



Pengaruh Ramipril terhadap Gambaran Mikroskopis Sel Neuron Otak Tikus Wistar yang Mengalami Edema Otak

Muhammad Arief Ansyar¹, Nita Afriani², Aisyah Elliyanti³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Kota Padang, Indonesia

²Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Kota Padang, Indonesia

³Bagian Fisika, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Kota Padang, Indonesia

ABSTRACT

Latar Belakang. Edema otak adalah pembengkakan pada otak akibat akumulasi cairan yang berlebihan pada otak. Kondisi ini dipicu oleh penurunan *cerebral blood flow* (CBF) akibat kerusakan jantung atau karena pemberian isoproterenol. Penurunan CBF mengakibatkan terjadinya edema otak yang memicu kerusakan sel neuron. Penelitian ini menggunakan isoproterenol untuk memicu terjadinya edema otak. Kerusakan ini dicegah dengan pemberian ramipril dengan tujuan memperbaiki perfusi jantung dan otak.

Objektif. Mengetahui pengaruh pemberian ramipril terhadap gambaran mikroskopis sel neuron otak tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami edema otak dengan induksi isoproterenol.

Metode. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan 21 hewan coba yang dibagi menjadi 3 kelompok (K-, K+, dan P). Kontrol negatif (K-) adalah kelompok normal tanpa pemberian isoproterenol dan ramipril. Kontrol positif (K+) adalah kelompok yang mendapatkan isoproterenol 85 mg/KgBB pada hari kedelapan dan kesembilan. Sedangkan kelompok perlakuan (P) adalah kelompok yang diberikan ramipril dengan dosis 3 mg/KgBB selama 7 hari pertama, dan diinjeksikan isoproterenol dengan dosis 85 mg/KgBB pada hari kedelapan dan kesembilan untuk menginduksi edema otak melalui IMA. Analisis data menggunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney U Test* (MWUT).

Hasil. Rerata jumlah kerusakan sel neuron pada kelompok K-, K+, dan P berturut-turut adalah 6.2, 26.3 dan 17.33. Didapatkan perbedaan yang bermakna tiap kelompok dengan nilai $p = 0.001$ ($p < 0.05$).

Kesimpulan. Ada pengaruh pemberian ramipril terhadap gambaran mikroskopis sel neuron otak tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami edema otak dengan induksi isoproterenol.

Kata kunci: Sel Neuron, Isoproterenol, Ramipril, Edema Otak

Background. Brain edema is swelling in the brain due to excessive accumulation of fluid in the brain. This condition is triggered by a decrease in *cerebral blood flow* (CBF) due to heart damage or isoproterenol administration. A decrease in CBF results in brain edema which triggers damage to neuron cells. This study uses isoproterenol to induce brain edema.

This damage is prevented by giving ramipril with the aim of improving cardiac and brain perfusion.

Objective. To see the effect of giving ramipril to the microscopic assessment of mice brain neuron cells with brain edema which was induced by isoproterenol.

Methods. This research is an experimental study which was used 21 experimental animals which were divided into 3 groups (K-, K+, and P). The treatment group (P) was given ramipril at a dose of 3 mg/KgBW for 7 days. On the 8th and 9th day K+ and P groups were injected by isoproterenol 85 mg/KgBW to induce brain edema through AMI. Data analysis was performed using the *Kruskal-Wallis Test* and *Mann Whitney U Test* (MWUT).

Results. The average number of neuron cell damage in the K-, K+, and P group, respectively, 6.2, 26.3 and 17.33. Significant differences were obtained for each group with a value of $p = 0.001$ ($p < 0.05$).

Conclusion. There is a significant effect of giving ramipril to the microscopic assessment of mice brain neuron cells with brain edema which was induced by isoproterenol.

Keyword: Neuron cells, Isoproterenol, Ramipril, Brain Edema

Apa yang sudah diketahui tentang topik ini?

Ramipril yang merupakan *Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI) dapat memperbaiki perfusi pada infark miokard akut (IMA) sehingga dapat mengurangi perburukan. Kerusakan pada jantung mempengaruhi perfusi darah ke otak.

Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Terdapat perbedaan gambaran mikroskopis sel neuron otak tikus antara tikus yang diberikan isoproterenol dan ramipril dengan tikus yang hanya diberikan isoproterenol

CORRESPONDING AUTHOR

Phone: + 62 82387297656

E-mail: ariefansyar.mia7@gmail.com

ARTICLE INFORMATION

Received: December 30th, 2020Revised: July 16th, 2021Available online: May 18th, 2021

Pendahuluan

Edema otak adalah pembengkakan pada otak akibat adanya peningkatan cairan pada otak.^{1,2} Penyebab edema otak dibagi ke dalam kategori neurologis dan non-neurologis. Selanjutnya, edema otak dikelompokkan menjadi empat kelompok yaitu edema otak vasogenik, sitotoksik, interstisial, dan osmotik.²

Edema otak dapat terjadi pada semua kelompok umur, jenis kelamin, dan kelompok etnis.² Kejadian edema otak ini seringkali mengikuti kejadian stroke. Pada stroke iskemik, edema otak dapat mengakibatkan terjadinya defisit neurologis secara signifikan.³ Di Amerika, stroke adalah penyebab kematian kelima terbanyak yang menyumbang setidaknya 1 dari setiap 19 kematian. Tahun 2017 sekitar 146.383 orang meninggal akibat stroke.⁴ Di Indonesia sendiri, angka kejadian stroke mencapai 234/100.000 penduduk. Saat ini, Indonesia bahkan menjadi negara dengan jumlah penderita stroke terbesar di Asia.⁵

Edema otak tipe sitotoksik terjadi akibat adanya gangguan aliran darah ke otak. Gangguan ini mengakibatkan terjadinya kondisi hipoksi-iskemia akut pada otak sehingga mekanisme hemostatik ikut terganggu. Misalnya gangguan pada pompa Na-K di membran sel yang mengakibatkan terjadinya perubahan gradien tekanan osmotik. Perubahan ini mengakibatkan terjadinya peningkatan air yang masuk ke kompartemen intraseluler sehingga mencetuskan terjadinya edema intraseluler yang memicu terjadinya edema otak jenis sitotoksik (seluler) hanya dalam hitungan menit.^{6,7}

Salah satu penyebab terjadinya penurunan aliran darah ke otak adalah gangguan pada jantung seperti infark miokard akut (IMA). IMA yang merupakan bagian dari penyakit jantung koroner (PJK) ini menyebabkan terjadinya penurunan kontraktilitas otot jantung sehingga terjadi penurunan *cardiac output* (CO) yang mengakibatkan hipotensi sistemik sehingga tekanan perfusi pada otak berkurang.^{8,9} Penelitian yang dilakukan oleh Kaplan dkk melaporkan bahwa terdapat hubungan antara *Cerebral Blood Flow* (CBF) dan CO pada awal terjadinya IMA hingga 30 hari setelahnya berupa penurunan CBF

secara signifikan bersamaan dengan penurunan CO, yang dalam kondisi ini autoregulasi serebral tidak dapat memulihkan CBF sepenuhnya.¹⁰ Literatur lain juga menyebutkan bahwa otak mudah mengalami kerusakan jika tidak mendapatkan pasokan oksigen (O₂) selama lebih dari 4 hingga 5 menit atau penyaluran glukosanya terputus lebih dari 10 hingga 15 menit.^{9,10} Laporan *American Heart Association* (AHA) tahun 2019 menyebutkan bahwa kejadian stroke pada pasien yang mengalami gangguan jantung berupa IMA pada laki-laki dan perempuan secara berturut-turut adalah sebesar 4% dan 7%.¹¹ Data riset kesehatan dasar (Riskesdas) tahun 2013 juga melaporkan bahwa orang-orang yang mengalami PJK lebih berisiko mengalami stroke hingga 6.85 kali dibanding non-PJK.^{12,13}

