

**KARYA AKHIR**

**PERBANDINGAN EFEK DOKSISIKLIN DAN MANITOL TERHADAP  
*MATRIX METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9)* PADA KASUS CEDERA  
KEPALA TRAUMATIKA PADA TIKUS *RATTUS WISTAR***

***COMPARISON OF THE EFFECTS OF DOXYCYCLINE AND MANNITOL  
ON MATRIX METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9) IN HEAD TRAUMATIC  
INJURY CASES IN RATTUS WISTAR RATS***

**ROBERT CHRISTEVEN**

**C045182007**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)**

**PROGRAM STUDI ILMU BEDAH**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**KARYA AKHIR**

**PERBANDINGAN EFEK DOKSISIKLIN DAN MANITOL TERHADAP  
*MATRIX METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9)* PADA KASUS CEDERA  
KEPALA TRAUMATIKA PADA TIKUS *RATTUS WISTAR***

***COMPARISON OF THE EFFECTS OF DOXYCYCLINE AND MANNITOL  
ON MATRIX METALLOPROTEINASE-9 (MMP-9) IN HEAD TRAUMATIC  
INJURY CASES IN RATTUS WISTAR RATS***

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis Bedah  
Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan diajukan oleh

**ROBERT CHRISTEVEN**

**C045182007**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp-1)**

**PROGRAM STUDI ILMU BEDAH**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS**

**PERBANDINGAN EFEK DOKSISIKLIN DAN MANITOL TERHADAP *MATRIX METALLOPROTEINASE 9 (MMP-9)* PADA KASUS CEDERA KEPALA TRAUMATIKA PADA TIKUS *RATTUS WISTAR***

Disusun dan diajukan oleh

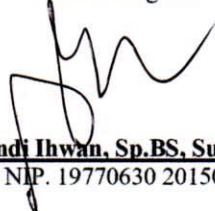
**dr. Robert Christeven**  
C045182007

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 08 Mei 2021

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

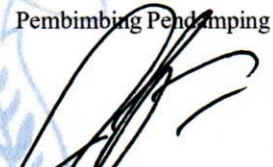
Menyetujui

Pembimbing Utama



**Dr. dr. Andi Ihwan, Sp.BS, Subsp.Onk(K)**  
NIP. 19770630 201504 1 002

Pembimbing Pendamping



**Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM**  
NIP. 197712312002121002

Ketua Program Studi



**Dr. dr. Sachraswaty R. Laidding, Sp.B, Sp.BP-RE(K)**  
NIP. 19760112 200604 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran



**Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK**  
NIP. 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : ROBERT CHRISTEVEN

Nomor Induk Mahasiswa : C045182007

Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 8 Mei 2021

yang menyatakan,



ROBERT CHRISTEVEN

## **KATA PENGANTAR**

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa berkat karunia dan kemurahan-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan karya akhir ini sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas kerja keras, bantuan yang tulus, serta semangat dan dukungan yang diberikan pembimbing saya, dr. Andi Ihwan, SpBS, Subsp. Onk(K) dan Dr.dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM sehingga penulisan karya ini dapat selesai sesuai dengan waktunya.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin; Dr.dr. A. Muh. Takdir Musba, Sp.An., KMN-FIPM selaku Kepala Pusat Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Unhas; serta Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Sc, SpPD-KGH, SpGK, FINASIM sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas; Juga kepada Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk dan Dr.dr. Sachraswaty R. Laidding, Sp.B, Sp.BP-E, Subsp. KF(K) sebagai Ketua Departemen Bagian Ilmu Bedah dan Ketua Program Studi Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan rasa percaya diri dan profesionalisme yang kuat dalam diri saya.

Terima kasih penulis juga ucapkan kepada para Guru Besar dan seluruh Staf Dosen Departemen Ilmu Bedah yang telah mendidik dan membimbing kami dengan sabar dalam meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri kami.

Terima kasih kepada para sejawat Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Secara khusus saya ucapkan terima kasih kepada teman seperjuangan dan saudara Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Periode Januari 2019, terima kasih untuk dukungan dan semua bantuan yang telah diberikan.

Ungkapan istimewa saya haturkan kepada orangtua saya Bapak Agus Farianto dan Ibu Rusnawati Djapri, istri saya dr. Florean Hartungi, Sp.PD, kakak dan adik saya Robin Steven, ST dan Rosabella Irene Steven yang selalu mendukung dan menghibur saya dalam keadaan senang dan susah.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya akhir ini namun tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Sebagai penutup, penulis selalu mendoakan semoga Tuhan Yang Maha Esa melimpahkan karunia-Nya kepada semua pihak yang mencurahkan budi baik, pengorbanan dan bantuan kepada saya selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini.

## ABSTRAK

ROBERT CHRISSTEVEN. *Efek Doksisisiklin dan Manitol dalam Menghambat Mmp-9 Pada Cedera Otak Traumatik pada Tikus Wistar Eksperimental* (dibimbing oleh Andi Ihwan dan Andi Alfian Zainuddin).

Hilangnya regulasi *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9) pada trauma otak berkontribusi pada patofisiologi degradasi sawar darah otak. Penelitian ini bertujuan membandingkan sifat penghambatan MMP-9 dari doksisisiklin dan manitol pada trauma otak. Penelitian ini menggunakan modul tikus ini dengan desain pascauji kelompok kontrol. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Universitas Hasanuddin selama dua minggu. Tikus model dikategorikan menjadi empat kelompok: kelompok kontro, kelompok cedera otak traumatik (trauma), kelompok cedera otak traumatik yang diberi manitol (trauma+M), dan kelompok cedera otak traumatik yang diberi doksisisiklin (trauma+D). Jumlah minimum sampel yang diperlukan untuk setiap kelompok adalah sembilan. Hasil penelitian menunjukkan nilai rata-rata MMP-9 dari kelompok kontrol, trauma, trauma+M, dan trauma+D masing-masing adalah 0,5193 ng/mL, 0,6101 ng/mL, 0,5522 ng/mL, dan 0,5433 ng/mL. Nilai rata-rata MMP-9 dari kelompok **trauma+M** secara signifikan lebih rendah daripada kelompok trauma ( $p=0,017$ ). Nilai rata-rata MMP-9 kelompok trauma+D juga secara signifikan lebih rendah daripada kelompok trauma ( $p=0,006$ ). Dapat disimpulkan bahwa manitol dan doksisisiklin secara signifikan menghambat peningkatan MMP-9 pada model tikus wistar yang mengalami cedera otak.

Kata kunci: matriks metalloproteinase-9, doksisisiklin, manitol



## ABSTRACT

ROBERT CHRISSTEVEN. *The Effects of Doxycycline and Mannitol to Inhibit mmp-9 of Traumatic Brain Injury on Experimental Wistar Rats* (Supervised by Andi Ihwan and Andi Alfian Zainuddin)

The loss of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) regulation in brain trauma contributes to the pathophysiology of blood-brain barrier degradation. This study aims to compare MMP-9 inhibition properties of doxycycline and mannitol of brain trauma. This research used rat model in a laboratory setting with a post-test control group design. The study was conducted at the Animal Laboratory of Hasanuddin University for two weeks. Rat model was categorized into four groups, namely control group, traumatic brain injury group (trauma), traumatic brain injury group given mannitol (trauma+M), and traumatic brain injury group given doxycycline (trauma+D). The minimum number of samples required for each group was nine. The results show that the mean MMP-9 values of control, trauma, trauma+M, and trauma+D groups are 0.5193 ng/mL, 0.6101 ng/mL, 0.5522 ng/mL, and 0.5433 ng/mL respectively. The mean MMP-9 value of trauma+M group is significantly lower than that of the trauma group ( $p = 0.017$ ). The mean MMP-9 value of trauma+D group is also significantly lower than that of trauma group ( $p = 0.006$ ). In conclusion, mannitol and doxycycline statistically significantly inhibits the increase of MMP-9 in this brain-injured Wistar rat model.

