

Pengaruh Pemberian *Fuoidan* dari Alga Coklat (*Sargassum Sp.*) Terhadap Gambaran Histopatologis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Stroke Iskemik

Ridlo Ruditya Putra*, Yuyun Yueniwati**, Badrul Munir***

ABSTRAK

Stroke iskemik merupakan penyakit kerusakan otak penyebab kecacatan fisik dan mental. Terapi stroke saat ini bersifat definitif, bukan rehabilitatif. MSC (*Mesenchymal Stem Cell*) dapat berdifferensiasi menjadi sel saraf. MSC sulit mobilisasi dari sumsum tulang menuju area kerusakan otak. *Fuoidan* dari *Sargassum sp.* berpotensi untuk terapi disabilitas pasca-stroke iskemik dengan cara meningkatkan mobilisasi MSC dan mencegah kematian sel otak. *Fuoidan* dapat meningkatkan ekspresi *Chemokine Co-Receptor-4 (CXCR-4)* di permukaan MSC. CXCR-4 berfungsi sebagai penangkap sinyal SDF-1 dari area kerusakan otak sehingga mobilisasi MSC menjadi lancar. Selain itu, *fuoidan* dapat memblokir ikatan antara *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* dengan *Epidermal Growth Factor (EGF)* untuk menurunkan aktivasi *Activator Protein-1 (AP-1)* di otak sehingga kematian sel dapat dicegah. Penelitian ini adalah eksperimen murni dengan metode *Randomized Post-Test Only Controlled Group Design*. Tikus diinduksi stroke iskemik kemudian diterapi *fuoidan* (kelompok perlakuan). Hasil pengamatan histopatologi jaringan otak kelompok perlakuan menunjukkan penurunan jumlah sel *Gemitocyte Astrocyte*. Jadi, pemberian ekstrak *fuoidan* dapat meningkatkan fungsi otak pasca-stroke iskemik.

Kata Kunci : *fuoidan*, mesenchymal stem cell, stroke iskemik.

The Effect of Fucoidan Brown Algae (*Sargassum* sp.) Against Histopatologic in Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) Ischemic Stroke Model

ABSTRACT

Ischemic Stroke is characterized by brain tissue damage that causes mental and physical disabilities. Stroke therapy is mostly definitive rather than rehabilitative. MSC (*Mesenchymal Stem Cell*) can differentiate into nerve cells. The mobilization of MSC from bone marrow towards brain damage area is difficult. Fucoidan in *Sargassum* sp. has strong potency as therapy agent repairing disabilities post ischemic stroke by improving mobilization of MSC and preventing nerve cells apoptosis. Fucoidan can increase the expression of *Chemokine Co-Receptor-4* (CXCR-4) in the surface of MSC. CXCR-4 functions as a signal catcher from brain damage area called SDF-1, so the mobilization of MSC becomes streamlined. Fucoidan is also proven to inhibit the bond between *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) and *Epidermal Growth Factor* (EGF) to decrease the activation of *Activator Protein-1* (AP-1) so that prevents nerve cells apoptosis. This research is a true experiment in *Randomized Post-Test Only Controlled Group Design*. It's using mouse as the animal ischemic stroke model and treated by using fucoidan (the treatment group). Histopathology of the brain tissues shows that the number of *Gemitocyte astrocyte* cell is decreased in the treatment group. The conclusion is the extract of fucoidan potentially increases the brain function after ischemic stroke.

Keywords: fucoidan, mesenchymal stem cell, ischemic stroke.

*Program Studi Kedokteran, FKUB

**Laboratorium Radiologi FKUB

***Laboratorium Neurologi FKUB



PENDAHULUAN

Stroke iskemik merupakan kondisi medis yang ditandai dengan terganggunya aliran darah ke dalam otak akibat sumbatan pada pembuluh darah di dalam otak. Penyumbatan dapat disebabkan oleh trombus maupun emboli yang timbul dari lesi ateromatous.^{6,9} Stroke iskemik dapat menimbulkan kematian sel-sel otak.¹⁵ Kondisi ini akan menghambat aliran darah ke otak sehingga dapat mengakibatkan kegawatdaruratan medis yang memerlukan penanganan segera.

Sampai saat ini stroke masih merupakan masalah kesehatan yang serius. Stroke dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat dan penyebab utama kecacatan fisik maupun mental pada usia produktif dan usia lanjut. Kecacatan fisik dan mental yang disebabkan stroke sangat beragam. Hal ini dilihat bagian mana yang terjadi penyumbatan atau tidak adanya aliran darah.

