

**EKSPRESI PGC-1 α , SYNAPTOPHYSIN, RESEPTOR DOPAMIN
DAN BDNF SEBAGAI INDIKATOR FUNGSI KOGNITIF
DI HIPOKAMPUS DAN CEREBRUM RATTUS NOVERGICUS
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI PALA**

***EXPRESSION OF PGC-1 α , SYNAPTOPHYSIN, DOPAMINE
RECEPTOR AND BDNF as INDICATOR COGNITIVE FUNCTION in
HIPPOCAMPUS and CEREBRUM RATTUS NOVERGICUS AFTER
TREATMENT MYRISTICA FRAGRANS HOUTT SEED EXTRACT***

Oleh :
Fifi Veronica
NPM.130130160009

DISERTASI

Untuk memperoleh gelar Doktor
dalam Ilmu Kedokteran pada Universitas Padjadjaran
Dengan wibawa Rektor Universitas Padjadjaran
Prof. Dr. Rina Indiasuti, SE., M.SIE
Sesuai dengan Keputusan Senat I/Guru Besar Universitas
Dipertahankan pada tanggal 14 Agustus 2023
Di Universitas Padjadjaran



**PROGRAM STUDI DOKTOR
ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS PADJADJARAN
BANDUNG**

2023

**EKSPRESI PGC-1 α , SYNAPTOPHYSIN, RESEPTOR DOPAMIN
DAN BDNF SEBAGAI INDIKATOR FUNGSI KOGNITIF
DI HIPOKAMPUS DAN CEREBRUM RATTUS NOVERGICUS
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI PALA**

***EXPRESSION OF PGC-1 α , SYNAPTOPHYSIN, DOPAMINE
RECEPTOR AND BDNF as INDICATOR COGNITIVE FUNCTION in
HIPPOCAMPUS and CEREBRUM RATTUS NOVERGICUS AFTER
TREATMENT MYRISTICA FRAGRANS HOUTT SEED EXTRACT***

Oleh :
Fifi Veronica
NPM. 130130160009

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Ilmu Kedokteran Pada Universitas Padjadjaran
telah disetujui oleh Tim Promotor
pada tanggal seperti tertera di bawah ini

Bandung, 14 Agustus 2023

Menyetujui:



Prof. Dr. A. Purba, dr., MSc., AIFO-K
Ketua Tim Promotor



Ahmad Rizal, dr., SpS (K), PhD.
Anggota Tim Promotor



Dr. Lulu L. Fitri, M.Sc
Anggota Tim Promotor

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis disertasi saya ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapat gelar akademik Doktor di Universitas Padjadjaran maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan pemilihan saya sendiri tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan dari Tim Promotor
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain yang telah ditulis atau dipublikasi, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya, apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berada di Universitas Padjadjaran.

Bandung, 14 Agustus 2023

Yang membuat pernyataan

Fifi Veronica

ABSTRAK

Proses tumbuh kembang dan fungsi kognitif seorang anak erat kaitannya dengan kualitas asupan makro dan mikronutrien dalam kandungan makanan anak sehari-hari. Pada fase perkembangan fungsi kognitif anak diawali dari tahap perkembangan maturasi otak dan sensitivitas terhadap rangsangan stimulus eksternal yang optimal pada satu periode tertentu yang disebut dengan periode kritis dan terjadi pada lima tahun pertama kehidupan seorang anak. Pada periode kritis ini terjadi peningkatan densitas sinaps dan fungsi otak.