Keywords: matrix metalloproteinase-9, doxycycline, mannitol





## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGAJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
I.1 Latar Belakang Masalah .....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	2
I.3 Tujuan Penelitian .....	3
I.3.1 Tujuan Umum.....	3
I.3.2 Tujuan Khusus .....	3
I.4 Manfaat Penelitian .....	4
I.5 Keaslian Penelitian .....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
II.1 Tinjauan Pustaka .....	7
II.1.1 Edema Serebri pada Cedera Otak Traumatika .....	7
II.1.1.1 Klasifikasi Edema Serebri.....	8
II.1.2 Matrix Metalloproteinase (MMP) .....	12
II.1.2.1. MMP dalam Edema Vasogenik .....	13
II.1.2.2. Aktivasi MMP oleh radikal bebas.....	14
II.1.3 Doksisisiklin .....	15
II.1.3.1 Mekanisme Aksi .....	15
II.1.3.2 Farmakokinetik & Farmakodinamik.....	16
II.1.3.3 Dosis dan Administrasi .....	17

II.1.3.4 Mekanisme Doksisisiklin dalam Menghambat MMP .	17
II.1.3.5 Dosis dan Administrasi Doksisisiklin terhadap Perubahan MMP .....	18
II.1.4 Manitol .....	18
II.1.4.1 Mekanisme Aksi .....	19
II.1.4.2 Dosis Manitol.....	20
II.1.4.3 Indikasi pemberian Manitol .....	20
II.1.4.4 Efek Manitol terhadap perubahan MMP.....	21
II.1.5 Cedera Otak Traumatika pada Hewan Coba .....	21
II.1.6 Perbedaan Fisiologis.....	21
II.2 Kerangka Teori.....	22
II.3 Kerangka Konseptual .....	23
II.4 Hipotesis Penelitian .....	24
BAB III. METODE PENELITIAN.....	25
III.1 Rancangan Penelitian .....	25
III.2 Lokasi dan Waktu .....	25
III.3 Populasi dan sampel.....	25
III.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	26
III.5 Definisi operasional .....	27
III.6 Kriteria Objektif .....	27
III.7 Instrumen Pengumpulan Data .....	27
III.8 Metode pemeriksaan .....	28
III.9 Alur penelitian.....	30
III.10 Analisis Data .....	30
III.11 Pertimbangan Etika .....	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	32
IV.1 Hasil.....	32
IV.2 Pembahasan.....	35
BAB V. KESIMPULAN.....	38
DAFTAR PUSTAKA .....	39
LAMPIRAN .....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Patofisiologi edema sitotoksik dan edema vasogenik.....	9
Gambar 2.	Mekanisme yang berkontribusi terhadap edema serebri vasogenik setelah cedera otak traumatika/TB.....	10
Gambar 3.	Mekanisme edema osmotik.....	11
Gambar 4.	Mekanisme pengaliran CSF dan hambatan yang dapat menimbulkan hidrosefalus.....	12
Gambar 5.	Struktur kimia Doksisisiklin.....	15
Gambar 6.	Langkah regulasi matriks metalloproteinase dan efek tetrasiklin pada regulasi MMP.....	18

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan Kadar Matriks Metalloproteinase-9 .....	32
Tabel 2. Uji ANOVA .....	33
Tabel 3. Uji LSD untuk Membandingkan kadar MMP-9 pada Tiap Kelompok ..	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rekomendasi Persetujuan Etik .....	46
Lampiran 2 Biodata Penulis .....	47
Lampiran 3 Data Penelitian .....	49

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang Masalah

*Traumatic brain injury*/Cedera otak traumatika adalah gangguan kompleks akibat terjadinya perubahan fungsi otak atau patologi otak yang disebabkan oleh kekuatan eksternal.<sup>[1]</sup> Sebanyak 1,7 juta orang setiap tahun mengalami cedera otak traumatika di Amerika Serikat.<sup>[2]</sup> Sebuah studi berbasis survei besar di 8 negara berpenghasilan rendah dan menengah (LMIC) mengidentifikasi bahwa prevalensi cedera otak traumatika sekitar <1% (Cina) hingga hampir 15% (Meksiko dan Venezuela) dari populasi yang diteliti.<sup>[3]</sup> Sedangkan di Indonesia, prevalensi cedera otak traumatika meningkat dari 14,5% di tahun 2007 menjadi 14,9% di tahun 2013. Terdapat peningkatan jumlah kematian dari 6 per 100.000 populasi di tahun 2009, menjadi 120 kasus jumlah kematian oleh karena kecelakaan lalu lintas di tahun 2014.<sup>[4]</sup>

Komplikasi utama yang berpotensi terjadi akibat cedera otak traumatika ialah terjadinya edema cerebri.<sup>[5]</sup> Edema cerebri merupakan keadaan patologis dengan peningkatan volume otak akibat akumulasi cairan yang abnormal di dalam parenkim cerebral.<sup>[6]</sup> Edema cerebri diklasifikasikan ke dalam dua kategori utama, yaitu edema sitotoksik (juga dikenal sebagai seluler) dan edema vasogenik.<sup>[7]</sup> Edema sitotoksik adalah akumulasi cairan di kompartemen intraselular neuron, mikroglia, dan astrosit, sedangkan edema vasogenik ialah peningkatan cairan ekstrasel yang terjadi karena kebocoran *blood brain barrier* (BBB). Akibatnya, terjadi peningkatan tekanan osmotik dan cairan ke luar dari pembuluh darah serta masuk ke dalam kompartemen ekstraselular.<sup>[7]</sup>

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ekspresi *matriks metalloproteinase* (MMP-9) sebagai mekanisme molekuler yang berlebihan terjadi pada edema cerebri dan kerusakan BBB pada cedera otak traumatika.<sup>[5,8]</sup> MMP merupakan enzim endopeptidase *zinc-dependent* yang berperan dalam perbaikan jaringan. Regulasi MMP sangat kompleks dan terkontrol. Hilangnya kontrol regulasi ini akan berperan dalam patofisiologi kerusakan BBB pada edema cerebri. Oleh karena itu,

penghambatan MMP-9 menjadi target yang penting dalam perawatan cedera otak traumatika.<sup>[5]</sup>

Saat ini, modalitas perawatan edema cerebri hanya mengatasi gejala dan belum ada terapi medis yang efektif dalam memodulasi patofisiologi yang berperan pada kebocoran mikrovaskuler yang diinduksi oleh cedera otak traumatika.<sup>[9]</sup> Tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas yang mampu melawan berbagai mikroorganisme. Penelitian pada tetrasiklin menemukan sifat farmakologis penting yang berfokus pada pengaturan sistem kekebalan tubuh dan jalur peradangan. Spektrum luas dari efek anti-inflamasi pada tetrasiklin disebabkan karena kemampuannya dalam menghambat sintesis atau aktivitas dari beberapa mediator peradangan<sup>[10]</sup>, seperti MMPs, prostaglandin (PGE), dan sitokin (*tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), interleukin-(IL-)  $1\beta$ , IL-6).<sup>[11]</sup>

Derivat tetrasiklin yang memiliki potensi inhibitor MMP non spesifik yang kuat adalah doksisisiklin dan manitol.<sup>[9]</sup> Doksisisiklin dan manitol secara in vitro terbukti mampu menghambat MMP-2 dan MMP-9, mengurangi invasi dan migrasi dalam sel kanker, dan memunculkan efek anti inflamasi pada jaringan normal.<sup>[9,12,13]</sup> Dengan penelitian ini, peneliti ingin mengetahui efek pemberian doksisisiklin terhadap MMP pada edema cerebri setelah cedera otak traumatika.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian, yaitu:

1. Bagaimana perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak?
2. Bagaimana hubungan pemberian doksisisiklin terhadap perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak?
3. Bagaimana hubungan pemberian manitol terhadap perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak?

4. Bagaimana perbandingan efek doksisisiklin dan manitol terhadap perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak?

### **I.3. Tujuan Penelitian**

#### **I.3.1 Tujuan Umum**

Diketuainya perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak.

#### **I.3.2 Tujuan Khusus**

1. Diketahui nilai rata-rata MMP-9 pada tikus coba yang tidak mengalami edema cerebri.
2. Diketahui nilai rata-rata pada tikus coba yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak.
3. Diketahui nilai rata-rata MMP-9 pada tikus coba yang diberikan manitol setelah mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak.
4. Diketahui nilai rata-rata MMP-9 pada tikus coba yang diberikan doksisisiklin setelah mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak.
5. Diketahui perbandingan kadar MMP-9 antara tikus coba yang tidak mengalami edema cerebri (kontrol), yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak (COT), yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan manitol (COT+M), dan yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan doksisisiklin (COT+D).
6. Diketahui perbandingan kadar MMP-9 antara tikus coba yang tidak mengalami edema cerebri (kontrol) dengan tikus yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak (COT)
7. Diketahui perbandingan kadar MMP-9 antara tikus coba yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak (COT) dengan yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan manitol (COT+M).