Isoproterenol adalah obat golongan agonis β -adrenergik non selektif yang dapat digunakan untuk menginduksi edema otak baik melalui mekanisme kerusakan jantung atau secara langsung melalui peningkatan kadar kalsium intraseluler.¹⁴⁻¹⁶ Stimulasi reseptor β -adrenergik pada jantung mengakibatkan terjadinya peningkatan *heart rate* (HR) sehingga terjadi ketidakseimbangan antara ketersediaan (*supply*) dan kebutuhan (*demand*). Hal ini jika dibiarkan akan dapat berkembang menjadi IMA.¹⁷ Penelitian yang dilakukan oleh Wahyu Widyaningsih dkk melaporkan bahwa pemberian isoproterenol pada tikus *Rattus norvegicus* dapat digunakan sebagai model infark miokard.¹⁴ Pada otak, isoproterenol mengakibatkan terjadinya peningkatan kalsium intraseluler yang menghasilkan gradasi dari tekanan osmotik sehingga meningkatkan volume air yang masuk ke dalam sel yang dapat memicu terjadinya edema otak.¹⁶

Tatalaksana edema otak diharapkan dapat menghindari kerusakan otak yang lebih parah, misalnya akibat kompresi edema ke sisi otak yang lain yang dapat mengakibatkan terjadinya gangguan neurologis. Terapi yang diberikan dapat berupa pemberian mannitol atau melalui tindakan operatif. Pencegahan terjadinya penurunan aliran darah ke otak secara dini juga berpengaruh terhadap prognosis pasien.⁷ Salah satu bentuk pencegahan yang memungkinkan adalah menghindari terjadinya kondisi IMA dengan

pemberian ramipril pada pasien-pasien yang berisiko tinggi mengalami IMA. Ramipril bekerja dengan cara menghambat kerja enzim pengubah angiotensin yang bertugas untuk mengubah angiotensin I menjadi angiotensin II. Hal ini akan menyupresi berbagai efek vasokonstriksi yang dipengaruhi oleh angiotensin II dalam susunan pembuluh darah sehingga resistensi perifer total dan tekanan darah akan menurun. Selain itu kondisi ini dapat memicu terjadinya efek vasodilatasi sehingga dapat meningkatkan perfusi darah. Kondisi perfusi ini dapat meminimalisir kerusakan jantung sehingga penurunan CO dan CBF dapat dikurangi.^{18,19}

Pemberian ramipril dilaporkan dapat meminimalisir kerusakan jantung. *Heart Outcomes Prevention Evaluation* (HOPE) mengatakan bahwa pemberian ramipril menurunkan risiko kejadian penyakit kardiovaskuler pada pasien-pasien dengan risiko tinggi.²⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Bayir dkk melaporkan bahwa pemberian awal ramipril dengan dosis 3 mg/kgBB mengurangi kerusakan jantung secara signifikan dilihat dari gambaran histopatologinya.²¹ Penelitian lain juga melaporkan bahwa pemberian ramipril pada tikus *Rattus norvegicus* sebelum dilakukan induksi IMA menggunakan isoproterenol dapat mengurangi kerusakan pada miokard yang ditandai dengan penurunan luas udem pada miokard yang bermakna. Besar luas infark miokard dilaporkan memiliki pengaruh terhadap penurunan CBF secara bermakna.¹⁰

Pemberian ramipril mencegah perombakan bradikinin sehingga meningkatkan produksi *nitric oxide* (NO). Pada otak, NO dilaporkan berperan dalam pengaturan autoregulasi serebral yang dapat menjaga perfusi darah ke otak. Penjagaan CBF ini penting dilakukan mengingat sel neuron, yang merupakan komponen terbanyak penyusun otak, mudah mengalami kerusakan karena memiliki kebutuhan metabolisme yang tinggi.^{22,23}

Berdasarkan pemaparan di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian terkait pengaruh pemberian ramipril terhadap gambaran mikroskopis sel neuron otak tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami edema otak melalui induksi isoproterenol.

Metode

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan *the post test only control group*

design yang menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Kelompok penelitian dibagi menjadi 3 kelompok yaitu, kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan.

