

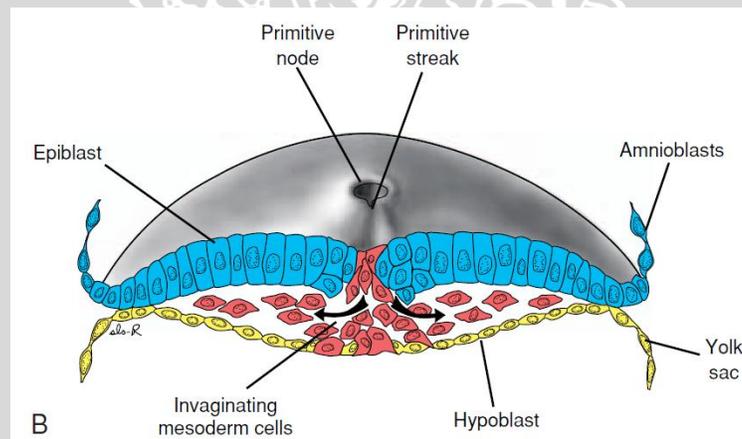
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Perkembangan Sistem Saraf Pusat pada Embrio

2.1.1. Gastrulasi

Gastrulasi merupakan awal terbentuknya sistem saraf pusat (Winn, 2011). Gastrulasi merupakan proses terbentuknya tiga lapisan *germinativum* (**ektoderm**, **mesoderm** dan **endoderm**). Proses ini terjadi selama minggu ketiga, diawali oleh pembentukan *primitive streak* di permukaan epiblas (gambar 2.1).



Gambar 2.1 : memperlihatkan invaginasi sel-sel epiblas. Sel-sel pertama yang bergerak ke dalam menggeser hipoblas untuk menciptakan endoderm definitif. Setelah endoderm definitif terbentuk, epiblas yang masuk ke dalam membentuk mesoderm (Sadler, 2006)

Awalnya, *primitive streak* tidak terlalu jelas terlihat, namun pada saat embrio berusia 15-16 hari, garis ini terlihat jelas sebagai alur sempit dengan bagian yang sedikit menonjol di kedua sisi. Ujung sefalik garis ini, *primitive node*, terdiri dari daerah yang sedikit meninggi yang mengelilingi *primitive pit* kecil (gambar 2.1). Sel-

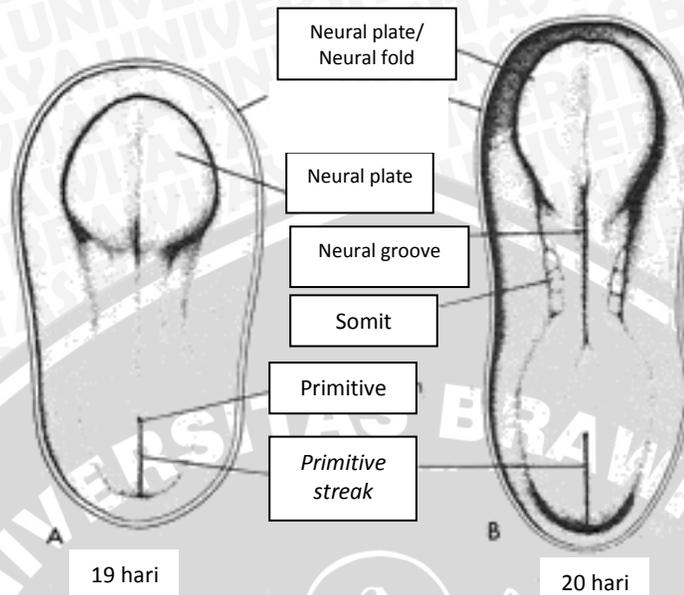
sel epiblas bermigrasi ke arah *primitive streak*. Setelah tiba di regio *primitive streak*, sel-sel ini menjadi berbentuk botol, terlepas dari epiblas dan terselip di bawahnya. Gerakan ke arah dalam ini dikenal sebagai **invaginasi**. Setelah mengalami invaginasi, sebagian sel kemudian menggeser hipoblas, menciptakan endoderm embrional dan yang lain menjadi terletak di antara epiblas dan endoderm yang baru terbentuk untuk membentuk mesoderm. Sel-sel yang tersisa di epiblas membentuk ektoderm (Sadler, 2006).

