

Vitania

*Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI*

## **Potensi Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Neuroprotektor terhadap Distribusi Fosfolipid pada Tikus Model Traumatic Brain Injury (TBI)**

Lilin Andreas Vitania

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

### **Abstrak**

*Traumatic Brain Injury (TBI) merupakan gangguan sistem saraf pusat. Phytosome ekstrak Pegagan adalah model delivery drug system untuk meningkatkan efek terapi dari ekstrak Pegagan sebagai neuroprotektif. Penelitian ini bertujuan membuktikan dan membandingkan efektivitas phytosome ekstrak Pegagan dan Citicoline sebagai neuroprotektor yang ditandai dengan peningkatan distribusi fosfolipid pada tikus model TBI. Tikus diinduksi TBI menggunakan tabung silinder besi 45 gram. Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok: kontrol (-), kontrol (+), kelompok yang diberi phytosome ekstrak Pegagan 90 mg/kgBB, kelompok yang diberi Citicoline 250 mg/kgBB, dan kelompok yang diberi keduanya. Melalui hasil uji ANOVA ditunjukkan bahwa phytosome ekstrak Pegagan dapat meningkatkan distribusi fosfolipid secara bermakna dan signifikan ( $p<0,05$ ). Kesimpulan penelitian adalah phytosome ekstrak Pegagan dapat meningkatkan distribusi fosfolipid pada tikus model TBI dan phytosome ekstrak Pegagan yang dikombinasikan dengan Citicoline dapat meningkatkan distribusi fosfolipid lebih tinggi dibandingkan dengan phytosome ekstrak Pegagan atau Citicoline saja.*

**Kata kunci :** TBI, distribusi fosfolipid, phytosome, Pegagan.

### **Abstract**

*Traumatic Brain Injury (TBI) is a disorder of the central nervous system. Pegagan extract phytosome is a model of drug delivery systems to enhance the therapeutic effects of Pegagan extracts as a neuroprotective. This study aims to demonstrate and compare the effectiveness of Pegagan extracts phytosome and Citicoline as a neuroprotective characterized by increased distribution of phospholipids in rat models of TBI. Mice induced TBI using a metal cylindrical tube 40 gram. Rats are grouped into 5 groups: control (-), control (+), the group given Pegagan extract phytosome 90 mg/kg, group given Citicoline 250 mg/kg, and the group given both. Through the ANOVA test results indicated that Pegagan extract phytosome can increase significantly phospholipid distribution and significant ( $p <0.05$ ). Conclusion of the study is Pegagan extract phytosome may increase the distribution of phospholipids and Pegagan extract phytosome combined with Citicoline may increase the distribution of phospholipids higher than Pegagan extract phytosome or Citicoline only.*

**Keywords :** TBI, the distribution of phospholipids, phytosome, pegagan.

---

Korespondensi : Lilin A. V. Jl. Veteran, Malang, Jawa Timur 65145 Email : lulinandreas4@gmail.com

Vitania

*Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI*

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

*Traumatic Brain Injury* (TBI) merupakan penyebab gangguan mekanik langsung jaringan otak yang menjadi penyebab utama kematian dan kecacatan di negara maju maupun negara berkembang.<sup>1</sup> Setiap tahunnya, di Amerika Serikat tercatat sekitar 1,7 juta orang menderita TBI.<sup>2</sup> Di Indonesia, tepatnya di DKI Jakarta, tercatat 53,4% korban kecelakaan mengalami cedera parah pada bagian kepala.<sup>3</sup> Bukti terbaru mengidentifikasi terjadinya degenerasi aksonal dalam otak manusia setelah TBI. Kerusakan akson menyebabkan penurunan sintesis protein *Neuregulin-1* (NRG-1) sehingga tidak terjadi proses mielinasi dan terjadi gangguan distribusi fosfolipid membran sel saraf.

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman yang sering ditemui di semua wilayah di Indonesia. Ekstrak Pegagan memiliki efek neuroprotektor, salah satunya dengan memperbaiki fungsi saraf melalui aktivasi gen regulator *Krox-20* sebagai faktor transkripsi dari protein NRG-1.<sup>4</sup> Namun, komponen fitokimia Pegagan cenderung bersifat polar sehingga diperlukan perbaikan farmakokinetika bahan aktif ekstrak menggunakan teknologi *phytosome*.<sup>5</sup>

Di sisi lain, Indonesia masih memakai Citicoline sebagai obat neuroprotektor utama. Citicoline diketahui dapat memperbaiki dan mencegah kerusakan lebih lanjut pada membran sel saraf yang rusak akibat

trauma. Namun, dalam sebuah penelitian dengan menggunakan dosis Citicoline 2000 mg/d digunakan kepada manusia untuk pemakaian 90 hari tidak memberikan perbaikan dari segi fungsional maupun kognitif pasca TBI.<sup>6</sup> Berdasarkan hal tersebut, penulis mencoba membuat sebuah penelitian dengan membandingkan efek neuroprotektif *phytosome* ekstrak Pegagan dengan citicoline sebagai obat yang digunakan saat ini.

### Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan dan membandingkan efek neuroprotektor pada tikus model TBI *phytosome* ekstrak Pegagan terhadap terapi Citicoline yang ditandai dengan peningkatan distribusi fosfolipid.

## METODE PENELITIAN

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni secara *in vivo* dengan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design* menggunakan tikus wistar jantan usia 4 - 5 bulan dengan berat 200 - 300 gram. Tikus dibagi menjadi 7 kelompok, yaitu:

- Kontrol negatif ( $n = 6$ ) : tikus sehat tanpa diberikan perlakuan apapun.
- Kontrol positif ( $n = 6$ ) : tikus diinduksi TBI tanpa diberikan perlakuan.
- Perlakuan 1 ( $n = 6$ ) : tikus diinduksi TBI diberikan

Vitania

## Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI

- *phytosome* ekstrak Pegagan (90mg/kgBB).
- Perlakuan 2 (n = 6) : tikus diinduksi TBI dan diberikan Citicoline dosis 250 mg/kgBB.
- Perlakuan 3 (n = 6) : tikus diinduksi TBI dan diberikan *phytosome* ekstrak Pegagan + Citicoline.
- Tikus pada kelompok kontrol maupun perlakuan dibedah H+3 TBI.

*Phytosome* ekstrak Pegagan diinjeksikan melalui rute i.p. 2 jam setelah induksi TBI. Pengukuran distribusi fosfolipid menggunakan immunohistokimia.

### Populasi dan Sampel Penelitian

Berdasarkan rumus Federer, jumlah sampel tiap perlakuan minimal 5 ekor tikus, kami menggunakan 6 sampel tiap perlakuan, maka jumlah total tikus yang dibutuhkan sejumlah 30 ekor menggunakan *simple random sampling*.

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Patologi Anatomi, Fitoterapi, Farmasetika, dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, serta Farmakologi Universitas Muhammadiyah Malang selama 4 bulan.

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat penelitian terdiri dari *magnetic stirrer*, *rotary evaporator*; kandang; tempat minum, dan makanan tikus; peralatan anestesi

intraperitoneal; tabung silinder besi 1m diameter 5mm; beban besi 45g; meja operasi; timbangan; sput 1 mL; pipet hisap; pipet tetes; imunohistokimia kit; dan peralatan jahit. Bahan penelitian terdiri dari *phytosome* ekstrak Pegagan, Citicoline, xyla dan ketamin 100cc, serta povidon iodin 10% 50cc.

### Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian *phytosome* ekstrak pegagan dan citicoline sedangkan variabel terikat adalah distribusi fosfolipid.

### Perawatan Tikus

Tikus ditimbang dan diadaptasi selama 1 minggu di dalam kandang (30 x 30 cm) yang diisi dengan 3 ekor tikus. Tikus diberi makan 1 kali sehari.

### Ekstraksi Pegagan

Setiap 4 kg simplisia ditambahkan 20 liter etanol 75%, dicampur dalam maserator dengan pengadukan pelan 30 menit. Setelah disimpan selama 24 jam dilakukan proses remerasi. Filtrat disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* (suhu 30°C) dan *di-vacum drying* untuk menghilangkan kadar air.<sup>7,8</sup>

### Pembuatan *Phytosome*

Metode yang digunakan dalam pembuatan *phytosome* adalah metode sonikasi (mencampur ekstrak Pegagan dengan lesin dan etanol) lalu distirer 30 menit dengan *magnetic stirrer* 1300 rpm. Dilakukan penguapan pelarut dengan *rotary evaporator*

Vitania

## Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI

kemudian dihidrasi dengan aqua bebas CO<sub>2</sub>.<sup>9</sup>

### Induksi Traumatic Brain Injury (TBI)

Tikus dianastesi dengan xyla (5 mg/kgBB) dan ketamin (50 mg/kgBB) intraperitoneum. Bulu kepala dicukur dan dibersihkan dengan alkohol 70%. Silinder besi seberat 40 gram dijatuhkan dari ketinggian 1,5 meter menggunakan tabung silinder besi ke atas kulit kepala yang telah dicukur. Sepuluh menit kemudian, masing-masing kelompok perlakuan diberi *phytosome* ekstrak Pegagan, Citicoline, dan gabungan keduanya melalui injeksi intraperitoneal.