Populasi yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Populasi yang dijadikan sampel adalah tikus yang berumur 6-8 minggu dengan berat badan 150-180 gram. Dalam penelitian ini digunakan enam ekor tikus per kelompoknya, sehingga dibutuhkan minimal 18 ekor tikus.

Kelompok kontrol negatif adalah kelompok normal yang tidak diberikan isoproterenol ataupun ramipril. Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang mendapat isoproterenol 85 mg/KgBB pada hari kedelapan dan kesembilan. Sedangkan kelompok perlakuan adalah kelompok yang diberikan ramipril 3 mg/KgBB pada hari pertama hingga hari ketujuh, dan dilanjutkan pemberian isoproterenol 85 mg/KgBB pada hari kedelapan dan kesembilan.

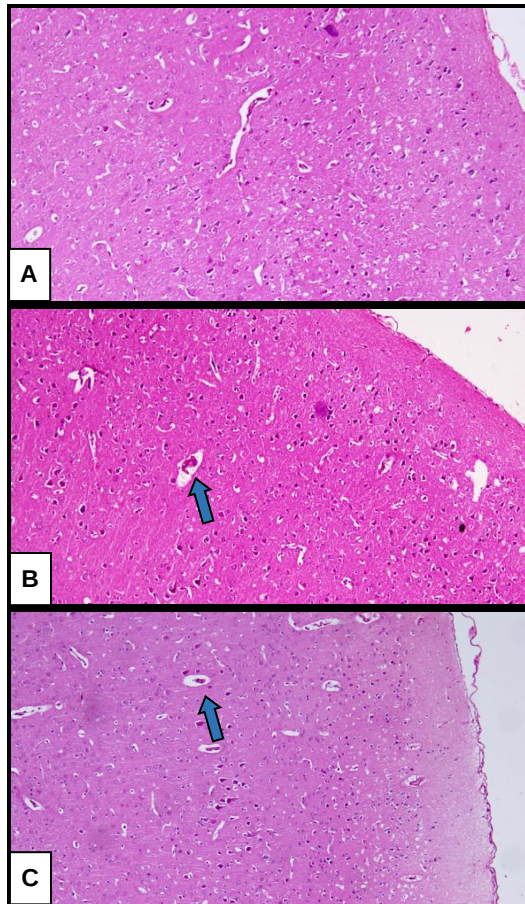
Setelah perlakuan selama 9 hari secara berturut-turut, pada hari ke-10 seluruh tikus diterminasi. Semua kelompok diterminasi menggunakan pembiusan dengan ketamin dosis 75-100mg/KgBB yang diberikan secara intraperitoneal. Setelah efek ketamin bekerja, tikus dibedah untuk mengambil otaknya. Otak yang telah diambil dibersihkan menggunakan NaCl dan direndam dalam larutan formalin 0.9%. Lalu otak tikus tersebut dikirim ke bagian Patologi Anatomi untuk dibuatkan preparat histologi dengan metode blok parafin dan pulasan H&E.

Setiap preparat otak akan diamati gambaran mikroskopisnya menggunakan mikroskop cahaya pada bagian korteks. Bagian yang diamati adalah sel neuron otak yang mengalami nekrosis. Gambaran yang dipilih adalah daerah yang mewakili kerusakan sel neuron paling banyak, kemudian dipilih 3 lapangan pandang yang paling representatif tanpa tumpang tindih pada daerah korteks serebri dengan perbesaran 400X. Parameter kerusakan sel neuron pada penelitian ini adalah sel neuron yang mengalami hipoksia iskemik, yang ditandai dengan inti sel neuron yang tampak gelap dan mengalami penyusutan (piknotik).²³ Setiap gambar dihitung dengan menggunakan aplikasi ImageJ 2018 versi 1.52a.

