuN pada Sel Otak Tikus Pasca Cedera Otak Traumatik Fase Subakut (dengan pembesaran 200x)

Jenis Sampel	Kode Sampel	Persentase Neurogenesis (%)
Perlakuan	PR 1 SA	60
	PR 2 SA	70
	PR 3 SA	80
	PR 4 SA	80
	PR 5 SA	70
	PR 6 SA	70
Placebo	PC 1 SA	50
	PC 2 SA	70
	PC 3 SA	80
	PC 4 SA	85
	PC 5 SA	40

Mengetahui,



dr. Lale Maulin Prihatina, Sp.P.A  
NIP. 198512112014042001