

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP
JUMLAH NEURON STRIATUM OTAK TIKUS PASCA LIGASI *BILATERAL*
*COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION ARTERY OCCLUSION***

Karya Tulis Ilmiah

**untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran**

**Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



oleh :

**Imtinanda Khalisa Amani
17711106**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021**

**THE EFFECT OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa*) ETHANOL EXTRACT ON
THE NUMBER OF RAT BRAIN STRIATUM NEURONS POST OF *BILATERAL
COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION***

Scientific Writing

as a Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Ungraduate Program in Medicine



by :

Imtinanda Khalisa Amani

17711106

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH EKSTRAK ETANOL JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP JUMLAH NEURON STRIATUM OTAK TIKUS PASCA LIGASI BILATERAL COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION ARTERY OCCLUSION

Karya Tulis Ilmiah

Disusun dan diajukan oleh:

**Imtinanda Khalisa Amani
177111106**

**Telah diseminarkan tanggal: 23 September 2020
dan telah disetujui oleh:**

Penguji

Pembimbing


**dr. Zainuri Sabta Nugraha, M.Sc.
NIK 027110430**


**dr. Ety Sari Handayani, M.Kes.
NIK 097110415**

**Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**


**dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed., Ph.D.
NIK 047110101**



**Disahkan
Pekan**


**dr. Linda Kusita, M.Kes., Sp.PK(K)
NIK 017110102**

PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Imtinanda Khalisa Amani

NIM : 17711106

Judul KTI : Pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi Bilateral Common Carotid Artery Occlusion Artery Occlusion

Dosen

Pembimbing : dr. Ety Sari Handayani, M.Kes.

Dengan ini menyatakan bahwa :

Memberi ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII, berupa :

- ~~Laporan KTI (full text)~~
- Abstrak saja


Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 1 Maret 2021

Dosen Pembimbing

Yang Menyatakan


dr. Ety Sari Handayani, M.Kes.
NIK 097110415


Imtinanda Khalisa Amani
NIM 17711106

DAFTAR ISI

Halaman Judul (Bahasa Indonesia)	i
Halaman Judul (Bahasa Inggris)	ii
Halaman Pengesahan	iii
Pernyataan Publikasi	iv
Daftar Isi	v
Daftar Tabel	vii
Daftar Gambar	viii
Daftar Lampiran	ix
Halaman Pernyataan	x
Kata Pengantar	xi
Intisari	xiii
<i>Abstract</i>	xiv
Bab I Pendahuluan	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.5. Keaslian Penelitian	4
Bab II Tinjauan Pustaka	5
2.1. Tinjauan Pustaka	5
2.1.1 Stroke Iskemi Cerebri	5
2.1.2 Tikus Model Stroke	8
2.1.3 Potensi Farmakologi <i>Nigella sativa</i> (Jintan Hitam)	10
2.1.4 Thymoquinone sebagai Neuroprotektan	11
2.1.5 Struktur Neuroanatomi	12
2.2. Kerangka Teori	16
2.3. Kerangka Penelitian	17
2.4. Hipotesis Penelitian	17
Bab III Metode Penelitian	18
3.1. Rancangan penelitian	18
3.2. Subyek Penelitian	18
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.4. Variabel Penelitian	19
3.4.1. Variabel Terkait	19
3.4.2. Variabel Bebas	19
3.4.3. Variabel Pengganggu	19
3.5. Definisi Operasional	20
3.6. Alat dan Bahan Penelitian	20
3.6.1. Alat Penelitian	20
3.6.2. Bahan Penelitian	20
3.7. Alur Penelitian	20
3.7.1. Pembuatan Preparat Histologi	20
3.7.2. Pengamatan dan Penelitian	21
3.7.3. Skema Penelitian	22
3.8. Analisis Data	22
3.9. Etika Penelitian	23
BAB IV Hasil dan Pembahasan	24
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Pembahasan	27

BAB V Simpulan dan Saran.....	31
5.1 Simpulan	31
5.2 Saran.....	31
Daftar Pustaka.....	32
Lampiran	34



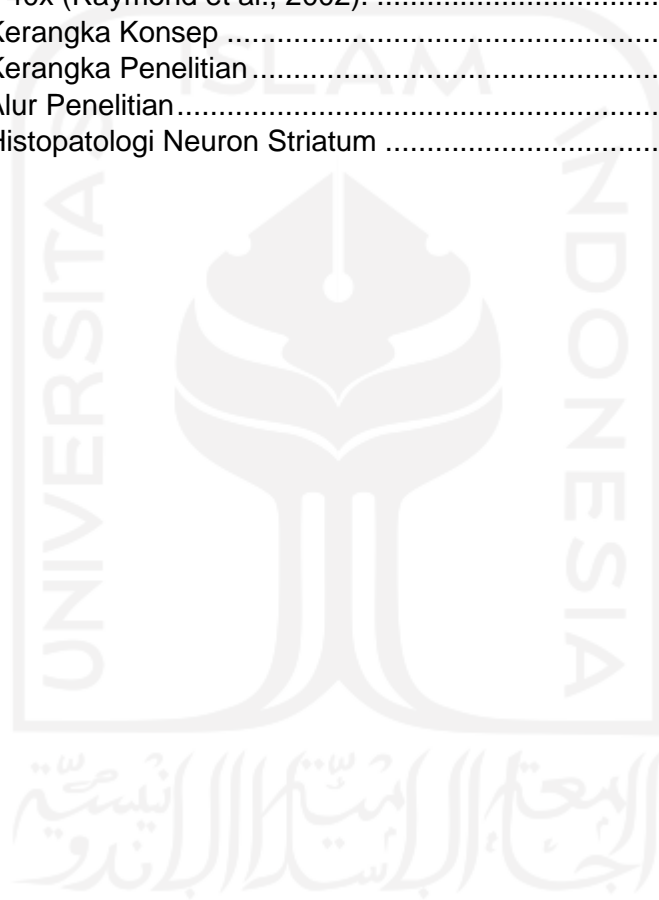
DAFTAR TABEL

Tabel 1 Referensi Keaslian Penelitian	4
Tabel 2 Hasil Analisis Neuron Striatum Tikus Pasca Induksi BCCAO dengan Berbagai Perlakuan	26



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Mekanisme patologis stroke iskemik hingga kematian sistem saraf (Traystman, 2003).	8
Gambar 2 Proses induksi stroke iskemik metode MCAO dan BCCAO (Speetzen, Endres and Kunz, 2013)	9
Gambar 3 Nigella sativa atau jintan hitam.....	10
Gambar 4 Anatomi Ganglia Basalis (Kim dan Hikosaka, 2015).....	12
Gambar 5 Histologi Neuron Striatum dengan pewarnaan Toluidine Blue Perbesaran 40x (Raymond et al., 2002).	13
Gambar 6 Kerangka Konsep	16
Gambar 7 Kerangka Penelitian	17
Gambar 8 Alur Penelitian.....	22
Gambar 9 Histopatologi Neuron Striatum	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	34
Lampiran 2	35



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang sudah pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 1 Maret 2021



Imtinanda Khalisa Amani
17711106



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh,

Alhamdulillahirabbil'alamin puji syukur kehadiran Allah Swt. Atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah (KTI) yang berjudul "Pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi *Bilateral Common Carotid Artery Occlusion*" dengan lancar. Shalawat serta salam senantiasa kita curahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya dari zaman jahiliyah menuju zaman penuh rahmat seperti saat ini.

Karya tulis ilmiah ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dalam memperoleh gelar S.Ked. pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dorongan dari berbagai pihak. Dengan segala kerendahan hati dan rasa hormat, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat langsung maupun tidak langsung, khususnya kepada :

1. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia
2. dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia
3. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, Ph.D. selaku Ketua Program Studi Kedokteran Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia
4. dr. Ety Sari Handayani, M.Kes. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk memberi bimbingan, arahan, nasihat, dan motivasi yang mendorong penulis hingga karya tulis ilmiah ini tersusun
5. dr. Zainuri Sabta Nugraha, M.Sc. selaku dosen penguji yang turut serta memberi masukan sehingga karya tulis ilmiah ini menjadi lebih baik
6. dr. Shinta Andi Sarasati residen Patologi Anatomi yang turut serta memberi arahan dan masukan sehingga penulis dapat lebih paham dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini
7. Para staf Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM yang telah memberikan dukungan dan membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian
8. Para staf Akademik FK UII yang telah membantu dalam pengumpulan persyaratan karya tulis ilmiah ini
9. Kedua orang tua penulis, Ayah Ir. H Nufrizal Faried Hanafi, M.T dan Mama Hj. Sri Wardani Santyastuti S.H yang tiada hentinya memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya kepada penulis selama masa studi di Fakultas Kedokteran
10. Budhe dan Kakak sepupu penulis, Peni Yulistriati dan Aisyana Revi Archika Wibowo yang tiada hentinya memberikan dukungan psikis, kasih sayangnya kepada penulis selama masa studi di Fakultas Kedokteran
11. Eyank, om dan tante serta segenap keluarga yang telah memberikan semangat, dukungan, dan doanya kepada penulis selama di Fakultas Kedokteran
12. Mba Winarni yang sudah membantu membesarkan penulis, memberikan doa, motivasi dan semangat sejak 18 tahun yang lalu hingga saat penyusunan karya tulis ilmiah ini
13. Sahabat penulis di Fakultas Kedokteran UII, Khoviya Yuwina SH, Syafira Nanda Syalya Lagilote, Nuzulina Safira Hapsari Sunanto, Qonita Firdaus Jasarevic, Arviyan Cahyo Nugroho dan Humaira Madina Liza Lubis yang

telah meluangkan waktu dan tenaganya dalam memberi dukungan, menjadi tempat berkeluh kesah dan menemani penulis dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini

14. Sahabat penulis sejak SMA Nuzila Putri Albana, dan Kukuh Khoiru yang telah memberi dukungan, doa, semangat serta menjadi tempat berkeluh kesah disaat saat terberat dalam menyusun karya tulis ilmiah ini
15. Keluarga Kak Cindy yang sudah mensupport, memotivasi dan mendoakan penulis dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini
16. Teman penelitian Fisabilla Radite Setyanur dan Mohamad Alif Ramadhan yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama proses penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah
17. Mba Mislahatil Umami, Mba Amalia Adityas, Mba Nurul Hidayah, Mba Nabila, dan Mba Ariesta Irbah Khairah sebagai kakak tingkat FK Ull Angkatan 2016 dan 2015 yang sudah membantu penulis ketika mengalami kendala dalam menulis karya tulis ilmiah
18. Mba Isti Nurul Khotimah, Mba Reni Kumalasari, Mas Tofa dan Mas Nanang yang sudah membantu dalam penyusunan karya tulis ilmiah
19. Teman-teman Program Studi S-1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia angkatan 2016, 2017, 2018 dan 2019 yang selalu memotivasi dan menemani hari-hari penulis selama fase pendidikan preklinik
20. Teman-teman SD, SMP, dan SMA yang telah memberikan doa serta dukungannya kepada penulis
21. Segenap pihak yang telah mewarnai hidup penulis dan tidak dapat disebutkan satu persatu

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, dengan berbesar hati penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan penelitian berikutnya. Penulis juga memohon maaf atas segala kekurangan, kekhilafan, dan keterbatasan yang ada dalam penelitian ini. Semoga karya tulis ilmiah ini memberikan manfaat bagi kita semua. *Aamiin.*

Wassalamu,alaikum Warahmatullah Wabarakatuh.