Penelitian ini telah mendapatkan surat keterangan lolos kaji etik yang dikeluarkan oleh Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Nomor suratnya adalah No: 339/KEP/FK/2020

Hasil

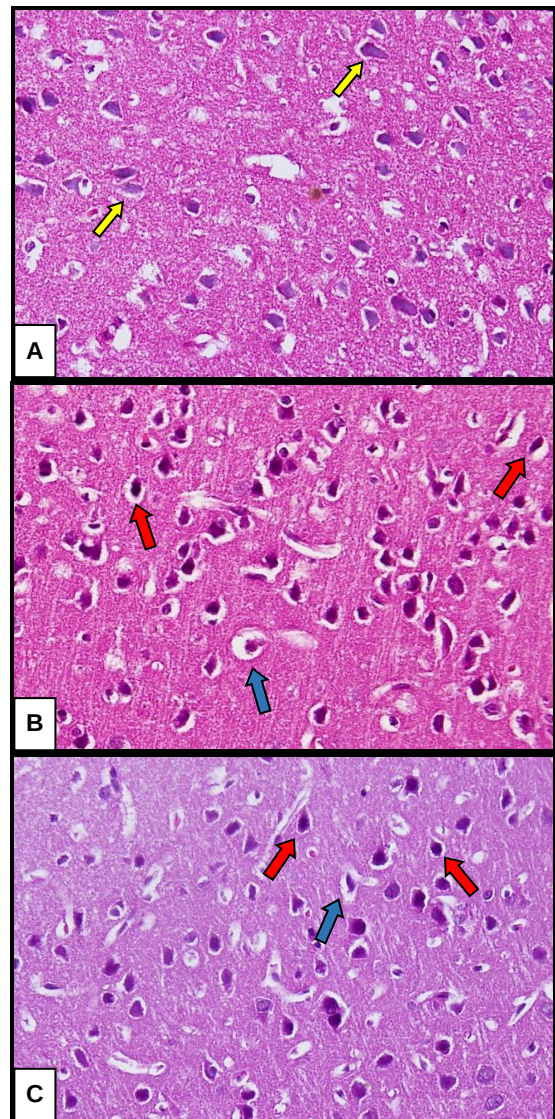
Penelitian ini dilakukan dengan tujuan melihat perbedaan gambaran mikroskopis sel neuron otak tikus antara kelompok yang hanya diberikan isoproterenol dengan kelompok yang diberikan isoproterenol dan ramipril. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Animal House* Biomedik, Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang dilaksanakan pada bulan Mei sampai Agustus 2020.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis korteks serebri perbesaran 100X. Pengecatan H&E. A) Kelompok kontrol negatif. B) Kelompok kontrol positif. C) Kelompok perlakuan

Gambar 1 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol positif (B) dan perlakuan (C) terdapat adanya edema jaringan otak yang ditandai dengan matriks yang tampak sembab serta pembuluh darah yang berdilatasi (panah). Sedangkan pada

kelompok kontrol negatif (A) tidak ditemukan edema jaringan.



Gambar 2. Gambaran mikroskopis korteks serebri perbesaran 400X. Pengecatan H&E. A) Kelompok kontrol negatif. Sel neuron normal ditunjukkan oleh panah kuning; B) Kelompok kontrol positif dan C) Kelompok perlakuan, terlihat adanya sel neuron yang rusak (panah merah), dan zona jernih yang mengelilingi sel neuron (panah biru).

Gambar 2 memperlihatkan bahwa pada kelompok negatif, yaitu kelompok yang tidak mendapatkan pemberian isoproterenol ataupun ramipril, terlihat sel neuron normal berbentuk piramidal (panah kuning). Sel yang rusak sangat sedikit sekali ditemukan pada gambaran ini. Sedangkan pada kelompok kontrol positif (B) dan kelompok perlakuan (C) ditemukan adanya sel neuron yang rusak ditandai dengan inti yang tampak menggelap dan mengalami penyusutan (piknotik). Selain itu juga ditemukan adanya zona jernih yang mengelilingi sel neuron yang mengindikasikan adanya proses edema intraseluler.

Pada gambar terlihat bahwa jumlah sel neuron yang mengalami kerusakan lebih banyak pada kelompok kontrol positif daripada kelompok perlakuan.