8. Diketahui perbandingan kadar MMP-9 antara tikus coba yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak (COT) dengan yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan doksisisiklin (COT+D).
9. Diketahui perbandingan kadar MMP-9 antara tikus coba yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan manitol (COT+M), dan yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan doksisisiklin (COT+D).

#### **I.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk mempertimbangkan pemberian doksisisiklin ataupun manitol sebagai terapi pada edema cerebri setelah cedera otak traumatika
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah tentang pengaruh doksisisiklin dan manitol terhadap kadar MMP-9 pada edema cerebri setelah cedera otak traumatika
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan efek antara pemberian doksisisiklin dan manitol terhadap edema cerebri setelah cedera otak traumatika

#### **I.5 Keaslian Penelitian**

Peneliti belum pernah menemukan penulisan karya ilmiah atau penelitian yang sejenis tentang efek doksisisiklin dan manitol terhadap kadar MMP-9 dalam edema cerebri setelah cedera otak traumatika pada tikus coba. Peneliti melakukan penelusuran pada PubMed dan perpustakaan Fakultas Kedokteran Unhas dengan kata kunci **The Effect of Mannitol and Doxycycline to Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) level in Cerebral Edema after Traumatic Injury of Rat, The activation and inhibition of MMP-9**, yang menghasilkan beberapa penelitian sebagai berikut:

1. *MMP-9, brain edema, and length of hospital stay of patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage after hematoma evacuation along*

*with the administration of tigecycline.* Penelitian ini membandingkan penurunan kadar MMP-9 pada pasien Perdarahan Intracerebral Spontan Supratentorial (PISS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tigesiklin tidak menurunkan kadar MMP-9 dan derajat edema cerebri. <sup>[14]</sup>

2. *Matrix metalloproteinase-9 expression and protein levels after fluid percussion injury in rats: the effect of injury severity and brain temperature.* Penelitian ini membandingkan tingkat ekspresi MMP-9 dan protein setelah cedera otak traumatika sedang dan berat. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan yang signifikan tingkat mRNA MMP-9 dan protein setelah 24 dan 72 jam setelah cedera sesuai dengan keparahan cedera. <sup>[15]</sup>
3. *Quantitative analyses of matrix metalloproteinase activity after traumatic brain injury in adult rats.* Penelitian ini memperlihatkan analisis kuantitatif PCR otak pada tikus yang mengalami peningkatan ekspresi MMP-9 setelah 24 jam cedera kepala. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MMP-9 meningkat segera setelah cedera kepala terjadi, sehingga dibutuhkan strategi perawatan untuk mempertahankan integritas MMP-9 yang diinisiasi pada fase akut cedera. <sup>[16]</sup>
4. *Selective inhibition of matrix metalloproteinase-9 attenuates secondary damage resulting from severe traumatic brain injury.* Penelitian ini mengevaluasi MMP-9 dan keefektifan SB-3CT yang merupakan inhibitor selektif gelatinase pada model tikus setelah cedera kepala. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MMP-9 menjadi target kunci untuk terapi pada cedera sekunder dan inhibitor gelatinase berpotensi sebagai perawatan farmakologi cedera kepala. <sup>[17]</sup>
5. *The profile of MMP-9, MMP-9 mRNA expression, -1562 C/T Polymorphism and outcome in High-risk Traumatic Brain Injury.* Penelitian ini mengevaluasi efek perawatan hipotermia ringan (34°-36°) dan peningkatan MMP-9 pada 20 pasien dengan risiko cedera kepala berat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi hipotermia ringan menurunkan tingkat ekspresi mRNA MMP-9, protein MMP-9 dan meningkatkan skor FOUR dan GCS pada pasien dengan risiko cedera kepala berat dalam 72 jam. <sup>[18]</sup>

6. *Doxycycline Suppresses Cerebral Matrix Metalloproteinase-9 and Angiogenesis Induced by Focal Hyperstimulation of Vascular Endothelial Growth Factor in a Mouse Model.* Penelitian ini mengevaluasi doksisisiklin sebagai inhibitor MMP nonspesifik dalam menekan induksi vascular endothelial growth factor (VEGF) pada angiogenesis cerebri model tikus. Hasil penelitian ini menemukan bahwa doksisisiklin efektif dalam menurunkan stimulasi aktifitas MMP-9 cerebri dan angiogenesis parenkimal.<sup>[19]</sup>
7. *Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy.* Penelitian ini memperlihatkan efek radikal bebas dalam mengaktifkan MMP-9 dan faktor-faktor yang dapat menghambat pembentukan MMP-9.<sup>20</sup>
8. *Doxycycline Blocks Matrixmetalloproteinase-9 and Attenuates Blood-Brain Barrier dysfunction and Hyperpermeability after Traumatic Brain Injury.* Penelitian ini memperlihatkan efek doksisisiklin dalam menghambat MMP-9 dan mengurangi hiperpermeabilitas mikrovaskular pada cedera kepala *in vivo*. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan integritas BBB atau penurunan hiperpermeabilitas mikrovaskuler pada tikus yang dirawat dengan doksisisiklin.<sup>[21]</sup>

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Tinjauan Pustaka**

##### **II.1.1 Edema Cerebri pada Cedera Otak Traumatika**

Cedera otak traumatika (COT) merupakan suatu kondisi terjadinya perlukaan jaringan otak yang bukan disebabkan oleh tekanan eksternal yang dapat mengakibatkan penurunan ataupun perubahan status kesadaran.<sup>[1]</sup> Keadaan lanjutan dari kerusakan jaringan otak dengan defisit neurologik yang timbul setara dengan kerusakan otak tersebut disebut cedera otak traumatika akibat iskemia.<sup>[22]</sup>

Cedera otak traumatika terbagi menjadi dua fase yaitu cedera primer dan sekunder. Cedera primer disebabkan oleh kekuatan mekanik eksternal secara langsung.<sup>[23,24]</sup> Hal ini mencakup cedera fokal, seperti lesi yang disebabkan oleh kontusio atau perdarahan,<sup>[25]</sup> sedangkan cedera sekunder mengacu pada peristiwa fisiologis yang mencakup berbagai proses neuropatologik, termasuk eksitotoksisitas, neuroinflamasi, stres oksidatif dan apoptosis.<sup>[25]</sup> Proses sekunder ini terjadi dalam beberapa menit setelah cedera otak traumatika, bisa bertahan selama berbulan-bulan sampai tahun dan berkontribusi dalam perluasan kerusakan jaringan. Manifestasi dan tingkat keparahan proses cedera sekunder ini berbeda tergantung pada jenis cedera, keparahan, dan faktor individu.<sup>[23]</sup>

Cedera sekunder memainkan peran utama dalam morbiditas dan mortalitas yang dihasilkan dari cedera otak traumatika yang ditandai oleh terjadinya iskemia *blood brain barrier*, dan edema cerebri.<sup>[25]</sup> Edema cerebri merupakan keadaan patologis dengan peningkatan volume otak sebagai akibat akumulasi cairan di parenkim cerebral yang abnormal dan dapat menyebabkan peningkatan tekanan intrakranial.<sup>[26]</sup> Peningkatan tekanan intrakranial di otak akan menginduksi kondisi yang merugikan. Edema cerebri telah diamati pada trauma kepala, iskemia cerebral, perdarahan dan keterlambatan pemulihan setelah kerusakan otak.<sup>[27]</sup>

### II.1.1.1 Klasifikasi Edema Cerebri

Edema cerebri dibagi atas dua bagian besar, yaitu:

1. Berdasarkan lokalisasi cairan dalam jaringan otak
  - a. edema cerebri ekstraseluler, bila kelebihan air terutama dalam substansia alba
  - b. edema cerebri intraseluler, bila kelebihan air terutama dalam substansia grisea
2. Berdasarkan patogenesisnya
  - a. Edema Sitotoksik