Yogyakarta, 1 Maret 2021



Imtinanda Khalisa Amani

PENGARUH EKSTRAK ETANOL JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP JUMLAH NEURON STRIATUM OTAK TIKUS PASCA LIGASI BILATERAL COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION

Imtinanda Khalisa Amani¹, Ety Sari Handayani², Zainuri Sabta Nugraha³

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

³Departemen Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

E-mail: ¹nandakhalisa@gmail.com

INTISARI

Latar Belakang: Stroke merupakan suatu kondisi yang terjadi akibat berkurangnya pasokan darah ke otak karena robeknya arteri yang mengakibatkan defisit neurologis, kecacatan fisik dan mental, hingga kematian. Menurut WHO tahun 2016 stroke menduduki peringkat ke dua penyebab kematian di dunia dan peringkat ketiga penyebab kecacatan. Salah satu tanaman yang berpotensi menjadi antioksidan alami dan juga sebagai agen neuroproteksi yaitu *Nigella sativa* (NS) yang berasal dari Eropa Selatan. *Timiquinon* (TQ) merupakan senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman Jintan hitam yang memiliki bioaktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, imunomodulator dan neuroproteksi. Konsumsi jintan hitam dapat mempengaruhi memori spasial pada hewan coba stroke. Memori spasial melibatkan struktur otak salah satunya striatum. Belum diketahui apakah jintan hitam dapat mempengaruhi jumlah neuron striatum. Sehingga perlu dibuktikan dengan melakukan penelitian lebih lanjut.

Tujuan Penelitian: Mengetahui Pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi Bilateral Common Carotid Artery Occlusion

Metode Penelitian: Penelitian ini merupakan quasi experimental dengan rancangan penelitian post test control group design. Hasil penelitian diuji dengan uji statistic One Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dengan bantuan program SPSS

Hasil: Berdasarkan hasil Uji Kruskal Walis didapatkan adanya hasil signifikan pada kelompok P2 (mendapatkan tindakan ligase BCCAO dan diberikan sondase ekstrak jintan hitam 50mg/kgBB/hari) ($P=0,042$). Nilai rata rata neuron striatum P2 tertinggi dibandingkan (K+), (K-), (P1), dan (S).

Mayoritas perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan dengan P2 hal ini ditunjukkan dengan nilai $P<0,05$.

Kesimpulan: Ekstrak Etanol Jintan (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan jumlah neuron striatum otak tikus pasca induksi iskemia serebri global

Kata Kunci: Jintan Hitam, *Nigella Sativa*, Stroke Iskemik

THE EFFECT OF BLACK CUMIN (*Nigella Sativa*) ETHANOL EXTRACT ON THE NUMBER OF RAT BRAIN STRIATUM NEURONS POST OF BILATERAL COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION

Amani Imtinanda Khalisa¹, Handayani Ety Sari², Nugraha Zainuri Sabta³

¹*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia*

²*Departement of Anatomy of Medicine Universitas Islam Indonesia*

³*Departement of Anatomy of Medicine Universitas Islam Indonesia*

E-mail: ¹nandakhalisa@gmail.com

ABSTRACT

Background: Stroke is a condition that occurred due to reduced blood supply to the brain caused by the tearing artery which affects neurological deficits, physical and mental disabilities, and death. Based on WHO in 2016, stroke was on the second leading cause of death and the third cause of disability. *Nigella Sativa* is one of the potential plants to be an as natural antioxidant and also a neuroprotective agent which comes from Southern Europe. In the black cumin contained Thymoquinone (TQ) as an active compound which has bioactivity as anti-inflammatory, antioxidant, immunomodulatory, and neuroprotective. Consuming black cumin could affect spatial memory in stroke animals. Spatial memory involves brain structures, one of which is the striatum. It is unknown yet whether black cumin affects the number of striatum neurons, thus it requires to be proven by further research.

Objectives: Determining the Effect of Black Cumin Ethanol Extract (*Nigella Sativa*) on the Number of Striatum Neurons in Rats Post Bilateral Common Carotid Artery Occlusion

Method: This research is a quasi-experimental research design with post-test control group design. The results of the study were tested with the One Way ANOVA statistical test with a trust level of 95% ($\alpha = 0.05$) with the help of the SPSS program.

Results: Based on the results of One Way ANOVA, there were significant results. The mean value of the group that underwent BCCAO surgery with black cumin sondage (P1 and P2) had an average number of neurons more than the group that underwent BCCAO surgery without being given black cumin sondage (K- and K+).

Conclusion: Ethanol extract of Cumin (*Nigella Sativa*) able to increase the number of striatum neurons in the rat brain after induction of global cerebral ischemia

Keywords: Black Cumin, *Nigella Sativa*, Ischemic stroke

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Stroke merupakan penyakit atau gangguan fungsi otak berupa kelumpuhan saraf akibat terhambatnya aliran darah ke otak. Stroke adalah sindrom yang terdiri dari tanda atau gejala hilangnya fungsi sistem saraf pusat, baik fokal maupun menyeluruh (global) yang berkembang secara cepat (dalam hitungan detik atau menit), disebabkan oleh terhambatnya aliran darah ke otak karena adanya sumbatan (stroke iskemik). Gangguan fungsi saraf tersebut dapat menimbulkan gejala kelumpuhan wajah atau anggota gerak, penurunan kesadaran serta gangguan dalam berbicara. Dampak dari stroke tersebut menyebabkan penderita stroke tidak dapat melakukan aktivitasnya kembali, sehingga menjadi masalah kesehatan utama bagi suatu negara.

Stroke merupakan masalah kesehatan utama di dunia dan menduduki peringkat kedua sebagai penyebab kematian. Hal ini dibuktikan, di Amerika Serikat stroke menjadi penyebab kematian ketiga terbanyak setelah penyakit kardiovaskular dan kanker. Sekitar 795.000 orang di Amerika Serikat mengalami stroke setiap tahunnya dan menyebabkan 134.000 kematian per tahunnya. Menurut data WHO tahun 2013 diketahui bahwa jumlah kejadian stroke di negara-negara berkembang cenderung meningkat dari 1,1 juta kasus per tahun pada tahun 2000 menjadi 1,5 juta kasus per tahun pada tahun 2025. Jumlah kematian di Indonesia menurut data WHO tahun 2002 mencapai 123.684 orang dan menyebabkan disabilitas pada 8 orang dari 100 orang populasi. Rikesdas tahun 2013 menyebutkan prevalensi stroke di Indonesia berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan mencapai 12,1 per mil. Provinsi tertinggi diduduki Sulawesi Utara (10,8 per mil), diikuti Daerah Istimewa Yogyakarta (10,3 per mil), Bangka Belitung (9,7 per mil), dan DKI Jakarta (9,7 per mil).

Stroke diklasifikasikan menjadi dua yaitu, stroke iskemik dan stroke hemoragik. Akan tetapi, insiden stroke iskemik lebih tinggi antara 70%-85% daripada stroke hemoragik 15%-30%. Salah satu penyebab stroke iskemik adalah adanya penurunan suplai oksigen yang mengakibatkan produksi ATP berkurang dan memicu terjadinya perubahan fungsional otak. Gangguan ini memiliki karakteristik adanya perubahan neurologis dan fungsi serebral yang berkembang

dengan cepat dan berakhir pada kematian (Speetzen *et al.*, 2013). Global iskemia menunjukkan keparahan kondisi penderita yang meliputi gangguan pada sistem motorik dan sistem kognitif. Hal ini berkaitan dengan kerusakan jaringan pada area ganglia basalis.

Striatum merupakan bagian dari ganglia basalis yang memiliki peran untuk mengontrol gerakan motorik secara sukarela. Striatum tersusun atas nukelus kaudatus dan putamen, yang merupakan reseptor utama dari ganglia basalis yang menerima input dari korteks serebri, sistem limbik thalamus dan substansia nigra. Dalam peranannya striatum memiliki dua reseptor D1 (eksitatorik) dan D2 (inhibitorik) yang akan berikatan dengan neurotransmitter dopamine yang dihasilkan oleh substansia nigra pars compacta. Apabila terjadi kerusakan pada area striatum akan mengakibatkan tidak terkontrolnya suatu gerakan, karena ketidakseimbangan dari fungsi fisiologis reseptor inhibitorik dan eksitatorik.

Penelitian akhir-akhir ini banyak mengungkap adanya ketidak efektifan farmakoterapi stroke yang berperan sebagai neuroprotektan yaitu Citicoline. Selama ini citicoline merupakan pengobatan stroke yang biasa digunakan dalam dunia klinisi, akan tetapi setelah ditinjau ulang citicoline tidak menunjukkan adanya efek yang signifikan untuk pengobatan stroke. Mengatasi permasalahan stroke iskemik ini, dibutuhkan adanya terapi *adjuvant*. *Nigella sativa*/ Jintan Hitam (Habbatus Sauda) merupakan salah satu tanaman yang dianjurkan oleh Nabi Muhammad SAW. Imam bukhori meriwayatkan dari Aisyah Radhiallahuanhu, ia pernah mendengar nabi bersabda “Sungguh dalam Habbatus sauda itu terdapat penyembuh dari berbagai macam penyakit kecuali as sam (kematian)”. Dilihat dari segi medis, *Nigella sativa* (Jintan Hitam) merupakan tanaman terapeutik dimana Jintan Hitam dapat menyembuhkan luka pada sistem saraf pusat dengan kemampuannya sebagai antiinflamasi, antioksidan, imunomodulator, dan neuroproteksi (Hosseinzadeh *et al.*, 2007).

Salah satu kandungan jintan hitam yang memiliki peranan cukup besar dan memiliki kandungan hampir 27,8% adalah Thymoquinone (TQ). Thymoquinone berperan sebagai antioksidan yang membantu dalam pemulihan sel sel otak yang rusak. tereduksi (GSH) dan superperoksida dismutase (SOD) pada hippocampus otak tikus. Hosseinzadeh *et al.*, (2007) mengkonfirmasi adanya efek perlindungan

(neuroprotektan) dari TQ pada iskemia serebral. Penelitian Goyal *et al.*, (2017) juga mengatakan TQ mampu menurunkan angka kematian sel neuron di wilayah CA1 hippocampus dan peningkatan Superperoksida Dismutase (SOD) setelah iskemia otak depan. Hal ini juga berkaitan dengan penelitian Hidayah *et al.*, (2018) membuktikan adanya perbaikan memori spasial otak tikus pasca induksi BCCAO. Sehingga dapat disimpulkan dari beberapa penelitian diatas bahwa TQ memiliki efek yang menguntungkan seperti adanya penurunan MDA, peningkatan GSH, SOD dan aktivitas perlindungan terhadap hippocampus otak tikus pasca iskemia global (Solati *et al.*, 2014).

1.2. Perumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh Pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi Bilateral Common Carotid Artery Occlusion?

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui Pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi Bilateral Common Carotid Artery Occlusion

1.4. Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti

Peneliti dapat mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap jumlah neuron striatum pada otak tikus yang telah diinduksi BCCAO.

2. Bagi tenaga medis

Tenaga medis dapat mempertimbangkan pengobatan medikamentosa dengan menggunakan ekstrak jintan hitam untuk terjadinya stroke iskemik.

3. Bagi pemerintah

Hasil penelitian dapat dijadikan acuan tata laksana stroke iskemik di Indonesia.