Pemberian suplemen neurotropik bertujuan untuk meningkatkan neurogenesis, neurotransmisi, sinaptoplastisitas. Perkembangan cerebrum dan hipokampus dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain aktivasi beberapa protein neurotropik seperti BDNF, Synaptophysin dan Dopamin yang berperan pada proses biogenesis mitokondria pada otak anak. Berbagai upaya untuk mengoptimalkan proses metabolisme pada biogenesis mitokondria yang berkaitan dengan peningkatan fungsi kognitif antara lain dapat dilakukan dengan suplementasi neurotropik antara lain melalui pemberian Ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans Houtt*) dalam kaplet Glucopala. Glucopala merupakan Ekstrak Biji Pala yang mengandung zat aktif PPAR- γ agonis. Selain itu fungsi kognitif pada anak melibatkan beberapa aktivasi protein neurotropik seperti BDNF dan aktivasi beberapa protein utama pada vesikel sinaptik di neuron, seperti SYP. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *Rattus Novergicus* jantan umur 7-8 minggu (lepas sapih), dengan berat 100-120 gram yang setara dengan masa remaja pada manusia, bertujuan untuk mengembangkan penelitian molekuler terkait pengaruh pemberian Ekstrak Biji Pala terhadap ekspresi mRNA PGC-1 α , Synaptophysin, DR dan BDNF pada jaringan Cerebrum dan Hipokampus.

Hasil penelitian menunjukkan ekspresi mRNA PGC-1 α , DR, Synaptophysin dan BDNF pada perlakuan 6 minggu dibandingkan dengan 12 minggu berbeda secara signifikan ($p=0,001$). baik pada sampel Cerebrum maupun Hipokampus. Ekspresi mRNA PGC-1 α ($p=0,018$), D1A ($p=0,006$), Synaptophysin ($p=0,0000$) dan BDNF ($p=0,000$) lebih meningkat pada hipokampus dibandingkan dengan cerebrum. Sedangkan ekspresi mRNA D1B menurun baik pada hipokampus, maupun pada cerebrum selama perlakuan 6 dan 12 minggu. ($p=0,0001$).

Simpulan hasil penelitian menunjukkan Ekstrak Biji Pala mempunyai potensi meningkatkan indikator fungsi kognitif terutama pada bagian Hipokampus dibandingkan dengan area cerebrum pada tikus muda Jantan dengan perlakuan pemberian Ekstrak Biji Pala selama 12 minggu.

Kata Kunci : Ekstrak Biji Pala, PGC-1 α , Reseptor Dopamin, Synaptophysin, BDNF, Cerebrum, Hipokampus

ABSTRACT

The process of growth and development and cognitive function is closely linked to the quality and sufficiency of macro and micronutrient's intake in a child's daily diet. The development phase of cognitive function of a child begins with brain maturation and growth and sensitivity towards external stimulus, particularly during a significant periodical phase called critical period that happens in the first five years of life. In this critical period, there is an enhancement of the synapse's density and brain function. Neurotrophic supplements are administered to increase neurogenesis, neurotransmission, and synaptoplasticity.

The development of cerebrum and Hipokampus is influenced by various factors, including the activation of some neurotrophic proteins such as BDNF, Synaptophysin, and Dopamine which play a role in the process of mitochondrial biogenesis in the child's brain. Various efforts were made to optimize the metabolic process in mitochondrial biogenesis which are related to the improvement of cognitive function, which can be done by supplementing neurotrophic such as Myristica Fragrans extract in Glucopala caplets. Glucopala is an Myristica Fragrans extract containing the active substance PPAR- γ agonist. In addition, cognitive function in children involves the activation of neurotrophic proteins such as BDNF and activation of major proteins in synaptic vesicles in neurons, such as SYP.

This study used Rattus Novergicus rats male, aged 7-8 weeks (after weaning) which is equivalent to human juvenile, aiming to develop molecular research related to the effect of giving nutmeg seed extract on the expression of PGC 1- α mRNA, Synaptophysin, DR and BDNF in the tissue of cerebrum and Hippocampus. The results illustrated that the mean expression of PGC 1- α mRNA, Synaptophysin, DR and BDNF between 6 and 12 weeks was significantly different in both cerebrum and Hippocampus samples ($p=0.001$). mRNA expression of PGC 1- α ($p=0,018$), D1A ($p=0,006$), Synaptophysin ($p=0,0000$) and BDNF ($p=0,000$) more higher on hippocampus than cerebrum. Meanwhile mRNA expression of D1B more lower both on hippocampus and cerebrum ($p=0,0001$). In conclusion, the study showed that Myristica fragrans Houtt seed extract has the potential to improve cognitive function's indicator mainly in the Hippocampus compared to cerebrum area in young male rats treated with Myristica fragrans extract for 12 weeks.

