

BAB I

PENDAHULUAN

1.2 Latar Belakang

Epilepsi merupakan suatu penyakit gangguan pada sistem saraf pusat yang ditandai dengan adanya seizure (kejang) yang terjadi secara berulang akibat dari lepasnya muatan listrik pada neuron otak secara berlebihan. Saat ini terdapat sekitar 50 juta orang penderita epilepsi di dunia, dengan prevalensi di Indonesia sekitar 1,5 – 2,4 juta orang. Hingga saat ini telah tersedia beberapa agen farmakologis yang telah digunakan dalam pengobatan epilepsi salah satunya lamotrigin (Novianae et al, 2020).

Lamotrigin (LMT) merupakan salah satu obat yang digunakan secara efektif untuk kejang tonik-klonik secara parsial, kejang umum sekunder, dan kejang umum primer. Obat ini memiliki mekanisme kerja dalam penghambatan kanal natrium pemicu dari potensial aksi sehingga dapat menurunkan terjadinya depolarisasi berlebih penyebab dari epilepsi (Costa et al., 2023). Bukti klinis menunjukkan penggunaan LMT menjadi salah satu pilihan rekomendasi dalam pengobatan epilepsi karena memiliki efek yang lebih tolerabilitas, efek samping yang lebih sedikit dari pengobatan anti epilepsi yang lain, dan memiliki aktivitas antioksidan yang dapat berkontribusi pada efek neuroprotektifnya (Onishi et al., 2023). Akan tetapi, LMT juga telah dilaporkan sebagai substrat dari *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP) yang dapat menurunkan penetrasi obat ini ke otak sehingga dapat menyebabkan penurunan aktivitas dari LMT (Rommerman et al., 2015).

BCRP merupakan transporter yang diekspresikan di berbagai organ seperti usus, hati, ginjal, dan otak. Transporter tersebut berperan dalam membatasi proses masuknya obat ke organ dengan mekanisme sebagai pompa effluks yang dapat mengeluarkan obat dari dalam sel, menghambat penyerapan, dan mengurangi distribusi obat, sehingga akan mengurangi efektivitas dari obat (Hira et al., 2018). Pada otak, BCRP diekspresikan pada permukaan sel endotel dari sawar darah otak yang berfungsi membatasi masuknya beberapa obat substrat pada sistem saraf pusat (Engdahl et al., 2021). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pemberian secara bersamaan obat yang merupakan substrat BCRP dengan senyawa atau obat penghambat BCRP dapat meningkatkan bioavailabilitas dan aktivitas obat substrat (Nayak et al., 2020). Salah satu senyawa yang dilaporkan sebagai penghambat BCRP adalah kurkumin (Kusuhara et al., 2012).

Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang berasal dari famili *Zingiberaceae* yang memiliki aktivitas biologis dan farmakologi yang cukup luas (Dhir, 2018). Kusuhara (2012) telah melaporkan adanya aktivitas penghambatan kurkumin terhadap BCRP yang dibuktikan dengan peningkatan konsentrasi plasma maksimum sulfasalazin sebanyak 3 kali lipat jika dikombinasikan dengan kurkumin (Kusuhara et al., 2012). Kurkumin juga telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dapat bermanfaat untuk penurunan kejang atau epilepsi (Dhir, 2018).

Penelitian ini akan menggunakan model hewan coba epilepsi yang diinduksi menggunakan pentylenetetrazol (PTZ). PTZ merupakan antagonis reseptor GABA sehingga akan meningkatkan aktivitas saraf dan menyebabkan kejang umum pada hewan (Erkec et al., 2015). Dosis PTZ yang digunakan sebanyak 35 mg/kgBB sebanyak 8 hingga 12 kali pemberian terbukti mampu menyebabkan kejang dan meningkatkan inflamasi dan kerusakan sel saraf pada otak (Erkec et al., 2015). Pemeriksaan histopatologi merupakan salah satu cara untuk menilai level peradangan atau penyembuhan penyakit epilepsi atau bahkan untuk diagnosis maupun diagnostik (Lin et al., 2023).

Berdasarkan uraian diatas diperlukan penelitian untuk memberikan gambaran pengaruh pemberian kurkumin terhadap histopatologi otak mencit yang diinduksi dengan PTZ.