1.5. Keaslian Penelitian

Tabel 1 Referensi Keaslian Penelitian

Sitasi	Judul dan Hasil Penelitian	Perbedaan
Soleimannejad, <i>et al.</i> , (2017)	<p><i>“Effects of Nigella sativa Extract on Markers of Cerebral Angiogenesis after Global Ischemia of Brain in Rats”</i></p> <p><i>Nigella sativa</i> memiliki efek yang menguntungkan pada angiogenesis otak. Peningkatan VEGF dan HIF dan penurunan MMP-9 menjadi salah satu indikator adanya proses angiogenesis setelah pemberian <i>Nigella sativa</i>. Selain bereperan pada proses angiogenesis, NS juga memiliki peranan sebagai antioksidan. Pada penelitian ini dikatakan adanya penurunan lipid peroksidase pada hippocampus otak tikus pasca induksi iskemi global</p>	Penelitian ini menggunakan Ekstrak <i>Nigella sativa</i> pada jumlah neuron striatum yang diinduksi stroke iskemia dengan metode BCCAO
YuXiao, <i>et al.</i> , (2016)	<p><i>“ Evaluation of Neuroprotective Effect of Thymoquinone Nanoformulation in the Rodent Cerebral Ischemia-Reperfusion Model”</i></p> <p>Thymoquinone memiliki efek farmakokinetik dan secara efektif mengembalikan gejala iskemik serta menyelamatkan sel sel otak dari kematian dengan cara menstimulasi reseptor K opioid yang mengakibatkan blockade kanal kalsium. Belum diketahui pasti mekanisme TQ berefek pada kanal kalsium.</p>	Penelitian ini menggunakan Ekstrak <i>Nigella sativa</i> pada jumlah neuron striatum yang diinduksi stroke iskemia dengan metode BCCAO
Hidayah, <i>et al.</i> , (2018)	<p><i>“Pemanfaatan Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Perbaikan Memori Spasial Otak Tikus Pasca Induksi Iskemia Serebri Global”</i></p> <p>Pemberian ekstrak jintan hitam pada hewan coba yang diinduksi BCCAO menunjukkan adanya perbaikan fungsi memori spasial</p>	Penelitian ini menggunakan Ekstrak <i>Nigella sativa</i> pada jumlah neuron striatum yang diinduksi stroke iskemia dengan metode BCCAO

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1 Stroke Iskemi Cerebri

2.1.1.1 Definisi

Stroke adalah suatu gangguan fungsional otak yang terjadi secara mendadak (dalam beberapa detik) atau secara cepat (dalam beberapa jam) dengan tanda dan gejala klinis baik fokal maupun global yang berlangsung lebih dari 24 jam, disebabkan oleh terhambatnya aliran darah ke otak karena perdarahan (stroke hemoragik) ataupun sumbatan (stroke iskemik) dengan gejala dan tanda sesuai bagian otak yang terkena, yang dapat sembuh sempurna, sembuh dengan cacat, atau kematian (Johnson *et al.*, 2016).

Insiden stroke di negara maju mengalami penurunan sebanyak 42%, sedangkan di negara dengan sosial ekonomi rendah dan sedang, terjadi peningkatan sebanyak 100%. Sebanyak 80-85 % penyebab stroke yang paling sering adalah oklusi arteri, sedangkan perdarahan intra serebral primer, perdarahan subarahnoid dan trombosis sinus serebri sebanyak 20-25% (Mukherjee *et al.*, 2011). Stroke terjadi bila tekanan darah terhenti karena oklusi oleh trombus atau emboli (stroke iskemik) atau perdarahan karena pecahnya pembuluh darah (stroke hemoragik) (Bansal, *et al.*, 2013).

2.1.1.2 Patofisiologi Stroke

Patofisiologi terjadinya stroke sangat kompleks mulai dari mekanisme kegagalan pembentukan energi, kehilangan homeostasis seluler, asidosis, peningkatan kadar kalsium intra seluler, eksitotoksik, *reactive-oxygen species mediated toxicity*, aktivasi sel neuron dan sel glia, aktivasi komplemen, terputusnya sawar darah otak dan infiltrasi leukosit.

Otak adalah organ yang tidak bisa menyimpan cadangan energi, sehingga otak adalah organ yang sangat rentan terhadap iskemik. Penurunan aliran darah otak akibat suatu iskemik menyebabkan penurunan glukosa dan pembentukan ATP, yang kemudian diikuti dengan kegagalan transport elektron,

sehingga menyebabkan kadar ion K lebih banyak mengalir ke ekstra seluler. Akibat lebih lanjut dari kekurangan oksigen dan glukose adalah terganggunya oksidasi di mitokondria, sehingga jumlah energi (ATP) yang dihasilkan menurun. Penurunan jumlah ATP mengakibatkan terjadi peningkatan metabolisme glikogen dan glukose cadangan, sehingga menyebabkan asidosis intra seluler. Penurunan jumlah ATP mengakibatkan kegagalan pompa Na-K-ATPase, sehingga Na masuk ke dalam sel dan K keluar sel. Akibat selanjutnya adalah terjadi aktivasi kanal Ca^{2+} dan depolarisasi neuron dan astrosit. Akibat aktivasi kanal Ca^{2+} , terjadi peningkatan pelepasan kadar glutamat yang berlebihan di ekstraseluler yang kemudian akan meningkatkan jumlah Ca^{2+} , selain itu peningkatan jumlah Ca^{2+} ke dalam sel, mengakibatkan disfungsi mitokondria yang mengarahkan pada terbukanya pori-pori transisi permeabilitas mitokondrial dan pelepasan sitokrom C. Pelepasan sitokrom C oleh protein Bcl-2 family, terjadilah apoptosis melalui jalur nuclear factor κB (NF- κB) diikuti teraktivasinya jalur mitogen activity protein kinase (MAPK). Mekanisme terjadinya kematian sel pada iskemik serebri adalah karena stres oksidatif atau nitrosatif, eksitotoksik, ketidakseimbangan ion dan apoptosis. Stres oksidatif oleh karena eksitotoksik telah terbukti merupakan mekanisme penting mengakibatkan kematian sel pada iskemik serebri (Gambar 1) (Traystman, 2003) (Johnson *et al.*, 2016).

Stroke iskemik ditandai dengan dua area iskemia yaitu; pusat inti iskemik, dan daerah sekelilingnya yang disebut iskemik penumbra (daerah peri infark) yang terjadi karena hipoperfusi. Luasnya daerah inti iskemik dan penumbra tergantung pada lama dan beratnya oklusi pembuluh darah dan kerentanan daerah otak yang mengalami iskemik. Yang paling sensitif terhadap iskemik adalah nukleus CA 1 neuron piramid di hipokampus dan korteks serebri (Truelsen *et al.*, 2000).

Jaringan otak dalam keadaan fisiologis memerlukan paling sedikit 50ml darah/100 gram untuk memenuhi kebutuhan glukosa dan oksigen, supaya keperluan energi (ATP) terjamin. Bila aliran darah otak menurun kurang dari 10 ml/100 gram jaringan otak, maka akan terbentuk inti iskemik. Daerah inti iskemik ini akan segera menjadi nekrotik yang ireversibel dan selnya mengalami kematian (infark serebri). Bila aliran darah otak antara 10-20 ml/100 gram jaringan otak, maka di daerah tersebut akan terbentuk daerah iskemik yang disebut iskemik penumbra. Bila kemampuan menyediakan glukosa dan aliran darah dari pembuluh

darah kolateral tidak mencukupi maka daerah iskemik penumbra ini akan menjadi infark, sehingga daerah infark akan bertambah (Xing *et al.*, 2012).

2.1.1.3 Mekanisme Kematian Sel pada Stroke iskemik

Terhentinya aliran darah ke otak selama serangan stroke, mengakibatkan terjadinya berkurangnya oksigen dan glukose. Kekurangan oksigen dan glukose menyebabkan otak mengalami kekurangan energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi homeostasis sel neuron, sehingga akan menyebabkan terjadinya depolarisasi neuron, pelepasan neurotransmitter eksitotoksik, pengurangan ambilan kembali neurotransmitter dari ruangan ekstraseluler. Semua proses ini mengakibatkan peningkatan Ca ekstraseluler, yang merangsang aktivasi yang berlebihan beberapa enzim dan proses signaling mengakibatkan kegagalan fungsi neuron yang akhirnya menyebabkan kematian (Xing *et al.*, 2012).

Stres oksidatif merupakan kunci terjadinya kelainan pada penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Parkinson, Alzheimer, Amyotrophic lateral sclerosis, multiple sclerosis dan stroke. Stres oksidatif ditandai dengan terbentuknya radikal bebas berlebihan, melebihi kapasitas antioksidan untuk menetralkan. Antioksidan berfungsi melindungi otak dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Iskemik serebri akut menginduksi kaskade metabolik yang kompleks termasuk terbentuknya radikal bebas seperti ROS dan reactive nitrogen species (RNS). Dalam keadaan fisiologis ROS dan RNS terbentuk dalam jumlah kecil dan berfungsi untuk penting untuk proses signaling dan metabolisme (Traystman, 2003).

Beberapa studi memperlihatkan sumber radikal bebas pada stroke iskemik adalah stimulasi glutamat melalui mekanisme aktivasi reseptor nicotinic adenin dinucleotide phosphat dehydrogenase (NADPH), disfungsi mitokondria, aktivasi neuronal nitric oxide (nNOS), induksi nitric oxide synthetase (NOS), atau cyclooxygenase (COX) auto- oksidasi katekolamin, metabolisme asam lemak bebas, terutama yang dilepas oleh asam arachidonat, migrasi leukosit dan neutrofil yang membentuk anion superoksid dan konversi xantin dehidrogenase ke xantin oksidase (Truelsen, Begg and Mathers, 2000).

Penurunan jumlah oksigen selama iskemik serebri juga menyebabkan penumpukan asam laktat melalui metabolisme anaerob, dan mengakibatkan

keadaan asidosis. Asidosis adalah salah satu sumber ROS yang penting, karena selama asidosis H^+ akan merubah O_2^- menjadi H_2O_2 atau radikal hidroksil (OH) yang lebih reaktif (Johnson *et al.*, 2016).

Penurunan aliran darah ke otak selama iskemik, mengakibatkan penurunan produksi ATP. ATP diperlukan untuk semua kegiatan di dalam sel. Bila terjadi penurunan ATP maka salah satu akibatnya adalah terjadi depolarisasi membran sel dan pelepasan glutamat yang berlebihan ke ruang ekstra seluler yang akan mengakibatkan eksisitotoksik. Glutamat akan berinteraksi dengan reseptor N-methyl-D-aspartat (NMDA) dan α -amino-3-hydroxy-5 methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) akan mengakibatkan peningkatan Ca^{2+} dalam sel neuron. Selama iskemik serebri Ca^{2+} akan mengaktifkan enzim proteolitik yang bertanggung jawab terhadap degradasi struktur intra dan ekstra seluler, dan juga enzim fosfolipase A2 (PLA2) serta COX yang juga memproduksi radikal bebas. Radikal bebas akan menyebabkan kematian sel melalui mekanisme nekrosis atau apoptosis seperti terlihat pada Gambar 1 (Traystman, 2003).

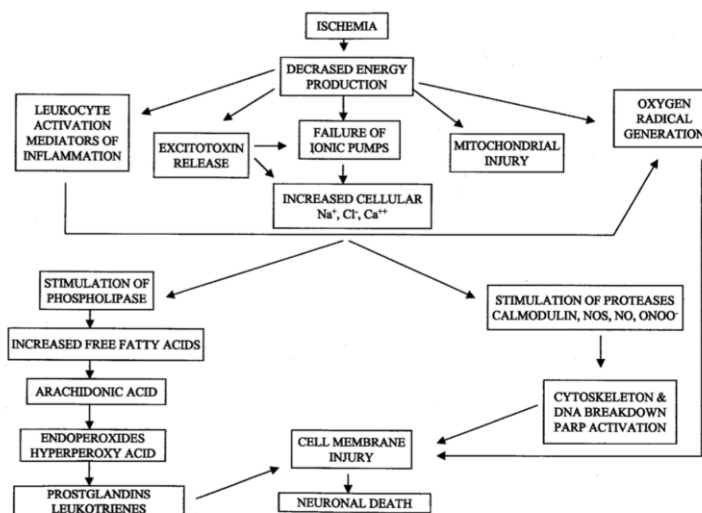


Figure 1 Potential mechanisms of injury from ischemia.

