KARYA AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN ANTIHISTAMIN (RANITIDIN) TERHADAP KADAR TUMOR NECROTING FACTOR - α (TNF-α), HISTAMIN DAN EDEMA OTAK PADA TIKUS WISTAR DENGAN PERLAKUAN CEDERA OTAK TRAUMATIKA

The Role of Antihistamines (Ranitidine) on The Levels Of Tumor Necroting Factor - α (Tnf- α), Histamine and Brain Edema in Male Rats Wistar with Traumatic Brain Injury

Oleh:

Abdul Wahab Rasyid

C205172001

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH SARAF
FAKULTAS KEDOKTERAN - UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

KARYA AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN ANTIHISTAMIN (RANITIDIN) TERHADAP KADAR TUMOR NECROTING FACTOR - α (TNF-α), HISTAMIN DAN EDEMA OTAK PADA TIKUS WISTAR DENGAN PERLAKUAN CEDERA OTAK TRAUMATIKA

The Role of Antihistamines (Ranitidine) on The Levels Of Tumor Necroting Factor - α (Tnf- α), Histamine and Brain Edema in Male Rats Wistar with Traumatic Brain Injury

Sebagai syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis Bedah Saraf
Program Studi Ilmu Bedah Saraf

Disusun dan diajukan Oleh:

Abdul Wahab Rasyid

C205172001

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH SARAF
FAKULTAS KEDOKTERAN - UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS

PENGARUH PEMBERIAN ANTIHISTAMIN (RANITIDIN) TERHADAP KADAR TUMOR NECROTING FACTOR - α (TNF-α), HISTAMIN DAN EDEMA OTAK PADA TIKUS WISTAR DENGAN PERLAKUAN CEDERA OTAK TRAUMATIKA

Disusun dan diajukan oleh

Abdul Wahab Rasyid
C205172001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian
yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi
Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Saraf
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 30 Desember 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Prof.Dr.dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)
NIP. 195510191 98203 1 001

Pembimbing Pendamping

Dr. dr. Wahyudi Maransyah, Sp. BS (K)
NIDN. 09140979002

Pembimbing Pendamping

Dr. dr. Ilhamjaya Pattelongi, M. Kes
NIP. 195801281 98903 1 002

Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)
NIP. 195510191 98203 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, Sp. PD-KGH Sp.GK M.Kes
NIP. 196805301 99603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: Abdul Wahab Rasyid
Nomor Mahasiswa	: C205172001
Program Studi	: Ilmu Bedah Saraf

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikirian orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 30 Desember 2022

ng menyatakan,

Abdul Wahab Rasyid

ABSTRACT

BACKGROUND: Traumatic brain injury (TBI) is one of the most frequent causes of disability and death in emergency patients. Secondary injury resulting in brain edema and increased intracranial pressure is a major TBI problem. One major cause of secondary injury is neuroinflammatory mechanisms, which are believed to be attenuated by the antihistamine ranitidine. Therefore, this study assessed the effects of ranitidine hydrochloride injection on brain edema and tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) levels in Wistar rats with TBI.

METHODS: This study used a true-experimental method with a pre- and post-test control design. Twenty-seven adult male Wistar rats were divided into trauma groups treated with (R) and without (Q) ranitidine and the control group (C). The rat TBI model was created using Marmarou's weight-drop model. Ranitidine's effects on histopathological brain edema extent and serum TNF-α levels were assessed 1- and 8-hours post-injury.

RESULTS: Serum TNF-α levels were significantly elevated in both trauma groups ($P<0.05$), with significantly greater increase in the Q than in the R group. The extent of edema was significantly lower in the R than in the Q group 8 hours post-TBI ($P<0.05$).

CONCLUSIONS: These results indicate that ranitidine significantly reduces brain edema and pro-inflammatory cytokines after TBI. This proves that ranitidine can react directly to TNF-α thereby inhibiting the inflammatory process of the blood brain barrier which can worsen neuronal dysfunction.

Key words: Ranitidine; Brain edema; Tumor necrosis factor-alpha; Brain injuries, traumatic.

ABSTRAK

LATAR BELAKANG: Cedera otak traumatis (TBI) adalah salah satu penyebab paling sering kecacatan dan kematian pada pasien gawat darurat. Cedera sekunder yang mengakibatkan edema otak dan peningkatan tekanan intrakranial adalah masalah TBI utama. Salah satu penyebab utama cedera sekunder adalah mekanisme neuroinflamasi, yang diyakini dilemahkan oleh ranitidin antihistamin. Oleh karena itu, penelitian ini menilai efek injeksi ranitidin hidroklorida pada edema otak dan tingkat tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) pada tikus Wistar dengan TBI.

METODE: Penelitian ini menggunakan metode true-experimental dengan desain pre- and post-test control. Dua puluh tujuh tikus Wistar jantan dewasa dibagi menjadi kelompok trauma yang diobati dengan (R) dan tanpa (Q) ranitidin dan kelompok kontrol (C). Model TBI tikus dibuat menggunakan model penurunan berat badan Marmarou. Efek ranitidine pada tingkat edema otak histopatologis dan kadar TNF-α serum dinilai 1 dan 8 jam pasca cedera.

HASIL: Tingkat serum TNF-α meningkat secara signifikan pada kedua kelompok trauma ($P<0,05$), dengan peningkatan Q yang jauh lebih besar daripada kelompok R. Tingkat edema secara signifikan lebih rendah pada R dibandingkan pada kelompok Q 8 jam pasca-TBI ($P<0,05$).

KESIMPULAN: Hasil ini menunjukkan bahwa ranitidin secara signifikan mengurangi edema otak dan sitokin pro-inflamasi setelah TBI. Hal ini membuktikan bahwa ranitidin dapat bereaksi langsung terhadap TNF-α sehingga menghambat proses inflamasi sawar darah otak yang dapat memperburuk disfungsi saraf.

Kata kunci: Ranitidine; Edema otak; Tumor nekrosis faktor-alpha; Cidera otak, traumatis.

KATA PENGANTAR

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

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas bantuan yang tulus, bimbingan, dan dorongan semangat yang diberikan pembimbing saya, Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), (Alm) Dr. dr. Andi Ihwan, Sp.BS(K), dan Dr. dr. Ilhamjaya Pattelongi, M. Kes serta penguji saya Dr. dr. Djoko Widodo, Sp.BS(K), Dr. dr. Nasrullah Mustamir, Sp.BS(K), Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K), dan Dr. dr. Wahyudi, Sp.BS(K) sehingga penulisan karya ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Si selaku Rektor Universitas Hasanuddin; Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, Sp.PD-KGH Sp.GK M.Kes, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas; dr. Uleng Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D selaku manajer Program Studi Dokter Spesialis Universitas Hasanuddin, Prof. (Alm) Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah Saraf Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K) sebagai Sekretaris Program Studi Ilmu Bedah Saraf Universitas Hasanuddin, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Bedah Saraf di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Terima kasih kepada pada guru-guru saya, seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, khususnya kepada seluruh Staf Pengajar Divisi Bedah Saraf Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), Dr. dr. Djoko Widodo, Sp.BS(K), Dr. dr. Nasrullah Mustamir, Sp.BS(K), Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K), (Alm) Dr. dr. Andi Ihwan, Sp.BS(K), dan Dr. dr. Wahyudi, Sp.BS(K), yang telah dengan sabar mendidik dan membimbing saya untuk meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri saya.

Terima kasih kepada para sejawat Residen Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Secara khusus saya ucapkan terima kasih kepada Ibu Fifi Noviani Madjid, AMD, Kak Marlina Rajab, Kak Nunung Mujiwiyanti, dr. Faruk Sp.B, dr. Venansius Ratno Kurniawan, dr. Rais Al-'Abqary, dr. Muhammad Rum Ibrahim, dr. Nur Arief, dr. Agus Riansyah, dr. Ramdhan Gautama, dr. Kevin Jonatahan, dr. Hendra Pajan,dr. Ame, dr. Husni, dr. Unggul dan dr. Ela; terima kasih untuk segala bantuan dan dukungan yang telah diberikan. Tidak lupa pula saya ucapkan limpah terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu namun tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

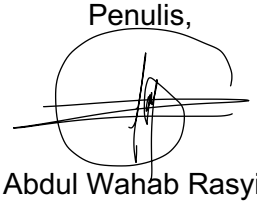
Terima kasih yang teristimewa saya haturkan kapada Ayahanda. Kasim Rasyid, SH. dan Ibunda (Alm) Ruhany, Ayah Mertua Ir. H. Muh asa'ad mandas, M.Pd dan Ibu Mertua Hj. Sukmawati, kepada istri saya dr. Widya Natasya. Kepada saudara-saudari saya yang senantiasa telah memberikan dukungan, semangat, dan doa kepada saya dalam menyelesaikan penelitian saya ini.

Saya sangat menyadari bahwa penelitian kami ini masih jauh dari sempurna, dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu kami sangat mengharapkan adanya kritik dan sarah yang membangun dari semua pihak dalam memperbaiki penelitian ini.

Akhir kata semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah mencurahkan budi baik, pengorbanan, dan bantuan kepada saya selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini.

Makassar, 30 Desember 2022

Penulis,



Abdul Wahab Rasyid

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL 3
BAB I 6
PENDAHULUAN 6
1.1. Latar Belakang 6
1.2. Rumusan Masalah 7
1.3. Tujuan Penelitian 8
1.3.1 Tujuan Umum 8
1.3.2 Tujuan Khusus 8
1.4. Manfaat Penelitian 9
1.5. Keaslian Penelitian 9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 11
2.1. Telaah Pustaka 11
2.1.1 Definisi 11
2.2. Epidemiologi 11
2.3. Klasifikasi Cedera otak 12
2.3.1 Mekanisme cedera 12
2.3.2 Beratnya cedera otak 12
2.3.3 Morfologi cedera otak 12
2.4. Patofisiologi Cedera otak Traumatika 12
2.4.1 Cedera otak primer 12
2.4.2 Cedera otak sekunder 13
2.5. Peran TNF-α dalam Inflamasi pada COT 15
2.6. Peran Histamin pada Cedera otak Traumatik (COT) 18
2.7. Peran Substantia-P pada Cedera otak Traumatika 20
2.8. Peran Aquaporin 4 22
2.9. Histopatologi edema otak 25
2.10. Model Tikus COT 27
2.11. Peran Ranitidin (Antihistamin) pada COT 28
2.12. Peak Time TNF-α dan Histamin pada COT 30
2.13. Kerangka Teori 30
2.14. Kerangka Konseptual 31
2.15. Hipotesis Penelitian 31
2.16. Definisi Operasional 32
BAB III METODE PENELITIAN 33