### Pemeriksaan Distribusi Fosfolipid

Sampel yang sudah diblok dengan parafin di deparafinasi lalu disimpan selama 24 jam dan dilakukan pengecatan IHK. Sampel dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 2x5 menit, tetesi larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selama 30 menit, cuci dengan PBS sebanyak 3x5 menit, lakukan *blocking* protein dengan serum 1% selama 20 menit, cuci dengan PBS 3x5 menit, inkubasi dengan antibodi primer dalam serum 1 : 500 selama 2 jam pada suhu ruang, cuci dengan PBS 3 x 5 menit, inkubasi dengan antibodi sekunder 1 : 500 selama 1 jam pada suhu ruang, cuci dengan PBS 3 x 5 menit, tetesi polimer selama 40 menit, cuci dengan PBS 2 x 5 menit, cuci dengan aquadest sebanyak satu kali, tetesi dengan diamono benzidine (DAB) dan dibiarkan selama 20 menit, cuci

dengan aquadest, tetesi dengan mayer hematoxilen selama 5 menit, tambahkan aquadest, diamkan selama 10 menit, cuci dengan aquadest mengalir, keringkan selama 3 jam, tetesi dengan entelan, dan terakhir tutup dengan coverslip.<sup>10</sup> Kemudian dilakukan pemeriksaan fosfolipid dengan pembesaran 40 x obyektif dengan 10 lapang pandang pada tiap slide.

### Analisis Data

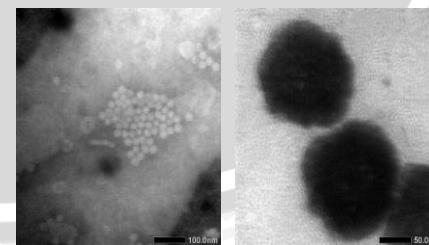
Hasil penghitungan fosfolipid dianalisa dengan IBM SPSS versi 20 dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95%.<sup>11</sup>

## HASIL PENELITIAN

### Karakterisasi Ekstrak dan *Phytosome* Ekstrak Pegagan

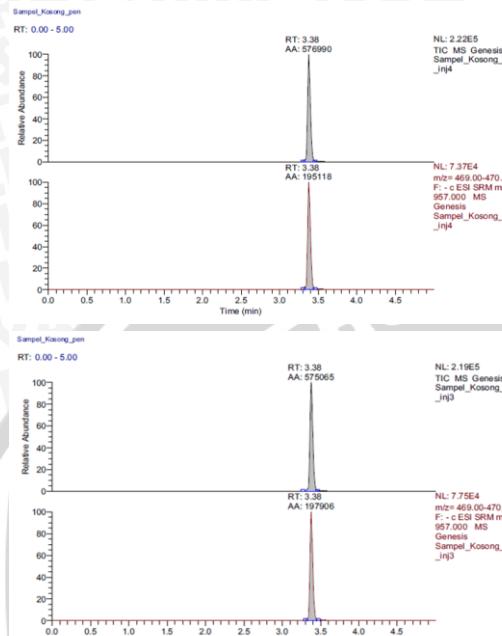
#### Visualisasi Partikel menggunakan Scanning Electron Microscopy

Dari hasil *Transmission Electron Microscopy* terlihat ukuran partikel *phytosome* ekstrak pegagan ±100 nm dan memiliki morfologi membentuk satu lapisan lipid serta didapatkan rentang diameter *phytosome* antara 1,39 - 2,06 µm.

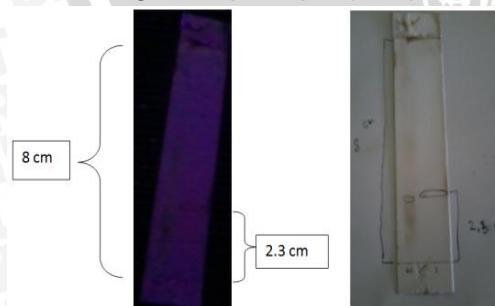


Gambar 1. Visualisasi Bentuk dan Ukuran Partikel *Phytosome*

Vitania

*Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI**Uji Kuantitatif menggunakan LC-MS/MS*

Penetapan kadar asiatikosida menggunakan metode LC-MS/MS tervalidasi. Kadar asiatikosida ekstrak etanol 70% pegagan yang didapatkan adalah 0.232%.