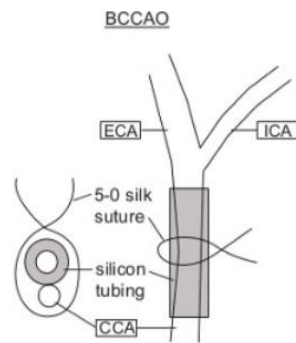
Gambar 1 Mekanisme patologis stroke iskemik hingga kematian sistem saraf (Traystman, 2003).

2.1.2 Tikus Model Stroke

Beberapa tahun terakhir penggunaan hewan tikus untuk mengoptimalkan pengobatan stroke dan meningkatkan pemahaman terhadap patofisiologi stroke telah dikembangkan. Penelitian laboratorium umumnya menggunakan hewan

tikus karena lebih mudah murah dan dapat diterima dari segi etika daripada menggunakan hewan yang lebih besar. Selain itu anatomi pembuluh darah otak, fisiologi tubuh yang mirip dengan manusia mempermudah pemantauan parameter penelitian.

Terdapat dua model yang dikembangkan untuk menginduksi stroke. Model pertama adalah *chemical* dengan menggunakan obat-obatan. Model kedua adalah *physical*, menggunakan tiga teknik yang paling sering digunakan yaitu *Unilateral Common Carotid Artery Occlusion (UCCAO)*, *Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO)* dan *Bilateral Common Carotid Artery Occlusion (BCCAO)* (Lai *et al.*, 2005).



Gambar 2 Proses induksi stroke iskemia metode MCAO dan BCCAO (Speetzen, Endres and Kunz, 2013)

Salah satu teknik yang dikembangkan pada global iskemia adalah teknik oklusi arteri karotis komunis bilateral (BCCAO) (Gambar 2). Teknik ini memiliki efek mortalitas yang lebih rendah dibandingkan dengan Teknik MCAO. Teknik BCCAO dilakukan dengan cara two vessel occlusion (2VO) (Wahul *et al.*, 2018). Teknik ini dilakukan dengan mengikat arteri karotis komunis bilateral tikus selama beberapa menit, dilanjutkan dengan pelepasan ikatan tersebut (reperfusion). Beberapa literature menyebutkan variasi oklusi BCCAO dan durasi reperfusi pasca BCCAO menyebabkan perbedaan area iskemia pada otak(Speetzen, Endres and Kunz, 2013). Berdasarkan pengamatan histopatologi otak menunjukkan adanya nekrosis pada korteks dan ganglia basalis, serta perlukaan pada neuron CA1 hippocampus, puntamen dan neokorteks (Lai *et al.*, 2005).

2.1.3 Potensi Farmakologi *Nigella sativa* (Jintan Hitam)

Tubuh manusia mensintesis antioksidan secara endogen dan juga dapat menerima beberapa antioksidan dari diet. *Nigella sativa* merupakan tanaman herbal yang memiliki kandungan antioksidan alami. NS tanaman herbal yang dapat ditemukan diberbagai belahan dunia, khususnya di Timur tengah, Pakistan dan India. Dalam bahasa Arab bijinya dikenal sebagai Habbatul-Barakah (biji yang berkah). Sejumlah penelitian menyebutkan NS memiliki bioaktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, imunomodulator, dan neuroprotektan (Hosseinzadeh *et al.*, 2007).



Gambar 3 *Nigella sativa* atau jintan hitam

Secara morfologinya, NS adalah bunga bunga anggung, didominasi putih, kuning, merah mudah, biru muda, atau lavender dan memiliki 5-10 kelopak (Gambar 3). Buah NS memiliki kapsul besar dan banyak mengandung biji hitam aromatic dan pahit. Klasifikasi tanaman jintan hitam (*Nigella sativa*) berdasarkan taksonomi:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyt
Order	: Ranunculales
Famili	: Ranunculacea
Genus	: Nigella
Spesies	: Sativa

Dipandang dari prespektif islam NS dianggap sebagai obat herbal dari berbagai macam penyakit. Seperti yang sudah diriwayatkan oleh Abu Salamah

bahwa Abu Hurairah Radhiallah Huanhu meriwayatkan dari Rasulullah Salallahu'alaihi Wasallam yang bersabda: "Sesungguhnya pada jintan hitam itu terdapat obat untuk segala macam penyakit, kecuali kematian"

Nigella sativa memiliki beberapa kandungan senyawa aktif, diantaranya TQ (30-48%) timol, thymohydroquinone, dithymoquinone, p-cymene (7-15%), carvacrol (6-12%), sesquiterpene longifolene (1-8%), 4-terpineol (2-7%), t-anethol (1-4%), dan -pinene. Dalam beberapa studi literatur mengatakan, kandungan TQ yang tinggi dalam ekstrak NS memiliki efek antioksidan yang kuat secara tidak langsung dapat mengurangi produksi ROS (Goyal *et al.*, 2017) (Staniek and Gille, 2010). Selain itu TQ, memiliki peran sebagai antiinflamasi melalui penghambatan Lipopolisakarida (LPS) yang mengakibatkan penurunan jumlah NO. Peranan TQ dalam menghambat reaksi inflamasi dengan menekan peningkatan mediator mediator pro inflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan , IL- 12p40. Ekstrak NS memiliki peran lain yaitu sebagai imunomodulator (Beker, Dalli and Elibol, 2018). Imunomodulator merupakan suatu senyawa yang dapat meningkatkan fungsi sistem imun pada manusia. Serbuk biji N. sativa dapat meningkatkan rasio limfosit T-helper terhadap T-suppresor sebesar 72% dan meningkatkan jumlah dan fungsi sel T-killer (Solati, Baharin and Bagheri, 2014).

2.1.4 Thymoquinone sebagai Neuroprotektan

Salah satu kandungan aktif *Nigella sativa* adalah Thymoquinone (TQ) yang terbukti memiliki efek protektif pada sel neuron (neuroprotektan) akibat stress oksidatif. TQ merupakan senyawa antioksidan yang mampu mengurangi kerusakan sel sel neuron dengan menekan pembentukan ROS (Álvarez-Sabín and Román, 2013). Penurunan jumlah ROS dapat menurunkan resiko ikatan antara radikal bebas dengan membran lipid. Ketika jumlah radikal bebas yang berikatan dengan membran lipid berkurang secara otomatis dapat menurunkan terjadinya peroksidase lipid dan berakhir dengan penurunan stress oksidatif. Selain itu TQ memiliki efek langsung terhadap kaskade apoptosis yaitu dengan meningkatkan regulasi Bcl-2 dan menurunkan protein Bax yang dapat menurunkan kejadian apoptosis pada sel neuron. Penelitian Goyal *et al.* mengatakan TQ mampu menurunkan angka kematian sel neuron di wilayah CA1 hippocampus dan peningkatan Superperoksida Dismutase (SOD) setelah iskemia otak depan. Sehingga dapat disimpulkan TQ memiliki manfaat untuk meningkatkan

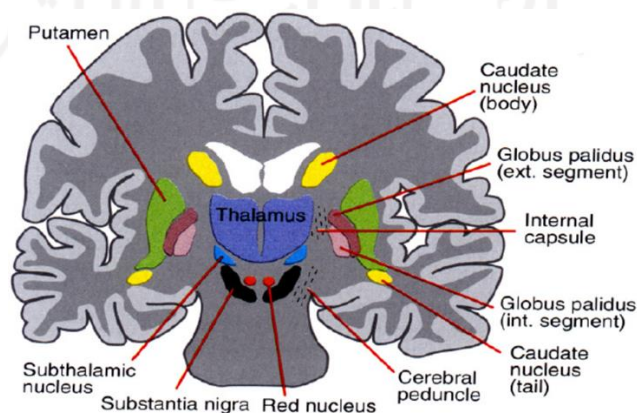
kelangsungan hidup sel neuron dan proses neurogenesis (Forouzanfar, Fazly Bazzaz and Hosseinzadeh, 2014).

2.1.5 Struktur Neuroanatomi

Para neuroanatomis belum menyepakati jumlah struktur yang membentuk nukleus basalis, tetapi sudah ada tiga struktur yang disepakati, yaitu (1) nukleus kaudatus, (2) putamen, dan (3) globus palidus. Ketiga struktur tersebut merupakan kumpulan badan sel di sistem saraf pusat (grey matter). Selain dari tiga struktur utama tersebut, nukleus subtalamikus dan substansia nigra juga merupakan struktur yang membentuk nukleus basalis (Ring, 2003).

Secara embriologi, nukleus basalis merupakan perkembangan dari telensefalon, diensefalon, dan mesensefalon. Nukleus kaudatus dan putamen merupakan perkembangan dari telensefalon. Globus palidus dan nukleus subtalamus merupakan perkembangan dari diensefalon. Sedangkan substansia nigra merupakan perkembangan dari mesensefalon (Nakagawa, *et al.*, 2016).

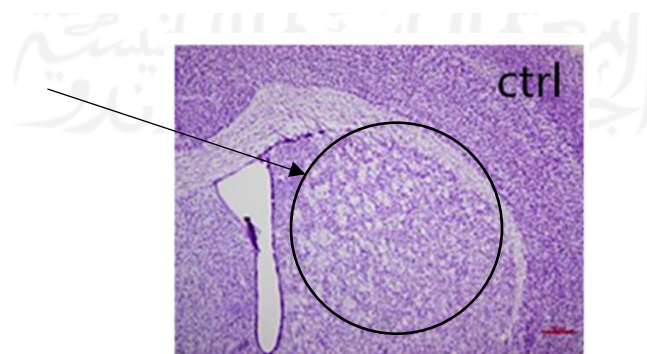
Dua struktur nukleus basal yang berdampingan letaknya di sisi lateral talamus adalah globus palidus dan putamen. Kedua struktur ini disebut dengan 'nukleus lenticular'. Globus palidus terletak lebih dekat dengan talamus, sedangkan putamen terletak lebih dekat dengan korteks serebri dan berukuran lebih besar dari globus palidus. Globus palidus merupakan jalur keluar utama dari nukleus basalis. Globus palidus dibagi menjadi segmen dalam dan luar (Gpe dan GPi); kedua regio mengandung neuron-neuron GABAergik inhibitorik (Kim dan Hikosaka, 2015).



Gambar 4 Anatomi Ganglia Basalis (Kim dan Hikosaka, 2015).

Struktur ketiga adalah nukleus kaudatus. Nukleus kaudatus memiliki bagian kepala (*rostral* atau *caput*) berukuran besar yang terhubung ke bagian ekor (kaudal) yang lebih kecil melalui badan (korpus) yang berbentuk seperti tanda koma. Aktivitas neuron di nukleus kaudatus salah satunya berperan untuk menggerakkan mata (Guyton dan Hall, 2014).

Gabungan dari nukleus kaudatus dan putamen disebut dengan 'striatum'(Gambar4) .Penamaan ini dikarenakan setelah diobservasi, terdapat struktur bergaris-garis berwarna putih. Garis ini merupakan kumpulan akson yang kemudian disebut dengan kapsula interna. Kapsula interna memisahkan putamen dan nukleus kaudatus. Kapsula interna merupakan jalur yang dilewati oleh hampir semua serabut saraf motorik dan sensorik yang menghubungkan korteks serebri dan medula spinalis (Guyton dan Hall, 2014). Striatum memiliki peran pada proses belajar dan memori (Nakagawa, *et al.*, 2016). Striatum rostral menerima input dari daerah asosiasi di serebri. Sebaliknya, striatum caudal terhubung dengan daerah sensorimotorik dari korteks serebri. Ada banyak neurotransmitter inhibitorik (GABA) dan sebagian kecil neurotransmitter eksitatorik (asetilkolin) yang bekerja di striatum. Secara kolektif, striatum dan globus palidus disebut dengan 'kospus striatum' (Kim dan Hikosaka, 2015).Nukleus kaudatus dan putamen terhubung dengan ujung axon dari substansia nigra. Substansia nigra memiliki dua struktur, yaitu pars compacta dan pars retikulata. Sedangkan globus palidus terhubung dengan nukleus subtalamikus (Tortora dan Derrickson, 2016) (Raymond *et al.*, 2002).