3.1. Rancangan Penelitian 33
3.2. Lokasi dan Waktu 33
3.3. Populasi dan Teknik Sampel 33
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi 34
3.4.1 Kriteria Inklusi 34
3.4.2 Kriteria Eksklusi 34
3.4.3 Kriteria Putus Penelitian: 34
3.5. Kriteria Objektif 34
3.6. Instrumen Pengumpulan Data 34
3.7. Metode Pemeriksaan 35
3.8. Alur Penelitian 48
3.9. Analisis Data 49
3.10. Pertimbangan Etika 49
BAB IV 50
4.1. Respon perubahan histamin 1 jam dan 8 jam post trauma pada kelompok trauma tanpa ranitidin dan kelompok trauma dengan ranitidine. 52
4.2. Respon perubahan TNF-α 1 jam dan 8 jam post trauma pada kelompok trauma tanpa ranitidin dan kelompok trauma dengan ranitidine 55
4.3. korelasi kadar histamin dan TNF-α serum antar kelompok cedera otak traumatika yang tidak diberi injeksi Ranitidin dan yang diberi injeksi ranitidine 57
4.4. Respon perubahan luasan edema secara histyopatologis pada kelompok trauma tanpa ranitidine dan kelompok trauma dengan ranitidin. 58
BAB V 60
5.1. Cedera otak traumatika 60
5.2. Efek Ranitidin Terhadap Kadar Histamin pada Hewan Coba Tikus Pasca Cedera Otak Traumatika 63
5.3. Efek Ranitidin Terhadap Kadar TNF-α pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak Traumatika 65
5.4. Efek Ranitidin Terhadap Edema otak pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak Traumatika 67
BAB VI 70
6.1. Kesimpulan 70
6.2. Saran 70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Faktor yang berkontribusi pada cedera sekunder [24] 14
Gambar 2. Proses inflamasi pada cedera otak. [29] 15
Gambar 3. Kontribusi TNF-α dalam neuroinflamasi [32] 16
Gambar 4. Peran histamin pada COT [38].....18
Gambar 5. Peran substantia-P pada COT. [40].....20
Gambar 6. Aktivasi Mikroglia pada COT [42].....21
Gambar 7. Mekanisme aktivasi mikroglia [42].....21
Gambar 8. Distribusi aquoporin pada sentral nervus system[43] 22
Gambar 9. Mekanisme transportasi cairan pada aquoporin [43] 23
Gambar 10. Aquoporin dan edema otak [44] 24
Gambar 11. Histopatologi edema otak. [45] 25
Gambar 12. Persentasi edema otak secara histologi berdasarkan beratnya cedera.[47] 26
Gambar 13. Weight Drop Models [51] 27
Gambar 14. Kerangka Teori 30
Gambar 15. Kerangka Konsep.....31
Gambar 16. Histologi kelompok trauma tanpa ranitidin (Q) 47
Gambar 17. Histologi edema otak kelompok trauma dengan ranitidin (R)47
Gambar 18. Histologi otak kelompok kontrol (normal) 47
Gambar 19. Alur Penelitian.....48
Gambar 20. Grafik Histamin post trauma 53
Gambar 21. Grafik Histamin post trauma 1 jam dan 8 jam 54
Gambar 22. Grafik TNF-α satu jam post trauma.....55
Gambar 23. Grafik TNF-α post trauma 1 jam dan 8 jam 56
Gambar 24. Grafik korelasi Histamin dan TNF-α.....57
Gambar 25. Grafik Edema Otak. 59

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional**.** 32
Tabel 2. Nilai rata rata subyek penelitian. 51
Tabel 3. Rata-rata TNF-α dan histamin kelompok Normal 52
Tabel 4. Perubahan histamin 1 jam dan 8 jam post trauma 52
Tabel 5. Perbedaan Histamin 8 jam post trauma dengan ranitidine dan trauma tanpa ranitidine. 53
Tabel 6. Perubahan TNF-α 1 jam dan 8 jam post trauma. 55
Tabel 7. Perbedaan TNF-α 8 jam post trauma dengan ranitidine dan trauma tanpa ranitidine. 57
Tabel 8. Perubahan luasan edema pada kelompok trauma tanpa ranitidine dan kelokpok trauma dengan ranitidine. 58

DAFTAR SINGKATAN

TNF-α	Tumor Necroting Factor - α
COT	Cedera Otak Traumatika
BBB	Blood Brain Barrier
H1R	Histamin 1 Reseptor
H2R	Histamin 2 Reseptor
H3R	Histamin 3 Reseptor
H4R	Histamin 4 Reseptor
AHR	Anti Histamin Reseptor
IL-1β	Interleukin – 1β
GDNF	Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor
Gpx	Glutathione Peroxidase
SOD	Superoxide Dismutase
ETA	Etanercept
IL-1	Interleukin – 1
MDA	Malondialdehyde
MPO	Myeloperoxidase
SDH	Subdural Hematoma
DAI	Diffuse Axonal Injury
GCS	Glasgow Coma Scale
ATP	Adenosisn Triphospate
Na	Natrium
K	Kalium
ROS	Reaktif Oksigen Spesies
CSF	Cerebrospinal Fluid
tmTNF-α	Transmembrane TNF-A
TNF-R1	TNF-A Reseptor 1
TNF-R2	TNF-A Reseptor 2
NF-κB	Nuclear Factor Kappa-B
MMP	Matrix Metalloproteinase
ICP	Intracranial Pressure
CPP	Cerebral Perfusion Pressure
IL-6	Interleukin – 6
solTNF	Solution TNF

p55	TNF Receptor Type 1
p75	TNF Receptor Type 2
JNK	C-Jun N-Terminal Protein Kinase
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
CCL2	Chemokine (C-C Motif) Ligand 2
IL-8	Interleukin – 8
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
PKC	Protein Kinase C
AA	Asam Arakidonat
NO	Nitrit Oxide
PKA	Protein Kinase A
cAMP	3',5'cyclic Monophosphat
SP	Substantia-P
TRP	Transient Receptor Potential
TRPV1	Transient Receptor Potential Vanilloid 1
TRPA1	Transient Receptor Potentia Ankyrin 1
AC	Adenylate Cyclase
AQP	Aquaporins
Dp	Protein Distrofin
PKC	Protein Kinase C
ARH	Antagonis Reseptor Histamine
SSP	System Saraf Pusat
OGD	Oxygen Glucose Deprivation
MAP 2	Microtubule-Associated Protein 2
GDNF	Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor
Bax	BCL2-Associated X Protein
Bcl-2	B-Cell Lymphoma 2
C	Kelompok Kontrol
R	Kelompok COT Dengan Ranitidin
Q	Kelompok COT Tanpa Ranitidin
H&E	Hematoxylin Dan Eosin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cedera otak traumatika (COT) merupakan salah satu kasus penyebab kecacatan dan kematian yang cukup tinggi dalam kasus gawat darurat. COT didefinisikan sebagai penyakit non degeneratif dan non kongenital yang disebabkan oleh trauma mekanik yang mengakibatkan gangguan fungsi kognitif dan psikososial secara sementara atau permanen dan dapat menimbulkan penurunan kesadaran.[1]

Secara global, jumlah pasien COT setiap tahun diperkirakan 1,5–2 juta pasien, dimana 50% diantaranya meninggal dan telah diprediksi menjadi penyebab utama kematian dan kecacatan di dunia pada tahun 2020 sedangkan prevalensi nasional Cedera otak menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013 adalah 8,2%, meningkat 0,7% dibandingkan tahun 2007, Indonesia khususnya di RS cipto mangunkusumo, angka mortalitas pasien dengan Cedera otak berat mencapai 35%-50%, dimana persentasi ini lebih tinggi dari pada angka yang disebutkan oleh literatur internasional.[2]

Dari data di Rumah sakit sutomo Surabaya tahun 2002 hingga 2013 angka mortalitas pada kasus COT mencapai 6.171% hingga 11.22% , Studi di Wahidin pada tahun 2016-2017 mengemukakan bahwa dalam satu tahun terdapat sekitar 1217 pasien masuk rumah sakit dengan diagnose COT, didapatkan 70% laki laki dan 30 % perempuan, penyebab tersering adalah kendaraan bermotor dengan usia terbanyak 11-20 tahun. [3]

Patogenesis COT mencakup cedera primer dan sekunder. Pada cedera primer terjadi kerusakan jaringan otak langsung akibat trauma. Inflamasi merupakan bagian penting dalam patofisiologi COT. Dua puluh menit setelah cedera primer akan terjadi pelepasan sitokin dan mediator pro inflamasi. Mediator – mediator tersebut akan mempromosikan ekspresi molekul adhesi, infiltrasi seluler, dan sekresi molekul inflamasi dan faktor – faktor pertumbuhan, yang menyebabkan regenerasi atau kematian sel.[4]

Salah satu sitokin proinflamasi utama yang muncul saat COT adalah tumor necrosis factor-α (TNF-α). Pada proses COT, TNF-α memiliki beberapa fungsi

biologis diantaranya berfungsi untuk aktivasi jalur survival dan jalur apoptosis yang dapat mengakibatkan kerusakan permanen otak, berkembang menjadi cedera sekunder dan edema otak.[5,6]

Komplikasi utama dari COT salah satunya adalah edema otak. Edema otak merupakan keadaan patologis dengan peningkatan volume otak akibat akumulasi cairan yang abnormal di dalam parenkim otak. Selain edema otak, komplikasi yang dihindari adalah kerusakan permanen sel otak juga akan memengaruhi kualitas hidup pasien dengan COT sehingga pencegahan edema otak dan nekrosis sel menjadi target yang penting dalam perawatan COT.[7]

COT akan menginduksi peningkatan plasma dan kadar histamin otak yang terlibat dalam patogenesis edema otak pada berbagai cedera traumatika atau hipoksia SSP melalui reseptor histamin H2. Berdasarkan literatur, pemberian Ranitidin 10mg/kgBB mampu mengurangi gangguan permeabilitas mikrovaskular dan mencegah kebocoran BBB (*Blood Brain Barrier*) pada model tikus COT. Ranitidin juga lebih spesifik untuk reseptor histamin H2 dan dapat melintasi BBB normal lebih efektif dibandingkan cimetidin. [8] Xu et al membandingkan cetirizen, ranitidin dan carcinine dalam menekan pelepasan mediator inflamasi. Ikatan antihistamin dan reseptor H1, H2, dan H3 dapat menekan produksi TNF-α dan Interleukin – 1β (IL-1β) yang diproduksi astrosit. Berdasarkan perbandingan efektifitas neuroproktektor, ranitidin lebih efektif dibandingkan AH receptor lainnya melalui stimulasi pengeluaran GDNF (*Glial cell-derived neurotrophic factor*) oleh sel atrosit.[7,8]

Berdasarkan paparan literatur tersebut, diketahui bahwa antihistamin juga memiliki efek neuroprotektif dan antiinflamasi yang mampu memengaruhi kadar TNF-α pada hewan coba dengan COT. Namun, sepanjang pengetahuan penulis, belum banyak yang meneliti tentang efektivitas pemberian Ranitidin terhadap kadar TNF dan histamin pada model COT dalam hal ini menggunakan model hewan coba. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian yaitu bagaimana pengaruh pemberian antihistamin (ranitidin) sebagai neuroprotektor terhadap neuroinflamasi pada kadar *Tumor Necroting Factor* - α (TNF-α) dan kadar histamin pada tikus wistar dengan perlakuan cedera otak traumatika?.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk diketahuinya efek pemberian ranitidin sebagai efek sebagai neuroprotektor dengan mengurangi efek neuroinflamasi pada COT.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Diketahui peningkatan kadar histamin serum pada hewan coba satu jam setelah COT yang tidak diberikan injeksi Ranitidin
2. Diketahui peningkatan kadar histamin serum pada hewan coba satu jam setelah COT yang telah diberikan injeksi Ranitidin
3. Diketahui peningkatan kadar TNF-α serum pada hewan coba satu jam setelah COT yang tidak diberikan injeksi ranitidin
4. Diketahui peningkatan kadar TNF-α serum pada hewan coba satu jam setelah COT yang telah diberikan injeksi ranitidin
5. Membandingkan perubahan kadar histamin serum satu jam antar kelompok COT yang tidak diberi injeksi Ranitidin dan yang tidak diberi injeksi ranitidin
6. Membandingkan perubahan kadar TNF-α serum satu jam antar kelompok COT yang tidak diberi injeksi Ranitidin dan yang tidak diberi injeksi ranitidin
7. Diketahui peningkatan kadar histamin serum pada hewan coba 8 jam setelah COT yang telah diberikan injeksi ranitidin
8. Diketahui peningkatan kadar TNF-α serum pada hewan coba 8 jam setelah COT yang telah diberikan injeksi ranitidin
9. Membandingkan perubahan kadar histamin serum 8 jam antar kelompok COT yang tidak diberi injeksi Ranitidin dan yang tidak diberi injeksi ranitidin
10. Membandingkan perubahan kadarTNF-α serum 8 jam antar kelompok COT yang tidak diberi injeksi Ranitidin dan yang tidak diberi injeksi ranitidin
11. Melihat korelasi kadar histamin dan TNF-α serum antar kelompok COT yang tidak diberi injeksi Ranitidin dan yang diberi injeksi ranitidin
12. Diketahui perbandingkan derajat edama otak antar kelompok hewan coba yang diberikan ranitidin dan kelompok kontrol (yang tidak diberikan ranitidin).