Penderita stroke menunjukkan kenaikan jumlah setiap tahunnya, ada 15 juta orang di seluruh dunia yang menderita stroke setiap tahun. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), stroke adalah penyebab kematian kedua bagi orang yang berusia >60 tahun, dan penyebab kematian kelima pada orang yang berusia 15-69 tahun. Setiap tahun, hampir enam juta orang meninggal dunia karena stroke. Setiap enam detik, stroke membunuh beberapa orang.¹⁵ Sedangkan di Indonesia, stroke

telah menjadi penyebab kematian nomor satu penyakit non infeksi. Terjadi peningkatan angka prevalensi stroke dari 8,3 per 1000 pada hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007 menjadi 12,1 per 100 pada 2013.

Pada saat ini terapi yang dilakukan pada penderita stroke iskemik hanya berpusat pada penanganan untuk meredakan dampak seperti menghilangkan rasa nyeri, menurunkan demam, menurunkan kadar gula darah, dll, tetapi tidak dapat menyembuhkan secara total dari keseluruhan dampak stroke iskemik.²⁰

Terapi penyakit stroke yang banyak dikembangkan saat ini adalah transplantasi *Mesenchymal Stem Cell* (MSC). MSC merupakan sel yang dapat berdiferensiasi menjadi sel lain, salah satunya adalah sel saraf. MSC banyak terdapat dalam sumsum tulang.¹¹

MSC akan masuk ke pembuluh darah perifer menuju area tubuh yang rusak, dan berpotensi untuk mengurangi terjadinya apoptosis, serta menyebabkan proliferasi sel endogen setelah terjadinya stroke. Tetapi, MSC di tubuh tidak dapat melakukan regenerasi pada sel saraf yang rusak saat terjadi stroke. Hal ini dikarenakan susahnya mobilisasi MSC menuju sel target.

Selain itu, terdapat terapi hipotermia, dimana terapi ini dianggap melindungi otak dengan mengurangi metabolisme otak selama kondisi kekurangan nutrisi dan oksigen. Namun, terapi ini memiliki efek samping yang berpengaruh

terhadap lisis bekuan, bradikardia, pneumonia, hipotensi, koagulopati yang parah, dan gagal jantung.

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) memegang peran yang cukup penting dalam pembelahan, diferensiasi, dan perubahan pergantian bentuk sel.¹¹ Penghambatan aktivasi EGFR dapat meregenerasi akson setelah terjadi kerusakan otak. Kerusakan ini bisa disebabkan oleh stroke.⁴

Beberapa tahun terakhir banyak dilakukan penelitian mengenai *fucoidan* dikarenakan berbagai aktivitas biologisnya seperti antitrombotik, anti tumor, antiinflamasi, antioksidan, dan efek proteksi terhadap lambung. Dibandingkan polisakarida sulfat yang lain, *fucoidan* sangat banyak tersedia dari berbagai jenis sumber yang murah dan mudah didapat dalam bentuk alga coklat (*Sargassum sp.*).¹² *Sargassum sp.* sangat mudah ditemukan di Indonesia seperti pada wilayah pantai selatan Jawa, dan Madura.

Fucoidan memiliki potensi untuk meningkatkan mobilisasi MSC pada area tubuh yang mengalami kerusakan jaringan dengan meningkatkan ekspresi *Chemokine Co-Receptor-4* (CXCR-4) pada permukaan MSC. Selain itu, *fucoidan* telah diketahui bermanfaat dalam penghambatan induksi sel dari *Epidermal Growth Factor* (EGF). *Fucoidan* juga berperan dalam memblokir proses fosforilasi dari EGFR. EGFR ini adalah target

utama dari *fucoidan* dalam proses penghambatan aktivitas *Activator Protein-1* (AP-1).¹¹ Dengan demikian, MSC yang ditambahkan *Fucoidan* berpotensi kuat sebagai kandidat terapi stroke iskemik yang efektif.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *Randomized Group Post Test Only Design*.