Gambar 5 Histologi Neuron Striatum dengan pewarnaan Toluidine Blue Perbesaran 40x (Raymond *et al.*, 2002).

2.1.5.1 Fungsi Ganglia Basalis

Nukleus basalis memiliki fungsi motorik dan non-motorik. Secara umum, fungsi motorik nukleus basalis adalah (1) mengatur gerakan yang kompleks dan detail (Guyton dan Hall, 2014); (2) mengatur inisiasi dan terminasi pergerakan (Tortora dan Derrickson, 2016); (3) mengatur action skills (Kim dan Hikosaka, 2015); dan (4) mengubah waktu dan skala intensitas pergerakan (Guyton dan Hall, 2014).

Sedangkan fungsi non-motorik yang dimiliki oleh nukleus basalis di antaranya: (1) membantu inisiasi dan terminasi beberapa proses kognitif, seperti memberi perhatian, ingatan dan membuat rencana dan (2) bekerja sama dengan sistem limbik untuk meregulasi emosi (Tortora dan Derrickson, 2016).

2.1.5.2 Mekanisme Kerja Ganglia Basalis

Otak memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah fungsi motorik. Area otak yang mengurus pergerakan motorik berasal dari area otak yang terletak di girus presentalis lobus frontalis. Aktivitas tersebut dimediasi oleh tiga area korteks yakni, area motorik primer (area broadman 4) , area premotor (area broadman 6), dan area motorik tambahan. Fungsi dari area motorik primer adalah untuk menimbulkan gerakan individual pada berbagai bagian tubuh. Sedangkan fungsi dari area premotorik adalah untuk menyimpan program aktivitas motorik yang dikumpulkan berdasarkan pengalaman yang lalu. Area ini terutama berperan untuk mengontrol gerakan postural kasar melalui hubungannya dengan ganglia basalis.

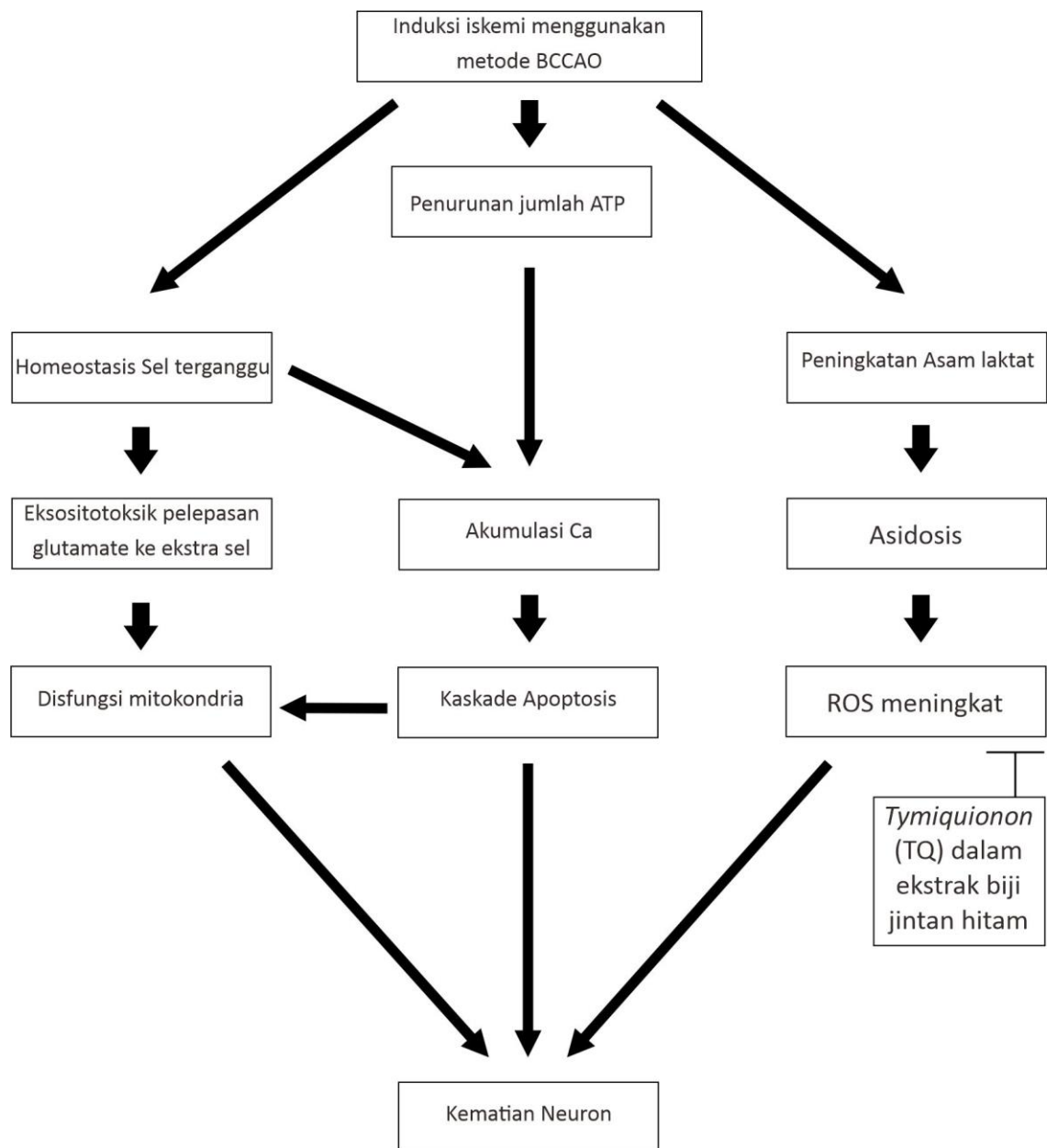
Dalam sistem gerak, beberapa area di otak saling bekerjasama untuk menghasilkan gerakan yang halus tekoordinasi. Gerakan yang terkoordinasi dihasilkan dari kerja korteks motorik yang dibantu oleh ganglia basalis. Sebuah perencanaan motorik akan dibuat oleh area premotor yang nantinya akan dieksekusi oleh area motorik primer. Gerakan yang dihasilkan oleh korteks motorik primer masih kasar, sehingga perlu di control oleh area premotor yang berhubungan dengan ganglia basalis. Dengan peran dari ganglia basalis maka gerakan yang dihasilkan akan lebih terkontrol.

Terdapat dua jalur yang mengontrol dan memodifikasi gerakan, jalur serebellum dan jalur ganglia basalis. Serebellum dan ganglia basalis menerima

input dari beberapa korteks sensorik dan motorik yang akan diproyeksikan kembali ke korteks serebri melalui thalamus. Serebellum dan ganglia basalis mengirim informasi ke *brain stem* dan tractus ekstrapiramidalis. Serebellum berperan dalam mengkoordinasikan aktivitas otot selama gerakan dan berfungsi untuk memulai suatu gerakan. Sedangkan ganglia basalis berperan dalam motor program, dan respon motorik otomatis. Striatum tersusun atas nukelus kaudatus dan putamen, yang merupakan reseptor utama dari ganglia basalis yang menerima input dari korteks serebri, sistem limbik thalamus dan substansia nigra. Input dari ganglia basalis kebanyakan menggunakan *neurotransmitter glutamate*. Striatum merupakan area di otak yang paling kaya akan *neurotransmitter* yang penting dalam sistem saraf pusat yaitu *achetylcholine* dan *dopamine*. *Acetylcholine* merupakan *neurotransmitter* pada sinaps di kebanyakan saraf, sedangkan *dopamine* diproduksi di substansia nigra dan disalurkan ke striatum melalui akson nigrostriatal untuk bekerja pada striatum. Apabila terjadi kerusakan pada substansia nigra, maka akan menyebabkan penurunan level *dopamine* pada striatum. Aktivitas basal ganglia dimodulasi oleh neuron *dopaminergic* di substansia nigra. *Dopamine* memiliki efek eksitasi pada neuron striatal pada jalur langsung dan efek inhibisi pada jalur tidak langsung. Jalur langsung terdiri dari putamen nukelus kaudatus, dan striatum menghasilkan inhibisi pada globus pallidus dan sebagai konsekuensinya disinhibisi dari thalamus, superior kullikulus dan target lainnya. Jalur tidak langsung yang terdiri dari nukelus subtalamik menghasilkan eksitasi dari output saraf dari globus pallidus yang akan meningkatkan inhibisi pada organ target.

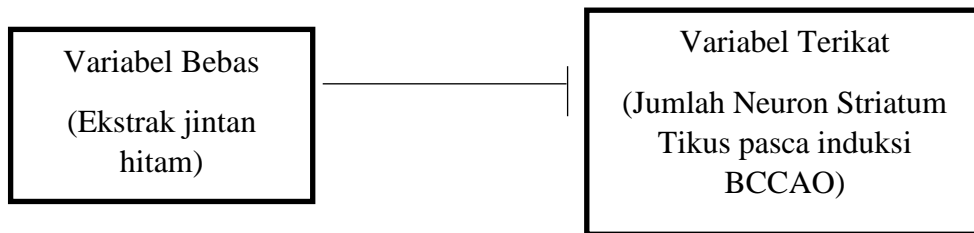
Ganglia basalis berperan dalam motor kontrol dan respon motorik otomatis dari keterampilan motorik dengan memfasilitasi perencanaan motorik. Ganglia basalis tidak berfungsi untuk memulai gerakan, namun berfungsi memodulasi pola gerakan yang telah dimulai. Perubahan aktivitas antara jalur langsung dan tidak langsung, fungsi eksitasi dan inhibis dari sirkuit ganglia basalis mendasari berbagai macam permasalahan gerak.

2.2. Kerangka Teori



Gambar 6 Kerangka Konsep

2.3. Kerangka Penelitian



Gambar 7 Kerangka Penelitian

2.4. Hipotesis Penelitian

Terdapat pengaruh ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap jumlah neuron striatum tikus pasca induksi iskemia serebri global.



BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan *quasi experimental* dengan menggunakan rancangan penelitian *post test control group design*.

3.2. Subyek Penelitian

Subyek penelitian menggunakan blok biologis tersimpan (BBT). BBT berasal dari tikus jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang dikembangkan oleh FK UII yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi tikus BBT yang terasapan baik.

Penentuan besar sampel dengan teknik *simple random sampling* dan perhitungannya menggunakan metode *resource equation* (Charan and Kantharia, 2013).

$$\begin{aligned} E &= \text{BBT} - \text{Total JumlahKelompok} \\ 10-20 &= \text{BBT} - 5 \\ \text{BBT} &= (10-20) + 5 \\ &= 15-25/5 \text{ kelompok} \\ &= 3-5 \text{ BBT/kelompok} \end{aligned}$$

Adapun gambaran kelompok adalah sebagai berikut :

1. Kelompok 1 merupakan bahan biologi tersimpan yang berasal dari kelompok kontrol negatif K(-) yang dilakukan operasi BCCAO dan tanpa diberikan sondase jintan hitam.
2. Kelompok 2 merupakan bahan biologi tersimpan yang berasal dari kelompok kontrol positif K(+) yang dilakukan operasi BCCAO dan disondase citicoline 100 mg/kgBB/ hari. Dosis citicoline 100mg/kg dibagi menjadi 2 dosis pemberian dalam satu hari, yaitu pagi dan sore (Borges *et al.*, 2014).
3. Kelompok 3 merupakan bahan biologi tersimpan yang berasal dari kelompok perlakuan 1 (P1) yaitu kelompok yang mendapatkan tindakan BCCAO dan

diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 10 mg/kgBB/hari yang diberikan satu kali dalam sehari (Hobbenaghi *et al.*, 2014; Islam *et al.*, 2017)

4. Kelompok 4 merupakan bahan biologi tersimpan yang berasal dari kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu kelompok yang mendapatkan tindakan BCCAO dan diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 50 mg/kgBB/hari yang diberikan satu kali dalam sehari (Hobbenaghi *et al.*, 2014; Islam *et al.*, 2017).
5. Kelompok 5 merupakan bahan biologi tersimpan yang berasal dari kelompok operasi sham yang tidak diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam.