1.4. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk mempertimbangkan pemberian antihistamin ranitidin sebagai terapi adjuvant dalam mencegah komplikasi pada COT.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah tentang pengaruh pemberian ranitidin terhadap kadar TNF- α dan histamin pada pasien COT.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai pemberian ranitidin dan pengaruhnya terhadap kadar sitokin inflamasi lainnya.

1.5. Keaslian Penelitian

Peneliti belum pernah menemukan penulisan karya ilmiah atau penelitian yang sejenis tentang efek Ranitidin terhadap kadar TNF-α dan kadar histamin pada COT model hewan coba tikus wistar. Peneliti melakukan penelusuran pada PubMed, Researchgate, dan textbook dengan kata kunci **The Effect of Antihistamine (Ranitidin) on TNF-α and Histamine level in traumatic brain injury patient** yang menghasilkan beberapa penelitian sebagai berikut:

1. *Protective Effect of Diphenhydramine against Traumatic Brain Injury in Rats via Modulation of Oxidative Stress and Inflammation.* Penelitian ini mengukur kadar TNF-α , Interleukin, Gpx dan SOD pada model hewan coba yang diberikan diphenhydramine. Hasil penelitian adanya peningkatan SOD dan penurunan TNF-α pada tikus yang diberikan Dhypenhidramine. [9]
2. *Histamine in Neurotransmission and Brain Diseases* dalam buku Histamine and Inflammation. Merupakan textbook yang menjabarkan tentang Blokade Histamin receptor (H3R) akan menurunkan kerusakan neuron pada cedera kepala.[10]
3. *Therapeutic evaluation of tumor necrosis factor-alpha antagonist etanercept against traumatic brain injury in rats: Ultrastructural, pathological, and biochemical analyses*. Hasil penelitian menunjukkan pemberian etanercept (ETA) yang merupakan TNF-α antagonist menunjukkan adanya peningkatan kadar SOD dan penurunan TNF-α pada kelompok yang diberikan etanercept dibandingkan kelompok kontrol [11]

4. *Germacrone alleviates neurological deficits following traumatic brain injury by modulating neuroinflammation and oxidative stress.* Penelitian ini menilai efektivitas pemberian Germacrone terhadap sitokin pro inflamasi (IL-1, TNF-α), stress oksidatif, MDA, dan MPO. Hasil penelitian pemberian Germacrone dapat menurunkan sitokin proinflamasi dan stress oksidatif melalui peningkatan SOD. [12]

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Telaah Pustaka

2.1.1 Definisi

Cedera otak traumatika adalah hasil dari benturan mekanik eksternal pada tengkorak kepala dan isi intrakranial, yang menyebabkan gangguan fungsional baik secara sementara maupun permanen. COT dibagi menjadi cedera primer dan sekunder.[13]

Cedera otak primer adalah cedera akibat trauma langsung pada jaringan otak serta akibat gaya akselerasi, deselerasi ataupun rotasi yang menyertai trauma langsung tersebut ataupun independen dari trauma langsungnya. Komponen utama pada cedera otak primer adanya kerusakan korteks, cedera neuron, cedera vaskular, perdarahan dan berbagai bentuk cedera jaringan primer.

Sedangkan cedera otak sekunder disebabkan oleh kerusakan sel lebih lanjut dari efek cedera primer. Cedera sekunder dapat berkembang selama beberapa jam atau hari setelah serangan traumatika awal. Mekanisme terjadinya cedera otak sekunder telah diidentifikasi, yakni yang berkaitan dengan iskemia, eksotoksisitas, kegagalan energi dan mengakibatkan kaskade kematian sel; edema otak sekunder; cedera akson; serta proses inflamasi dan regenerasi. [14]

2.2. Epidemiologi

Di Amerika Serikat angka insidensi cedera otak traumatik diperkirakan 1,7 juta kasus per tahun. Angka rawat inap akibat cedera otak traumatik di Amerika Serikat adalah 93,8 per 100.000 orang, sedangkan di Eropa angka rawat inapnya adalah 235 per 100.000 orang. Insidensi cedera otak traumatik di negara berkembang lebih tinggi yang dihubungkan dengan penggunaan kendaraan bermotor yang lebih banyak yakni 344 per 100.000 orang di wilayah Asia. [15] [16]

Di indonesia data Riset Kesehatan Dasar (RISKEDAS) menunjukan presentase kasus Cedera otak berada pada angka 11,9 % dengan presentase tertinggi di Gorontalo sebesar 17,9 %. [17]

2.3. Klasifikasi Cedera Otak Traumatika

2.3.1 Mekanisme cedera

Kekuatan benturan biasanya mengakibatkan cedera fokal seperti memar dan patah tulang tengkorak. Benturan translasi mengakibatkan cedera fokal, seperti kontusio dan *Subdural Hematoma* (SDH), sedangkan cedera rotasi akselerasi dan deselerasi lebih cenderung mengakibatkan cedera difus mulai dari gegar otak hingga *Diffuse Axonal Injury* (DAI). [18]

2.3.2 Beratnya cedera otak

Cedera dapat diklasifikasikan secara klinis sesuai dengan tingkat kesadaran dan distribusi anatomi luka. Glasgow coma scale (GCS) digunakan untuk memberikan penilaian terhadap respon pasien pada fungsi verbal, pembukaan mata, dan berbagai respon motorik terhadap stimulus-stimulus. GCS menjadi tolak ukur klinis guna mengetahui berat tidaknya Cedera otak, sehingga di awal perlu dilakukan pemeriksaan terhadap penderita. Cedera otak dikatakan berat apabila nilai GCS 8 atau kurang dari 8, sedang jika nilai GCS 9- 12, dan ringan jika nilai GCS 13-15. [19]

2.3.3 Morfologi cedera otak

Luka pada kulit dan tulang dapat menunjukkan lokasi atau area terjadinya trauma. Cedera yang tampak pada kepala bagian luar terdiri dari dua, yaitu secara garis besar adalah trauma kepala tertutup dan terbuka. Trauma kepala tertutup merupakan fragmen-fragmen tengkorak yang masih intak atau utuh pada kepala setelah luka. Sedangkan trauma kepala terbuka adalah yaitu luka tampak luka telah menembus sampai kepada dura mater. [18]

2.4. Patofisiologi Cedera Otak Traumatika

2.4.1 Cedera Otak primer

Kerusakan jaringan saraf yang terkait dengan COT terbagi dalam dua kategori: (i) cedera primer, yang secara langsung disebabkan oleh kekuatan mekanik selama cedera awal; dan (ii) cedera sekunder, yang mengacu pada kerusakan jaringan dan seluler lebih lanjut setelah kerusakan primer.

Cedera Otak Primer Dampak langsung dari gangguan mekanis yang berbeda ke otak dapat menyebabkan dua jenis cedera utama: cedera otak fokal dan difus. Studi telah menunjukkan bahwa ko-eksistensi kedua jenis cedera umum terjadi pada pasien yang menderita COT sedang hingga berat. Namun, cedera aksonal difus (DAI) menyumbang sekitar 70% kasus COT. Sebagai konsekuensi dari laserasi, kompresi dan kekuatan gegar otak, COT kepala tertutup dan penetrasi COT menunjukkan kerusakan otak fokal dengan bukti fraktur tengkorak dan memar lokal pada inti lokasi cedera. [20]

Terjadinya hematoma, perdarahan epidural, subdural dan intraserebral pada lapisan otak yang terbatas menyebabkan Adanya area nekrotik sel saraf dan suplai darah sel glia yang terganggu. Memar sekunder dapat terjadi pada jaringan yang berlawanan atau di sekitar coup (contre-coup) karena benturan sekunder ketika otak memantul dan mengenai tengkorak. [21] [20]

Berdasarkan pada tingkat keparahan, cedera otak dapat menyebabkan defisit kognitif, perubahan perilaku dan hemiparesis. Berbeda dengan cedera fokal, mekanisme utama cedera otak difus adalah deselerasi dan akselerasi cepat yang menyebabkan regangan pada jaringan otak serebral. Tarikan yang kuat dapat merusak akson saraf, oligodendrosit dan pembuluh darah, yang menyebabkan edema otak dan kerusakan otak iskemik. [2022]

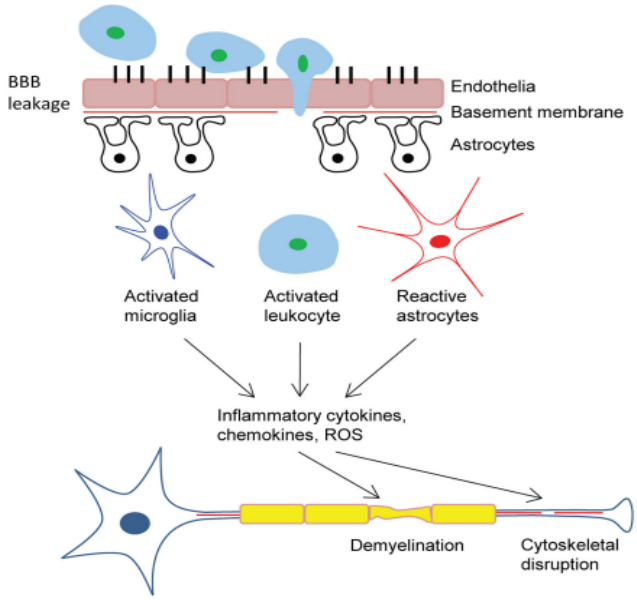
Ciri khas COT difus adalah kerusakan luas akson terutama di subkortikal dan substansia alba pada batang otak dan corpus callosum, yang melibatkan gangguan transportasi aksonal dan degradasi sitoskeleton aksonal. Kerusakan aksonal ini dapat bertahan hingga berbulan-bulan setelah COT. [23]

2.4.2 Cedera Otak sekunder

Peristiwa biokimia, seluler dan fisiologis yang terjadi selama cedera primer sering berkembang menjadi kerusakan sekunder yang tertunda dan berkepanjangan yang dapat berlangsung dari jam ke tahun. Secara mekanis, sejumlah faktor berkontribusi terhadap cedera sekunder, yang meliputi eksitotoksisitas, disfungsi mitokondria, stres oksidatif, peroksidasi lipid, dan neuroinflamasi. [20]