Sampel penelitian adalah model tikus wistar yang diinduksi stroke iskemik dan kemudian diberikan perlakuan. Perhitungan besarnya pengulangan pada sampel adalah sebagai berikut. $p(n-1) > 15$: jumlah perlakuan, n : jumlah ulangan. Pada penelitian ini $p = 5$ sehingga jumlah pengulangan adalah : $5(n-1) \cdot 15$, $n-1 > 15:5$, $n \cdot 4$ jadi dalam penelitian ini jumlah sampel tiap perlakuan adalah 5.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah induksi stroke iskemik dan pemberian *fucoidan* yang dibagi dalam kelompok:

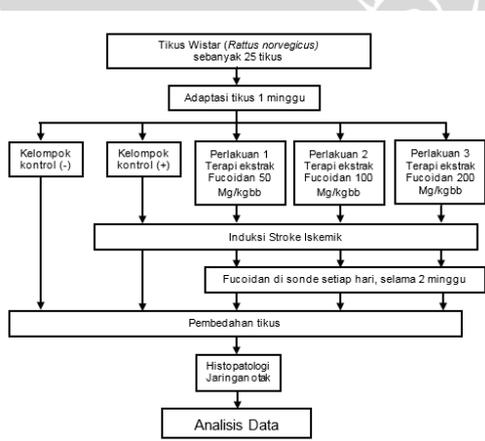
1. Kelompok 1: kelompok kontrol negatif (tikus tidak diinduksi stroke iskemik dan tidak diberikan terapi)
2. Kelompok 2: kelompok kontrol positif (tikus diinduksi stroke iskemik tapi tidak diberikan terapi)
3. Kelompok 3: tikus diinduksi stroke iskemik dengan

diberikan terapi ekstrak murni *fucoïdan* 50 mg/kgbb

4. Kelompok 4: tikus diinduksi stroke iskemik dengan diberikan terapi ekstrak murni *fucoïdan* 100 mg/kgbb
5. Kelompok 5: tikus diinduksi stroke iskemik dengan diberikan terapi ekstrak murni *fucoïdan* 200 mg/kgbb

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan pada bulan februari hingga mei 2016 di Laboratorium Parasitologi, Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Patologi Anatomi, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Radiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Kota Malang, serta Batu Materia Medica (BMM).

Prosedur Penelitian



Gambar 1 Bagan Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi *fucoïdan* dari *Sargassum sp.*
Alga (*Sargassum sp.*) bubuk dicampur dengan larutan MeOH-CHCL₃-H₂O (4:2:1). Alga dilarutkan dengan 0,03

M HCL (1:20 w/v) kemudian didegradasi menggunakan *ultrasonic extraction* (amplitudo 80%, 15 menit). Larutan kemudian diekstraksi menggunakan *waterbath* pada suhu 70-90°C selama 3-5 jam. Suspensi yang dihasilkan difiltrasi menggunakan serat nylon untuk memisahkan residual alga. Ekstrak kemudian dipresipitasi menggunakan CaCL₂ pada suhu 4°C semalaman. Larutan difiltrasi kemudian dicampur dengan etanol absolut (3 volume) pada suhu 4°C selama 8 jam. Ekstrak kemudian dilakukan sentrifugasi (8500 rpm, 15 menit) pada suhu 4°C.²³

2. Induksi Stroke Iskemik
Induksi dilakukan dengan metode *Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO)* yang dilakukan dengan cara memotong bulu tikus pada bagian kepala, lalu insersi kulit sampai sutura terlihat. Buka batok kepala dan cari *middle artery cerebral*. Ikat dengan benang selama 90 menit. Buka ikatan lalu jahit. Beri betadine sebagai antiseptic.
3. Pemberian terapi ekstrak murni *fucoïdan*
Injeksi terapi dilakukan secara oral menggunakan spuit 1 cc setiap hari selama 2 minggu. Alga coklat (*Sargassum sp.*) dicuci dengan air bersih, lalu



dikeringkan. Alga digiling lalu dicampur dengan larutan MeOH-CHCl₃-H₂O (4:2:1). Alga dilarutkan dengan 0.03 M HCl (1:20 w/v) kemudian didegradasi dengan *ultasonic extraction* (amplitudo 80%, 15 menit). Larutan diekstraksi dengan *waterbath* pada suhu 70-90°C selama 3-5 jam, lalu difiltrasi dengan serat nylon untuk memisahkan residual alga. Ekstrak dipresipitasi menggunakan 1M CaCl₂ pada suhu 4°C semalaman. Larutan difiltrasi kemudian dicampur dengan etanol absolut (3 volume) suhu 4°C selama 8 jam. Lalu dilakukan sentrifugasi (8500 rpm, 15 menit) suhu 4°C.²³