3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama enam bulan dengan tempat penelitian di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran UII.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Terkait

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah neuron striatum otak.

3.4.2. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*).

3.4.3. Variabel Pengganggu

1. Lingkungan, tetapi dikendalikan dengan ukuran kandang, pencahayaan maupun suhu secara alamiah siang dan malam yang sama
2. Kuantitas dan kualitas makanan dan minuman dikendalikan dengan cara pemberian dan jumlahnya yang sama tiap kelompok
3. Stress akibat pemberian perlakuan dikendalikan dengan meletakkan tikus dalam kandang yang berbeda dan melakukan adaptasi sebelum penelitian dilakukan

3.5. Definisi Operasional

1. Ligasi arteri carotis comunis bilateral adalah pengikatan arteri carotis communis bilateral secara permanen
2. Ekstrak biji jintan hitam adalah jintan hitam yang dilakukan proses ekstraksi dengan maserasi, kemudian digunakan untuk intervensi kepada hewan coba dengan masing-masing dosis sebesar 10 mg/kgbb dan 50 mg/kgbb yang diberikan per oral selama 3 hari setelah hari pertama iskemia
3. Jumlah neuron striatum adalah estimasi jumlah neuron striatum yang tampak pada sediaan histologis dengan pewarnaan hematoksilin eosin dan diamati dengan perbesaran 400x. Satu slide objek glass akan diamati dengan 10 lapang pandang dan dihitung jumlah neuron dalam seluruh lapang pandang.

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat Penelitian

- a. Mikroskop CX 33 yang terhubung dengan sigma full HD
- b. Mikrotom
- c. Object glass

3.6.2. Bahan Penelitian

- a. BBT (Bahan Biologis Tersimpan)
- b. Hematoksilin Eosin

3.7. Alur Penelitian

3.7.1. Pembuatan Preparat Histologi

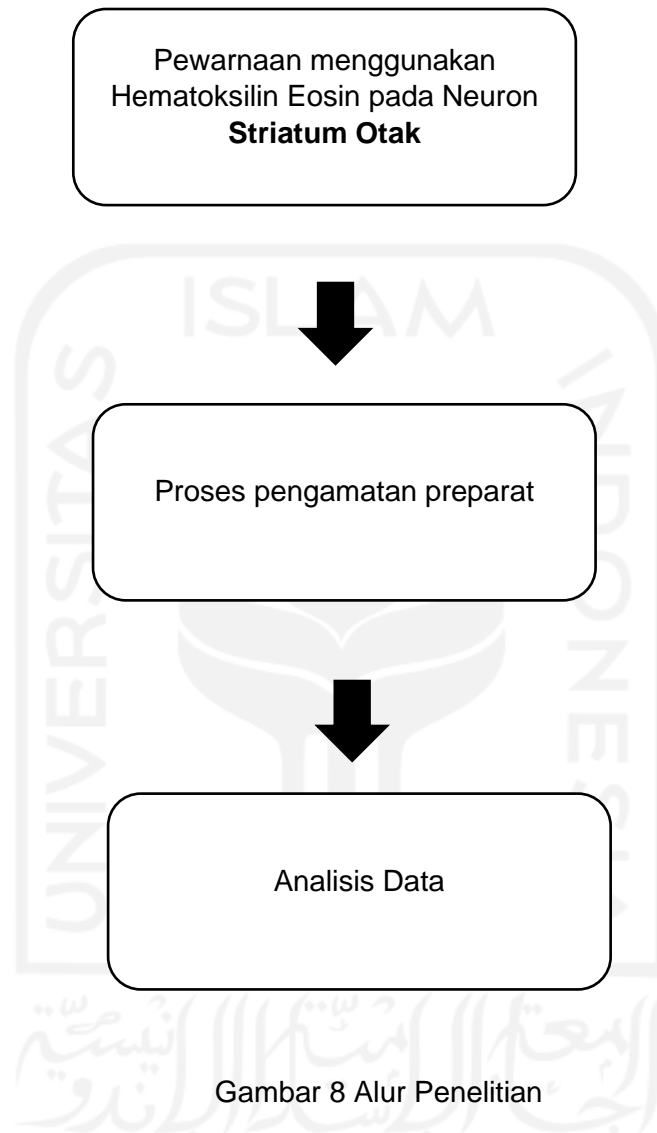
1. Mengambil sampel dengan ukuran 1 cm³
2. Lakukan fiksasi dengan menggunakan NBF (Neutral Buffer Formalin) dengan perbandingan organ dan larutan 1:10, direndam selama 2 hari untuk hasil maksimal
3. Setelah jaringan organ yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 0,3 - 0,5 mm dan disusun ke dalam tissue cassette, kemudian sejumlah tissue cassette dimasukkan ke dalam keranjang khusus

4. Mengiris jaringan menjadi lebih kecil yang bertujuan agar bisa dimasukkan dalam tissue cassette untuk proses dehidrasi
5. Proses dehidrasi menggunakan tissue processor
6. Embedding dan blocking
7. Cutting sectioning menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 μm
8. Pewaranaan dengan Hematoksilin Eosin

3.7.2. Pengamatan dan Penelitian

1. Pengambilan foto dengan mikroskop CX33 yang terhubung dengan sigma full HD dengan perbesaran 400x
2. Penghitungan jumlah neuron striatum sesuai dengan area neuron striatum yang terdapat pada ganglia basalis sesuai dengan peta stereotaxis dan memiliki kriteria antara lain sel bulat, utuh dan memiliki anak inti yang jelas.
3. Pengambilan lapang pandang dimulai dari tepi sampai semua bagian telah terlewati dan diambil beberapa foto lapang pandang dari setiap preparat
4. Lapang pandang setiap preparat diambil 20x sehingga terdapat 20 lapang pandang
5. Diamati 10 lapang pandang yang dihitung menurut ganjil genap untuk mengurangi bias

3.7.3. Skema Penelitian



Gambar 8 Alur Penelitian

3.8. Analisis Data

Uji normalitas dan homogenitas sample dengan *shapiro-wilk*. Analisis data berupa nilai rerata jumlah neuron pada kelompok yang diuji. Jika data terdistribusi normal maka selanjutnya akan dilakukan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan hasil analisis data signifikan ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan Post Hoc LSD. Jika data tidak terdistribusi normal, dapat mengganti uji parametrik dengan non parametrik yaitu dengan menggunakan uji Kruskal Wallis.

3.9. Etika Penelitian

Penelitian merupakan penelitian payung dengan judul utama “Pemanfaatan Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Jumlah Otak Tikus Pasca Induksi Iskemia Serebri Global” dan penulis utama Nurul Hidayah. Pengajuan EC baru dengan menggunakan form BBT.



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

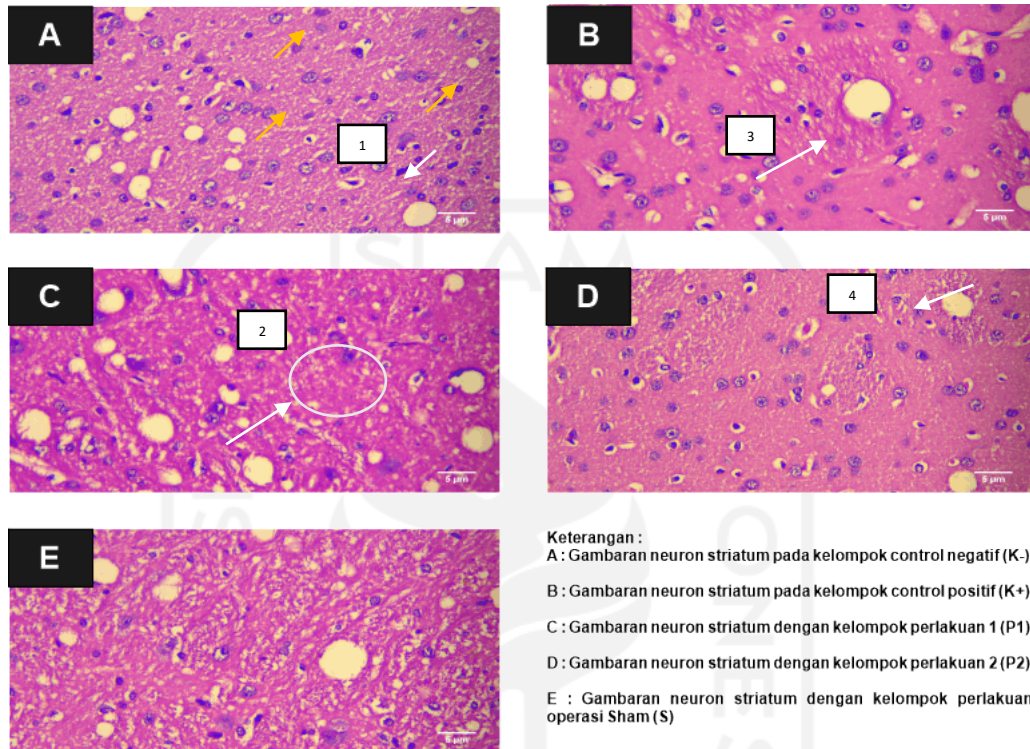
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap jumlah neuron striatum otak tikus pasca ligasi *Bilateral Common Carotid Artery Occlusion* (BCCAO). Pembuatan preparat dan pemberian perlakuan pada kelima kelompok dilaksanakan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, sedangkan untuk pembacaan dan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada. Sebelum dilakukannya penelitian, penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kode etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia melalui Surat Keterangan Lolos Kaji Etik nomor 7/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2020.

4.1 Hasil Penelitian

Subjek pada penelitian terdiri dari 20 BBT yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok negatif (K-) yang dilakukan operasi BCCAO dan tanpa diberikan sondase jintan hitam, kelompok positif (K+) yang dilakukan operasi BCCAO dan disondase citicoline 100 mg/kgBB/ hari. Dosis citicoline 100mg/kg dibagi menjadi 2 dosis pemberian dalam satu hari, yaitu pagi dan sore, kelompok perlakuan 1 (P1) yaitu kelompok yang mendapatkan tindakan BCCAO dan diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 10 mg/kgBB/hari yang diberikan satu kali dalam sehari, kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu kelompok yang mendapatkan tindakan BCCAO dan diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 50 mg/kgBB/hari yang diberikan satu kali dalam sehari, dan kelompok *Sham* (S) yang tidak diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam. Setiap kelompok mendapatkan perlakuan dengan waktu 14 hari yang selanjutnya diproses menjadi preparat histologi. Pengamatan neuron striatum dilakukan menggunakan mikroskop Olympus CX-33 yang telah terhubung dengan Kamera *Sigma* Full HD dengan perbesaran 400x.

Pengamatan dilakukan menggunakan dua puluh lapang pandang yang berbeda pada area *striatum*. Kemudian dilakukan penilaian terhadap jumlah neuron striatum. Penilaian neuron striatum berdasarkan kriteria sel yang sehat, yaitu sel yang berbatas tegas, berbentuk bulat, memiliki nucleus dan sitoplasma

yang bewarna basofilik. Berdasarkan letak, neuron striatum terletak di area korteks prefrontal dengan ciri khas adanya jaring jaring atau sarang burung yang mengelilingi selnya.