Tahap awal cedera serebral ditandai dengan kerusakan jaringan langsung dan adanya gangguan regulasi aliran darah otak dan metabolisme oksigen. Penurunan aliran darah dan metabolisme oksigen menyebabkan perubahan proses metabolik dari proses aerobik menjadi anaerobik sehingga terjadi

penumpukan laktat. Oleh karena metabolisme anaerob tidak adekuat untuk mempertahankan tingkat energi seluler, penyimpanan ATP habis dan pompa ion membran yang bergantung energi mengalami kegagalan. Trauma mengakibatkan gangguan membran sel yang menyebabkan redistribusi ion dan neurotransmitter sehingga membran potensial berubah. Selama fase akut (≤1 jam) setelah trauma, terjadi pelepasan glutamat dalam jumlah besar dari terminal presinaptik yang mengganggu keseimbangan ion di membran post- sinaptik. Kegagalan pompa ion Na/K, pembengkakan sel, lisis dan bocornya komponen intrasel menyebabkan terjadinya nekrosis. [24]



Gambar 1.Faktor *yang berkontribusi pada cedera sekunder* [24]

Nekrosis dan akumulasi debris, sel imun melepaskan sitokin dan kemokin yang mendorong terjadinya neuroinflamasi. Kerusakan yang tiba-tiba akibat trauma juga mengganggu sawar darah otak sehingga memungkinkan masuknya regulator imun. Terdapat beberapa postulat yang memicu terjadinya inflamasi post trauma kapitis, mencakup produk darah perifer, debris sel dan jaringan, fragmen komplemen, prostaglandin, serta spesies nitrogen dan oksigen reaktif. Inflamasi memiliki dua efek terhadap jaringan otak, menyebabkan kerusakan dan mendorong regenerasi seperti aktivasi mikroglia mendorong perbaikan melalui fagositosis debris; namun juga memiliki efek dalam pengeluaran sitokin dan kemokin pro inflamasi sehingga memperpanjang proses inflamasi. [25]

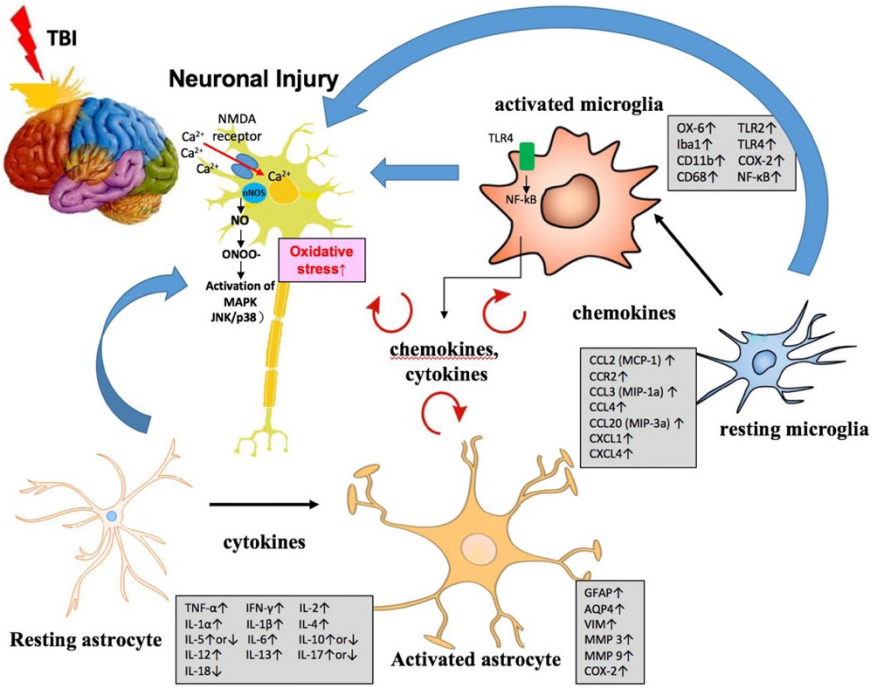
Proses tersebut akan menyebabkan terjadinya disintegrasi endotel vaskuler serebral yang memungkinkan ion dan protein yang tidak terkontrol

berpindah dari kompartemen intravaskuler ke ekstraseluler (interstitial) sehingga menyebabkan akumulasi cairan (edema). Edema serebri sitotoksik ditandai oleh akumulasi cairan intraseluler dari neuron, astrosit, dan mikroglia. Edema secara langsung berkontribusi terhadap peningkatan tekanan intrakranial dan komplikasi pasca COT. [25]

2.5. Peran TNF-α dalam Inflamasi pada COT

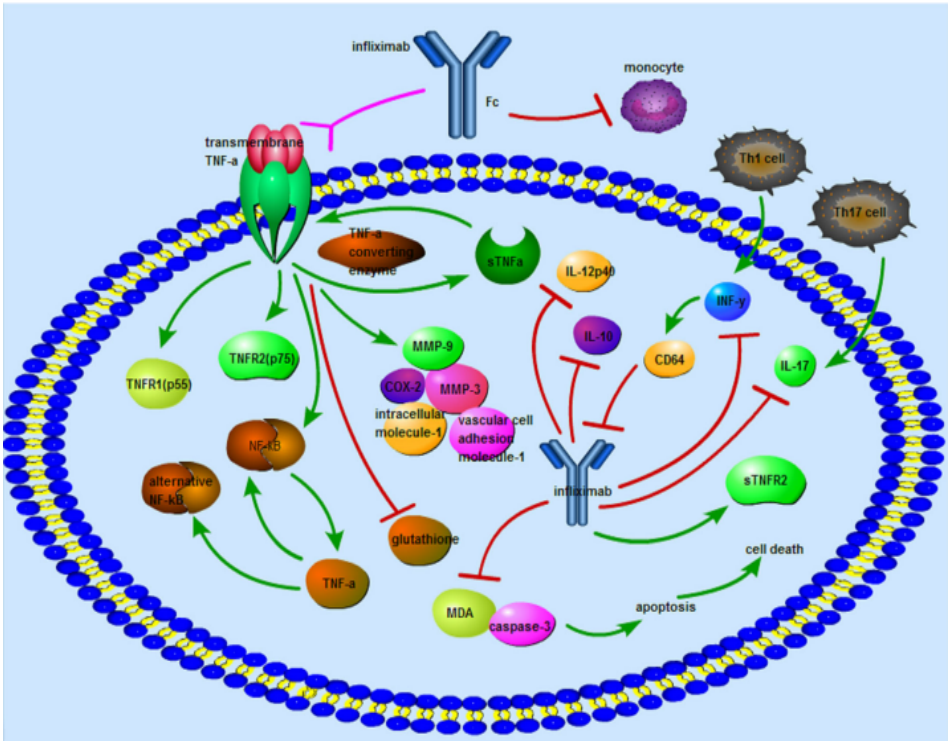
Inflamasi serebral pasca-trauma ditandai dengan aktivasi glial, rekrutmen leukosit, dan peningkatan regulasi dan sekresi mediator seperti sitokin dan sitokin kemotaktik (kemokin). Dalam beberapa menit setelah cedera Otak traumatika, respons neuroinflamasi umumnya terjadi pada tempat tempat cedera. Berdasarkan beberapa studi, adanya pengeluaran penanda inflamasi, kemokin dan sitokin tidak hanya terjadi di tempat cedera namun juga pada CSF (cairan serebrospinal). [26]

Kemokin dihasilkan oleh sel astrosit dan mikroglia yang aktif dan bertindak untuk membantu merekrut sel imun perifer ke dalam parenkim. Selain kemokin, berbagai sitokin juga dihasilkan dan disekresikan oleh sel glia yang teraktivasi setelah cedera otak. [27] [28]



Gambar 2. *Proses inflamasi pada cedera otak.* [29]

Sitokin mewakili kelompok beragam protein kecil yang disintesis oleh berbagai jenis sel yang bertindak sebagai mediator autokrin dan parakrin dari respon inflamasi terhadap cedera atau infeksi. Khususnya, faktor nekrosis tumor-α (TNF-α) disintesis sebagai protein transmembran (tmTNF-α). TNF-α memiliki dua reseptor yakni TNF-R1 dan TNF-R2. TNF-R1 diekspresikan di mana-mana dan secara konstitutif, kecuali pada eritrosit, sedangkan ekspresi TNF-R2 terbatas pada sel myeloid dan endotel, miosit, timosit, mikroglia, astrosit, oligodendrosit, dan neuron tertentu. (Speeckaert et al., 2012). Penelitian dengan TNF-α serta tikus knockout TNF-R1 dan R2 menunjukkan bahwa defisiensi TNF-α pada akhir cedera otak memiliki sifat merusak sel saraf, namun pada awal cedera TNF-α dianggap memiliki manfaat dalam merekrut sel imun. Ketergantungan waktu untuk menurunkan TNF-α di otak berpotensi sebagai tatalaksana farmakologis dengan pemberian awal inhibitor sintesis TNF-α setelah COT. [30,31]



Gambar 3. *Kontribusi TNF-α dalam neuroinflamasi* [32]

TNF-α merupakan sebuah sitokin proinflamasi multi-fungsi, terletak di membran plasma sebagai TNF-α transmembran dan dapat diproses oleh enzim pengubah TNF-α menjadi TNF-α terlarut. TNF-α meningkatkan efek biologis dari pengaktivan *Nuclear Factor Kappa-B* (NF-κB) melalui jalur klasik dan alternatif di myotubes. TNF-α berkontribusi terhadap COT dalam berbagai aspek. Studi memperlihatkan terdapat korelasi positif antara stres oksidatif, peradangan, dan TNF-α. TNF- α juga mengaktifkan pengeluaran *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang merupakan peptida pleiotropik di otak dengan fungsi kompleks dan memiliki efek negatif seperti menginduksi pemecahan BBB, demielinasi, neurotoksisitas, dan peradangan saraf . [33]

Peningkatan protein TNF-α telah diukur pada 1 jam, dan tingkat puncak ditemukan antara 4 dan 8 jam setelah cedera. Peningkatan awal ekspresi TNF-α terbukti berguna dalam pengaturan klinis sebagai faktor diagnostik/prognostik. TNF-α ditunjukkan untuk mencerminkan keparahan cedera. Studi menemukan bahwa TNF-α meningkat pada tikus yang mengalami kombinasi cedera otak difus dan hipoksia. TNF-α berhubungan dengan peningkatan intracranial pressure (ICP) dan hasil yang buruk (GOS <4 pada 6 bulan). Studi yang dilakukan Stein, et al. menemukan peningkatan serum konsentrasi TNF-α cukup berkorelasi dengan peningkatan berikutnya dalam ICP atau penurunan CPP. [34,35]

Setelah trauma terjadi migrasi leukosit dan mikroglia, terjadi pelepasan sitokin : TNF-α, IL-1B, IL-6 yang diproduksi oleh mikroglia, astrosit, sel endotel vaskular dan sel neuron. TNF-α berperan dalam induksi proses apoptosis, nekrosis sel kemudian menstimulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel. TNF-α disintesis sebagai protein transmembran (tmTNF) yang masuk kedalam membran. TNF-α di pecah oleh enzim Matrix metalloproteinase (MMP) dan TNF converting enzyme menjadi bentuk solution (solTNF).[36]