1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian kurkumin dan lamotrigin terhadap histopatologi otak mencit yang diinduksi dengan pentylenetetrazol?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian kurkumin dan lamotrigin terhadap histopatologi otak mencit yang diinduksi pentylenetetrazol.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 1 set alat bedah, deck glass, gelas beaker, hot plate, handscoon, kanula, kapas, magnetic stirrer, mikroskop, mikrotom, object glass, spoit, timbangan digital.

Bahan yang digunakan dalam riset ini, yaitu aquadest, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96%), eosin, eter, formalin, haematoxylin, hewan coba mencit (*Mus musculus*), kurkumin (Merck®), LMT (Aladdin®), natrium klorida (NaCl) 0,9%, natrium karboksimetil selulosa (NaCMC) 0,5%, PTZ (Aladdin®), xylol.

2.2 Cara Kerja

2.2.1 Pembuatan Suspensi NaCMC

Panaskan aquadest di dalam gelas beaker menggunakan hot plate hingga mencapai suhu 70°C. Kemudian timbang 2,5 g NaCMC untuk membuat 500 mL larutan NaCMC 0,5% b/v. Setelah itu dimasukkan NaCMC ke dalam gelas beaker sedikit demi sedikit lalu aduk menggunakan *magnetic stirrer* selama ± 15 menit hingga homogen.

2.2.2 Pembuatan Suspensi Lamotrigin

Pada penelitian kali ini digunakan dosis LMT sebanyak 10 mg/kgBB (Porrostami et al., 2014), LMT ditimbang sebanyak 35 mg, didispersikan dengan 1 mL NaCMC, kemudian dicukupkan hingga 3,5 mL lalu dihomogenkan.

2.2.3 Pembuatan Suspensi Kurkumin

Dosis suspensi kurkumin yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 300 mg/kgBB (Kusuhara et al., 2012). Kurkumin ditimbang sebanyak 105 mg, lalu didispersikan didalam lumpang dengan 1 mL Na-CMC 0,5%, kemudian dicukupkan hingga 3,5 mL Na-CMC 0,5% dan dihomogenkan.

2.2.4 Pembuatan Larutan PTZ

Dosis PTZ yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 35 mg/kgBB (Shimada et al., 2018). PTZ ditimbang sebanyak 24,5 mg, lalu dilarutkan dengan 1 mL NaCl 0,9%, kemudian dicukupkan hingga 7 mL NaCl 0,9% dan dihomogenkan.

2.2.5 Penyiapan Hewan Uji



li ini digunakan hewan uji yaitu mencit (*Mus musculus*) dengan bobot 25-35 gram. ng digunakan sebanyak 25 ekor dalam kondisi yang sehat. Setelah itu, dilakukan 1 coba pada ruang penelitian selama 1 minggu dan pada suhu ruang yang stabil.

2.2.6 Perlakuan Hewan Uji

Pada penelitian kali ini perlakuan dilakukan selama 19 hari setiap 48 jam kemudian hewan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan (tiap kelompok terdiri 5 ekor mencit) yaitu :

1. Kelompok 1 : Hewan uji tidak diberikan perlakuan (kontrol sehat)
2. Kelompok 2 : Hewan uji diberikan perlakuan NaCMC 0,5% secara peroral setelah itu ditunggu 60 menit, kemudian diberikan kembali NaCMC 0,5% secara peroral setelah itu ditunggu 30 menit, lalu diinduksikan PTZ (35 mg/kgBB) secara intraperitoneal.
3. Kelompok 3 : Hewan uji diberikan perlakuan NaCMC 0,5% secara peroral kemudian ditunggu 60 menit, lalu diberikan suspensi LMT 10 mg/kgBB secara peroral setelah itu ditunggu 30 menit kemudian diinduksikan PTZ (35 mg/kgBB) melalui rute intraperitoneal.
4. Kelompok 4 : Hewan uji diberi perlakuan suspensi kurkumin 300 mg/kgBB secara peroral kemudian ditunggu 60 menit, lalu diberikan NaCMC 0,5% secara peroral setelah itu ditunggu 30 menit kemudian diinduksikan PTZ (35mg/kgBB) melalui rute intraperitoneal.
5. Kelompok 5 : Hewan uji diberikan perlakuan suspensi kurkumin dengan dosis 300 mg/kgBB secara peroral kemudian ditunggu 60 menit, lalu diberikan suspensi LMT 10 mg/kgBB secara peroral. Setelah 30 menit kemudian diinduksi dengan PTZ (35 mg/kgBB) melalui rute intraperitoneal.