2.1.2. Induksi

Sinyal-sinyal *organizer* menginduksi ekspresi gen-gen yang *neural spesifik* dan menentukan morfologi *pseudo-stratified epithelial* pada sel-sel ektoderm yang kompeten. Tiga mekanisme *signaling* yang terlibat dalam proses induksi neural adalah hambatan pada *Bone Morphogenic Protein (BMP) signaling*, aktivasi *Fibroblast Growth Factor (FGF)* dan jalur *Wnts* (Corral, 2001). *Fibroblast Growth Factor* diketahui menginisiasi induksi neural dengan menekan *BMP4*. Jika *BMP4* dihambat, ektoderm akan mengalami *neuralisasi* (Sadler, 2006).

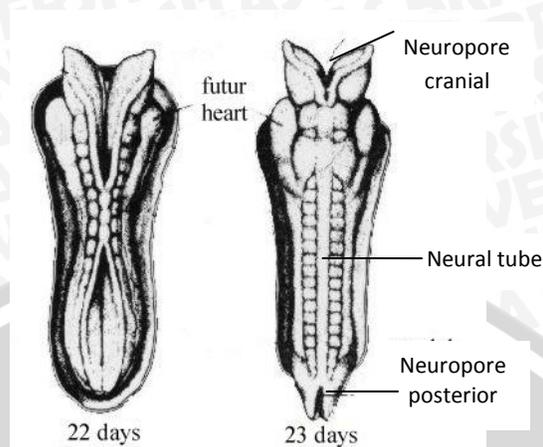
2.1.3. Neurulasi

Neurulasi merupakan proses *neural plate* menjadi *neural tube* (Winn, 2011). Jika induksi telah dimulai, *neural plate* yang memanjang seperti sandal secara bertahap meluas ke arah *primitive streak*. Pada akhir minggu ketiga, tepi lateral *neural plate* meninggi untuk membentuk *neural fold* dan bagian tengah yang cekung membentuk *neural groove*. (Gambar 2.2)



Gambar 2.2 : menunjukkan pandangan dorsal embrio pada sekitar 20 hari yang memperlihatkan somit dan pembentukan neural groove dan neural fold (Sadler, 2006)

Secara bertahap, *neural fold* saling mendekati di garis tengah tempat keduanya menyatu. Penyatuan dimulai di regio servikal, kemudian ke arah kranial dan kaudal. Penyatuan ini akan membentuk *neural tube*. Sampai penyatuan tersebut tuntas, ujung sefalik dan kaudal *neural tube* berhubungan langsung dengan rongga amnion masing-masing melalui *neuroporus kranialis (anterior)* dan *kaudalis (posterior)* (Sadler, 2006) (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 : menunjukkan perkembangan *neural tube* (Sadler, 2006).

Secara normal, pada manusia *neuropore anterior (kranialis)* akan menutup pada hari ke-24 dan *neuropore posterior (kaudalis)* akan menutup pada hari ke-28. Kegagalan menutupnya *neuropore anterior* dapat mengakibatkan *anencephaly* dan kegagalan menutupnya *neuropore posterior* dapat mengakibatkan *spina bifida* (Winn, 2011).

2.2. Genistein

Isoflavon genistein (*4',5,7-trihydroxyisoflavone*) merupakan senyawa aktif utama yang ditemukan pada kacang kedelai. Senyawa ini larut dalam pelarut organik seperti DMSO, dimethyl formamide, acetone, ethanol (Tang *et al*, 2011). Genistein memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_5$, dengan berat molekul 270.24. Senyawa ini berbentuk kristal tidak berwarna dengan titik lebur 296-298⁰C. Sukar larut dalam asam glacial / ethanol dingin, sangat larut dalam ether dan ethanol panas. Senyawa ini akan berwarna kuning jika dilarutkan dalam larutan alkali dan menjadi merah-kehitaman pada larutan *ethanolic iron chloride (III)* (Food Safety Commision, 2006).