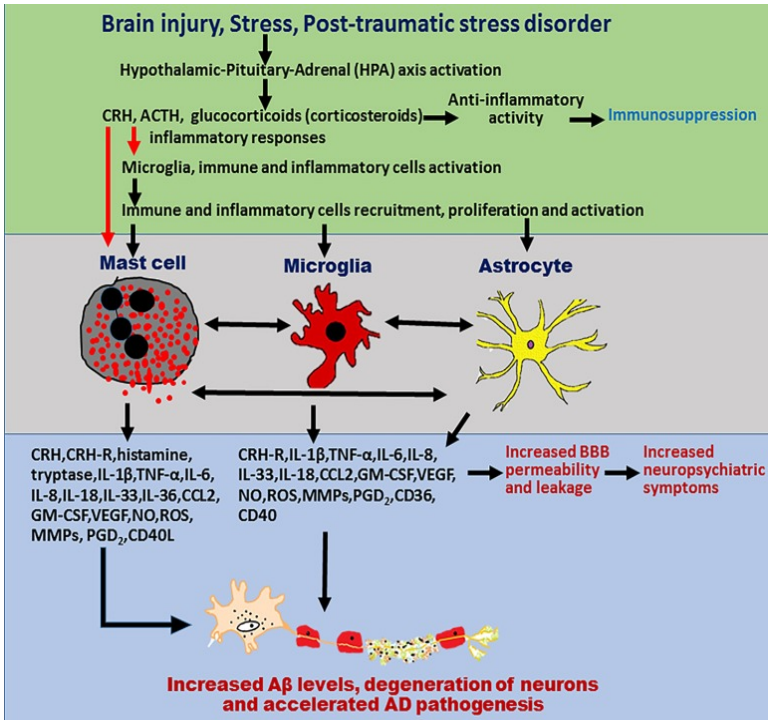
TNF-α dapat berikatan dengan dua reseptor TNFR1 (p55) dan TNFR2 (p75), kedua reseptor ini secara spesifik berikatan dengan TNF, reseptor tersebut memiliki 2 perbedaan ekspresi setelah berikatan, reseptor yang paling banyak terlibat ekspresinya pada kebanyakan sel adalah TNFR1 (p55) dan dapat mengikat baik solTNF maupun tmTNF, hasil ekspresi ikatan reseptor ini berhubungan dengan apoptosis, aktivasi 2 jalur transkripsi : nuclear factor kappa beta (NF-kB) dan C-jun N- terminal kinase (JNK). sebaliknya pada reseptor p75 menginisiasi sinyal proinflamasi dan prosurvival. secara umum, aktivasi reseptor

p55 berkaitan dengan kerusakan jaringan dan reseptor p75 berkaitan dengan neuroprotektif.[36]

pada penelitian yang memberikan delesi pada reseptor tersebut dengan cedera otrak traumartika menunjukan bahwa penghilangan reseptor p55 berkaitan dengan outcome yang baik, memberikan efek antiapoptosis dan mengurangi aktivasi mikroglia. [36]

2.6. Peran Histamin pada Cedera Otak Traumatika

Keterlibatan histamin dalam patofisiologi cedera otak telah ditunjukkan pada hipoksia, trauma, iskemia dan stroke atau neoplasma. Sebuah penelitian in vivo pada tikus dengan trauma kepala terjadi peningkatan kadar histamin baik di plasma maupun di parenkim otak yang mengalami trauma. Dalam studi lain, trauma otak yang dipicu oleh cedera perkusi cairan menyebabkan perubahan dalam regulasi H3R (Histamin-3 receptor). Pada kerusakan otak iskemik, histamin dilepaskan secara bertahap dalam jangka waktu yang lama. Peningkatan kadar histamin otak dapat berkontribusi pada perbaikan kerusakan saraf iskemik. Dengan demikian, munculnya neuronal cedera setelah kejadian iskemik dapat dikurangi dengan meningkatkan kadar histamin otak dengan beban histidin atau blokade H3R. [37]



Gambar 4. *Peran histamin pada COT* [38]

Pada saat terjadi cedera Otak, mediator inflamasi yang diturunkan dari sel mast dan kontak langsung sel mast dengan sel glial dan neuron, mengaktifkan sel otak untuk melepaskan mediator neuroinflamasi tambahan yang menginduksi neurodegenerasi. Kondisi stres mengaktifkan sel mast melalui *Corticotropin Releasing Hormone* (CRH) dan neuropeptida lain untuk melepaskan beberapa mediator neuroinflamasi termasuk sitokin, kemokin, dan mediator neurotoksik lainnya seperti triptase, histamin, IL-1β, TNF-α, IL-6, CCL2, IL-8, ROS, CRH, dan MMP. [38]

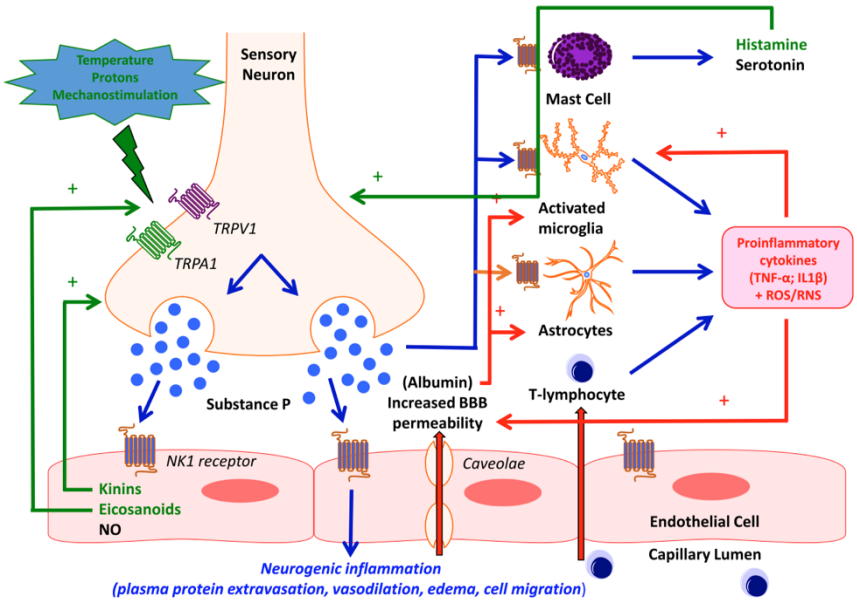
Mediator inflamasi ini akan mengaktifkan sel glial untuk melepaskan mediator inflamasi tambahan dan menginduksi neurodegenerasi dan kematian neuron. Stres juga meningkatkan permeabilitas BBB dan meningkatkan perekrutan sel imun dan inflamasi seperti progenitor sel mast, sel mast, dan sel T ke otak. Selain itu, mediator yang dilepaskan dari sel mast yang diaktifkan akan meningkatkan permeabilitas vaskular, meningkatkan perekrutan sel imun, dan sel inflamasi ke tempat cedera dan menginduksi reaksi neuroinflamasi. [38]

Histamin memegang peranan penting dalam respon imun dan inflamasi, pada beberapa studi mengungkapkan bahwa, H1R memegang peranan penting pada autoimun, H1R dan H2R berperan pada stabilitas dan fungsi sl TH1 dan TH2, H3R berperan pada penyakit autoimun dan inflamasi. H1R sensitif terhadap aktivasi protein kinase C (PKC), dimana dapat memfasilitasi masuknya kalsium lewat kalsium channel, H1R juga dapat meningkatkan produksi asam arakidonat (AA), nitrit oxide (NO). [39]

H2R terdistribusi pada otak tikus lebih banyak dan konsisten dibanding dengan H1R, hal ini dapat disimpulkan bahwa H2R memegang peranan yang besar pada aksi postsinaps dengan histamin. H2R berikatan dengan G protein untuk menstimulasi adenilat cyclase dan meningkatkan intraselular cAMP, aktivasi protein kinase A (PKA) . cAMP dapat secara langsung berinteraksi dengan dengan hiperpolarisasi aktivasi kation *channel*. selain itu, dengan aktivasi PKA dapat menghalangi aktivasi kalsium, kalium konduksi. histamin menyebabkan terbukanya sawar darah otak, endotelial sawar darah otak meningkat dengan mediasi oleh H2R, influks kalisum, selain itu peningkatan pinositas endotel dan edema pada ujung kaki astrosit dikarenakan aktivasi H2R, adenilat cyclase dan peningkatan serum albumin.[39]

2.7. Peran Substantia-P pada Cedera Otak Traumatika

Substansia-P merupakan asam amino 11 peptida yang merupakan keluarga dari tachykinin Bersama dengan neurokinin A dan neurokinin B, substantia-P secara luas terdistribusi pada sistim saraf pusat, sistim saraf perifer dan sistim saraf pencernaan. pada sistim saraf pusat, substansia-P ada pada hippocampus, cortex, ganglia basal hipotalamus dan nucleus caudate, lebih banyak di gray matter daripada di white matter. Substantia-P dapat berikatan dengan reseptor neurokinin-1 pada sel endotel, astrosit dan mikroglia dan dapat mengaktifasi sel tersebut dalam proses neuroinflamasi. substantia-P mengalami peningkatan kadar level setelah mengalami COT pada preklinik study hewan dan jaringan manusia. Peningkatan yang terjadi 30 menit setelah mengalami cereda otak traumatika pada model hewan coba. Banyaknya pelepasan substantia-P tergantung pada besaran cedera traumanya dimana semakin berat traumanya maka akan Semakin banyak substantia-P yang dilepaskan. [40]

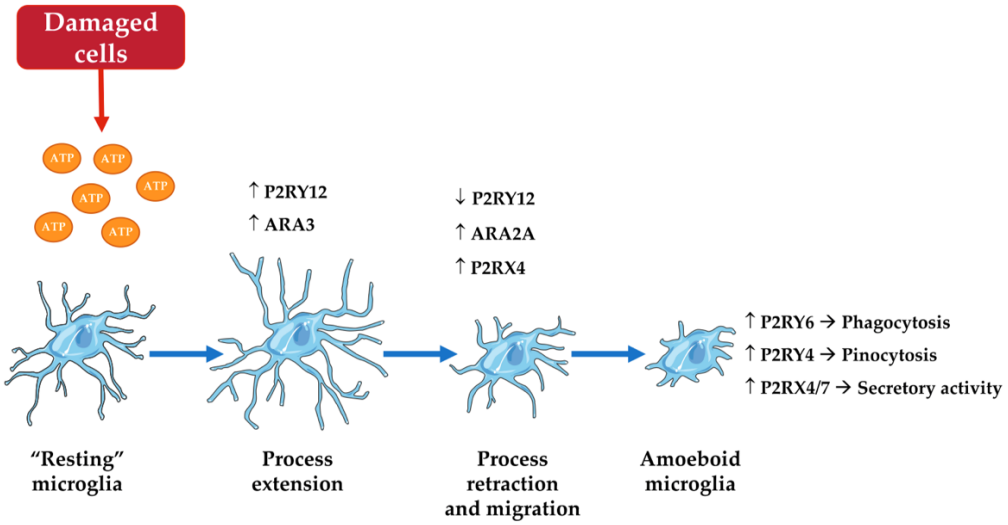


Gambar 5. Peran substantia-P pada COT. [40]