Tabel 1 Rerata kerusakan sel neuron

Kelompok	Persentase Kerusakan Sel Neuron		
	K(-) (n=6)	K(+) (n=6)	P (n=6)
Tikus 1	10.04	28.77	14.63
Tikus 2	4.85	26.91	15.79
Tikus 3	4.53	24.65	16.39
Tikus 4	3.95	24.30	20.36
Tikus 5	3.52	25.62	18.20
Tikus 6	10.31	27.57	18.59
Median	4.69	26.27	17.30
Minimum	3.52	24.30	14.63
Maksimum	10.31	28.77	20.36

Keterangan tabel

n : jumlah hewan coba

K(-) : kelompok kontrol negatif

K(+): kelompok kontrol positif

P : kelompok perlakuan

Data disajikan dalam bentuk median, nilai minimum dan maksimum

Data perbedaan (*p*) dinyatakan bermakna bila $p < 0.05$

Hasil yang didapatkan pada setiap kelompok penelitian disajikan dalam tabel 1. Dikarenakan data tidak terdistribusi dengan normal ($p < 0.05$) penyajian data dilakukan dengan menampilkan nilai median, nilai maksimum dan minimum. Didapatkan nilai median persentase kerusakan sel neuron pada kelompok kontrol negatif, positif dan perlakuan secara berturut-turut adalah 4.69%, 26.27%, dan 17.30%

Data yang didapat kemudian diuji dengan interval kepercayaan 95% dan taraf signifikansi 0.05 ($p = 0.05$). Hasil analisis ini diuraikan dalam uji normalitas data dan uji komparabilitas. Hasil pengukuran kerusakan sel neuron pada masing-masing kelompok selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengujian yang dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* dan didapatkan hasilnya adalah 0.030 pada kelompok kontrol negatif. Nilai $p < 0.05$ sehingga disimpulkan bahwa data tidak terdistribusi secara normal sehingga uji *One Way ANOVA* tidak dapat dilakukan. Selanjutnya analisis data dilakukan dengan menggunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis*.

Sebelum melakukan uji *Kruskal-Wallis*, terlebih dahulu dilakukan pengujian *Homogeneity of Variances* untuk mengetahui kesamaan varian data. Hasil uji didapatkan nilai $p = 0.101$ ($p > 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data antar kelompok sama. Selanjutnya dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil pengujian menunjukkan ada perbedaan rerata persentase kerusakan sel

neuron pada semua kelompok penelitian secara bermakna dengan nilai $p = 0.001$ ($p < 0.05$) setelah pemberian ramipril 3 mg/kgBB. Untuk mengetahui perbedaan signifikansi pada masing-masing kelompok dilakukan analisis lebih lanjut dengan menggunakan MWUT. Hasil uji MWUT disajikan dalam tabel 2

Tabel 2 Perbedaan Rerata Kerusakan Sel Neuron

Kelompok Penelitian		P
Kontrol (-)	Kontrol (+)	0.004*
	Perlakuan	0.004*
Kontrol (+)	Kontrol (-)	0.004*
	Perlakuan	0.004*
Perlakuan	Kontrol (-)	0.004*
	Kontrol (+)	0.004*

Keterangan :

Dilakukan dengan uji analisis *Mann Whitney U Test*

*Perbedaan signifikan ($p < 0.05$)

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai p untuk masing - masing kelompok adalah 0.004 ($p < 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan yang bermakna terjadi pada semua kelompok.

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan terjadi kerusakan pada sel neuron yang ditandai dengan inti sel neuron yang tampak gelap dan mengalami penyusutan pada kelompok kontrol positif. Kerusakan ini juga ditandai dengan adanya zona jernih yang mengelilingi sel piramidal.²⁴ Kerusakan yang terjadi disebabkan oleh induksi dari isoproterenol yang menyebabkan kerusakan jantung sehingga terjadi penurunan CO dan CBF sehingga aliran darah ke otak berkurang.¹⁰ Selain itu isoproterenol juga dapat secara langsung mengakibatkan terjadinya edema otak (walau efeknya kecil) melalui peningkatan kalsium intraseluler. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dan Song dkk yang menggunakan isoproterenol untuk menginduksi edema otak.¹⁶

