

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Gangguan Neurodegeneratif merupakan istilah yang dipakai pada kehilangan yang progresif terhadap struktur atau fungsi sel neuron, termasuk kematian sel neuron. Beberapa contoh gangguan neurodegeneratif sering terjadi pada lanjut usia, baik gangguan ringan sampai gangguan berat seperti Penyakit Parkinson (PP), Penyakit Alzheimer (PA) dan Penyakit Huntington (PH) (Linseman *et al.*, 2009; Lucas *et al.*, 2006).

Penyakit Alzheimer merupakan salah satu dari masalah kesehatan yang paling serius. Merupakan gangguan neurodegeneratif yang berbahaya dan progresif yang menyumbang jumlah sebagian besar penyebab demensia yang terkait usia, ditandai dengan penurunan kognitif dan akumulasi deposit Amyloid Beta ($A\beta$) serta *tangles* di otak (Bertram *et al.*, 2005). Kelainan pada gangguan neurodegeneratif dapat ditemukan pada berbagai tingkatan yang berbeda dari sirkuit neuron mulai dari tingkat molekular sampai sistemik (Rao., 2002).

Diperkirakan sekitar 4 juta penduduk Amerika menderita PA. Prevalensi sekitar 7% pada individu yang berusia lebih dari 65 tahun atau lebih, dengan resiko berlipat ganda setiap 5 tahun setelah usia 65 tahun. (McCullagh *et al.*, 2001; McDowell., 2001).

Peningkatan jumlah lanjut usia di Indonesia sangat pesat dibandingkan dengan negara lain di dunia, dari 7,18 persen pada tahun 2000 menjadi 9,77 persen ditahun 2010 dan akan meningkat menjadi 11,34 persen di tahun 2020 (Bappenas, 2007).

Selain itu Alzheimer menimbulkan beban finansial akibat tingginya biaya pengobatan dan perawatan yang dibutuhkan oleh penderita Alzheimer. Di Amerika Serikat, biaya ini berjumlah \pm 226 miliar dolar pada tahun 2015 dan diperkirakan akan mencapai \pm 1,1 triliun dolar pada tahun 2050 (Alzheimer's Association, 2015).

Penyakit Alzheimer dan Penyakit Parkinson merupakan sindroma yang paling sesuai untuk menggambarkan gangguan neurodegeneratif. Penyakit Alzheimer adalah gangguan neurodegeneratif terkait usia dan terdapat peningkatan stres oksidatif (Smith *et al.*, 1998; Pappolla *et al.*, 1998 ; Pratico, 2001). Identifikasi terhadap penyebab serta faktor-faktor yang mempengaruhi munculnya dan perjalanan penyakit ini penting dalam pencegahan dan intervensi terapeutik (Pappolla *et al.*, 1998)

Hingga saat ini, penyebab pasti timbulnya penyakit Alzheimer belum diketahui. Banyak hipotesis bermunculan namun, tetapi hipotesis kaskade amyloid dianggap sebagai hipotesis utama pada proses patogenik Alzheimer. Gangguan metabolisme *amyloid precursor protein* (APP), suatu glikoprotein membran integral di otak, yang melibatkan *β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme* (BACE-1) mengakibatkan ketidakseimbangan produksi dengan degradasi (*clearance*) beta amyloid ($A\beta$) sehingga terjadi akumulasi $A\beta$ berlebihan yang bersifat neurotoksik dan memicu stres oksidatif (Walsh, 2007; Richardsz, 2009; Pattni, 2013). Stres oksidatif terbukti memberikan umpan balik positif terhadap peningkatan ekspresi BACE-1 yang mengakibatkan akumulasi $A\beta$ lebih lanjut, pembentukan *neurofibrillarytangle* (NFTs) dan kematian neuron (Mangialasche, 2009; Butterfield, 2013; Pattni, 2013).

Proses di atas diperkirakan telah dimulai \pm 20 – 30 tahun sebelum gejala klinis muncul. Pada tahap preklinis ini, penilaian terhadap kadar protein BACE-1 dan A β -42 dalam cairan serebrospinal (LCS) diketahui merupakan biomarker diagnostik yang sangat berguna terhadap perkembangan Alzheimer. Hal ini disebabkan karena cairan serebrospinal berhubungan langsung dengan ruang ekstraseluler sistem saraf pusat sehingga komposisi molekular di dalamnya akan merefleksikan perubahan biokimiawi yang terjadi pada otak (Shen, 2006; Zhong, 2007; Humpel, 2011; Chintamaneni, 2012).