4. Pengukuran fungsi otak tikus
Fungsi otak tikus diukur setiap minggu dengan *Ladder Rung Test*. Susunan anak tangga yang teratur berinterval 2cm, sedangkan susunan tidak teratur berinterval 1-5cm. Terdapat 3 penilaian pada *Ladder Rung Test* yaitu berdasarkan arah gerak tikus (digolongkan apakah arahnya lurus atau berbalik), berdasarkan waktu yang ditempuh tikus, dan berdasarkan *foot fault scoring*. Ketiga penilaian tersebut dianalisis dengan menggunakan Kruskal-Wallis.¹⁴
5. Pemeriksaan CT Scan
Tikus diberi Ketamin 0,4 cc dan difiksasi dengan selotip pada posisi pronasi di meja

scanner. Mengisi data kelompok tikus yang diujikan dan mengambil gambar dari berbagai posisi dengan pengaturan komputer.

6. Pembedahan Tikus
Tikus diberi anestesi klorofom di dalam wadah tertutup. Tikus difiksasi di atas sterofoam lalu bedah pada daerah cervical. Potong bagian jaringan otak untuk mengambil sampel pemeriksaan imunohistokimia CXCR-4 dan AP-1, serta histopatologis jaringan dengan pengecatan hematoxililin eosin (HE).
7. Pengukuran ekspresi CXCR-4 dan AP-1 pada jaringan otak dengan menggunakan imunohistokimia
Slide dicuci dengan PBS 3x5 menit, dikeringkan, ditetesi H₂O₂ 3%, diinkubasi 15 menit, lalu bloking triton x-100 (0,25%). Inkubasi selama 1 jam, dicuci dengan PBS, dan dikeringkan. Bloking antibodi primer dilanjutkan dengan inkubasi dengan suhu 40°C. Dilakukan bloking antibodi sekunder, cuci PBS selama 15 menit, ditambahkan antibodi sekunder biotin 100 µL/slide. Setelah itu dicuci selama 15 menit, dikeringkan, lalu diberi cover. Selanjutnya pembacaan hasil pada mikroskop.
8. Slide Histopatologi Jaringan Otak dengan Hematoxililin Eosin

Pembuatan preparat histopatologi dengan metode paraffin. Fiksasi dengan formalin 10% selama 24 jam, dimasukkan dalam alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 99 % selama 1 jam dan alcohol absolut selama 2x1 jam, campuran xylol : alkohol absolut = 1:1 selama 0,5 jam, dan xylol PA selama 2x30 menit. Jaringan dipotong tipis dan dimasukkan kedalam *melted* paraffin : xylen = 1:1 selama 1 jam, paraffin (54-58) selama 2x1 jam, dan dimasukkan ke dalam cetakan kemudian dibiarkan dingin. Jaringan dipotong lalu dilapisi dengan lapisan putih telur:gliserol=1:1 dan dikeringkan. Jaringan dimasukkan ke dalam xylol selama 3x5 menit lalu dikeringkan. Selanjutnya pembacaan hasil pada mikroskop.

Analisa data

Pengambilan data dilakukan dengan metode yang telah dijelaskan sebelumnya. Analisis data dimulai dengan uji normalitas dan homogenitas varian. Dilakukan uji *One Way Anova* jika sebaran data normal dan diuji dengan uji Kruskal-Wallis, *Post Hoc*. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan uji statistik yang dicek dengan SPSS 18. Dengan hasil penelitian

bermakna apabila didapatkan nilai $p < 0$.