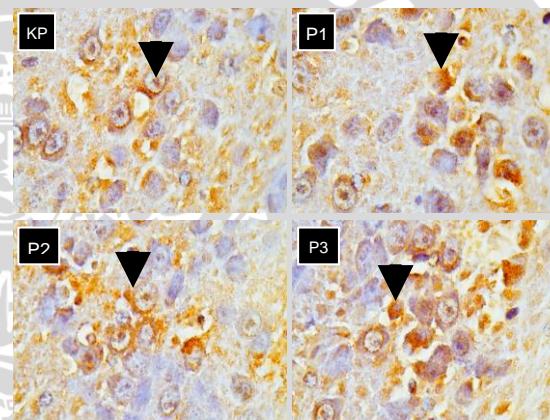
*Uji Kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)***Gambar 2.** Plat KLT (A)UV, (B) visual

Hasil uji KLT menunjukkan adanya noda senyawa asiatikosida di dalam ekstrak yang terdapat pada  $R_f = 0,2750$ . Nilai ini mendekati standard

asiatikosida dengan  $R_f = 0,2875$ . Menurut Wagner tahun 1996, noda senyawa asiatikosida terletak pada rentang 0.2 - 0.35. Hasil ini menyatakan secara kualitatif senyawa asiatikosida terdapat pada ekstrak etanol 70% Pegagan .

**Distribusi Fosfolipid**

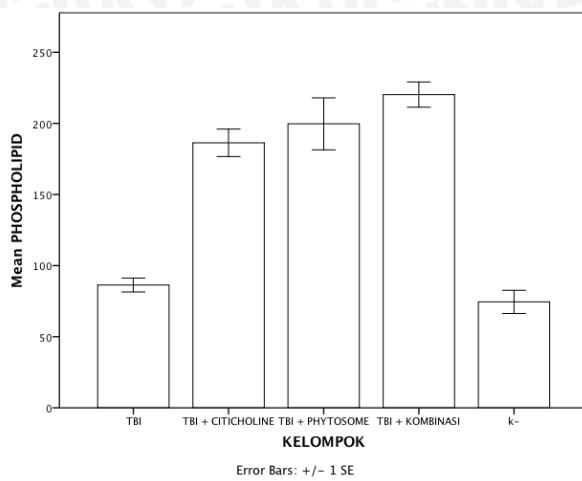
Perhitungan distribusi fosfolipid dilakukan dengan pengamatan slide preparat menggunakan software *Scan dot Slide Olivya*.

**Gambar 2.** Gambaran Histopatologi Distribusi Fosfolipid pada Jaringan Otak**Tabel 1.** Data Hasil Distribusi Fosfolipid pada Semua Kelompok Tikus

Kelom-pok	X	SD	Min	P
KP	86,33	8,386	81	
KN	74,50	16,361	55	
P1	199,67	31,664	165	$P < 0,05$
P2	186,33	16,773	167	$P < 0,05$
P3	220,25	17,689	203	$P < 0,05$

**Keterangan :** KN (kontrol [-] : tidak diberi perlakuan) ; KP (kontrol [+] : diinduksi TBI); P1 (diinduksi TBI + *phytosome* ekstrak Pegagan 90mg/kgBB); P2 (diinduksi TBI + Cicitoline 250mg/kgBB); P3 (diinduksi TBI + *phytosome* ekstrak Pegagan 90mg/kgBB + Cicitoline 250mg/kgBB).

Vitania

*Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI*

**Gambar 3.** Grafik Perbandingan Rerata Jumlah Distribusi Fosfolipid

Analisa untuk pengukuran hasil distribusi fosfolipid pada semua kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus perlakuan dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product Service Solution* (SPSS) versi 20 dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Dilakukan beberapa tahap pengujian, yaitu uji normalitas, uji homogenitas, uji One Way ANOVA, dan uji Pearson.

Uji normalitas menunjukkan nilai ( $p > 0,05$ ) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ), menandakan bahwa persebaran data homogen, sehingga pengujian dapat dilanjutkan untuk uji komparatif dengan uji One Way ANOVA.