Pada dekade terakhir beberapa fakta mengarah kepada besarnya peranan disfungsi mitokondria dalam mencetuskan kelainan patologis neurodegeneratif. Mitokondria merupakan satu-satunya struktur subseluler diluar nukleus yang mengandung DNA. Hanya saja tidak seperti DNA nukleus, DNA pada mitokondria (mtDNA) tidak dilindungi oleh histon (Croteau *et al.*, 1997). DNA nukleus dibungkus oleh histon, sehingga secara fisik dapat melindungi DNA dari kerusakan yang disebabkan oleh Radikal bebas (Milligan *et al.*, 1993) dan mampu memperbaiki kerusakan pada DNA *double helix* (Celeste *et al.*, 2003). Oleh karena mtDNA tidak memiliki struktur yang melindunginya, dan tidak terdapat mekanisme memperbaiki diri, maka mereka sangat rentan terhadap kerusakan (Steve *et al.*, 2007)

Kerusakan pada mitokondria sebagian besar disebabkan oleh Oxygen Reactif Species (ROS) yang dihasilkan oleh mitokondria itu sendiri (Wei *et al.*, 1998; Duchen., 2004). Sebagian besar ROS dihasilkan oleh kompleks I, III (Harper *et al.*, 2004) disebabkan oleh elektron yang dihasilkan oleh NADH dan FADH



kedalam rantai elektron transport. Mitokondria membutuhkan 85% dari oksigen sel selama proses pembentukan ATP (Shigenaga *et al.*, 1994).

Otak merupakan organ tubuh yang paling mudah dikenai oleh proses oksidatif, karena otak mengandung kadar asam lemak tak jenuh yang tinggi seperti asam arakidonat dan asam dekosohexenoat. Otak membutuhkan oksigen yang banyak, tingginya kadar ion metal hasil transisi proses redoks dan rendahnya kadar enzim antioksidan. Beberapa studi terdahulu telah menemukan bahwa pada penyakit neurodegeneratif termasuk demensia, ditemukan kadar lipid peroksidasi yang meningkat (Milligan *et al.*, 1993)

Gangguan peningkatan radikal bebas jangka panjang akan menimbulkan atrofi yang menyeluruh pada otak. Dimana sulkus melebar dan *gyrus* otak mengalami pemendekan. Selanjutnya ventrikel dan rongga di otak yang berisi cairan serebrospinal akan membesar. Pada tahap awal penyakit Alzheimer memori jangka pendek akan mengalami gangguan apabila sel-sel yang berada pada hipokampus, yang merupakan bagian dari sistim limbik mengalami degenerasi.

Efek Neuroprotektif telah dibuktikan pada hewan percobaan, epigallocatechin-3-gallate (EGCG), komponen utama pada *green tea*, menunjukkan perbaikan terhadap penurunan kemampuan kognitif terkait umur dan melindungi iskemia otak/cedera reperfusi (Lee *et al.*, 2000; Sutherland *et al.*, 2005). Katekin telah diyakini lebih efisien sebagai penangkal radikal bebas dibandingkan Vitamin E,C (Nanjo *et al.*, 1996; Pannala *et al.*, 1997).

Lebih lanjut pada studi terhadap EGCG yang diberi label, menunjukkan distribusi radioaktif yang luas pada organ-organ termasuk otak, setelah pemberian secara oral (Suganuma *et al.*, 1998). Absorpsi dan farmakokinetik



EGCG pada berbagai bagian di otak tikus pada pemberian oral dan intravena menunjukkan jumlah katekin yang melimpah di jaringan otak (Lin *et al.*, 2007 Lin *et al.*, 2003) dan sangat potensial terjadinya penetrasi melalui sawar darah otak (Cu *et al.*, 2007). Ekstrak Gambir mengandung lebih kurang 83 % katekin dan mengandung senyawa fungsional yang termasuk dalam golongan senyawa polifenol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak gambir sangat aman dengan nilai LD50 > 5000 mg/kg berat badan (Tika, 2004). Indonesia merupakan negara pemasok utama gambir dunia (80%) yang sebagian besar berasal dari Kabupaten Lima Puluh Kota dan Pesisir Selatan (Amos, 2004)

Pemberian katekin seperti teh hijau pada tikus yang berumur tua terbukti melindungi tikus tersebut dari stres oksidatif, mencegah kerusakan serum lipid yang diinduksi oleh alkohol dan dipercepat dengan proses penuaan (Luczaj *et al.*, 2004; Shimada *et al.*, 2001). Pada isolasi senyawa katekin, procyanidin B-1, hiperin, dan asam kafeat dari batang *Uncaria sinensis*, menunjukkan efek protektif kematian sel neuron oleh induksi glutamat pada sel otak besar tikus melalui inhibisi infuk kalsium (Yutaka *et al.*, 2001).