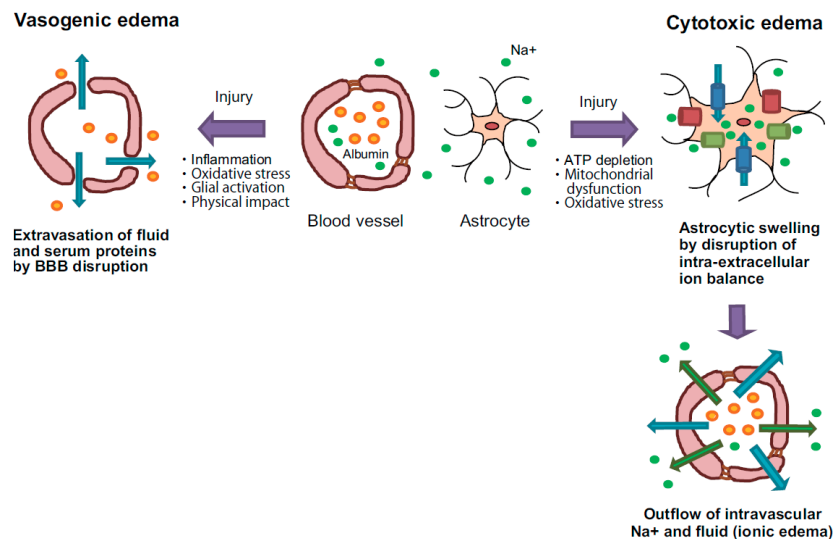
Edema sitotoksik terjadi akibat akumulasi cairan yang abnormal di dalam sel-sel otak dan pembengkakan sel (gambar 1), yang sering diamati pada iskemia cerebral.

[6] Pada iskemia cerebral, suplai glukosa untuk sel-sel otak sangat berkurang akibat kerusakan aliran darah otak. Hal ini menyebabkan penurunan produksi ATP intraseluler.<sup>[28]</sup> Penurunan produksi ATP menyebabkan kegagalan transportasi intra-ekstraseluler  $\text{Na}^+$  dan kelebihan akumulasi  $\text{Na}^+$  intraseluler. Peningkatan  $\text{Na}^+$  intraseluler mengakibatkan masuknya cairan ekstraseluler ke dalam sel yang abnormal, sehingga terjadi pembengkakan sel. Pada jaringan saraf, bagian dari produk ini akan diambil oleh astrosit dan menyebabkan stres oksidatif serta disfungsi mitokondria. Peristiwa ini mengakibatkan disfungsi astrositik dan edema.<sup>[29]</sup> Setelah pembentukan edema sitotoksik, aliran  $\text{Na}^+$  dari pembuluh darah akan semakin cepat karena tubuh mencoba untuk meningkatkan penurunan cairan dan  $\text{Na}^+$  ekstraseluler.<sup>[28]</sup> Aliran keluar  $\text{Na}^+$  intravaskuler menginduksi ekstrasvasi cairan tanpa mengganggu BBB, dan menyebabkan akumulasi cairan ekstraseluler yang dikenal sebagai edema ionik (gambar 1). Dengan demikian, edema sitotoksik juga menyebabkan peningkatan volume otak dan tekanan intrakranial. <sup>[6]</sup>

- b. Edema Vasogenik

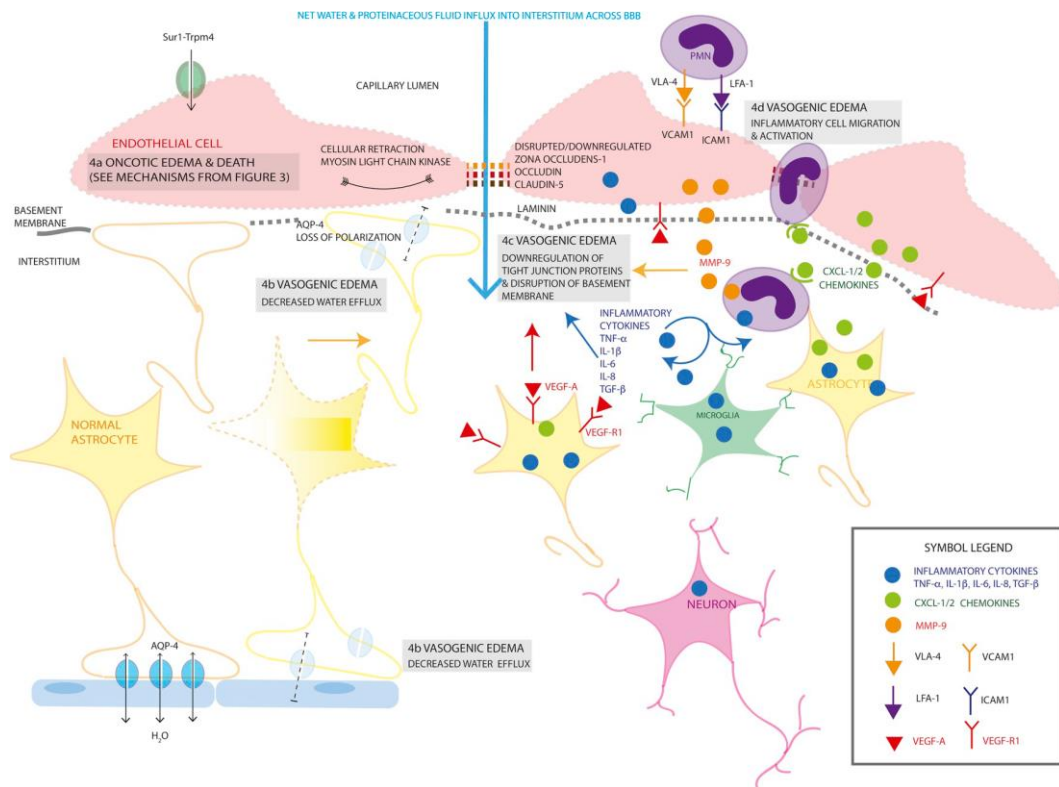
Edema vasogenik diakibatkan oleh gangguan pada BBB sehingga terjadi ekstrasvasi cairan dan intravaskuler protein seperti albumin ke parenkim cerebral (gambar 1). Cairan ekstrasvasi menumpuk di luar sel, dan akumulasi cairan ekstraseluler yang berlebihan tersebut menyebabkan peningkatan volume otak dan ICP. <sup>[6]</sup> Setelah cedera otak traumatika, reperfusi iskemia sementara menyebabkan

eksitotoksisitas dan menekan proses oksidasi melalui disfungsi mitokondria. Peristiwa ini menyebabkan rusaknya BBB, sehingga terjadi gangguan BBB yang ireversibel. Selain itu, reperfusi iskemia menginduksi migrasi leukosit [30] dan aktivasi sel-sel glial seperti mikroglia dan astrosit.[30] Sel-sel ini secara berlebihan akan melepaskan faktor permeabilitas vaskuler yaitu sitokin dan kemokin, yang menyebabkan hiperpermeabilitas BBB.[31] Oleh karena gangguan pada BBB yang reversibel, maka masih memungkinkan untuk dilakukan pemulihan menggunakan obat. Gangguan pada BBB dan edema vasogenik sering diamati pada trauma otak, perdarahan dan tahap sekunder dari iskemia. Selain itu, pemulihan gangguan BBB yang reversibel masih memungkinkan untuk jenis cedera ini. [31]



**Gambar 1.** Patofisiologi edema sitotoksik dan edema vasogenik [6]

Edema vasogenik (VasE) diakibatkan oleh gangguan pada BBB sehingga air dan cairan protein masuk ke dalam interstitial. Terdapat beberapa kontributor dalam proses ini seperti retraksi seluler (melalui kontraksi rantai kinase aktin dan myosin dari sitoskeleton), edema sitotoksik dalam sel endotel yang mengakibatkan disrupsi membran dan kematian onkotik, berkurangnya efluks (penghabisan) cairan, degradasi ikatan yang kuat dari protein dan aktivasi sel-sel inflamasi.