Uji One Way ANOVA terhadap distribusi fosfolipid menunjukkan nilai  $p = 0,00$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa paling tidak terdapat 2 kelompok yang memiliki

perbedaan signifikan. Hasil ini juga menunjukkan bahwa pemberian terapi pada tikus model TBI memberikan pengaruh yang signifikan terhadap distribusi fosfolipid yang terpengaruh oleh variabel bebas. Oleh karena itu perlu dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 ( $p < 0,05$ ) pada distribusi fosfolipid.

Perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 menunjukkan bahwa pemberian *phytosome* ekstrak Pegagan 90 mg/KgBB, Citicoline 250 mg/KgBB, dan kombinasi *phytosome* ekstrak Pegagan dengan Citicoline mampu memberikan efek peningkatan distribusi fosfolipid yang bermakna pada akson jaringan otak tikus yang diinduksi TBI.

## PEMBAHASAN

### Karakterisasi *Phytosome* Ekstrak Pegagan

Uji kualitatif dengan KLT dilihat dari deteksi noda dan nilai Rf, dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai Rf yang sama jika diukur pada kondisi KLT (fase diam dan fase gerak) yang sama. Pada penelitian ini didapatkan nilai Rf standar asiatisida = 0.2875 dan Rf senyawa asiatisida dalam ekstrak = 0.2750, sedangkan rentang Rf

Vitania

## Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI

asiatikosida menurut literatur adalah 0.2-0.35.<sup>12</sup> Hasil ini menunjukkan adanya senyawa asiatikosida pada phytosome yang dibuat sehingga dapat dilakukan uji penetapan kadar asiatikosida menggunakan metode LC-MS/MS dimana *phytosome* ekstrak Pegagan mengandung senyawa asiatikosida sebesar 0.232 % dengan berat molekul  $m/z = 957,00$  yang dikalkulasikan untuk  $m/z = 469,54$ - $470,89$ .

### Mekanisme Perbaikan Sel Saraf dan Fungsi Kognitif

Berdasarkan uji Anova dari hasil penelitian ini, menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 ( $p < 0.05$ ) terhadap peningkatan distribusi fosfolipid. Hal ini disebabkan karena *phytosome* ekstrak Pegagan memiliki efek neuroprotektor dengan memperbaiki fungsi sel saraf melalui remielinasi saraf yang rusak. Pemberian terapi formulasi *phytosome* ekstrak Pegagan saja dan kombinasinya dengan Citicoline memiliki efek yang lebih baik daripada pemberian terapi Citicoline saja. Hal ini disebabkan *phytosome* dapat meningkatkan kelarutan konstituen aktif Pegagan dalam lipid BBB, sehingga efek terapeutik yang dihasilkan juga dapat meningkat. Selain itu, dengan kandungan fosfatidilkolin dari *phytosome*, dapat dijadikan sebagai tambahan nutrisi, yaitu sebagai penambah pasokan

fosfolipid yang merupakan bahan dasar dalam sintesis mielin.<sup>13</sup>

Pegagan telah diketahui memiliki efek neuroprotektif. Beberapa mekanisme farmakologis yang terkait dengan efek neuroprotektor, diantaranya adalah sebagai agen anti inflamasi, antioksidan, dan stimulator dari aktivasi *growth factor*. Kandungan konstituen aktif Pegagan yang diketahui memiliki efek neuroprotektor adalah asiatikosida dan madekasosida. Mekanisme lain, terkait efek neuroprotektor Pegagan adalah melalui inhibisi enzim, mencegah pembentukan plak *amyloid* pada penyakit Alzheimer, neurotoksisitas terhadap dopamin pada penyakit Parkinson, meningkatkan jumlah dendrit saraf, menurunkan apoptosis neuron, dan menurunkan stres oksidatif.<sup>14,15,16</sup>

Berdasarkan penelitian ini, didapatkan bahwa *phytosome* ekstrak Pegagan memiliki efek neuroprotektor melalui mekanisme remielinasi saraf yang rusak. Mekanisme Pegagan dalam remielinasi adalah dengan menstimulasi Neuregulin-1 pada oligodendrosit. Mielinasi dimulai dengan ekspresi NRG-1 oleh akson yang akan berinteraksi dengan reseptor ErBb pada oligodendrosit. Ikatan NRG-1 dengan ErBb akan memulai proses cascade second messenger, dimulai dari peningkatan akumulasi ion  $\text{Ca}^{2+}$ , pengaktifan *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K), fokus adhesi kinase, dan pengaktifan mTOR kinase yang menyebabkan aktivasi gen mielin (Krox-20 dan P0)

Vitania

## Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI

pada inti sel oligodendrosit.<sup>17</sup> Aktivasi gen *Krox-20* diperkirakan menjadi pemicu pembentukan fosfolipid baru dalam sel saraf.