Keywords : *Myristica fragrans Houtt seed extract, PGC-1 α , Dopamine Receptor, Synaptophysin, BDNF, Cerebrum, Hippocampus*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan yang Maha Esa sudah mengizinkan penulis untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini. Disertasi ini merupakan tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor dari Program Pendidikan Doktor Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan disertasi ini dapat terlaksana dan terwujud berkat bimbingan, pengarahan, sumbangan pikiran dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada yang terhormat Rektor Universitas Padjadjaran terdahulu yaitu Prof. Dr. Hj. Tri Hanggono Achmad, dr. dan Rektor Universitas Padjadjaran saat ini yaitu Prof. Dr. Hj. Rina Indiasuti, S.E.,M.SIE, beserta para wakil Rektor yang memberikan kesempatan penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan program Doktor di Universitas Padjadjaran. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Dr. Med. Setiawan, dr., AIFM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Unpad terdahulu dan kepada Prof. Dr. Yudi Mulyana Hidayat, dr., Sp.OG(K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran saat ini yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Padjdjaran.

Terimakasih kepada yang terhormat Herry Hermawan, dr., Sp.OT.,PhD sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Doktor terdahulu dan kepada yang terhormat Kepada Program Studi Pendidikan Doktor Universitas Padjadjaran saat ini Prof. Dr. Meita Dhamayanti, dr., Sp., AK., M.Kes., atas kesempatan yang diberikan menjadi mahasiswa Program Doktor di Universitas Padjadjaran atas arahan. Masukkan dan bimbingannya selama masa Pendidikan ini.

Penulis mengucapkan terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada yang terhormat Ketua Tim Promotor Prof. Dr. A. Purba,dr., Msc., AIFO-K., yang memberikan bimbingan secara terus menerus kepada penulis dengan memberikan koreksidan saran untuk dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. Kepada yang terhormat Ahmad Rizal, dr., Sp,S(K). PhD, sebagai anggota Tim Promotor, penulis mengucapkan terimakasih yang setulus-tulusnya membimbing penulis dengan memberikan koreksi, masukkan dan perbaikan agar penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini, Kepada yang terhormat Dr. Lulu L. Fitri., M.Sc sebagai anggota Tim Promotor, penulis mengucapkan terimakasih yang setulus-tulusnya membimbing penulis dengan memberikan koreksi, masukkan dan perbaikan agar penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terimakasih yang setinggi-tingginya kepada Prof. Dr., Unang Supratman, M.Si Kepala Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran yang telah memberikan ijin dan memfasilitasi untuk mengelola sampel-sampel penelitian di Lab. Sentral Universitas Padjadjaran. Kepada yang terhormat Ronny Lesmana. Dr., M.Kes, AIFO, PhD dan staf, penulis mengucapkan terimakasih sebesar besarnya atas bimbingan dalam pengolahan sampel-sampel dan data di laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran.

Kepada yang terhormat Nur Atik, dr., M,Kes., PhD selaku Ketua Komis Etik Penelitian Universitas Padjdajaran dan staf, penulis mengucapkan terimakasih atas ijin etik penelitian dan bimbingan yang diberikan.

Doa yang tidak pernah terputus untuk Anto Henrianto (alm.), penyelesaian sekolah ini adalah pembuktian dari janji kita. Terimakasih kepada ibunda tercinta

atas doa dan dukungan yang diberikan selama ini. Terimakasih untuk ketiga anak-anak ku tercinta Yasmin Alisha Damayanti, Rizky Putra Ramadhan dan Indira Anindya Kirana atas doa dan dukungan yang diberikan selama ini.

Terimakasih kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuan dan dukunga selama penulis menjalani Pendidikan Program Doktor di Universitas Padjadjaran.