**Gambar 2.** Mekanisme yang berkontribusi terhadap edema cerebri vasogenik setelah TBI/cedera otak traumatika [30]

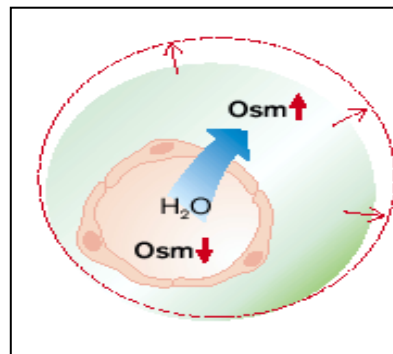
Berkurangnya refluks cairan juga berkontribusi terhadap terjadinya VasE; sebuah mekanisme potensial yang diilustrasikan di sini ialah hilangnya polarisasi aquaporin-4 (AQP-4) dalam perivaskuler dan *periependymal endfeet*. Selain itu, diakibatkan juga oleh astrosit yang mengalami pembelahan sel/ kematian sel onkotik, sehingga *endfeet* tidak lagi dapat berkontribusi untuk menutup BBB, sehingga terjadi VasE. Kontributor lain pada VasE adalah penurunan regulasi ikatan kuat protein dan gangguan pada membran basal. [32]

Disrupsi membran basalis terjadi melalui beberapa mekanisme termasuk MMP-9 yang diproduksi oleh neutrofil dan sel endotel, sitokin inflamasi (TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TGF- $\beta$ ) yang diproduksi oleh beberapa tipe sel yang diaktifkan oleh cedera termasuk neuron, mikroglia, astrosit, sel endotel dan migrasi leukosit, serta regulasi *Vascular Endothelial Growth Factor-A* (VEGF-A) dan VEGF-R1 oleh

beberapa tipe sel seperti sel endotel dan astrosit. Aktivasi dan migrasi sel-sel inflamasi kemudian akan menimbulkan VasE. [32]

c. Edema Cerebri Osmotik

Edema terjadi karena adanya perbedaan tekanan osmotik antara plasma darah (intravaskuler) dan jaringan otak (ekstra-vaskuler). Apabila tekanan osmotik plasma turun > 12%, akan terjadi edema cerebri dan peningkatan tekanan intrakranial. Hal ini dapat dibuktikan pada binatang percobaan dengan infus air suling, yang menunjukkan kenaikan volume air. Pada edema cerebri osmotik tidak ada kelainan pada pembuluh darah dan membran sel.



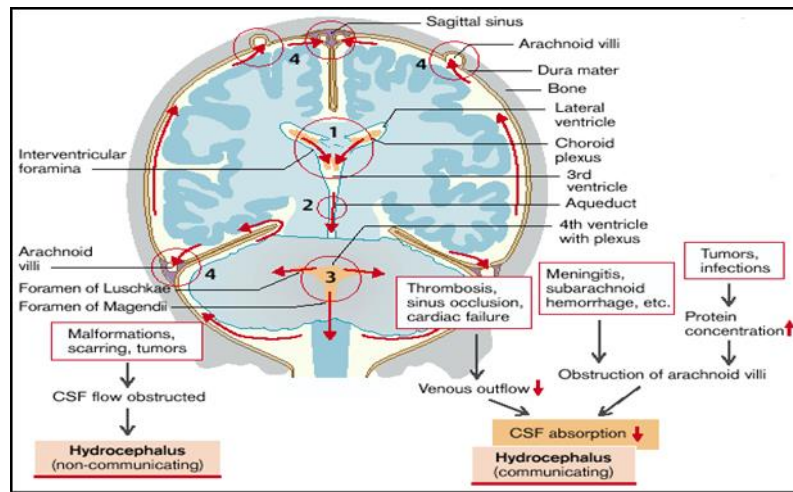
**Gambar 3.** mekanisme edema osmotik [33]

Edema dapat timbul pada keadaan di mana kadar osmolalitas cairan jaringan otak lebih besar daripada plasma darah, misalnya pada koma hiperglikemik hiperosmolar nonketotik, *water intoxication*, infus dengan cairan hipotonis dan hipersekresi ADH. [33]

d. Edema Cerebri Hidrostatik/Interstisial

Edema cerebri hidrostatik adalah edema yang terjadi karena adanya perbedaan tekanan hidrostatik pada sistem ventrikel yang disebabkan oleh gangguan sirkulasi dari cairan serebrospinal, cairan tersebut terletak di interstitial daerah periventrikular. Penyebabnya adalah obstruksi hidrosefalus.





**Gambar 4.** Mekanisme Pengaliran CSF dan Hambatan yang Dapat Menimbulkan Hidrosefalus [33]

Edema hidrostatik merupakan penjelasan atas pembengkakan otak dan peningkatan tekanan intrakranial yang parah dan kadang tampak setelah dekomresi hematoma intrakranial yang besar. Penambahan utama tekanan intravaskular intrakranial dihantarkan pada bed kapiler yang tidak terlindungi, dan cairan merembes ke rongga ekstraselular. Bila terdapat hidrosefalus obstruktif, sering terdapat daerah radiolusen periventrikular pada CT scan Otak. Kadangkala ini disebut edema interstitial dimana menunjukkan peningkatan tekanan intrakranial yang mendorong air melintasi ependima dari serebrospinal ke substansi putih periventrikular. [33]

### II.1.2. *Matrix Metalloproteinase* (MMP)

*Matriks metalloproteinase* merupakan enzim endopeptidase *zinc-dependent* yang berperan dalam perbaikan jaringan pada berbagai keadaan patologis.[8] Regulasi MMP sangat kompleks dan terkontrol. Hilangnya kontrol regulasi sangat berperan dalam patofisiologi kerusakan sinaps dan BBB pada cedera kepala, *stroke*, dan neurodegenerasi.[5] Cedera otak traumatika pada tikus menunjukkan ekspresi MMP-9 yang meningkat secara signifikan pada 24 jam pasca-TBI, yang tetap diregulasi setidaknya hingga 48 jam setelah cedera. Analisis imunohistokimia juga mengungkapkan peningkatan imunoreaktivitas MMP-9 secara signifikan pada 24 dan 48 jam pasca cedera otak traumatika. [16]

MMP memiliki peran dalam terjadinya edema cerebri yaitu kemampuannya dalam memecah berbagai jenis protein matriks ekstraselular termasuk protein lamina basal neurovaskular dan protein ikatan kuat dari BBB.<sup>[34]</sup> Kadar MMP terutama MMP2, MMP3, dan MMP9 meningkat pada keadaan cedera kepala.<sup>[16,35]</sup> Ketiganya menyebabkan kerusakan akut BBB, edema vasogenik, dan bahkan kematian sel. Peningkatan kadar MMP-9 yang terjadi secara temporer berhubungan dengan kebocoran BBB dan terbentuknya edema. Sejalan dengan ini, defisiensi MMP-9 pada hewan coba menunjukkan efek protektif pada cedera kepala.<sup>[36]</sup> Defisiensi gen MMP-9 ini menurunkan kebocoran BBB dan pembentukan edema, menurunkan respons inflamasi, serta meningkatkan integritas membran sel dan status fungsional.<sup>[37]</sup>

#### **II.1.2.1 MMP dalam Edema Vasogenik**

Protease berperan dalam respon inflamasi terhadap cedera, membentuk jalur akhir yang mengarah pada kerusakan BBB, perdarahan dan kematian sel. Setelah cedera traumatik dan iskemik, terjadi penumpukan laktat yang meningkat seiring dengan terjadinya hiperglikemia. Asidosis mengakibatkan pelepasan asam hidrolase, yang merusak enzim dan menyerang komponen sel, termasuk membran, sehingga mengakibatkan nekrosis sel. Pada situasi pH tetap netral, peningkatan kalsium intraseluler dan sitokin menyebabkan induksi protease netral. Protease netral utama adalah matriks ekstraseluler-degrading MMPs dan aktivator plasminogen /plasmin.