Mekanisme lain *phytosome* ekstrak Pegagan sebagai neuroprotektor adalah dengan melawan terjadinya proses kerusakan oksidatif. Hal ini terjadi karena fitokonstituen Pegagan mampu mereduksi terjadinya *lipid peroxidation* (LPO) dan mereduksi level *protein carbonyl* (PCO). Peroksidasi lipid dimonitoring dengan level *malonaldehyde* (MDA) di dalam darah, semakin rendah level MDA semakin rendah pula terjadinya peroksidasi lipid. Intake fitokonstituen Pegagan dapat menghambat aktivasi enzim *radical-scavenging* (*superoxide dismutase* dan *catalase*) yang ditentukan dengan penghambatan dekomposisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan peningkatan jumlah *nitrobluetetrazolium*. Mekanisme ini selanjutnya mampu menurunkan level MDA di dalam darah, yang mengindikasikan terjadinya penurunan peroksidasi lipid.<sup>18</sup> Peroksidasi lipid merupakan proses yang bersifat kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan *reactive oxygen species* (ROS), membentuk molekul hidroperoksida.<sup>19</sup> Reaksi ini terjadi melalui 3 tahap, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Peroksidasi asam lemak tak jenuh merupakan reaksi rantai radikal bebas yang diinisiasi oleh abstraksi atom hidrogen pada gugus metilen rantai asam lemak. Kecepatan reaksi propagasi

ditetukan oleh energi disosiasi ikatan karbon-hidrogen rantai lipid. Radikal karbon yang terbentuk pada reaksi inisiasi cenderung menjadi stabil melalui reaksi dengan radikal karbon maupun radikal lain yang terbentuk pada tahap propagasi. Pada tahap reaksi terminasi, akan memicu peningkatan reaksi peroksidasi lipid. Molekul hidroperoksida yang terbentuk akan merusak struktur penting asam lemak tak jenuh pada membran fosfolipid sel saraf.<sup>20</sup> Jika terjadinya peroksidasi lipid mampu dihambat, maka fosfolipid dapat terdistribusi normal pada membran sel saraf, sehingga efek neuroprotektor akan dihasilkan.

Disisi lain, pemberian *phytosome* ekstrak Pegagan yang dikombinasikan dengan Citicoline, yaitu pada kelompok perlakuan 3 memiliki hasil terbaik dalam peningkatan distribusi fosfolipid. Hal ini disebabkan Citicoline memiliki efek neuroprotektor. Penggunaan terapi Citicoline dalam studi disebutkan, mampu meningkatkan aktivitas *Insulin reseptor substrat-1* (IRS-1), yaitu anggota dari protein adaptor yang membentuk tautan sinyal dari aktivator ke beberapa efektor untuk memodulasi proses normal dalam pertumbuhan, metabolisme, kelangsungan hidup, dan diferensiasi sel. Meskipun sinyal protein IRS melalui banyak jalur, fungsi utamanya adalah mengatur jalur *extracellular signaling-regulated kinase* (ERK) dan jalur *phospholipid kinase phosphatidyl-*

Vitania

## Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI

*inositol 3-kinase* (PI3-K). PI3-K dikenal untuk menghubungkan sinyal IGF-IR dengan aktivasi jalur Akt / PKB terkait perlindungan sel dari proses apoptosis. Aktivasi PI3-K mengatur Akt, yaitu *serine-threonine kinase* yang memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel. Perlindungan Akt terhadap apoptosis melibatkan penghambatan langsung (fosforilasi) dari sinyal pro-apoptosis seperti Bad dan FOXO3A.<sup>21</sup>

Caspase merupakan protease yang terekspresi selama iskemia fokal dan global pada otak.<sup>22</sup> Pada kondisi TBI, caspase juga diekspresikan. Sehingga, melalui fosforilasi caspase, maka proses apoptosis sel saraf pasca TBI dapat dihambat dan efek neuroprotektif pun dihasilkan. Dengan terhambatnya proses apoptosis sel, maka distribusi fosfolipid plasma membran sel saraf tidak terganggu dan terhambat penurunan distribusinya.