2.2.7 Pembedahan dan Pengambilan Otak Hewan Uji

Pada hari ke-19, pembedahan dan pengambilan organ otak dilakukan setelah diberikan perlakuan selama 4 jam. Sebelum dilakukan prosedur pembedahan, mencit terlebih dahulu di euthanasia dengan cara menggunakan eter kemudian dislokasi pada bagian leher. Setelah itu, mencit di bedah lalu dilakukan pengambilan organ otak lalu dicuci dengan NaCl 0,9% dan disimpan pada formalin 10%.

2.2.8 Prosedur Kerja Histopatologi

Prosedur kerja histopatologi mengacu pada pustaka Rahmawanti et al. (2021) yang dimodifikasi sesuai dengan prosedur yang dilakukan di Labortorium Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin. Otak didehidrasi ke dalam larutan alkohol seri bertingkat (70%, 80%, 90% dan 96%) dengan durasi masing-masing selama 30 menit dan alkohol absolut selama 2 jam. Selanjutnya, dilakukan clearing menggunakan xylol sebanyak dua kali di wadah yang berbeda dengan durasi masing-masing 30 menit. Sampel otak di potong kasar menjadi beberapa bagian kemudian dimasukkan ke dalam cetakan blok parafin dan dimasukkan ke dalam parafin cair. Setelah parafin telah mengeras, dilakukan pemotongan halus menggunakan mikrotom setebal 5 μ m hingga terbentuk pita parafin. Pita parafin kemudian dimasukkan kedalam waterbath lalu diletakkan pada object glass. Parafin pada preparat dihilangkan dengan cara dipanaskan selama 20-30 menit sebelum dilakukan pewarnaan.

Preparat yang telah dipanaskan dimasukkan ke dalam Xylol 1 dan 2 dengan durasi masing-masing selama 15 menit. Preparat dikeringkan selama 5 menit di atas hot plate kemudian dilakukan rehidrasi pada alkohol seri menurun (100%, 96%, dan 70%) dengan dicelupkan sebanyak 15 kali setiap serinya. Preparat dibilas menggunakan air mengalir selama 1 menit, lalu dimasukkan ke dalam larutan hematoxilin selama 15 menit. Preparat kembali dibilas menggunakan air mengalir selama 2 menit, lalu dimasukkan ke dalam larutan eosin selama 5 menit. Preparat dibilas menggunakan alkohol seri bertingkat (70%, 96%, dan 100%) celup setiap serinya dan dikeringkan menggunakan hot plate selama 5 menit. Preparat dimasukkan ke dalam xylol 1 dan 2 dengan masing-masing 15 kali celup. Setelah dikeringkan, ditetapi dengan selotex sebagai perekat kemudian ditutup menggunakan deck glass untuk selanjutnya ditetapi dibawah mikroskop.



2.2.9 Pengamatan Histopatologi Organ Otak Hewan Uji

Pengamatan histopatologi dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 10x dan 40x di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin. Variabel yang diperiksa meliputi terbentuknya sel radang dan nekrosis yang akan menjadi parameter neuroinflamasi. Hasil dari pemeriksaan selanjutnya diberi skor sebagai berikut:

Tabel 1. Sistem Skoring Histopatologi Otak Mencit

Variabel	Skor
Peradangan	1-3
<25%, area yang diamati	1
25 – 50%, area yang diamati	2
>50%, area yang diamati	3
Gliososis	1-3
<25%, area yang diamati	1
25 – 50%, area yang diamati	2
>50%, area yang diamati	3
Spongiform Change	1-3
<25%, area yang diamati	1
25 – 50%, area yang diamati	2
>50%, area yang diamati	3
Edema Perivaskular	1-3
Jumlah 1-2 sel	1
Berjumlah >3	2
Penyebaran parah	3
Grade histologi	Total skoring
I (ringan)	1
II (sedang)	2-3
III (berat)	4-6

(Corley, 2013) (Lubis, 2023) (Bolon, 2023)(Singh, 2005)

2.2.10 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis menggunakan pendekatan statistik dengan aplikasi *Graphpad Prism* dengan metode *Descriptive Shapiro-Wilk* yang dilanjutkan *Kruskal-Wallis* dan *Posthoc Dunn's Multiple Comparisons* untuk melihat adanya perbedaan signifikan pada perlakuan yang telah diberikan.