Bandung, 14 Agustus 2023



Fifi Veronica

DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	6
1.2 Rumusan masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat akademik.....	7
1.4.2 Manfaat praktis	8
BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN, DAN HIPOTESIS... 9	
2.1 Kajian Pustaka.....	9
2.1.1 Embriologi, Anatomi dan Fisiologi Cerebrum dan Hipokampus Sebagai Bagian dari Fungsi Kognitif	9
2.1.2 Protein vesikel sinaptik terkait fungsi kognitif.....	18
2.1.3 Peranan neurotransmitter terkait regulasi fungsi kognitif.....	22
2.1.4 Biogenesis Mitokondria pada Cerebrum dan Hipokampus terkait fungsi kognitif ⁴¹	27
2.1.5 Peroksisome Proliferator Activated Receptor (PPAR) sebagai bagian dari pengaturan fungsi kognitif di Cerebrum dan Hipokampus.....	32

2.1.6 <i>Brain Derived Neutrophic Factor</i> (BDNF) pada Cerebrum dan Hipokampus	36
2.2 Ekstrak Biji Pala (Ekstrak <i>Myristica fragrans</i>).....	37
2.3 Umur Tikus Vs Umur manusia	43
2.4 Neuronal Protein Extraction Reagen (N-PER) ⁶⁵	45
2.5 Kerangka Pemikiran	45
2.6 Premis.....	48
2.7 Hipotesis.....	50
BAB III OBJEK DAN METODE PENELITIAN	51
3.1 Objek Penelitian	51
3.1.1 Kriteria inklusi dan eksklusi	51
3.1.2 Ukuran Sampel.....	52
3.2 Metode Penelitian.....	52
3.2.1 Rancangan penelitian	52
3.2.2 Identifikasi variabel penelitian	54
3.2.3 Definisi Operasional Penelitian.....	54
3.2.4 Alur Penelitian.....	55
3.3 Prosedur penelitian.....	56
3.4 Pengolahan Data dan Analisis Data	57
3.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	57
3.6 Implikasi/Aspek Etik Penelitian.....	57
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	59
4.1.1 Karakteristik Objek Penelitian	59
4.1.2 Uji Homogenitas dan Normalitas Data Penelitian	59
4.1.3 Perubahan ekspresi mRNA PGC-1 α di Hipokampus dan Cerebrum pada tikus muda setelah pemberian ekstrak <i>Myristica fragrans</i> pada minggu ke-6 dan minggu ke-12	60
4.1.4 Perubahan ekspresi mRNA Dopamin Reseptor (DR) di Hipokampus dan Cerebrum pada tikus muda setelah pemberian ekstrak <i>Myristica fragrans</i> pada minggu ke-6 dan minggu ke-12	62

4.1.5 Perubahan ekspresi mRNA Synaptophysin di Hipokampus dan Cerebrum pada tikus muda setelah pemberian ekstrak Myristica fragrans pada minggu ke-6 dan minggu ke-12	66
4.1.6 Perubahan ekspresi mRNA BDNF di Hipokampus dan Cerebrum pada tikus muda setelah pemberian ekstrak Myristica fragrans pada minggu ke-6 dan minggu ke-12	67
4.2 Pengujian Hipotesis	69
4.3 Pembahasan	71
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	81
5.1 Simpulan	81
5.2 Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Neurotransmitter	18
Tabel 2.2. Reseptor dopamin D1DR dan D2DR ditinjau dari fungsi fisiologis, lokalisasi dan respon biokimia.....	24
Tabel 3.1. Definisi Operasional.Penelitian	54