Jalur lain menyebutkan PI3K berperan memfosforilasi *phosphatidyl-inositol-biphosphates* (PIP2) menghasilkan *phosphatidyl-inositol-trifosfat* (PIP3). PIP3 bertindak sebagai situs *docking* untuk Akt dan PDK di membran plasma. Setelah fosforilasi oleh PDK, Akt menjadi aktif dan memfosforilasi, sehingga terjadi aktivasi *mammalian target of rapamycin* (mTOR) yang berperan dalam regulasi pertumbuhan sel.<sup>23</sup> Diketahui bahwa dengan terjadinya aktivasi mTOR, maka akan mengaktifkan gen mielin (*Krox-20* dan

P0) pada inti sel oligodendrosit.<sup>17</sup> Aktivasi gen *Krox-20* diperkirakan menjadi pemicu pembentukan fosfolipid baru dalam sel saraf.

Selain itu, efek neuroprotektor Citicoline juga terjadi melalui mekanisme perbaikan membran sel saraf yang rusak dan pencegahan terbentuknya radikal bebas. Mekanisme ini diawali dengan pecahnya *CDP-choline* menjadi *choline* dan *cytidine*. *Choline* akan dimetabolisme dalam tubuh berturut-turut menjadi fosfokolin, *CDP-choline*, hingga menjadi fosfolipid yang bersama Triasil Gliserol akan membentuk membran sel saraf. Mekanisme lainnya *CDP-choline* bersama *diglyceride* akan dimetabolisme menjadi *phosphatidylcholine* dan *monoglyceride* yang mencegah terbentuknya *free fatty acids* yang akan membentuk radikal bebas.<sup>24</sup>

Hasil yang diuraikan di atas menunjukkan pemberian *phytosome* ekstrak Pegagan dengan kombinasi Citicoline mampu meningkatkan distribusi fosfolipid lebih tinggi pada perlakuan terhadap tikus pasca TBI. Sehingga, kelompok perlakuan 3 yang diberikan kombinasi terapi *phytosome* 90 mg/kgBB dan Citicoline 250 mg/kgBB dapat dikatakan paling optimal dalam memberikan efek neuroprotektor jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya yang dibuktikan dengan hasil peningkatan distribusi fosfolipid paling tinggi.

Vitania

*Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI*

## KESIMPULAN

1. Pemberian *phytosome* ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) mampu memperbaiki sel saraf dengan cara meningkatkan distribusi fosfolipid.
2. Pemberian *phytosome* ekstrak Pegagan kombinasi dengan Citicoline memberikan peningkatan distribusi fosfolipid lebih besar jika dibandingkan dengan pemberian *phytosome* ekstrak saja atau Citicoline saja.

## SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek samping dari pemberian *phytosome* ekstrak Pegagan dengan kombinasi Citicoline.
2. Perlu dilakukan uji stabilitas dari formulasi sediaan *phytosome* ekstrak Pegagan.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui secara lebih mendalam mekanisme ekstrak Pegagan dalam meningkatkan distribusi fosfolipid sel saraf.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed. selaku dosen pembimbing penelitian; Alif Fariz, Putri Fitri, Sitti Ayu, dan Erlin Aditia selaku Tim PKM-PE PIMNAS XXVIII; serta Kemenristek DIKTI selaku penyelenggara Program Kreativitas Mahasiswa.

## REFERENSI

1. Albert-Weissenberger C. and Siren A.L. 2010. Review: *Experimental Traumatic Brain Injury*. *Experimental & Translational Stroke Medicine*. Vol. 2:16, 1-8. <http://www.etsmjournal.com/content/2/1/16>
2. CDC et al. 2013. The Report to Congress on Traumatic Brain Injury in United States : Understanding the Public Health Problem among Current and Former Military Personnel is a Publication of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the National of Health (NIH) in collaboration with the Department of Defense (DOD) and the Department of Veterans Affairs (VA). Page 1 - 113.
3. Riyadina Woro dkk. 2009. *Pola dan Determinan Sosiodemografi Cedera Akibat Kecelakaan*. Online.<http://indonesia.digitaljournals.org/>. 20 Mei 2016.
4. Alfiantya P.F., Adianingsih O.R., Zulkarnaen, Jazmi A.F., Nurarifah S.A.H. 2014. *Phytosome Ekstrak Pegagan Sebagai Modulator Neuregulin-1 Pada Traumatic Brain Injury*. Unpublished. Malang: Universitas Brawijaya.
5. Sharma S., and Roy R.K. 2010. *Phytosome: an*