Isoproterenol menstimulasi reseptor β -adrenergik cepat yang menghasilkan ROS yang memodulasi respon seluler dan fungsional dalam jantung. Isoproterenol memacu kerja jantung sehingga terjadi ketidakseimbangan antara kebutuhan (*demand*) dan ketersediaan oksigen jantung (*supply*).¹⁷ Penggunaan isoproterenol untuk menginduksi IMA pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Widyaningsih dkk yang menggunakan induksi

isoproterenol dosis 85mg/KgBB untuk memicu terjadinya IMA.¹⁴

Kerusakan pada jantung berupa IMA selanjutnya mengakibatkan penurunan CO dan CBF. Penurunan CBF akan memicu terjadinya hipoksia dan iskemia akut pada otak. Hal ini dikarenakan terjadinya disfungsi pada pompa Na-K yang menghasilkan terjadinya edema seluler yang ditandai dengan pembengkakan sel akibat peningkatan air yang memasuki sel karena berusaha mengimbangi kadar Na. Keadaan ini memicu terjadinya kelainan pada otak berupa edema jenis sitotoksik yang dapat terjadi hanya dalam hitungan menit.⁶ Pada tingkatan mikroskopis terjadinya kerusakan pada sel neuron berupa inti yang tampak gelap dan menyusut (piknotik).²³

Penelitian ini menggunakan induksi isoproterenol dosis 85mg/KgBB untuk menginduksi edema otak melalui mekanisme penurunan CBF oleh karena kerusakan jantung berupa IMA. Hasil yang didapatkan adalah terjadinya kerusakan sel neuron pada 6 sampel kelompok positif dengan rerata persentase kerusakan sebesar $26.30 \pm 1.748\%$. Penelitian terdahulu menyebutkan induksi isoproterenol dengan dosis 85mg/KgBB mengakibatkan terjadinya kerusakan pada miokard sebesar 50%.¹⁹ Besar persentase kerusakan ini menyebabkan penurunan CO yang juga mempengaruhi CBF sehingga kerusakan otak dapat terjadi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kaplan dkk yang mengatakan bahwa IMA dengan kerusakan miokard sebesar 45% pada gambaran histopatologinya dapat menurunkan CO sekitar 7mL/menit.¹⁰

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa pemberian ramipril pada hari pertama hingga hari ketujuh dengan disertai injeksi isoproterenol pada hari kedelapan dan kesembilan dapat menurunkan rerata persentase kerusakan sel neuron otak pada gambaran mikroskopisnya. Hal ini terlihat pada rerata persentase kerusakan sel neuron otak pada kelompok perlakuan lebih rendah dari pada kelompok kontrol positif (kelompok yang diberikan injeksi isoproterenol) yaitu secara berturut-turut 17.33 ± 2.101 dan $26.30 \pm 1.748\%$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ramipril mempengaruhi jumlah kerusakan sel neuron otak baik secara langsung

ataupun tidak langsung melalui perbaikan perfusi darah ke jantung.

Ramipril bekerja sebagai ACEI yang menghambat perubahan daripada enzim yang bertugas untuk mengubah angiotensin I menjadi angiotensin II. Kondisi ini akan menyupresi berbagai efek vasokonstriksi yang dipengaruhi oleh angiotensin II dalam susunan pembuluh darah sehingga resistensi perifer total dan tekanan darah akan menurun. Selain itu penghambatan konversi angiotensin I menjadi angiotensin II dapat memicu terjadinya efek vasodilatasi sehingga dapat memperbaiki perfusi darah. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bayir dkk yang memberikan ramipril dosis 3mg/KgBB pada tikus sebelum diinjeksikan isoproterenol untuk menginduksi kerusakan jantung. Bayir melaporkan bahwa kerusakan jantung yang ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel inflamasi, dan sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis pada gambaran histopatologi lebih rendah ditemukan pada kelompok yang diberikan ramipril daripada kelompok yang tidak diberikan ramipril.²¹ Pencegahan ini tentunya juga meminimalisir terjadinya penurunan CO dan CBF yang akan mempengaruhi kerusakan pada sel neuron.^{18,25}