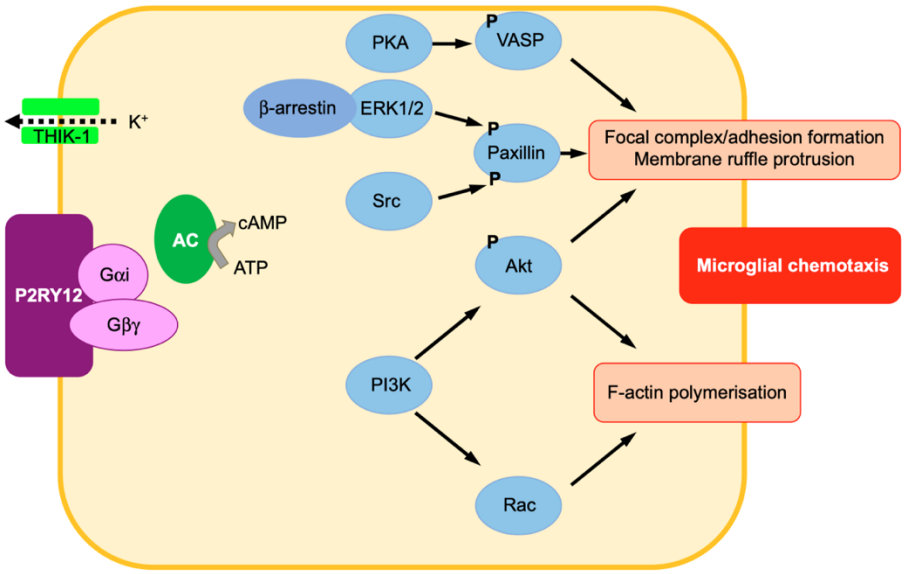
Substantia-P dapat menjadi marker cedera yang meningkat setelah trauma dan berkolerasi dengan mortalitas dimana study dengan kadar substantia-P pada sample nonsurvival lebih tinggi daripada sampel survival. Stimulasi COT menyebabkan neuron perivascular melalui *Transient Receptor Potential* (TRP); TRPV1 dan TRPA1, selain melalui mekanisme mekanik dari luar, pelepasan

substantia-P juga dapat di picu oleh peningkatan tekanan darah yang signifikan tinggi dan pelepasan mediator inflamasi histamin setelah trauma. [40]

Histamin merupakan stimulant sekresi asam lambung via parietal sel pada gaster, selain itu aktivasi reseptor H2 dapat menyebabkan relaksasi otot halus pada saluran napas dan pembuluh darah, reseptor H2 juga dapat meningkatkan aktivitas adenosin 3',5'cyclic monophosphat (cAMP), beberapa study menunjukan aktivitas reseptor H2 juga dapat menggabungkan adenylate cyclase dan phospholipase-C[41]. Adenylate cyclase berperan dalam aktivasi dan perpanjang lengan mikroglia sehingga membantu gerak kemotaktik mikroglia, setelah mikroglia teraktivasi maka akan mengeluarkan mediator proinflamasi.[42]



Gambar 6. *Aktivasi Mikroglia pada COT* [42]

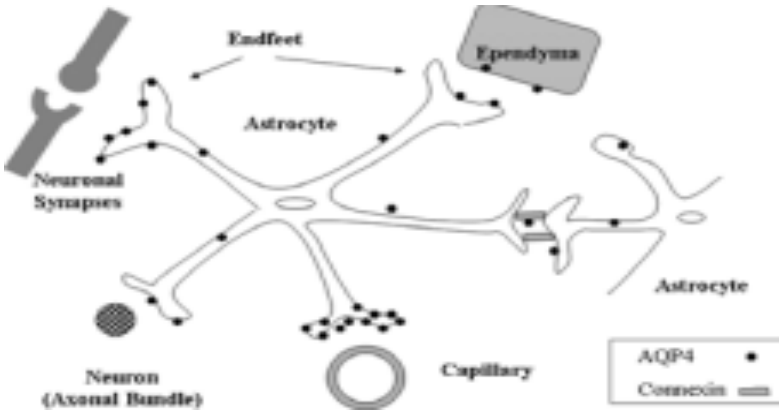


Gambar 7*. Mekanisme aktivasi mikroglia* [42]

2.8. Peran Aquaporin 4

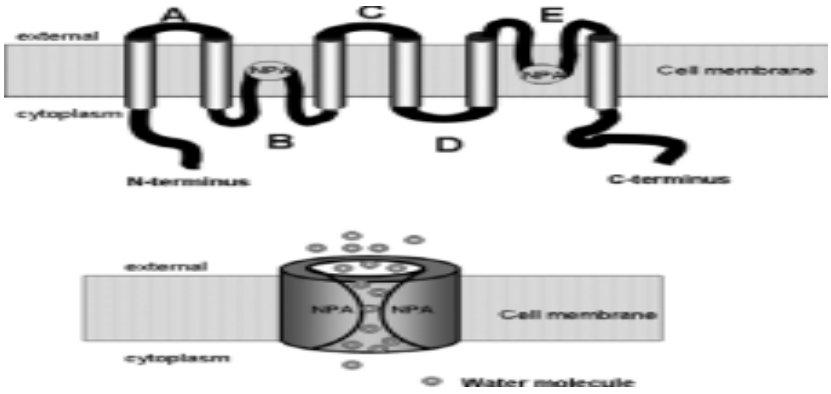
Aquaporins (AQP) merupakan protein water Channel pada membrane plasma yang memiliki fungsi dan peran penting dalam mengontrol kadar cairan pada sel, AQP sejauh ini terdapat bermacam macam type, (1-12) dimana type 1, 2, 4, 5, dan 8 permeabel terhadap air, sedangkan AQP6 memfasilitasi ion klorida dalam kondisi tertentu. AQP 3, 7, 9, dan 10 dikenal sebagai aquaglyceroporins, memfasilitasi lewatnya gliserol dan molekul kecil lainnya bersama dengan air. Permeabilitas AQP 0, 11, dan 12 masih belum pasti. [43]

Tiga AQP (1, 4, dan 9) telah diidentifikasi di otak. AQP1 terletak di dalam sel-sel pleksus koroid yang melapisi sistem ventrikel dan berperan dalam transport cairan di tulang belakang dan otak. AQP9 diyakini berperan dalam metabolisme energi di otak dan telah diidentifikasi dalam astrosit dan subpopulasi neuron, AQP yang paling melimpah di otak adalah AQP4, yang ditemukan di perbatasan antara parenkim dan lebih khusus lagi, di membrane sel astrosit, sel ependymal, dan area hipotalamus.[43]



Gambar 8. Distribusi aquoporin pada sentral nervus system[43]

AQP4 telah ditemukan berperan dalam patofisiologi edema otak, aktivitas kejang, hepatoensefalopati, dan tumor otak. Aquaporin 4 terpolarisasi ke ujung astrosit yang berdekatan dengan kapiler, neuron, dan sinapsis neuron, Kepadatan tertinggi AQP4 astrositik ada di kaki ujung yang berdekatan dengan kapiler, dengan kepadatan yang lebih rendah ditemukan di kaki ujung yang berdekatan dengan neuron.[43]



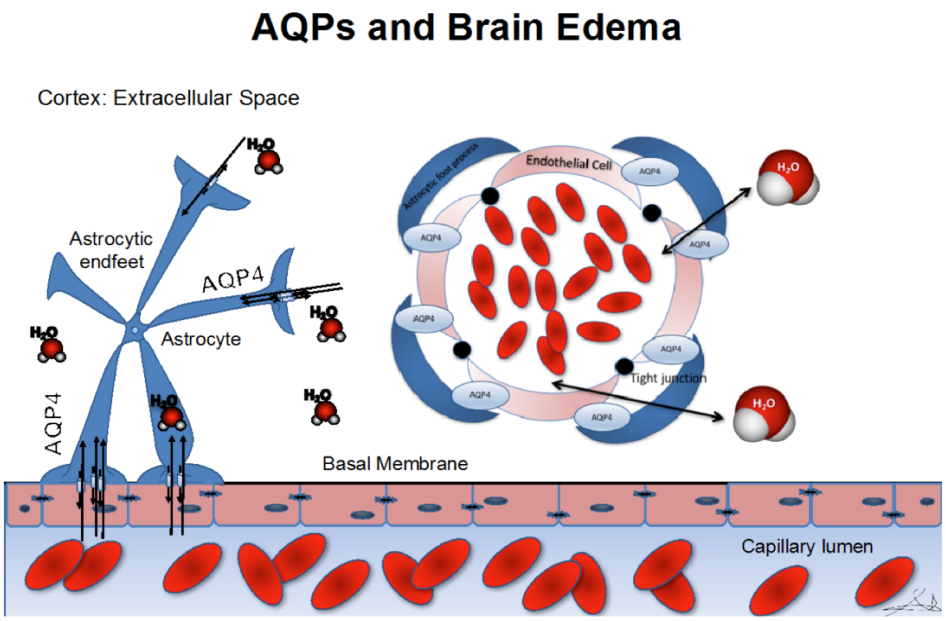
Gambar 9. Mekanisme transportasi cairan pada aquoporin [43]

Aquaporin 4, monomer kecil 30-kDa, adalah protein transmembran hidrofobik dengan amino sitosol dan ujung terminal karboksi Molekul tersebut membentang membran sel 6 kali, membentuk 5 loop interheliks yang ditunjuk sebagai A, C, dan E pada permukaan ekstraseluler dan B dan D pada permukaan intraseluler. Motif hidrofobik asam 3-amino yang konsisten, asparginine-proline-alanine (NPA), berada pada loop B dan E. Aquaporin 4 ditambatkan ke membran sel astrosit melalui kompleks protein distrofin (Dp), Distrofin-71 adalah kompleks utama yang ditemukan di otak, Pada kaki akhir astrositik perivaskular dan subpial, di mana ekspresi AQP4 lebih banyak, ekspresi a-syntrophin berasosiasi dengan ekspresi Dp-7, Pada tikus yang kekurangan Dp, pengurangan ekspresi AQP4 pada kaki akhir astrositik tanpa pengurangan jumlah total AQP4. [43]

Hal ini menunjukkan bahwa perubahan rasio Dp-AQP4 akan mempengaruhi lokalisasi AQP4. Hasil serupa telah ditemukan pada kaki akhir astrositik perivaskular dan subpial pada tikus yang kekurangan a-syntrophin Regulasi jangka pendek sebagian besar AQP4 dimediasi melalui reseptor yang di antaranya adalah reseptor berpasangan G-protein, yang dimasukkan ke dalam membran plasma, Hasil interaksi reseptor-ligan adalah fosforilasi dan defosforilasi. AQP4 segmen *loop* D tampaknya menjadi segmen yang memediasi fosforilasi protein kinase C (PKC), dan aktivasi PKC menurunkan fungsi AQP4.[44]

Peningkatan regulasi AQP4 dapat terjadi selama edema sitotoksik yang diinduksi trauma pada tikus dan hasilnya lebih buruk dengan peningkatan regulasi AQP4. Berbeda dengan edema sitotoksik, keberadaan AQP4 dikaitkan dengan resolusi edema vasogenik. Pada tikus knockout AQP4, aquaporoin ini telah terbukti memainkan peran penting dalam menghilangkan cairan ekstraseluler yang terkait dengan edema vasogenik.[44]

Ekspresi AQP4 setelah COT telah diteliti Menggunakan model trauma kortikal pada tikus, ekspresi RNA messenger AQP4 ditemukan secara signifikan lebih tinggi di lokasi cedera dibandingkan dengan lokasi jauh di otak yang sama, dengan kesimpulan bahwa induksi pembentukan AQP4 telah terjadi di lokasi cedera, Penurunan fungsi AQP4 akan mengurangi eliminasi cairan edema, tetapi juga akan memperlambat pembentukan edema otak sitotoksik.[44]



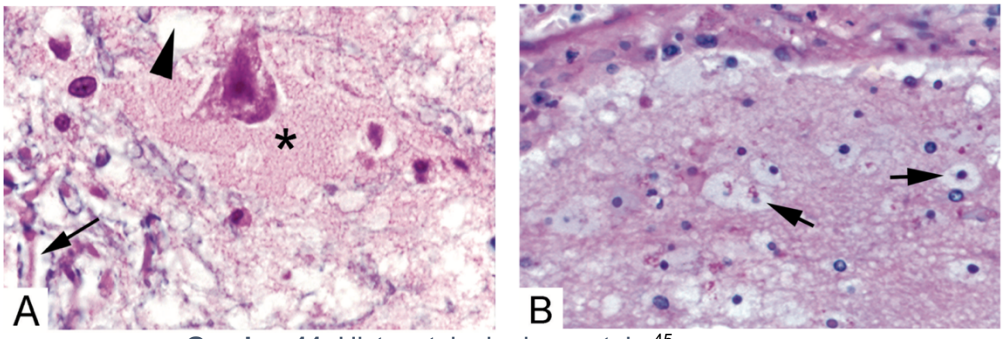
Gambar 10. Aquoporin dan edema otak [44]