- Emerging Technology. *International Journal of Pharma Research and Technology*, Vol.2 (s):1-7.
6. Zafonte R.D., Bagiella E., Ansel B.M., Novack T.A., Friedewald W.T., Hesdorffer D.C., et al. 2012. Effect of Citicoline on Functional and Cognitive Status Among Patients With Traumatic Brain Injury : Citicoline Brain Injury Treatment Trial (CORBIT). *Journal American Medical Association*. Vol. 308, No. 19, Pg. 1993 - 2000.
7. George M., Joseph L., and Ramaswamy. 2009. Anti-allergic, Anti-pruritic and Anti-inflammatory Activities of Centella Asiatica Extracts. *Afr J. Traditional*. Vol.6(4) : 554.
8. Pramono S. dan Ajastuti D. 2004. Standarisasi Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berdasarkan Kadar Asiatikosida secara KLT-Densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol. 15 (3): 118 - 123.
9. Acharya N.S., and Parihar G.V. 2011. Phytosomes : Novel approach for Delivering Herbal Extract with Improved Bioavailabilitas. *Pharmasm*. Vol.2(1) : 144-160.
10. Fatmawati et al. 2010. Pengaruh Likopen terhadap Penurunan Aktivitas NF-kB dan Ekspresi ICAM-1 pada Kultur HUVECs. *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol.11 No.2 : 143.
11. Dahlan M.S. 2004. Seri Statistik: Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan; Uji Hipotesis dengan Menggunakan SPSS Program 12 Jam. Jakarta: Arkans. Hal. 4 - 26.
12. Wagner H., and Bladt S. 1995. *Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatograph Atlas, Second Edition*. Springer, London, Page. 1 - 369.
13. Amin T. and Bhat S.V. 2012. A Review on Phytosome Technology as A Novel Approach to Improve The Bioavailability of Nutraceuticals. *International Journal of Advancements in Research and Technology*. 1, 1 - 15.
14. Rao M., Gadahad K., Rao M., and Rao G. 2008. *Enhancement of Hippocampal CA3 Neuronal Dendritic Arborization by Centella asiatica (Linn) Fresh Leaf Extract Treatment in Adults Rats*. 71 (1). 6 - 13.
15. Orhan I.E. 2012. *Centella asiatica : Traditional to Modern Medicine with Neuroprotective Potential. Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine*.
16. Shinomol G.K., and Muralidhara A. 2006. *Effect of*

Vitania

*Phytosome Ekstrak Pegagan sebagai Modulator Fosfolipid pada TBI*

16. *Centella asiatica Leaf Powder on Oxidative Markers in Brain Regions of Prepubertal Mice in Vivo and Its in Vitro Efficacy to Ameliorate 3-NPA-induced Oxidative Stress in Mitochondria.* 15. 971 - 984. <http://doi.org/10.1016/j.phymed>
17. Taveggia C., Feltri M.L., Wrabetz L. 2010. Signals to Promote Myelin Formation and Repair. *Nature Rev Neuronal.* 6, 276 - 287.
18. EMA. 2010. *Assesment Report on Centella asiatica (L.) Urban, Herba.* EMA/HMPC/291177/2009. United Kingdom.
19. Robles R., Palomino N., Robles A. 2001. Oxidative Stress in The Neonate. *Early Human Dev.* 65 : 575 - 81.
20. Uchida K, Kanematsu M, Sakai K, Matsuda T, Hattori Dan, Mizuno Y, et al. 1998. Protein Bound Acrolein: Potential Markers for Oxidative Stress. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 95: 4882 - 7.
21. Pan J. 2007. Reperfusion Injury Following Cerebral Ischemia: Pathophysiology, MR Imaging, and Potential Therapies. *Neuroradiology.* 93-102.
22. Khoo C.P. 2011. A Comparison of Methods for Quantifying Angiogenesis in The Matrigel Assay in Vitro. *Tissue Eng Part C Methods.*, 895 - 906.
23. Alshammari D. 2014. Role of Citicoline in Modulation of Angiogenesis and Apoptosis in Vascular/Human Brain Microvessel Endothelial Cells. *A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of The Requirements of The Manchester Metropolitan University for The Degree of Doctor of Philosophy.* School of Healthcare Sciences Manchester Metropolitan University.
24. Zweifler R.M. 2002. Membrane Stabilizer : Citicoline. *Curr Med Res Opin. Suppl 2* : 14 - 7