Selama periode terjadinya stres oksidatif terjadi peningkatan kadar 4-hydroxy-2-nonenal (4 Hidroksinonenal) (Sayre *et al.*, 1996). Studi yang dilakukan oleh Lee *et al.*, 2012 pada tikus model alzheimer juga terjadi peningkatan kadar 4 Hidroksinonenal selama periode stres oksidatif, yang diamati pada otak tikus. Radikal bebas akan menyerang phospholipid dari *Poly unsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang akan menghasilkan berbagai aldehid dengan panjang rantai karbon yang berbeda seperti Malondialdehid (MDA), acrolen dan 4 Hidroksinonenal. Stres oksidatif dan Beta Amyloid ($A\beta$) berhubungan satu sama lainnya karena $A\beta$

merangsang terjadinya stres oksidatif baik invitro maupun invivo dan stres oksidatif meningkatkan produksi A β (Paola, 2009). Pemberian terapi antioksidan dosis rendah dan tinggi (*curcumin*) secara signifikan menurunkan oksidasi protein pada otak tikus transgenik Alzheimer dan pada pemberian dosis rendah A β yang tidak larut dan A β larut serta pembentukan plak turun secara signifikan 43-50% (Lim *et al.*, 2001).

Pemberian terapi anti oksidan alami dan anti inflamasi pada tikus dapat menekan respon inflamasi dan stres oksidatif. Efek tersebut disertai dengan reduksi yang signifikan A β 1-40 dan A β 1-42 pada neokorteks dan *hippocampus*, dimana beban deposit A β juga menurun signifikan (Yuemang *et al.*, 2004).

Beta Amyloid yang menumpuk sebagai deposit ekstra seluler yang tidak larut pada plak senilis, membentuk kelainan neuropatologis yang khas pada PA (Elkoe *et al.*, 1996). Aktivitas prooksidan protein A β dapat dikatalisis oleh pembentukan 4 Hidroksinonenal dari omega-6 asam lemak tidak jenuh (Murray *et al.*, 2005).

Curcumin serta golongan polyphenol akan sangat bermanfaat pada pengobatan PA tidak hanya karena fungsi gandanya sebagai anti oksidan dan anti inflamasi tapi juga karena secara struktur dapat bereaksi dengan agregasi beta dan metal dyshomeostasis (Saba *et al.*, 2012).

Indonesia adalah pemasok utama (80%) gambir dunia dan Sumatera Barat dikenal sebagai barometer sentra produksi gambir di Indonesia (Amos, 2004). Di antara 19 Kabupaten dan Kota di Sumatera Barat, Kabupaten Lima Puluh Kota dan Pesisir Selatan adalah dua kabupaten yang mempunyai lahan gambir terluas

(Susanti, 2008). Gambir yang berasal dari kabupaten Siguntur Pesisir Selatan diketahui merupakan gambir dengan mutu terbaik dan mengandung kadar katekin tertinggi yakni $96,17\% \pm 0,18$ melalui pengolahan dengan metode pre-purifikasi (Rahmawati, 2012). Kandungan katekin murni dalam gambir ini memenuhi syarat Farmakope Herbal Indonesia (FHI) sebagai senyawa yang aktif secara farmakologis untuk digunakan dalam terapi. Meskipun demikian, potensi gambir sebagai sumber katekin belum dioptimalkan. Penggunaan gambir hingga saat ini hanya sebagai rempah dalam masakan dan untuk menyirih (Ferdinal, 2014).