Matriks metalloproteinase merupakan keluarga gen 26 *zinc-dependent protease* yang bertindak pada matriks ekstraseluler selama cedera.<sup>[38]</sup> Biasanya, matriks ini berkontribusi dalam renovasi matriks ekstraseluler, angiogenesis, dan neurogenesis.<sup>[39]</sup> MMPs diproduksi dalam bentuk laten dan diaktifkan oleh protease atau radikal lain.<sup>[40,41]</sup> Selama respon peradangan sebagai bagian dari cedera, induksi MMPs dengan AP-1 dan NF- $\kappa$ B sites pada daerah promotor gen, disebabkan oleh sitokin, seperti tumor necrosis factor- $\alpha$ ' (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ).<sup>[42]</sup> MMPs akan memecah lamina basal dan ikatan kuat protein, sehingga membuka BBB dan menyebabkan perdarahan.<sup>[43]</sup>

Sebagai bagian dari respons neuroinflamasi pada iskemia-hipoksia otak, MMP memediasi peningkatan permeabilitas BBB, yang mengarah pada edema vasogenik. MMP menyerang protein dari matriks ekstraseluler termasuk kolagen tipe IV, laminin, fibronektin, dan proteoglikan.<sup>[42]</sup> Degradasi komponen lamina basal oleh MMP dapat membahayakan integritas struktural kapiler. Pelemahan proteolitik dinding pembuluh darah juga dapat meningkatkan risiko ruptur.<sup>[44]</sup> Selain itu, ikatan kuat dari protein dalam sel endotel rentan terhadap proteolisis MMP.<sup>[44]</sup>

Blokade farmakologis MMP menggunakan inhibitor spektrum luas secara signifikan dapat mengurangi edema otak setelah perdarahan intra cerebral, dampak cedera kortikal dan bakteri meningitis.<sup>[44]</sup> Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji bahan yang digunakan dalam menghambat MMP pada cedera otak traumatika. Rhubarb (akar kering dan rizoma) melindungi BBB setelah TBI melalui signaling pathway oksidasi NADPH / ROS / ERK / MMP-9 / ZO-1. Rhubarb menghentikan efek ERK, yang kemudian mengurangi MMP-9 dan meningkatkan ZO-1.<sup>[45]</sup> Selain itu, minocycline juga dapat menghambat MMP dengan sepenuhnya memblokir efek merugikan cedera otak traumatika pada kehilangan sinapsis yang ditentukan oleh ekspresi synaptophysin.<sup>[46]</sup>

### **II.1.2.2 Aktivasi MMP oleh Radikal Bebas**

Radikal bebas, senyawa dengan setidaknya satu elektron yang tidak berpasangan, dihasilkan dalam konsentrasi rendah sebagai produk sampingan dari metabolisme energi di sebagian besar sel. Radical bebas dapat menyebabkan kerusakan sawar darah otak, kematian sel, dan inflamasi.

Radikal bebas memiliki peran penting dalam aktivasi jalur matriks metalloproteinase yang merupakan salah satu jalur krusial dalam pembukaan BBB dan distribusi protein *tight junction* yang merupakan komponen utama BBB.

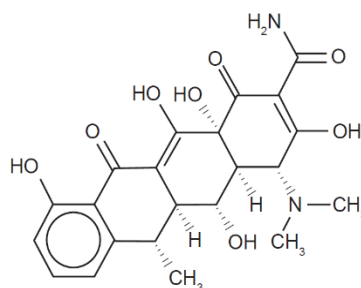
Radikal bebas dapat mengaktifkan MMP-2 pada tahap pertama pembukaan MMP-2 dan aktivasi MMP-9 pada tahap kedua. MMP yang aktif akan mendegradasi matriks ekstraseluler dari dinding vaskuler dan *protein tight junction*.

### II.1.3 Doksisiklin

Doksisiklin merupakan obat antibakteri dari kelas tetrasiklin dan secara umum bersifat bakteriostatik. Antibakteri kelas tetrasiklin menghambat sintesis protein pada bakteri dengan mengikat subunit ribosom 30S dan memblokir masuknya molekul tRNA amino-Asil ke site A pada ribosom. Hal ini mencegah penggabungan dari residu asam amino menjadi elongasi rantai peptide.<sup>[10]</sup>

Doksisiklin ( $\alpha$ -6-deoxytetracycline) dikembangkan oleh Pfizer dan merupakan turunan semi sintetis dari oksitetrasiklin yang pertama kali dikenalkan pada tahun 1967. Obat ini memiliki keuntungan dibandingkan anggota tetrasiklin lainnya karena penyerapan oral yang lebih cepat dan waktu paruh serum yang panjang. Doksisiklin memiliki jangkauan yang luas dalam melawan bakteri gram-positif, bakteri gram negatif dan bakteri atipikal serta beberapa protozoa seperti pada penyakit malaria.<sup>[47]</sup>

Spektrum antibakteri dari doksisiklin termasuk organisme Gram positif dan Gram negatif (seperti spesies aerobik dan anaerobik), mencakup *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), dan beberapa *Mycobacteria*.<sup>[10]</sup>



**Gambar 5.** Struktur Kimia Doksisiklin<sup>[47]</sup>

#### II.1.3.1 Mekanisme Aksi

Doksisiklin menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat subunit ribosom 30S secara reversibel dan mencegah penggabungan aminoacyl-tRNA dengan ribosom bakteri. Inhibisi sintesis protein terjadi di mitokondria melalui pengikatan ribosom 70S. Oleh karena itu, obat ini bersifat bakteriostatik. Doksisiklin memasuki sel melalui pori-pori hidrofil pada membran sel luar dan pada sistem transpor aktif pH-dependent dalam inner membran sitoplasmik.<sup>[48]</sup>

Obat ini dapat menghambat matriks metalloproteinase (MMPs) tertentu, yaitu enzim proteolitik yang diproduksi oleh sel-sel inflamasi. Hal ini menyebabkan doksisisiklin berpotensi digunakan dalam berbagai kondisi anti-inflamasi dan anti-neoplastik.<sup>[49]</sup>

### **II.1.3.2 Farmakokinetik dan Farmakodinamik**

Doksisisiklin hampir benar-benar diserap setelah pemberian oral dalam perut dan usus kecil proksimal. Produk makanan atau susu tidak signifikan mampu mengubah penyerapan, tidak seperti pada tetrasiklin dan manitol, dengan penurunan kadar serum sebanyak 20%.<sup>[48]</sup> Waktu paruh serum obat ini panjang yaitu 18-22 jam, dan tidak berubah meskipun terdapat gangguan fungsi ginjal. Kadar serum puncak terjadi selama 2-3 jam setelah administrasi oral dan 30 menit setelah administrasi intravena. Dosis tunggal doksisisiklin oral 200 mg mencapai puncak konsentrasi serum kira-kira 3.0-5.0 µg/mL, dan dosis tunggal intravena doksisisiklin pada dosis yang sama mencapai konsentrasi serum puncak pada 4-10 µg/mL.<sup>[50]</sup>

Penetrasi terjadi dalam cairan tubuh dan jaringan. Doksisisiklin lebih larut dalam lemak daripada tetrasiklin, sehingga tingkat doksisisiklin yang tinggi dapat terdeteksi pada berbagai jaringan seperti cairan limfatik, cairan peritoneal, jaringan kolon, jaringan prostat dan ASI. Doksisisiklin lebih mudah menembus ke dalam sel-sel bakteri dibandingkan dengan tetrasiklin lain. Doksisisiklin juga menembus ke dalam cairan serebrospinal dengan tingkat rata-rata 0.37-1,3 µg/mL atau 14% – 26% dari konsentrasi serum.<sup>[51]</sup> Konsentrasi tertinggi terdapat pada organ-organ ekskretoris termasuk sistem empedu.<sup>[51]</sup> Konsentrasi terendah berada dalam air liur dan sputum.<sup>[51]</sup>

Sekitar lebih dari sepertiga doksisisiklin diekskresikan oleh ginjal melalui filtrasi glomerulus dan persentasi kecil diekskresikan dalam empedu.<sup>[52]</sup> Sisa doksisisiklin akan diekskresikan dalam tinja. Lebih dari 90% dosis oral doksisisiklin dikeluarkan dari tubuh selama 72 jam setelah administrasi obat.<sup>[47]</sup>