Gambar 9 Histopatologi Neuron Striatum dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x

Keterangan Tambahan :

- 1 : Neuron Striatum nampak degenerasi
- 2 : Neuron Striatum nampak nekrosis
- 3 : Gambaran sarang burung yang merupakan ciri khas lokasi neuron striatum
- 4 : Neuron Striatum nampak edema
- Panah kuning : Neuron yang sehat

Hasil analisis data berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disajikan pada tabel berikut:

Tabel 2 Hasil Analisis Neuron Striatum Tikus Pasca Induksi BCCAO dengan Berbagai Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata ± SD	Signifikansi Uji Normalitas	Signifikansi Uji ANOVA	Post Hoc	Keterangan
K-	30,82±3,46	0,459	0,000	a	Ada Beda
K+	40,84±7,97	0,475		b	
P1	55,29±2,07	0,265		c	
P2	53,38±6,88	0,248		c	
Sham	56,89±6,82	0,385		c	

Keterangan:

- K- : Kelompok dilakukan operasi BCCAO dan tanpa diberikan sondase jintan hitam
 K+ : Kelompok dilakukan operasi BCCAO dan disondase citicoline 100 mg/kgBB/hari
 P1 : Kelompok dilakukan operasi BCCAO dan disondase ekstrak biji jintan hitam 10 mg/kgBB/hari
 P2 : Kelompok dilakukan operasi BCCAO dan disondase ekstrak biji jintan hitam 50 mg/kgBB/hari
 Sham : Kelompok operasi sham yang tidak diberikan sondase ekstrak jintan hitam

Berdasarkan table 4.1 diatas diketahui bahwa, ^a berbeda dengan kelompok (K+), P1, P2 dan *sham*, ^b berbeda kelompok dengan (K-), P1, P2 dan *sham*, ^c berbeda dengan kelompok (K+) dan (K-). Diketahui bahwa rata-rata neuron striatum tikus pasca induksi BCCAO pada perlakuan kontrol negatif sebesar 30,82 dengan standar deviasi sebesar 3,46. Selanjutnya pada kontrol positif diperoleh nilai rata-rata sebesar 40,84 dengan standar deviasi sebesar 7,97. Pada perlakuan P1 diketahui nilai rata-rata neuron striatum tikus pasca induksi BCCAO sebesar 55,29 dengan standar deviasi sebesar 2,07 dan P2 sebesar 53,38 dengan standar deviasi sebesar 6,88. Kemudian pada perlakuan S diketahui nilai rata-rata neuron striatum tikus pasca induksi BCCAO sebesar 56,89 dan standar deviasi sebesar 6,82. Dengan demikian dapat diketahui bahwa neuron striatum tikus pasca induksi BCCAO dengan nilai rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan P2 yaitu kelompok

yang mendapatkan tindakan BCCAO dan diberikan sondase ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) 50 mg/kgBB/hari yang diberikan satu kali dalam sehari.

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Jika data data berdistribusi normal, maka uji hipotesis dilakukan dengan uji ANOVA kemudian dilanjutkan dengan dengan *Post Hoc Tamhane's*. Jika data tidak terdistribusi normal, dapat mengganti uji parametrik dengan non parametrik yaitu dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji mann whitney. Hasil pada tabel 4.1 di atas menunjukkan bahwa semua data pada masing-masing perlakuan berdistribusi normal. Sehingga uji hipotesis yang digunakan dengan menggunakan uji ANOVA kemudian dilanjutkan dengan Post Hoc.

Uji hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji ANOVA. Uji ANOVA merupakan uji analisis yang digunakan untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok. Berdasarkan hasil pada tabel 4.1 diatas diketahui bahwa nilai signifikansi sebesar 0,000 lebih kecil dari 0,05. Nilai rata-rata juga menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki kode yang berbeda. Berdasarkan hasil di atas diketahui adanya perbedaan antara K- dengan K+, K- dengan P1, P2, dan Sham, serta ada perbedaan antara K+ dengan P1, P2, dan Sham. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antara kelompok yang dilakukan operasi BCCAO dan tanpa diberikan sondase jintan hitam (K- dan K+) dengan kelompok yang dilakukan operasi BCCAO dengan diberikan sondase jintan hitam (P1 dan P2) dengan jumlah neuron P1 dan P2 lebih banyak dari pada K- dan K+. Hal ini berarti bahwa dengan adanya ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) mampu meningkatkan jumlah neuron striatum tikus pasca induksi iskemia serebri global. Hipotesis penelitian ini yang menyatakan bahwa terdapat pengaruh ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap jumlah neuron striatum tikus pasca induksi iskemia serebri global diterima oleh hasil penelitian empiris.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis otak tikus pasca ligasi BCCAO (*Bilateral Common Carotid Artery Occlusion*) menunjukkan adanya perubahan gambaran histopatologis seperti ditemukannya kerusakan pada sel sel neuron striatum. Kerusakan neuron diawali dengan hilangnya substansi Nissl dengan sitoplasma dan inti yang masih normal. Selanjutnya, inti dan sitoplasma

mengalami kondensasi dan klumping kromatin sehingga menjadi mengkerut dan bewarna lebih eosinofilik. Berdasarkan pengamatan histopatologi neuron striatum ditemukan adanya sel neuron yang membengkak, nekrosis, gliosis serta vakuolasi.

Berdasarkan table 4.1 hasil uji parametrik *one way ANOVA* didapatkan hasil $P=0,00$ menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol jintan hitam terhadap jumlah neuron striatum otak tikus. Pada uji *post-hoc* diketahui bahwa terdapat perbedaan kode pada masing masing rata rata antara kelompok kontrol negatif (K-) terhadap kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol NS 10 mg/kgBB (P1), kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol NS 50 mg/kgBB (P2), dan kelompok perlakuan operasi *sham*.

Hal tersebut didukung oleh penelitian Lai *et al.*, (2005) menjelaskan teknik induksi Iskemik global menggunakan metode BCCAO terbukti dapat mengakibatkan penurunan suplai darah ke otak. Akibatnya akan terjadi perubahan morfologi neuron striatum, dilihat dari pengamatan histopatologis yang dilakukan Lai *et al.*, (2005) perubahan yang terjadi meliputi nekrosis, edema, dan sel sel yang kehilangan inti (piknotik). Penurunan suplai oksigen ke otak akan mengakibatkan penurunan dari produksi ATP yang akan memicu pelepasan neurotransmitter glutamate, peningkatan pelepasan Ca^{++} ke dalam sel dan mengakibatkan disfungsi mitokondria (Traystman, 2003). Hal ini sejalan dengan penelitian Wahu *et al.*, (2018) bahwa Teknik BCCAO yang dilakukan dengan cara *two vessel occlusion* (2VO) dapat menurunkan vaskularisasi darah ke otak.

Citicoline berfungsi untuk mencegah kerusakan sel otak (neuroproteksi) dan membantu pembentukan membran sel di otak (neurorepair). Penelitian Overgaard K, *et al.*, (2014) menjelaskan pemberian Citicoline 50-100mg/kgBB/Hari dapat membantu perbaikan motorik dan neurologis, serta perubahan ukuran volume infark setelah pemberian Citicoline pada bulan ke 3. Saat terjadi iskemia akan terjadi peningkatan fosfolipase akibat lepasnya *glutamate* yang menstimulasi reseptor NMDA (*N-Methyl-D-Aspartat*) di post sinaptik mengakibatkan peningkatan intraceluler Ca^{++} sehingga akan terjadi hidrolisis dari fosfolipid serta lepasnya asam lemak bebas. Pada kondisi seperti ini Citicoline berfungsi menekan aktivitas

fosfolipase A2 serta meningkatkan biosintesis fosfolipid membrane, yang terdegradasi selama iskemia.

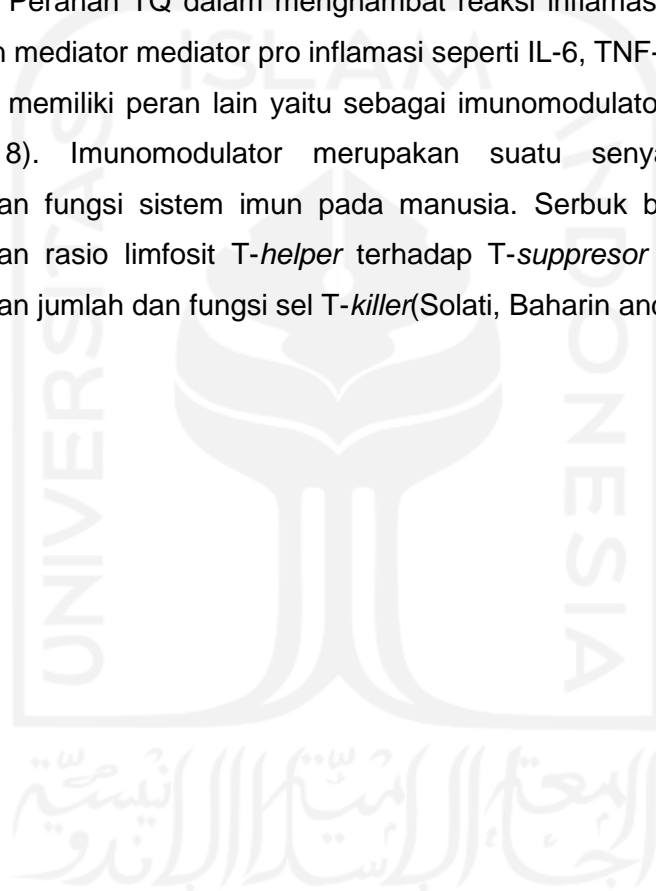
Hasil uji *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc* pada kelompok kontrol positif (K+) yang dilakukan metode BCCAO dengan pemberian citicoline 100 mg/kgBb/hari menunjukkan adanya perbedaan kode pada kelompok K(-), kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol NS 10 mg/kgBB (P1), kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol NS 50 mg/kgBB (P2), dan kelompok perlakuan operasi *sham* yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok (K+) dengan (K-), P1, P2 dan *sham*.

Soleimannejad *et al.*, (2017) dalam penelitiannya mengatakan bahwa pemberian 10mg/kgBB dan 20mg/kgBB NS dapat menurunkan volume infark dan edema otak, melalui peningkatan produksi *Vasoactive Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang akan meningkatkan proses neurogenesis. Hal tersebut didukung oleh penelitian Hosseinzadeh *et al.*, (2007), Jintan Hitam merupakan tanaman terapeutik dimana jintan hitam dapat menyembuhkan luka pada sistem saraf pusat dengan kemampuannya sebagai antiinflamasi, antioksidan, imunomodulator, dan neuroproteksi. Goyal *et al.*, (2007) mengkonfirmasi adanya efek perlindungan dari TQ pada iskemia serebral, dibuktikan dengan adanya penurunan angka kematian sel neuron di wilayah CA1 hippocampus dan peningkatan *Superperoksida Dismutase* (SOD) setelah iskemia otak depan. Sehingga dapat disimpulkan TQ memiliki manfaat untuk meningkatkan kelangsungan hidup sel neuron dan proses neurogenesis (Forouzanfar, Fazly Bazzaz and Hosseinzadeh, 2014).

Hasil uji *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc* pada kelompok P1 (Tindakan BCCAO dan pemberian Ekstrak etanol NS 10mg/kgBB/hari) P2 (Tindakan BCCAO dan pemberian Ekstrak etanol NS 50mg/kgBB/hari) serta kelompok Sham (Tindakan operasi sham tanpa pemberian ekstrak etanol NS) terdapat perbedaan kode dengan kelompok (K-) dan (K+) hal tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara P1, P2, dan *sham* dengan kelompok (K+) dan (K-).