Pada penelitian ini digunakan hewan model yaitu Tikus *Sprague Dawley* betina. Tikus memiliki beberapa kelebihan karena praktis, mudah didapat, pola makan tikus yang omnivora, lebih mirip manusia dibandingkan menggunakan kelinci. Penelitian preliminasi studi pada hewan 5 ekor tikus selama 4 minggu dengan Ovariectomy+D galactose 500mg/kgbb + Katekin murni 95 %, dosis 60 mg/200 gr bb, didapatkan hasil pemeriksaan histologi tampak tanda-tanda nekrosis sel-sel neuron dan glia di hipokampus pada sampel yang dilakukan Ovariectomy+D galactose 500mg/kgbb, 2 minggu. Setelah pemberian katekin 60 mg/200 grbb selama 2 minggu tampak gambaran sel *recovery* pada sel neuron dan glia pada hipokampus.

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk mengetahui efek neuroprotektif katekin pada tikus yang mengalami gangguan neurodegeneratif dengan mengukur kadar beta amyloid, Bace-1, 4-HNE dan pengukuran proses pembentukan plak patogenik pada otak.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah maka dapat dibuat perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat adanya pengaruh ovariectomi dan d-galaktosa terhadap kognitif/Behavior tikus?
2. Apakah terdapat adanya pengaruh ovariectomi dan d-galaktosa terhadap gambaran sel neuron nekrotik di otak tikus ?
3. Apakah terdapat adanya pengaruh ovariectomi dan d-galaktosa terhadap gambaran plak Amyloid di otak tikus ?
4. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap kognitif/Behavior tikus model Alzheimer ?
5. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap kadar Beta amyloid plasma tikus model alzheimer?
6. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap kadar Beta amyloid LCS pada tikus model Alzheimer?
7. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap kadar BACE1 LCS tikus model Alzheimer?
8. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap kadar 4 Hne plasma tikus model Alzheimer?
9. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap gambaran sel neuron nekrotik tikus model Alzheimer?
10. Apakah terdapat adanya pengaruh Katekin terhadap gambaran plak Amyloid tikus model Alzheimer?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh ovariectomi dan pemberian d-galaktosa serta pemberian Katekin terhadap kognitif, kadar beta amyloid, 4-Hidroksinonenal, BACE-1 dan gambaran histologi serta ekspresi Beta amyloid pada otak.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan adanya pengaruh ovariectomi dan d-galaktosa terhadap kognitif/Behavior tikus
2. Membuktikan adanya pengaruh ovariectomi dan d-galaktosa terhadap gambaran sel neuron nekrotik di otak tikus
3. Membuktikan adanya pengaruh ovariectomi dan d-galaktosa terhadap gambaran plak Amyloid di otak tikus
4. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap kognitif/Behavior tikus model Alzheimer.
5. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap kadar Beta amyloid plasma tikus model alzheimer
6. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap kadar Beta amyloid LCS pada tikus model Alzheimer
7. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap kadar BACE1 LCS tikus model Alzheimer
8. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap kadar 4 Hne plasma tikus model Alzheimer
9. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap gambaran sel neuron nekrotik pada otak tikus model Alzheimer.



10. Membuktikan adanya pengaruh Katekin terhadap gambaran plak Amyloid pada otak tikus model Alzheimer.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini merupakan studi pertama yang akan menganalisis pengaruh pemberian katekin dari Gambir terhadap kadar Beta-Amyloid, BACE-1, 4 Hidroksinonenal (4-Hne) serta gambaran histologi dan ekspresi Beta amyloid pada otak .

1.5. Kepentingan Akademis

Perkembangan Pengetahuan dibidang Gizi dan Neurologi. Meningkatkan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian Katekin terhadap Beta-Amyloid, 4 Hidroksinonenal, BACE1, dan gambaran histopatologis otak

1.6. Kepentingan Masyarakat

Hasil penelitian ini akan memberikan pemahaman atau informasi yang benar pada masyarakat mengenai pengaruh pemberian katekin terhadap kognitif, Beta Amyloid, 4 Hidroksinonenal, BACE1 dan gambaran histopatologis otak.

1.7. Kepentingan Aplikasi

Sebagai masukan bagi para industri farmasi dengan diketahuinya pengaruh pemberian Katekin gambir terhadap Beta-Amyloid, 4 Hidroksinonenal, BACE1 pada gangguan neurodegeneratif, sehingga mampu mengolah sumber daya alam untuk dijadikan bahan baku obat (katekin gambir) yang merupakan produk asli Sumatera Barat, dan diharapkan dapat meningkatkan kualitas hidup lanjut usia di Indonesia.