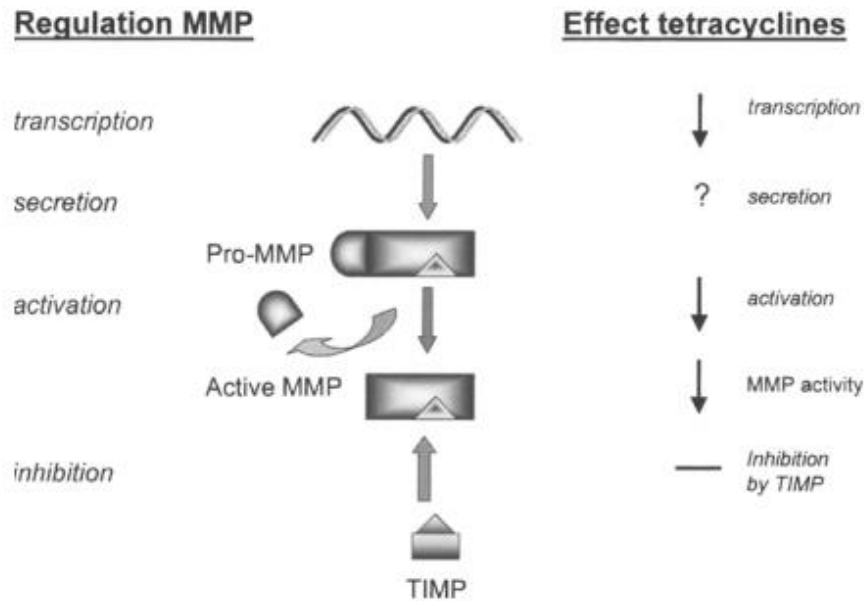
### **II.1.3.3 Dosis dan Administrasi**

Doksisiklin biasanya dimulai dengan dosis awal 200-mg setiap hari, diikuti dengan dosis pemeliharaan 100 mg sehari (atau dua kali sehari untuk infeksi berat). Obat ini dapat diberikan secara oral maupun intravena. Dosis oral harus digunakan dengan cairan yang cukup dan pasien tetap tegak selama 30 menit setelah administrasi. Dosis maksimum yang direkomendasikan ialah 300 mg setiap hari.<sup>[53]</sup>

### **II.1.3.4. Mekanisme Doksisiklin dalam Menghambat MMP**

Remodeling matriks adalah proses kompleks di mana matriks metalloproteinases (MMPs) memainkan peran utama. Aktivitas MMP muncul melalui multi-proses. Ekspresi berlebih dan aktivasi MMPs berkorelasi dengan sejumlah kelainan patologi.<sup>[54]</sup> Tetrasiklin dan turunan tetrasiklin mampu menghambat aktivitas MMP, terlepas dari aksi anti-mikroba.

MMP terdiri dari keluarga *zinc metallo-endopeptidase* yang terkait secara struktural, dengan kekhususan substrat yang berbeda, secara kolektif mampu mendegradasi konstituen protein dari matriks ekstra-seluler. Anggota pertama dari keluarga MMP, suatu kolagenase, ditemukan pada tahun 1962 dan sekarang disebut sebagai MMP-I atau kolagenase I / kolagenase tipe fibroblast. Aktivitas MMP merupakan proses yang diatur secara teratur yang terdiri dari transkripsi, sekresi pro-enzim dan aktivasi; aktivitas lebih lanjut dikendalikan oleh seperangkat inhibitor spesifik (inhibitor jaringan metalloproteinases: TIMPs) yang sering diekspresikan bersama dengan protease masing-masing (Gambar 3). Transkripsi MMP dikendalikan oleh berbagai sitokin, mediator proinflamasi, faktor pertumbuhan dan hormon.<sup>[54]</sup>



**Gambar 6.** Langkah regulasi matrix metalloproteinases dan efek tetrasiklin pada regulasi MMP. Efek tetrasiklin diberikan di sebelah kanan: ↓ = penghambatan; ? = tidak dikenal; - = tidak ada efek. [54]

### II.1.3.5 Dosis dan Administrasi Doksisisiklin terhadap Perubahan MMP

Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji dosis doksisisiklin yang diberikan, yaitu dengan oral dosis 30mg/kg (berdasarkan konsumsi air harian rata-rata). Dosis ini telah ditunjukkan sebelumnya untuk memblokir aktivitas MMP pada penelitian *in vivo*. [55-58]

### II.1.4 Manitol

Manitol merupakan obat dengan senyawa poliol (alkohol gula)  $C_6H_8(OH)_6$ , senyawa ini sering digunakan dalam produk makanan dan industri farmasi. Dalam dunia medis, manitol dapat digunakan untuk menurunkan tekanan intrakranial, proteksi renal, menurunkan tekanan intraokuli dan masih banyak lainnya. Manitol berperan sebagai diuretik hiperosmolar dan radikal bebas *scavenger*. [59,60]

#### II.1.4.1 Mekanisme Aksi

Manitol bekerja pada pembuluh darah(endothel) otak yang normal. Mekanisme kerja manitol dalam menurunkan tekanan intrakranial melalui dua jalur:

- 1) Perluasan volume plasma akan menurunkan viskositas darah sehingga meningkatkan oksigenasi dan aliran darah intravaskuler di otak. Ekspansi plasma juga akan meningkatkan volume intravaskuler dan cardiac output, sehingga terjadi peningkatan aliran darah cerebral regional. Dan kompensasi berupa vasokonstriksi cerebral pada daerah yang autoregulasinya masih baik, sehingga didapatkan efek penurunan tekanan intrakranial.<sup>[61]</sup>
- 2) Adanya perbedaan tekanan osmolaritas antara plasma dan sel otak mengakibatkan cairan di ruang ekstraseluler akan tertarik kedalam intravaskuler, sehingga pembengkakan otak berkurang dan tekanan intrakranial berkurang. Hal ini hanya terjadi bilamana sawar darah otak masih baik, bila terjadi kerusakan maka akan berakibat sebaliknya.<sup>[62]</sup>

Efek samping manitol meliputi hipovolemik, hiperosmolaritas, gagal ginjal dan *rebound phenomenon*. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa pemantauan kadar osmolaritas darah tidak boleh lebih dari 320mOsmol/kgH<sub>2</sub>O, sebab nilai dapat menjadi indikator terjadinya gagal ginjal akut. Untuk alasan inilah manitol 20% dianjurkan tidak dipakai lebih dari 72jam, 3kali sehari, 100ml tiap pemakaian dan pemakaian harus diturunkan perlahan jika memang masih diperlukan.<sup>[59]</sup>

Manitol tidak dimetabolisme, namun diekskresikan oleh filtrasi glomeruler dalam 30-60 menit tanpa adanya reabsorpsi tubular maupun sekresi tubular. Diuretik osmotik memiliki efek utama pada tubulus proksimal dan Loop of Henle pars descendens. Melalui efek osmotik, manitol memblok efek *Anti Diuretic Hormon (ADH)* di *ductus collecting* ginjal, sehingga volume urin meningkat. Peningkatan kecepatan aliran urin mengurangi waktu kontak antara cairan dan epitel tubular, sehingga natrium serta reabsorpsi cairan. Natriuresis yang dihasilkan lebih rendah daripada diuresis cairan, sehingga terjadi kehilangan cairan yang berlebihan dan hipernatremia.<sup>[61]</sup>



#### **II.1.4.2. Dosis Manitol**

Manitol 20% tersedia dalam cairan infus 500 cc. *Loading Dose* yang dianjurkan 0,5gram-1gram/kgBB dengan *Maintenance Dose* 0,25gram-0,5gram/kgBB. Digunakan tiap 4-6jam, waktu paruh manitol adalah 0,16 jam. *Onset of Action* manitol adalah 15-30 menit dengan *Duration of Action* 90 menit hingga 6 jam. Belum ada study yang mendukung keamanan dan efektivitas penggunaan manitol pada pasien pediatrik dibawah usia 12 tahun dan geriatri diatas 65 tahun.<sup>[62]</sup>

#### **II.1.4.3. Indikasi manitol**

Manitol digunakan misalnya untuk profilaksis gagal ginjal akut, suatu keadaan yang dapat timbul akibat operasi jantung, luka traumatik berat, dan menderita ikterus berat. Manitol juga banyak digunakan untuk menurunkan tekanan serebrospinal dan tekanan intraokuler, serta pada pengelolaan terhadap reaksi hemolitik transfuse. Pada penanganan perdarahan intrakranial atau penyakit serebrovaskuler dengan tanda-tanda peningkatan tekanan intrakranial dapat pula diberikan manitol sebagai anti edema. Dalam hal ini kerja manitol mengurangi edema otak yang menyebabkan mual, muntah, tremor, dan kejang. Manitol dapat pula digunakan untuk mengeluarkan racun dan obat pada kasus keracunan atau over dosis obat.<sup>[61,62]</sup>

#### **Kontraindikasi Manitol**

- Gagal ginjal dengan anuria
- Perdarahan intrakranial yang masih aktif, kecuali akan dilakukan craniotomy
- Dehidrasi berat
- Gagal jantung kongestif
- Hipersensitivitas terhadap manitol
- Gangguan elektrolit
- Tensi sistol <100 mmHg