Pada keadaan cedera otak traumatika, sel mast yang teraktivasi menyebabkan pelepaskan histamin yang tersimpan dan dengan demikian memperburuk cedera otak. Terdapat tiga reseptor histamin (H1R, H2R dan H3R) diekspresikan secara melimpah di otak, Reseptor-reseptor ini termasuk dalam famili reseptor berpasangan G-protein di mana pengikatan ligan mengaktifkan beberapa jalur pembawa pesan kedua. Pengikatan histamin pada H1R mengaktifkan jalur fosfolipase C, mempromosikan pelepasan kalsium yang bergantung pada inositol trisfosfat dan aktivasi PKC yang sensitif terhadap diasilgliserol, Aktivasi H2R merangsang adenilat siklase dan meningkatkan cAMP intraseluler, yang pada gilirannya mengaktifkan PKA. H3R berperan dalam regulasi sintesis dan pelepasan histamin. Aktivasi H2R, yang mengarah ke aktivasi PKA setelah paparan histamin menyebabkan Internalisasi AQP4 yang diinduksi histamin dikaitkan dengan peningkatan fosforilasi AQP4. Stimulasi histamin menghasilkan peningkatan sepuluh kali lipat pada AQP4 terfosforilasi yang dihilangkan dengan penambahan inhibitor PKA spesifik.[44]

Pada saat cedera Otak, Histamin yang dilepaskan memiliki peran yang dapat meningkatkan aktivasi PKC sehingga mengurangi fungsi AQP4, hal ini menjadi baik untuk mengurangi progress edema sitotoksik namun mengurangi eliminasi cairan pada edema vasogenik. Pada edema otak vasogenik, peningkatan kadar AQP4 memfasilitasi pembuangan kelebihan cairan. Sebaliknya, pada edema otak sitotoksik, peningkatan regulasi AQP4 disertai dengan akumulasi air otak yang membesar. Pemberian antihistamin dapat memperbaiki eliminasi kelebihan cairan pada edema vasogenic di otak setelah trauma.[44]

2.9. Histopatologi edema otak

Sawar darah otak berperan dalam homeostatis terhadap lingkungan extraselular. pada keadaan vasogenik edema dimana merupakan edema otak yang dihasilkan oleh ruptur atau peningkatan permeabilitas sawar darah otak dan menyebabkan perpindahan plasma protein dan cairan kedalam parenkim di intertitial maupun intraselular, secara histologi pembesaran ruangan extraselular yang tampak aselular, sedikit jumlah material eusinofilik, mikroglia dapat mengandung banyak protein plasma krna efek pinositosis dimana terjadi pembesaran bentuk dan menyerupai gambaran eusinofilik. (Rahaman et al, 2018).



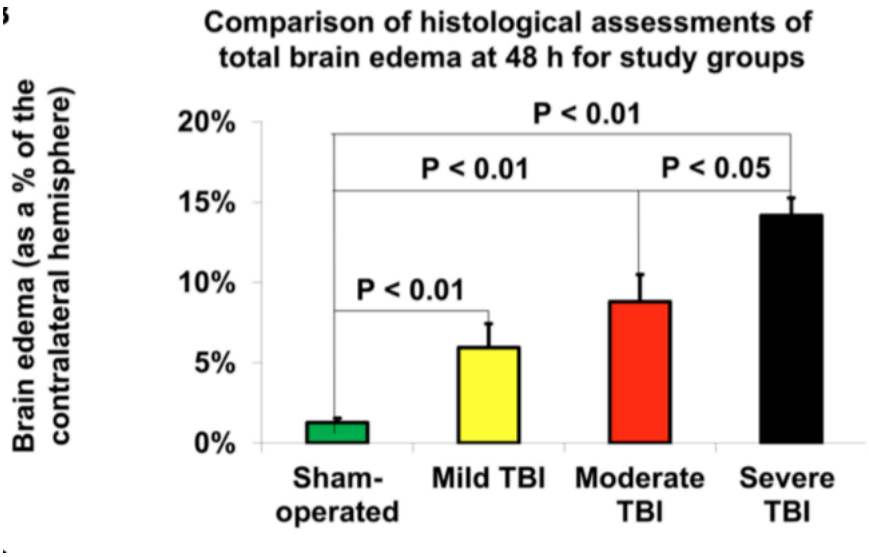
Gambar 11. Histopatologi edema otak. [45]

Pada gambar 11A, Di dekat tempat perdarahan atau gangguan sawar darah otak, protein plasma mengisi ruang ekstraseluler yang meluas di sekitar neuron (*) pada gambar. Edema intraseluler dapat bermanifestasi sebagai sitoplasma sel glial yang tampak kosong (panah) atau pemisahan metylin (biru) dari akson sekitarnya (panah) (Solochrome cyanin & eosin, x400). Pada gambar 11B, Protein plasma masuk kedalam astrosit dan oligodendrosit melalui proses pinositik yang menyebabkan tampilan eosinofilik edema (panah).[45]

Gambaran edema otak tikus wistar yang dapat ditemukan pada penelitian

berupa adanya tampilan matriks yang sembab, pembengkakan sel astrosit, serta dilatasi pembuluh dara. [46] pada pemeriksaan histologi penelitian tersebut, ditemukan patologi edema otak dengan cara pengambilan preparat menggunakan pewarnaan haematoxylin Eosin, Preparat yang di ambil, dibaca menggunakan mikroskop Olympus BX31 dengan perbesaran 400x dan diambil gambar sebanyak tiga lapangan pandang yang paling representatif terhadap edema otak, yaitu adanya pembengkakan sel astrosit, dilatasi pembuluh darah, atau matriks yang sembab, Kemudian dihitung luas edema dengan menggunakan aplikasi ImageJ 1.52a. Daerah yang berwarna hitam merupakan luas edema otak yang dihitung. Dan ditentukan rerata luas edema pada tiap kelompok hewan coba.[46]

Studi berdasarkan study frank et al[47], cara lainnya untuk menghitung jumlah luasan edema secara histologi dan di gabungkan dengan software aplikasi, dimana otak pada hewan coba yang di beri COT, dan dibagi berdasarkan severiti cedera otak, dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan cara mengambil jaringan otak dan di potong sejumlah 6 slice dalam posisis coronal slice dengan ketebalan tiap slicenya 2 mm kemudian diidentifikasi slice yang paling merepresentasikan edema otak dan dihitung dengan menggunakan teknik yang dikemukanan oleh kuts et al. [48]



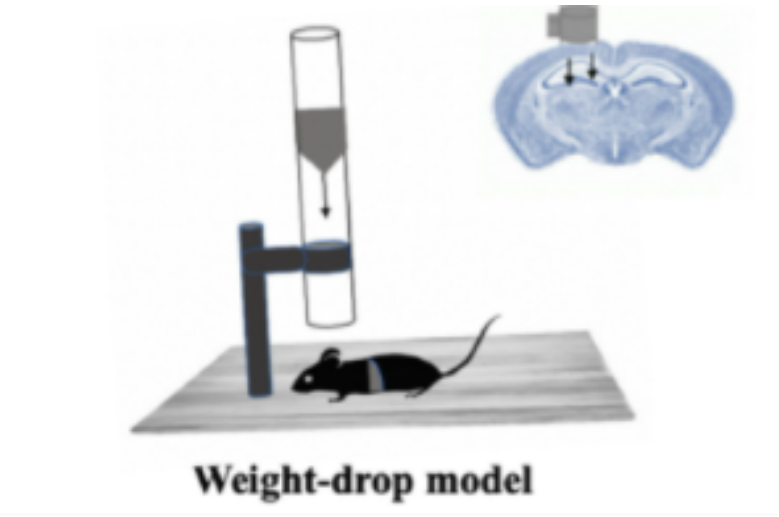
Gambar 12. Persentasi edema otak secara histologi berdasarkan beratnya cedera.[47]

Edema otak pada study Frank et al., 2019 mengemukakan persentase edema pada Sham model (1.3% +/- 0.3%), ringan (6% +/- 1.5%), Sedang (8.8% +/- 1.7%) dan berat (14.2% +/- 1.1%). Edema otak di hitung dalam bentuk persentase edema terhadap hemisfer normal di kontralateral lesi sedangkan

perluasan edema otak menggunakan metode kaplan perluasan edema otak dengan menggunakan kalkulasi dalam unit pixel pada coronal slice histologi yang di periksa dengan optical scanner (Canon Cano Scan 4200F resolusi 1600 x 1.600 dpi) menggunakan aplikasi Image J 1.37v dengan persamaan volume hemisfer cedera (ipsilateral) - volume hemisfer kontralateral dibagi dengan jumlah volume hemisfer cedera (ipsilateral). [47]

2.10. Model Tikus COT

Dalam model Weight Drop–Impact Acceleration Injury, cedera disebabkan oleh jatuh bebas, beban yang jatuh berdampak pada tengkorak yang terbuka (dengan atau tanpa kraniotomi). Tingkat keparahan cedera dapat disesuaikan dengan mengubah tinggi dan massa berat badan.[49] Model weight drop dirancang untuk tikus telah terbukti memberikan cedera yang berkembang dari perdarahan di bawah korteks hingga nekrotik dalam 24 jam setelah cedera. Tikus yang dengan model weight drop menunjukkan beberapa kondisi klinis seperti defisit neurobehavioral, aktivasi mikroglia dan astrosit, neurodegenerasi dan perubahan morfologi. Salah satu kelemahan dari model ini melibatkan kemungkinan patah tulang tengkorak pada tingkat keparahan cedera yang lebih tinggi, serta kemungkinan cedera rebound. [50]



Gambar 13. *Weight Drop Models* [51]

2.11. Peran Ranitidin (Antihistamin) pada COT

Ranitidin merupakan Antagonis Receptor Histamine-2 (ARH-2) secara selektif dan kompetitif menghambat pengikatan histamin pada reseptor H-2. Ada 4 jenis ARH-2 yang dikenal, yaitu: simetidin, ranitidin, famotidin dan nizatidin. Ranitidin didistribusikan secara luas, termasuk ASI, menyeberangi sawar darah otak dan plasenta. Konsentrasi ranitidin di cairan serebrospinal 5% sampai 3% konsentrasi di plasma pada waktu yang sama. Volume distribusi 1,4 L/kg (1,2-1,8 L/kg). Ikatan plasma protein 15%. Metabolisme ranitidin terjadi di hepatik, dengan total *clearance* sebanyak 30% dari *total body clearance* setelah pemberian IV, dan 73% setelah pemberian oral. [52]

Pada penelitian yang dilakukan oleh Patnaik, membandingkan efek neuroprotektif pemberian cimetidine dan Ranitidin pada model tikus dengan cedera otak traumatika. Berdasarkan penelitian tersebut, ranitidin lebih efektif daripada cimetidin dalam mengurangi edema otak. Ranitidin mampu mensupresi secara signifikan hipertensi yang diinduksi kerusakan permeabilitas sawar darah otak. Ranitidin juga mampu mengurangi gangguan permeabilitas mikrovaskular pada stres panas. Diduga, ranitidin lebih spesifik untuk reseptor histamin H2 dan dapat melintasi sawar darah otak normal lebih efektif daripada cimetidin. Dosis pemberian Ranitidin dan cimetidine pada model tikus coba berdasarkan literatur yang digunakan adalah 10mg/kgBB. [53]