HASIL PENELITIAN

Tabel 5.1 Karakterisasi Gugus Fungsi Hasil Uji FT-IR

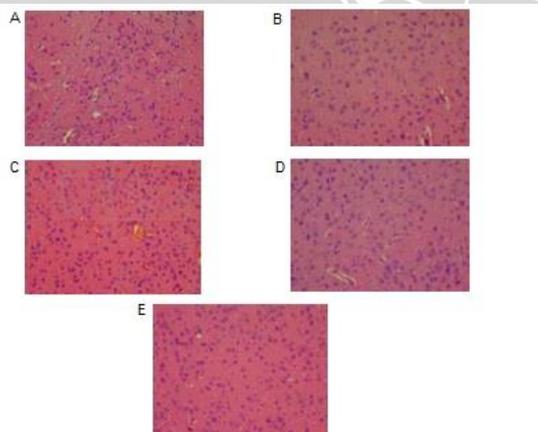
<i>Absorption band</i> (cm ⁻¹)		Karakterisasi gugus fungsi
<i>Fuoidan</i> komersial	<i>Fuoidan</i> yang dibuat	
3425.34	3392.55	OH <i>stretching vibration</i>
2939.31	2939.31	CH
1645.17	1658.67	C=C (Asam Uronat)
1421.44	1463.87	CH <i>stretching fucose</i> . Kelompok sulfat menempel pada <i>fucose</i> C2 dan C4. <i>Scissoring vibration</i> CH ₂ (<i>galactose</i>)
1080.06	1195.78	CH <i>stretching vibration</i> (mannose)
904.55	985.56	CH <i>bend of fucose</i> . S=O terikat pada posisi aksial C4
848.62	850.55	<i>Sulphate group</i> COS (<i>bound at C2 C3 L-Fucose</i>)
690.47	721.33	CH ₂ -S-Fucose (xylose)
576.68	626.82	CH ₃ -S

Fuoidan diekstraksi dari *Sargassum sp.* dengan metode *single-step extraction of fuoidan*, kombinasi metode ekstraksi menggunakan degradasi melalui gelombang ultrasonic diikuti pemanasan menggunakan *waterbath*.²³ Hasil ekstraksi *fuoidan* diuji dengan menggunakan *Fourier*



Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) lalu kemudian dilihat gugus-gugus fungsi yang ada. Dari hasil FT-IR tersebut menunjukkan bahwa dalam ekstrak tersebut terdapat kandungan *fucoidan* yang mirip dengan *fucoidan* komersil. Dari situ dapat disimpulkan bahwa *Sargassum sp.* terbukti mengandung *fucoidan*.

Stroke ditandai dengan pembesaran sel *gemitocytic astrocyte*. Pada kontrol (+) jumlah sel *gemitocytic astrocyte* berukuran besar dan banyak. Pada perlakuan 1, 2 dan 3 jumlah sel *gemitocytic astrocyte* lebih sedikit dan kecil dibanding kontrol (+). Jika dibandingkan dengan kontrol (-) ukuran dan jumlahnya tidak jauh berbeda. Hasil pemeriksaan histopatologi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Jaringan Otak Tikus

(Gambar A. Kontrol (-), Gambar B Kontrol (+), Gambar C P1 dosis 50 mg/kgbb, Gambar C P2 dosis 100 mg/kgbb, Gambar C P3 dosis 200 mg/kgbb).

Saat terjadi serangan stroke iskemik akut, sel astrosit merespon

hipoksia dengan cara membengkak dan berisi sitoplasma mengelilingi neuron yang nekrosis. Setelah dua minggu, sel astrosit berubah menjadi *gemitocytic astrocyte* dengan sitoplasma yang besar, memanjang, bercabang, besar, dan berinti jernih. Pada kontrol (+) sel *gemitocytic astrocyte* tampak besar. Pada kontrol (-) sel *gemitocytic astrocyte* tidak terbentuk atau ada tetapi berukuran normal. Hal ini menandakan kontrol (+) mengalami stroke. Pada perlakuan 1, 2, dan 3 *gemitocytic astrocyte* kembali normal tampak seperti kontrol (-). Hal ini menunjukkan terapi *fucoidan* memperbaiki otak tikus dari stroke.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *fucoidan* pada gambaran histopatologi jaringan otak tikus putih (*Rattus Norvegicus*) model stroke iskemik. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kriteria yaitu berjenis kelamin jantan berumur 6 – 8 minggu dengan berat 120 – 160 gram. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah jaringan otak tikus yang diberikan pengecatan hematoksilin eosin (HE) lalu diamati secara histopatologis.

Stroke merupakan salah satu penyakit yang kejadian setiap tahunnya menunjukkan angka kenaikan. WHO menyebutkan stroke adalah penyebab kematian kedua bagi orang yang berusia >60 tahun, dan penyebab kematian pada orang yang berusia 15 – 69 tahun. Stroke

iskemik terjadi melalui beberapa tahapan. Tahap pertama yaitu terjadi penurunan aliran darah, kekurangan O₂, kegagalan energi, dan kegagalan homeostasis. Tahap kedua terjadi *spreading depression*. Tahap ketiga terjadi inflamasi dan kematian sel. Stroke iskemik merupakan masalah kesehatan serius karena merupakan penyebab kematian yang cepat.