Perbedaan dosis NS yang diberikan berpengaruh pada jumlah neuron sehat yang dihitung melalui proses mikroskopis. Penelitian Ahmad *et al.*, (2013) dan Hobbenaghi *et al.*, (2014) membuktikan adanya peningkatan jumlah sel neuron

otak tikus pasca pemberian NS dengan dosis 50 mg/kgBB. Peningkatan jumlah neuron terjadi karena adanya TQ sebagai salah satu kandungan NS yang memiliki efek sebagai neuroprotektif pada neuron striatum yang mengalami iskemia global. Kandungan TQ yang tinggi dalam NS (30%-48%) memiliki efek antioksidan yang kuat secara tidak langsung dapat mengurangi produksi ROS (Goyal *et al.*, 2017; Staniek and Gille, 2010). Selain itu TQ, memiliki peran sebagai antiinflamasi melalui penghambatan Lipopolisakarida (LPS) yang mengakibatkan penurunan jumlah NO. Peranan TQ dalam menghambat reaksi inflamasi dengan menekan peningkatan mediator mediator pro inflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan , IL- 12p40. Ekstrak NS memiliki peran lain yaitu sebagai imunomodulator (Beker, Dallı and Elibol, 2018). Imunomodulator merupakan suatu senyawa yang dapat meningkatkan fungsi sistem imun pada manusia. Serbuk biji N. sativa dapat meningkatkan rasio limfosit T-*helper* terhadap T-*suppresor* sebesar 72% dan meningkatkan jumlah dan fungsi sel T-*killer*(Solati, Baharin and Bagheri, 2014).



BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan pada bab sebelumnya dapat diambil kesimpulan:

“Terdapat pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi Bilateral Common Carotid Artery Occlusion.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah disampaikan di atas, maka perlu dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis jintan hitam yang luas rentang nilainya untuk proses neuroprotektif yang lebih cepat dan aman.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352.
- Álvarez-Sabín, J. and Román, G. C. (2013) 'The role of citicoline in neuroprotection and neurorepair in ischemic stroke', *Brain Sciences*, 3(3), pp. 1395–1414.
- Bansal, S., Sangha, K. S. and Khatri, P. (2013) 'Drug [1] S. Bansal, K.S. Sangha, P. Khatri, Drug Treatment of Acute Ischemic Stroke, Am. J. Cardiovasc. Drugs. 13 (2013) 57–69. doi:10.1007/s40256-013-0007-6. Treatment of Acute Ischemic Stroke', *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 13(1), pp. 57–69.
- Beker, M., Dalli, T. and Elibol, B. (2018) *Thymoquinone Can Improve Neuronal Survival and Promote Neurogenesis in Rat Hippocampal Neurons*, *Molecular Nutrition and Food Research*.
- Forouzanfar, F., Fazly Bazzaz, B. S. and Hosseinzadeh, H. (2014) 'Black cumin (*Nigella sativa*) and its constituent (thymoquinone): A review on antimicrobial effects', *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(12), pp. 929–938.
- Goyal, S. N. et al. (2017) 'Therapeutic potential and pharmaceutical development of thymoquinone: A multitargeted molecule of natural origin', *Frontiers in Pharmacology*, 8(SEP), pp. 1–19. doi: 10.3389/fphar.2017.00656.
- Gold, G., Kovari, E., Hermann, F. R., Canuto, A., Hof, R. P., Michel, J. P., Bouras, C., Giannakopoulos, P. Cognitive Consequences of Thalamic, Basal Ganglia, and Deep White Matter Lacunes in Brain Aging and Dementia. *National Center for Biotechnology Information*. 2005;6 (1184-1188)
- Hosseinzadeh, H. et al. (2007) 'Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus', *Phytomedicine*, 14(9), pp. 621–627. doi: 10.1016/j.phymed.2006.12.005.
- Hobbenaghi, R., Javanbakht, J., Sadeghzadeh, S., Kheradmand, D., Abdi, F. S., Jaber, M. H., Mohammadiyan, M. R., Khadivar, F., & Mollaei, Y. (2014). Neuroprotective effects of *Nigella sativa* extract on cell death in hippocampal neurons following experimental global cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of the Neurological Sciences*, 337(1–2), 74–79.
- Johnson, W. et al. (2016) 'Stroke: A global response is needed', *Bulletin of the World Health Organization*, 94(9), pp. 634A-635A. doi: 10.2471/BLT.16.181636.
- Kim, H. F., Hikosaka, O. Parallel Basal Ganglia Circuits For Voluntary and Automatic Behaviour to Reach Rewards. *Brain a journal of neurology*. 2015;17(20-46)
- Kemenkes Ri. 2013. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes Ri
- Lai, S. L. et al. (2005) 'Bilateral common carotid artery occlusion - A case report and literature review', *Journal of the Neurological Sciences*, 238(1–2), pp. 101–104.
- Lindvall, O. and Kokaia, Z. (2015) 'Neurogenesis following stroke affecting the adult brain', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(11).

- Nakagawa, S., Takeuchi, H., Taki, Y., Nouchi, R., Kotozaki, Y., Shinada, T., Maruyama, T., Sekiguchi, A., *et al.* Basal Ganglia Correlates of Fatigue in Young Adults. *Scientific Reports*. 2016;6 (21-38)
- Raymond P. Rothstein Steven W. Levison Department (2002) 'histologi striatum gambar.pdf', *Damage to the Choroid Plexus, Ependyma and Subependyma as a Consequence of Perinatal Hypoxia/Ischemia*, p. 436
- Ring, H. A. The neuropsychiatry of the basal ganglia. *National Center for Biotechnology Information*. 2003; 16 (327-331)
- Solati, Z., Baharin, B. S. and Bagheri, H. (2014) 'Antioxidant property, thymoquinone content and chemical characteristics of different extracts from *Nigella sativa* L. seeds', *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(2), pp. 295–300.
- Soleimannejad, K. *et al.* (2017) 'Effects of *Nigella sativa* Extract on Markers of Cerebral Angiogenesis after Global Ischemia of Brain in Rats', *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. Elsevier Inc., 26(7), pp. 1514–1520.
- Sommer, C. J. (2017) 'Ischemic stroke: experimental models and reality', *Acta Neuropathologica*. Springer Berlin Heidelberg, 133(2), pp. 245–261.
- Speetzen, L. J., Endres, M. and Kunz, A. (2013) 'Bilateral common carotid artery occlusion as an adequate preconditioning stimulus to induce early ischemic tolerance to focal cerebral ischemia.', *Journal of visualized experiments: JoVE*, (75), pp. 1–7.
- Staniek, K. and Gille, L. (2010) 'Is thymoquinone an antioxidant?', *BMC Pharmacology*. BioMed Central Ltd, 10(S1), p. A9.
- Tortora, G. J., Derrickson, B. *Principles of Anatomy and Physiology (14th ed)*. United States of America: Wiley, 2016
- Traystman, R. J. (2003) 'Animal models of focal and global cerebral ischemia', *ILAR Journal*, 44(2), pp. 85–95. Truelsen, T., Begg, S. and Mathers, C. (2000) 'Truelsen_burden of stroke', *Global Burden of Disease 2000, WHO*.
- Wahul, A. B. *et al.* (2018) 'Transient global cerebral ischemia differentially affects cortex, striatum and hippocampus in Bilateral Common Carotid Arterial occlusion (BCCAo) mouse model', *Journal of Chemical Neuroanatomy*. Elsevier B.V., 92(2010), pp. 1–15.
- Wang, Y. *et al.* (2016) 'White matter injury in ischemic stroke', *Progress in Neurobiology*. Elsevier Ltd, 141, pp. 45–60.
- Xiao, X. Y. *et al.* (2016) 'Evaluation of Neuroprotective Effect of Thymoquinone Nanoformulation in the Rodent Cerebral Ischemia-Reperfusion Model', *BioMed Research International*, 2016.
- Xing, C. *et al.* (2012) 'Pathophysiologic cascades in ischemic stroke', *International Journal of Stroke*, 7(5), pp. 378–385.

LAMPIRAN

Lampiran1

FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekiman Wirjosandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext 2007
E. fr@uii.ac.id
W. fr.uii.ac.id

Nomor : 7/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Pengaruh Ekstrak Etanol Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap Jumlah Neuron Striatum Otak Tikus Pasca Ligasi Bilateral Common Carotid Artery Occlusion"

Peneliti Utama : Imtinanda Khalisa Amani
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Pendidikan Dokter FK UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 29 April 2020

Ketua

(Signature)

Dr. Rihma Yudiantari, M.Sc, Sp.PK



*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tangan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2
Statistik Deskriptif

Means**Case Processing Summary**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Neuron * Perlakuan	20	100.0%	0	0.0%	20	100.0%

Report

Neuron

Perlakuan	Sum	Mean	Std. Deviation	N
K-	123.30	30.8244	3.46088	4
K+	163.37	40.8436	7.96667	4
P1	221.16	55.2889	2.07121	4
P2	213.54	53.3845	6.87546	4
Sham	227.54	56.8862	6.81856	4
Total	948.91	47.4455	11.57027	20



Hasil Uji Normalitas

Explore Perlakuan

Case Processing Summary

	Perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Neuron	K-	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	K+	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	P1	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	P2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Sham	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Neuron	K-	.277	4	.	.906	4	.459
	K+	.230	4	.	.909	4	.475
	P1	.293	4	.	.861	4	.265
	P2	.343	4	.	.857	4	.248
	Sham	.307	4	.	.890	4	.385

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil Uji ANOVA dan Post Hoc

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					K-	4		
K+	4	40.8436	7.96667	3.98334	28.1668	53.5203	29.80	47.74
P1	4	55.2889	2.07121	1.03560	51.9931	58.5846	53.58	57.80
P2	4	53.3845	6.87546	3.43773	42.4441	64.3249	43.47	59.32
Sham	4	56.8862	6.81856	3.40928	46.0364	67.7360	50.79	66.60
Total	20	47.4455	11.57027	2.58719	42.0305	52.8606	25.94	66.60

ANOVA

Neuron	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2023.053	4	505.763	14.575	.000
Within Groups	520.501	15	34.700		
Total	2543.554	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Neuron

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-10.01918	4.34297	.569	-33.7312	13.6928
	P1	-24.46445*	2.01666	.001	-34.1536	-14.7753
	P2	-22.56012*	3.84869	.030	-42.3635	-2.7568
	Sham	-26.06180*	3.82330	.016	-45.6682	-6.4554
K+	K-	10.01918	4.34297	.569	-13.6928	33.7312
	P1	-14.44527	4.11576	.278	-40.9513	12.0608
	P2	-12.54094	5.26165	.434	-35.3819	10.3000
	Sham	-16.04262	5.24310	.207	-38.8303	6.7451
P1	K-	24.46445*	2.01666	.001	14.7753	34.1536
	K+	14.44527	4.11576	.278	-12.0608	40.9513
	P2	1.90433	3.59033	1.000	-20.3438	24.1525
	Sham	-1.59735	3.56310	1.000	-23.6238	20.4292
P2	K-	22.56012*	3.84869	.030	2.7568	42.3635
	K+	12.54094	5.26165	.434	-10.3000	35.3819
	P1	-1.90433	3.59033	1.000	-24.1525	20.3438
	Sham	-3.50168	4.84161	.999	-24.3010	17.2977
Sham	K-	26.06180*	3.82330	.016	6.4554	45.6682
	K+	16.04262	5.24310	.207	-6.7451	38.8303
	P1	1.59735	3.56310	1.000	-20.4292	23.6238
	P2	3.50168	4.84161	.999	-17.2977	24.3010

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.