Cedera Otak traumatika akan menginduksi peningkatan plasma dan kadar histamin otak yang terlibat dalam patogenesis edema otak pada berbagai cedera traumatika atau hipoksia SSP melalui reseptor histamin H2. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Malagelada, pemberian Ranitidin 100μmol/L lebih efektif dalam menurunkan dan mencegah apoptosis pada tikus yang diinduksi OGD (Oxygen Glucose Deprivation) dibandingkan cimetidine dan tiotidine. Mekanisme Ranitidin dalam menurunkan kematian sel diduga melalui degradasi jalur caspase-3 dan MAP-2. Selain itu AH2 receptor inhibitor Ranitidin juga bekerja pada terminal prasinaptik dengan mengurangi pelepasan yang mendukung efek neuroprotektif.[54]

Histamin memainkan peran sentral dalam imunitas bawaan dan didapat: pada alergi dan peradangan. Histamin terkait erat dengan fungsi sel mast; dalam imunomodulasi dan autoimunitas yang mengatur fungsi sel. Studi yang dilakukan oleh Xu et al bahwa astrosit mengekspresikan H1, H2, dan H3. Pada penelitian tersebut, membandingkan citirizen, ranitidin dan carcinine dalam menekan

pelepasan mediator inflamasi. Ikatan histamin dan reseptor H1, H2, dan H3 dapat menekan produksi TNF-α dan IL-1β yang diproduksi astrosit. [55]

Efek neuroprotektif dari AH receptor inhibitor telah dikemukakan di beberapa penelitian. Studi Xu et al memperlihatkan pemberian ranitidin dapat meningkatkan stimulasi pengeluaran GDNF (Glial cell-derived neurotrophic factor) dibandingkan citirizine dan carcine. GDNF merupakan neuroprotektor yang dikeluarkan astrosit pada saat terjadi kerusakan saraf.[55]

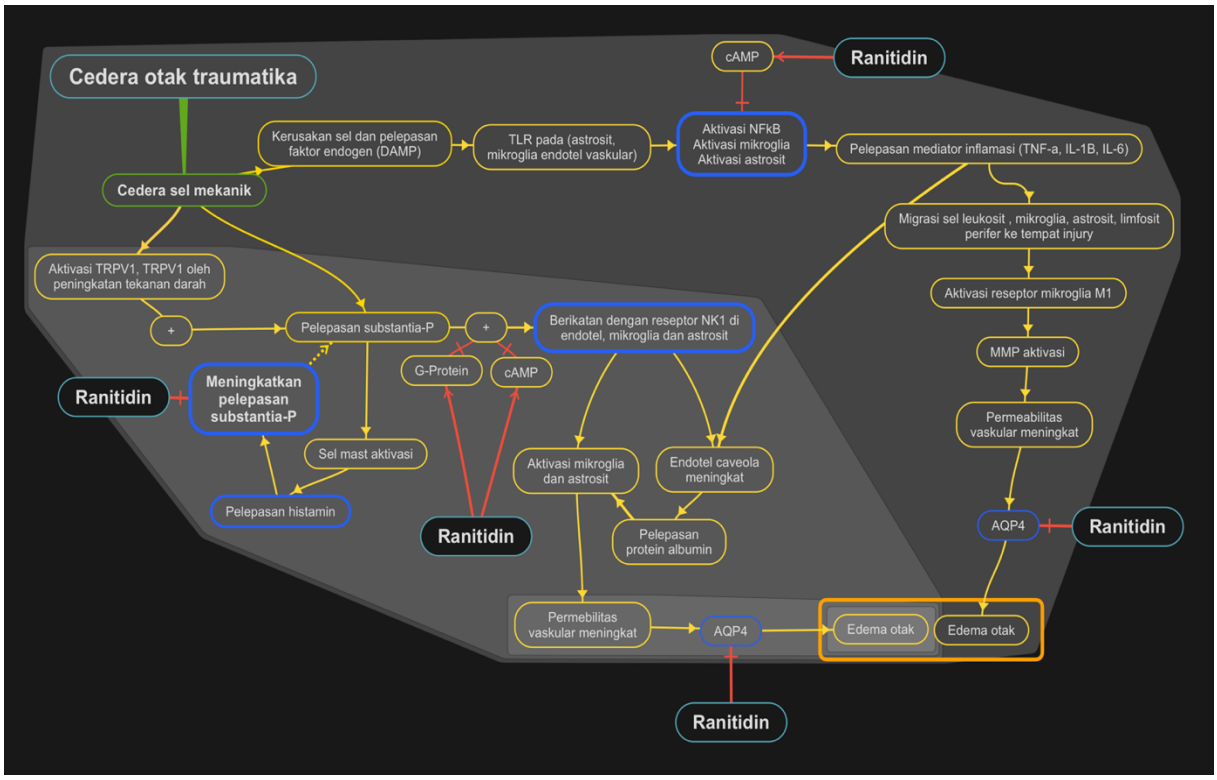
Namun mekanisme berbeda diperlihatkan oleh Pan et al dimana pemberian dipenhidramin (antihistamin) menunjukkan penurunan edema serebri yang dibuktikan dengan penurunan kadar air otak pada tikus model cedera otak. Dipenhidramin menunjukkan peningkatan kelangsungan hidup neuron pada dosis yang diuji dan dengan demikian memiliki peran protektif terhadap COT. Apoptosis diatur oleh aktivasi berbagai gen dan protein. Di antara gen tersebut, pada tingkat mitokondria, proto-onkogen Bcl-2 mengontrol apoptosis dengan menjaga keseimbangan yang rumit antara gen yang menginduksi (Bax) atau menghambat (Bcl-2) apoptosis. Dalam penelitiannya, pemberian dipenhidramin menunjukkan penurunan regulasi caspase-3 dan Bax yang kemudian meningkatan regulasi Bcl-2. [9]

Kehadiran stres oksidatif setelah COT melalui generasi spesies oksigen yang sangat reaktif adalah faktor destruktif utama untuk kerusakan otak. Spesies oksigen reaktif ini memicu kerusakan protein dan DNA, dan meningkatkan permeabilitas membran melalui stres oksidatif. Studi yang sama juga memperlihatkan adanya penurunan stres oksidatif yang dibuktikan melalui pengurangan MDA dan peningkatan regulasi SOD dan GPx pada tikus yang diberikan antihistamin. Selain itu inflamasi post COT akan mengaktifkan mikroglia dan astrosit, dengan pelepasan sitokin proinflamasi di dalam otak (TNF-α dan IL-1β), dan perekrutan sel imun perifer Studi tersebut memperlihatkan adanya penurunan tingkat TNF-α dan IL-1β. Sehingga dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa pemberian dipenhidramin memberikan efek neuroprotektif melalui pelemahan jalur stres oksidatif, inflamasi, dan apoptosis mitokondria. [9]

2.12. Peak Time TNF-α dan Histamin pada COT

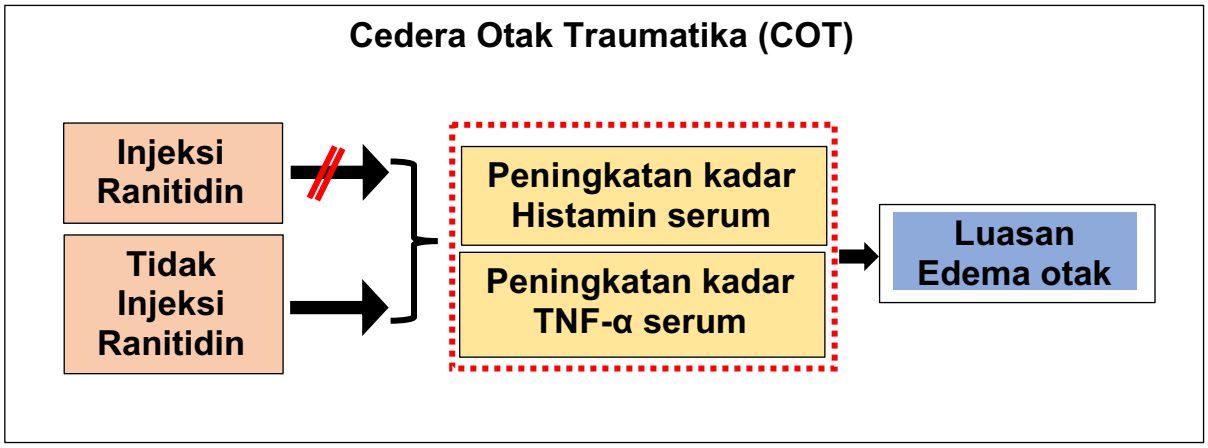
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hastruk et al, tingkat TNF-α dan interleukin serta histamin pada jaringan tikus meningkat secara signifikan pada tikus dari kelompok trauma 1 jam setelah cedera Otak, dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok yang diobati dengan ETA menunjukkan tingkat MDA yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok trauma pada waktu 8 jam setelah pemberian pengobatan. [11]

2.13. Kerangka Teori



Gambar 14. Kerangka Teori

2.14. Kerangka Konseptual



Gambar 15. Kerangka Konsep

Keterangan

= Variabel independen

= Variabel antara

= Variable dependen

2.15. Hipotesis Penelitian

1. Terjadi peningkatan kadar histamin serum pada hewan coba COT yang tidak diberi injeksi ranitidin
2. Terjadi peningkatan kadar histamin serum yang lebih sedikit pada hewan coba satu jam setelah COT yang telah diberikan injeksi Ranitidin
3. Terjadi peningkatan kadar TNF-α serum pada hewan coba satu jam setelah COT yang tidak diberikan injeksi Ranitidin
4. Terjadi peningkatan kadar TNF-α serum lebih sedikit pada hewan coba satu jam setelah COT yang telah diberikan injeksi Ranitidin
5. Terjadi peningkatan kadar histamin serum pada hewan coba 8 jam setelah COT yang diberikan injeksi Ranitidin
6. Terjadi peningkatan kadar histamin serum pada hewan coba 8 jam setelah COT yang tidak diberikan injeksi Ranitidin
7. Terjadi peningkatan kadar histamin serum lebih sedikit pada hewan coba 8 jam setelah COT yang diberikan injeksi Ranitidin
8. Terjadi peningkatan kadar histamin serum lebih sedikit pada hewan coba 8 jam setelah COT yang diberikan injeksi Ranitidin

9. Adanya korelasi antara kadar histamin serum dan TNF-α serum yang lebih sedikit pada kelompok COT yang diberi injeksi Ranitidin dan kelompok yang tidak diberikan Ranitidin
10. Adanya korelasi antara derajat edama otak yang lebih sedikit pada kelompok COT yang diberikan ranitidin dan kelompok yang tidak diberikan ranitidin

2.16. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional.

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Traumatic Brain Injury	Perlukaan jaringan otak traumatis yang dilakukan dengan metode weight drop model marmarou	-	-	-
TNF-α	Mediator inflamasi yang dikeluarkan oleh sel mast yang diukur pada serum tikus	ELISA	Nilai TNF-α dengan satuan ng/ml	Numerik
Edema otak	Penumpukan cairan intraparenkim	Histopatologi	Luasan edema dengan satuan um	Numerik
Histamin	Mediator inflamasi yang dikeluarkan oleh sel mast yang diukur pada serum tikus	ELISA	Nilai histamin alfa dengan satuan ng/ml	Numerik