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Stres, glucocorticoid hormones and hippocampal neural progenitor cells: implication to mood disorder	13
Gambar 2.2	Mekanisme pelepasan dopamin dari vesikel ke sinaps	22
Gambar 2.3	Sinyal reseptor dopamine	26
Gambar 2.4.	SIRT-1, PGC-1 α dan Tfam pada intra dan ekstra nukleus	30
Gambar 2.5.	Mekanisme Regulator PPAR.....	34
Gambar 2.6	Tanaman Pala	38
Gambar 2.7	Proses Aktivasi PGC1 α , D1DR, Sinaptophysin dan BDNF setelah pemberian Ekstrak Biji Pala pada Cerebrum dan Hippocampus	48
Gambar 4.1.	Tampilan ekspresi mRNA dari PGC 1- α yang di normalisir dengan b actin dengan metoda semiquantitatif PCR pada: kelompok kontrol (1), kelompok PGA (2), kelompok perlakuan Ekstrak Biji Pala (3), dan kelompok standar DHA (4) dari sampel Cerebrum dan Hipokampus tikus muda jantan pada perlakuan 6 minggu dan 12 minggu.....	61
Gambar 4.2.	Perbandingan ekspresi mRNA PGC1- α pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan PGA, kelompok Nutmeg dan kelompok standar DHA dari sampel cerebrum (a) dan hipokampus (b) pada perlakuan 6 dan 12 minggu	62
Gambar 4.3	Tampilan ekspresi mRNA dari D1A yang di normalisir dengan b actin dengan metoda semiquantitatif PCR pada: kelompok kontrol (1), kelompok PGA (2), kelompok perlakuan Ekstrak Biji Pala (3), dan kelompok standar DHA (4) dari sampel Cerebrum dan Hipokampus tikus muda jantan pada perlakuan 6 minggu dan 12 minggu	63
Gambar 4.4.	Tampilan ekspresi mRNA dari D1B yang di normalisir dengan b actin dengan metoda semiquantitatif PCR pada: kelompok	

kontrol (1), kelompok PGA (2), kelompok perlakuan Ekstrak Biji Pala (3), dan kelompok standar DHA (4) dari sampel Cerebrum dan Hipokampus tikus muda jantan pada perlakuan 6 minggu dan 12 minggu 64

Gambar 4.5. Perbandingan ekspresi mRNA D1A dan D1B pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan PGA, kelompok Nutmeg dan kelompok standar DHA dari sampel cerebrum (a) dan hippocampus (b) pada perlakuan 6 dan 12 minggu 65

DAFTAR SINGKATAN

EBP	Ekstrak Biji Pala
DHA	<i>Docosahexaenoic acid</i>
AA	Asam Arakidonat
PUFA	<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
PPAR- γ	<i>Peroxisome Proliferator Activated Receptor-γ</i>
PPARRE	<i>Peroxisome Proliferator Activated Receptor Respon Element</i>
RXR	<i>Retinoid X Receptor</i>
SYP	Synaptohysin
BDNF	<i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i>
AMPK	<i>AMP Activated Protein Kinase</i>
mtDNA	<i>Mitochondria DNA</i>
SIRT 1	<i>Silent Information Regulator T-1 (SIRT-1)</i>
PGC-1 α	<i>Peroksisome Proliferator Activated Receptor Gamma Coactivator - 1α</i>
Tfam	<i>Transcription Factor Mitochondria</i>
cAMP	<i>cyclic AMP</i>

D1DR	<i>Dopamin 1 Receptor</i>
VTA	<i>Ventral Tegmented Area</i>
MMPSE	<i>Mini - Mental State Examination</i>
VMAT	<i>Vesicular Monoamine Transporter</i>
CREB	<i>cAMP Respon Binding Protein</i>
GABA	<i>Gamma Aminobutirid Acid</i>
PKA	<i>Protein kinase A</i>
GPCR _s	<i>G-Protein Coupled Receptor (GPCRs),</i>
PLC	<i>Phospholipase C</i>
DARPP-32	<i>Dopamin and Adenosin 3', 5'-monophosphate –Regulated Phosphoprotein 32 kilodaltons (DARPP-32)</i>
LBD	<i>Ligand Binding Domain</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Tabel Konversis perhitungan dosis antar jenis hewan	91
Lampiran 2	Prosedur-prosedur	92
Lampiran 3	Persetujuan Etik.....	95
Lampiran 4	Tampilan ekspresi mRNA dari PGC 1- α , D1A, D1B, Synaptophysin, dan BDNF yang di normalisir dengan b actin dengan metoda semiquantitatif PCR pada kelompok kontrol negatif (1), kelompok PGA (2), kelompok perlakuan Ekstrak Biji Pala (3), dan kelompok standar DHA (4) dari sampel hippocampus (A : 6 minggu, B : 12 minggu) dan cerebrum (C : 6 minggu, D : 12 minggu)	96
Lampiran 5	Data Kuantifikasi	97
Lampiran 6	Hasil Analisis Data Cerebrum - Hipokampus	103
Lampiran 7	Daftar Riwayat Hidup	105