Kandungan *fucoidan* dari *Sargassum sp.* merupakan suatu polisakarida yang memiliki struktur utama L-*fucose* dan *sulfate ester* dan berpotensi kuat sebagai agen terapi dalam memperbaiki fungsi otak paska stroke iskemik. *Fucoidan* mampu meningkatkan ekspresi *Chemokine Co-Receptor 4 (CXCR-4)* pada permukaan *Mesenchymal stem cell (MSC)* secara *in vitro* sehingga meningkatkan mobilisasi MSC ke area jaringan otak yang rusak. *Mesenchymal Stem Cell (MSC)* juga dapat berdiferensiasi menjadi sel saraf. Selanjutnya MSC menyebar ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah perifer. MSC mengekspresikan reseptor *Chemokine Co-Receptor 4 (CXCR-4)* pada permukaannya dan berikatan dengan *Stromal Cell-Derived Factor 1 (SDF-1)* untuk mobilisasi ke area kerusakan otak dan melakukan regenerasi. *Fucoidan* juga terbukti menghambat induksi *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* di permukaan sel oleh *Epidermal Growth Factor (EGF)* sehingga menurunkan aktivitas *Activator Protein-1 (AP-1)* yang merupakan penyebab apoptosis sel.

Pada keadaan jaringan otak yang terkena stroke, sel otak mengalami hipoksia sehingga memicu penurunan jumlah sel astrosit. Tahapan selanjutnya adalah sitoplasma mengalami pembesaran, pemanjangan, bercabang dan berinti jernih, tahapan ini memicu terbentuknya sel gemitosit astrosit yang berperan sebagai sel yang dapat mengakibatkan stroke. Senyawa *fucoidan* memiliki efek regenerasi dalam peningkatan ekspresi *CXCR4* dan efek penurunan *AP-1*. Efek regenerasi dapat dilihat melalui hasil pemeriksaan histopatologi jaringan otak tikus yang menunjukkan perbedaan yang signifikan antara tikus kontrol yang tidak disonde *fucoidan* dengan tikus perlakuan yang disonde *fucoidan*.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang juga dilakukan oleh Yang et al (2006) juga menunjukkan bawa *fucoidan* memiliki efek secara langsung sebagai zat antiinflamasi dengan menghambat ekspresi *inducible nitric oxide synthase (iNOS)* yang berpengaruh dalam proses terjadinya peradangan. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa *Fucoidan* tidak hanya berfungsi sebagai antiinflamasi saja, namun berfungsi sebagai antitrombotik dan antioksidan yang sangat penting dalam pengobatan pasca stroke iskemik.¹²

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel dari jaringan

otak tikus. Sampel diberikan pengecatan hematoksin eosin (HE) lalu diamati secara histopatologis. Pada kontrol (+) sel *gemitocytic astrocyte* tampak besar. Pada kontrol (-) sel *gemitocytic astrocyte* tidak terbentuk atau ada tetapi berukuran normal. Hal ini menandakan kontrol (+) mengalami stroke. Pada perlakuan 1, 2, dan 3 *gemitocytic astrocyte* kembali normal tampak seperti kontrol (-). Hal ini menunjukkan terapi *fucoidan* memperbaiki otak tikus dari stroke.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini kesimpulan yang dapat diambil adalah

1. Pemberian terapi dengan injeksi *fucoidan* dapat memperbaiki terjadinya degradasi sel astrosit yang dilihat melalui manifestasi klinis dan gambaran histopatologi jaringan otak model tikus wistar stroke iskemik.
2. Hubungan antara pemberian terapi *fucoidan* dengan degradasi sel astrosit adalah dapat memperbaiki perubahan yang terjadi saat sel astrosit berubah menjadi *gemitocytic astrocyte* dengan sitoplasma yang besar, memanjang, bercabang, besar, dan berinti jernih dan pada kontrol perlakuan injeksi *fucoidan*, *gemitocytic astrocyte* tampak kembali normal.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini saran yang dapat diambil adalah