Total Isoflavone, Daidzein and Genistein Aglycone Content of Selected Foods				
Food	Serving	Total Isoflavones (mg)	Daidzein (mg)	Genistein (mg)
Soy protein concentrate, aqueous washed	3.5 oz	102	43	56
Soy protein concentrate, alcohol washed	3.5 oz	12	7	5
Miso	½ cup	59	22	34
Soybeans, boiled	½ cup	47	23	24
Tempeh	3 ounces	37	15	21
Soybeans, dry roasted	1 ounce	37	15	19
Soy milk	1 cup	30	12	17
Tofu yogurt	½ cup	21	7	12
Tofu	3 ounces	20	8	12
Soybeans, green, boiled (Edamame)	½ cup	12	6	6
Meatless (soy) hot dog	1 hot dog	11	3	6
Meatless (soy) sausage	3 links	3	0.6	2
Soy cheese, mozzarella	1 oz	2	0.3	1

Source: <http://pi.oregonstate.edu/infocenter/phytochemicals/soyiso/index.html#source>

Tabel 2.1 : menunjukkan kandungan isoflavone genistein dan daidzein pada berbagai macam bahan olahan kedelai

2.3 Farmakokinetik dan Farmakodinamik Genistein

Genistein diabsorpsi dengan cepat dan hampir sepenuhnya secara *in vivo* karena berat molekul yang kecil dan properti lipofilik yang menguntungkan. Studi perfusi usus *in situ* menunjukkan bahwa genistein memiliki absorpsi yang sedang – tinggi pada usus tikus dengan 77% penyerapan pada dosis 10 μM dan 46,4% pada dosis 12 μM (Chen *et al.*, 2003). Genistein cepat dimetabolisme dengan plasma T_{max} kurang dari 30 menit setelah administrasi per oral yang menunjukkan tingkat metabolisme yang sangat tinggi di usus dan hati (Strassburg *et al.*, 1998). Genistein memiliki konsentrasi tertinggi dalam usus (18,5 $\mu\text{g} / \text{g}$), hati (0,98 $\mu\text{g} / \text{g}$), plasma (0,79 $\mu\text{g} / \text{g}$) dan jaringan reproduksi (uterus, ovarium, vagina dan prostat, bervariasi antara 0,12-0,28 $\mu\text{g} / \text{g}$) pada tikus (Coldham and Sauer, 2000). Genistein terakumulasi di usus (1,50 $\mu\text{g} / \text{g}$), hati (1,13 $\mu\text{g} / \text{g}$), ginjal (0,41 $\mu\text{g} / \text{g}$), paru-paru (0,27 $\mu\text{g} / \text{g}$), jantung (0,23 $\mu\text{g} / \text{g}$), otak (0,1 $\mu\text{g} / \text{g}$), organ reproduksi (0,09-0,22 $\mu\text{g} / \text{g}$), dan otot (0,07 $\mu\text{g} / \text{g}$) pada 6 jam setelah administrasi per oral 12,5 mg / kg

genistein pada tikus (Zhou *et al.*, 2008). Genistein dapat melewati plasenta (Balakrishnan *et al.*, 2010).

2.4. Mekanisme Kerja Genistein

Genistein diketahui menghambat *Wnt5a* dan meningkatkan *sfrp2* (*Wnt* antagonis) dengan menekan *signaling Wnt* baik secara langsung maupun tak langsung (Roy *et al.*, 2013). Genistein juga menghambat *Wnt signaling* pada renal cancer (Hirata *et al.*, 2013). Genistein diketahui menghambat ekspresi *FGF* pada *scleraxis* (Kawa-uchi *et al.*, 1998).

Genistein juga menghambat topoisomerase DNA dan Protein Tirosin Kinase (Akiyama *et al.*, 1987), serta memiliki antioksidan dan siklus sel aktivitas inhibitor. Penghambatan kinase umumnya dianggap sebagai spesifik untuk tirosin kinase, seperti faktor pertumbuhan epidermal (EGF) reseptor, meskipun pada konsentrasi yang lebih tinggi genistein juga menghambat protein kinase histidin (Dixon and Ferreira, 2002).