#### **II.1.4.4 Efek Manitol terhadap Perubahan MMP**

Pada saat ini, belum ada studi yang secara jelas meneliti hubungan antara pemberian manitol terhadap inhibisi pada MMP. Manitol telah lama diketahui memiliki efek sebagai *scavenger* radikal bebas. Efek sebagai *scavenger* radikal bebas ini dipercaya dapat menghambat pembentukan MMP-9. Sebuah penelitian oleh Miyamoto et al yang menggunakan *scavenger* radikal bebas (Edaravone) pada tikus berhasil menghambat pembentukan MMP-9 dan kerusakan BBB. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa *scavenger* radikal dapat memberikan pendekatan terapeutik potensial untuk cedera substansia alba dengan menekan kerusakan BBB akibat jalur aktivasi MMP.<sup>[63]</sup> Selain itu, penelitian oleh Schreiber et al juga menunjukkan bahwa Manitol dapat menurunkan neuroinflamasi pada kasus perdarahan intraserebral. Neuroinflamasi sendiri dihubungkan dengan pembentukan MMP-9. Dengan adanya efek anti neuroinflamasi ini, diharapkan dapat menurunkan pembentukan MMP-9.<sup>[64]</sup>

#### **II.1.5 Cedera Otak Traumatika pada Hewan Coba**

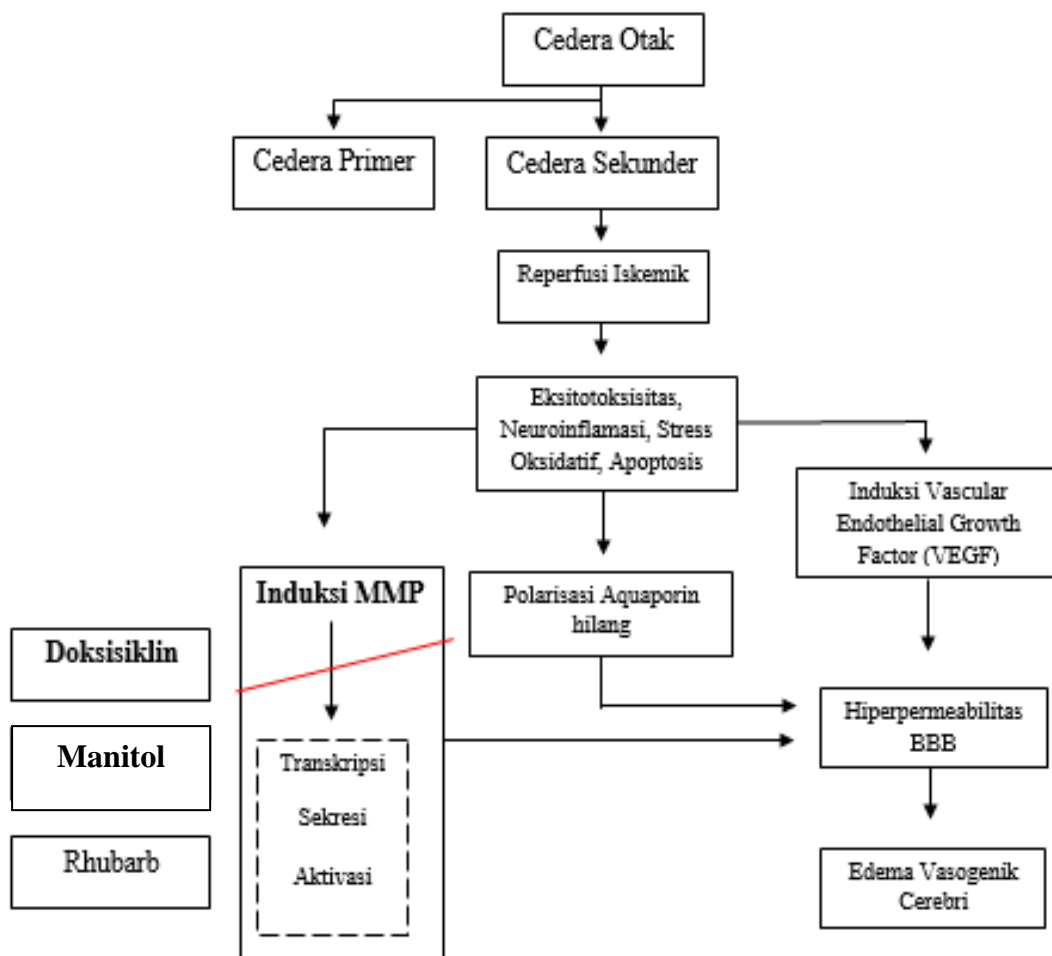
Melihat sifat heterogen dari situasi klinis pada cedera otak traumatika, beberapa metode mencederai otak pada hewan coba telah dikembangkan. Meskipun jenis hewan yang ukurannya lebih besar lebih mirip dalam ukuran dan fisiologi dengan manusia, hewan pengerat sebagian besar digunakan dalam penelitian cedera otak traumatika karena biaya lebih murah, ukuran kecil dan pengukuran hasil yang standar. Di antaranya, empat model spesifik yang banyak digunakan dalam penelitian yaitu: *Fluid percussion injury models* (FPI), *cortical impact injury* (CCI), *weight drop–impact acceleration injury*, dan *blast injury*.<sup>[65-67]</sup>

#### **II.1.6 Perbedaan Fisiologis**

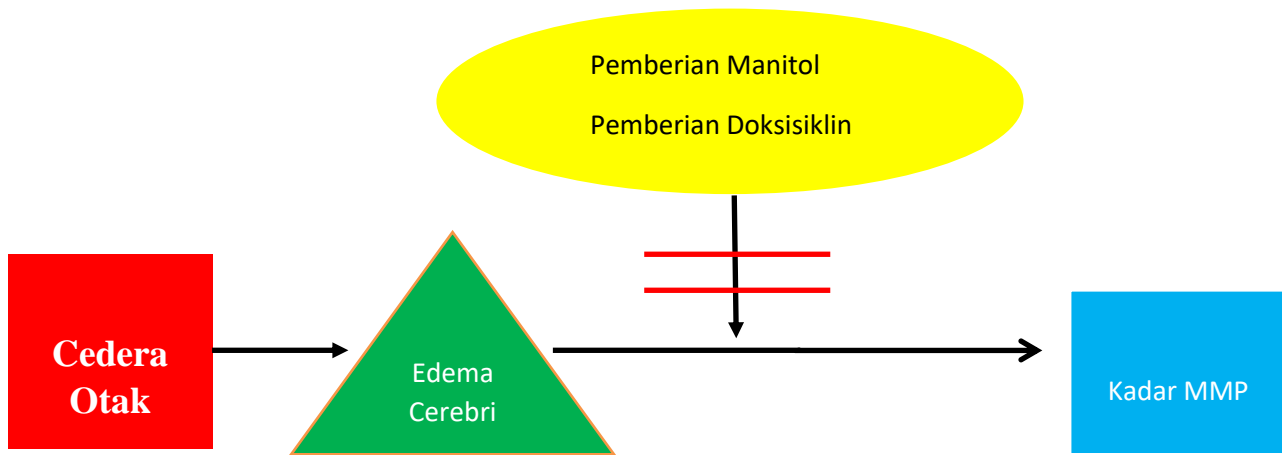
Meskipun ada persamaan substansial dalam fisiologi antara otak pada mamalia non-manusia (khususnya hewan pengerat) dan otak manusia, jelas ada perbedaan penting antara kelompok-kelompok ini dalam hal struktur dan fungsi otak, termasuk geometri otak, sudut craniospinal, kompleksitas *gyral*, dan *grey matter* dan *white matter*. Karakteristik struktural ini dapat menyebabkan respon

yang berbeda secara substansial terhadap trauma dengan tingkat keparahan atau jenis yang sebanding dari spesies ke spesies.<sup>[66]</sup>






## II.2 Kerangka Teori



### II.3. Kerangka Konsep



#### Keterangan:

-  = variabel antara
-  = variabel bebas
-  = variabel tergantung
-  = variabel kendali
-  = efek inhibisi

#### **II.4. Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat peningkatan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri akibat cedera otak traumatika
2. Terdapat penurunan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri akibat cedera otak traumatika setelah diberikan manitol.
3. Terdapat penurunan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri akibat cedera otak traumatika setelah diberikan doksisisiklin.
4. Terdapat perbedaan antara pemberian doksisisiklin dan manitol terhadap penurunan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri akibat cedera otak traumatika.