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak murni *fucoidan* dari *Sargassum sp.* sehingga dapat diaplikasikan secara aman.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping yang timbul dalam tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aditama, Tjandra, Dr. 2015. *Stroke Pembunuh Nomor Satu di Indonesia*. (<http://www.litbang.depkes.go.id/node/639#>).
2. American Heart Association, 2015. *Lest Talk About Ischemic Stroke*, (Online), (https://www.heart.org/idc/groups/stroke.../ucm_309532.pdf, diakses 16 November 2016).
3. Benavante, Oscar; Mohr JP et al. 2004. *Secondary Prevention of Cardioemboli Stroke in Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management 4th Edition*. Hal 1171-1181.
4. Berry, Martin.; Ahmed, Zubaer.; Douglas, Michael.; Logan, Ann. *Epidermal Growth Factor Antagonists and CNS axons regeneration : Mekanik dan Kontroversi*. *Brain Research Bulletin* 2011, 84, 289-299.

5. Campbell, dkk. 2003. *Biology Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
6. Caplan LR. 2000. *Stroke a Clinical Approach*. 3rd ed. Boston: ButterworthHeinemann.
7. Elias, A. 2013. *Ischemic Stroke* (online) (https://www.merckmanuals.com/professional/neurologic_disorders/stroke_cva/ischemic_stroke.html diakses tanggal 28 Desember 2016).
8. Gilroy, J. *Cerebrovascular Disease, Basic Neurology 3rd Edition*. Mc Graw Hill. USA. 2000. Hal. 224-257.
9. Japardi, Iskandar, Dr. 2002. *Patofisiologi Stroke Infark Akibat Tromboemboli*. <http://library.usu.ac.id/download/fk/bedah-iskandar-japardi35.pdf>.
10. Khan, Ni et al. 2009. *Ischemic Stroke: Prevalence of modifiable Risk Factors in Male and Female Patients in Pakistan*. *Journal Pharmacological Science*, Vol.22, No.1, Januari, Hal. 62-67.
11. Lee, et al. 2010. *A Long Term Follow Up Study of Intravenous Autologous Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Patients with Ischemic Stroke*. *Stem Cells Translational-Clinical res.* 28:1099-1106.
12. Li, Bo.; Lu, Feu.; Wei, Xinjun.; Zhao, Ruixiang. *Fuoidan : Structure and Bioactivity*. *Molecules* 2008, 13(8), 1671-1695.
13. Lyne, J et al. 2004. *The Five Minute Neurology Consult*. Lippincott William and Wilkins: Philadelphia.
14. Metz, Gerlinde.; Whishaw, Ian. *The Ladder Rung Walking Task : A Scoring System and Its Practical Application*. *J Vis* 2009; (28): 1204.
15. Misbach, et al. 2007. *Penatalaksanaan hiperglikemia pada stroke akut*. Jakarta : Kelompok Studi Stroke PERDOSI ; 2007.p.59-66.
16. Munir, Badrul. 2015. *Neurologi Dasar*. Jakarta: Sagung Seto.
17. Noiraksar T, Saengkhae C, Jongaramruong J, Palee P. *Anti-proliferation and induction of apoptosis by extract of Turbinaria conoides (J. Agardh) K tzing on human cervical cancer cell line*. *Chula Med J* 2010 Jan - Feb; 54(1): 13 – 24.
18. Roof, Robin.; Schielke, Gerald.; Ren, Xiaodan.; Hall, Edward. *A Comparison of Long Term Functional Outcome After 2 Middle Cerebral Artery Occlusion Models In Rats*. *Stroke* 2001; 32: 2648-2657.
19. Sell, S. (2004) *Stem Cells*. *Stem Cell Handbook* ed. By Sell, S. 1-18.
20. Setyopranoto, Ismail. *Stroke : Gejala dan*

- Penatalaksanaan. CDK
2011, 185, Vol. 38 No 4.
21. Shah, Sid. 2000. *Stroke Pathophysiology*. Foundation for Educational and Research in Neurological Emergencies.
22. Sinurat E, Marraskuranto E. 2012. *Fuoidan from Brown Seaweeds and Its Bioactivity*. Jakarta Pusat: Research and Development Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology.
23. Sugiyono, et al. 2014. *Extraction Optimization by Response Surface Methodology and Characterization of Fuoidan from Brown Seaweed Sargassum polycystum*. Int.J. ChemTech Res.6(1): pp 195-205.

Menyetujui,

Pembimbing 1

Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W.,
M.Kes.,Sp.Rad(K)
NIP. 19681031 199601 2 001