2.5. Embrio Ayam

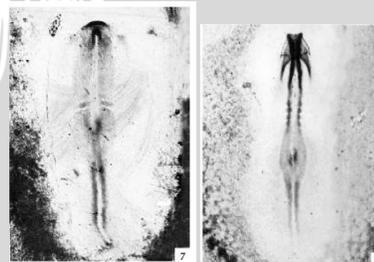
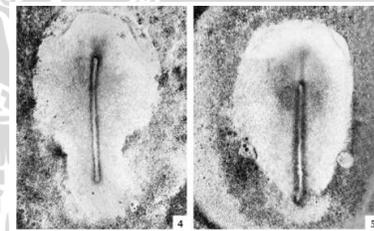
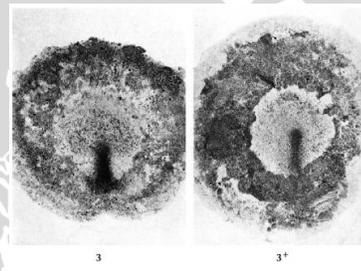
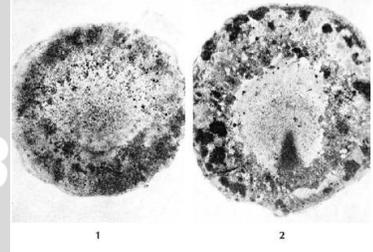
Dalam 50 tahun terakhir, embrio ayam telah menjadi suatu model penting untuk mempelajari perkembangan biologi pada vertebrae (Stern, 2004). Perkembangan awal embrio ayam memiliki kemiripan dengan embrio manusia sehingga hasilnya bisa lebih relevan dibanding menggunakan model vertebrae yang lebih rendah (ikan) (Colas, 2001).

Ketika *primitive streak* sepenuhnya terbentuk (stadium 4 HH) tahap pertama gastrulasi telah selesai dan jaringan yang akan berkembang akan tersusun di sekitar ujung anterior. Selama 12 jam berikutnya jaringan tersebut akan berubah menjadi

sumbu embrio dasar yang terdiri dari ektoderm, mesoderm dan endoderm (Bellairs, 2005).

Deskripsi tiap tahapan perkembangan embrio ayam telah dideskripsikan secara rinci oleh Hamburger-Hamilton 1951 :

- Stage 1 : *Pre-streak*. Sebuah embrio yang berbentuk seperti perisan dapat terlihat menuju setengah posterior blastoderm.
- Stage 2 : *Initial streak* (6-7 jam). *Primitive streak* pendek dan berbentuk kerucut (0,3-0,5 mm).
- Stage 3 : *Intermediate streak* (12-13 jam). *Primitive streak* meluas ke sekitar pusat wilayah pelusida.
- Stage 4 : *Definitive streak* (18-19 jam). *Primitive streak* telah mencapai panjang maksimum (sekitar 1.88 mm). *Primitive groove*, *primitive pit* dan *Hensen's node* telah muncul. Daerah pelusida berbentuk buah pir dan *primitive streak* memanjang sekitar dua pertiga sampai tiga perempat panjangnya.
- Stage 7 : Sepasang somit (23-26 jam). *Neural fold* terlihat pada daerah kepala.



- Stage 8 : Empat pasang somit (26-29 jam).
Neural fold bertemu pada tingkat *midbrain*.
Blood island mulai terlihat pada setengah posterior blastoderm.
- Stage 9 : Tujuh pasang somit (29-33 jam).
Vesikel optik primer mulai muncul. Primordia jantung mulai menyatu.
- Stage 10 : Sepuluh pasang somit (33-38 jam).
Fleksi cranial mulai terlihat. Tiga vesikel otak primer terlihat jelas. Primordia jantung menyatu, membungkuk sedikit ke kanan.
- Stage 11 : Tiga belas pasang somit (40-45 jam). Terdapat *fleksi cranial*. Lima neuromeres dari *hindbrain* bisa dibedakan. *Neuropore anterior* menutup. Optik vesikel mengalami konstriksi pada basisnya. Jantung membungkuk ke kanan.
- Stage 12 : Enam belas pasang somit (45-49 h). Kepala berubah ke sisi kiri. *Neuropore posterior* menutup. Telencephalon mulai teridentifikasi. Vesikel optik Primer dan tangkai optik telah terbentuk.