Pada otak, pencegahan penurunan CBF dilakukan oleh bantuan NO, yang distimulasi oleh pencegahan perombakan bradikinin oleh ramipril, yang menggeser batas bawah kemampuan autoregulasi serebral sehingga pada saat tekanan darah arteri rata-rata yang seharusnya sudah tidak dapat dijangkau oleh autoregulasi serebral menjadi tercapai sehingga CBF pada kelompok ini masih lebih baik daripada kelompok kontrol positif. Hal ini dilihat dari rerata persentase kerusakan sel neuron kelompok perlakuan yang lebih rendah daripada kelompok kontrol positif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Garry dkk yang melaporkan bahwa NO dapat meningkatkan kinerja autoregulasi serebral.²²

Berdasarkan pemaparan di atas, terlihat bahwa ramipril melindungi kerusakan otak melalui dua mekanisme, yaitu secara langsung dengan bantuan NO yang dapat memperbaiki autoregulasi serebral atau secara tidak langsung melalui perbaikan perfusi darah jantung. Jantung sendiri seperti yang telah dijelaskan sebelumnya mengalirkan 15% darah yang dipompakan ke otak.⁹ Kerusakan pada jantung tentu akan

berdampak pada perfusi darah ke otak. Hal ini membuka peluang diadakannya penelitian lanjutan terkait pasien yang mengalami IMA yang diberikan ramipril setelahnya, mengingat ramipril dapat mencegah terjadinya iskemia berulang yang dapat berpengaruh terhadap penurunan CBF sebagaimana yang dijelaskan oleh Lilly dkk.⁸ Penelitian tersebut dapat ditujukan untuk mengetahui apakah pemberian ramipril pada pasien yang sudah mengalami IMA sebelumnya bermakna secara statistik mengurangi kejadian edema otak.

Perbedaan gambaran mikroskopis kelompok penelitian dilihat dari rerata persentase kerusakan sel neuron setiap kelompok penelitian (tabel 1). Pada penelitian ini parameter kerusakan yang diambil adalah sel neuron yang memiliki inti sel yang tampak gelap dan mengalami penyusutan (piknotik). Penghitungan sel dilakukan menggunakan aplikasi ImageJ 2018 versi 1.52a yang dilakukan pada 3 lapangan pandang yang paling representatif pada area korteks serebri. Hasil yang didapatkan untuk rerata persentase kerusakan sel neuron pada kelompok kontrol negatif, positif dan perlakuan secara berturut-turut adalah 6.2%, 26.3%, dan 17.33%. Kelompok penelitian yang memiliki rerata persentase kerusakan sel neuron paling banyak adalah kelompok kontrol positif sedangkan kelompok dengan kerusakan sel neuron paling sedikit adalah kelompok kontrol negatif.

Selanjutnya untuk mengetahui apakah perbedaan pada kelompok penelitian ini bermakna secara statistik dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Hal ini dikarenakan data pada penelitian ini tidak terdistribusi secara normal dikarenakan pada *Shapiro-Wilk Test* didapatkan nilai p adalah 0.030 pada kelompok kontrol negatif ($p < 0.05$) sehingga uji *One Way Anova* tidak dapat dilakukan. Selanjutnya dilakukan uji *Homogeneity of Variances* untuk mengetahui kesamaan varian data dan didapatkan hasil $p = 0.101$ ($p > 0.05$) sehingga dapat diasumsikan varian data antar kelompok sama. Hasil pengujian menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan adanya perbedaan rerata persentase kerusakan sel neuron pada semua kelompok secara bermakna dengan nilai $p = 0.001$ ($p < 0.05$).

Untuk mengetahui perbedaan signifikasi pada tiap-tiap kelompok dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan MWUT. Hasil yang didapatkan

adalah terdapat perbedaan yang signifikan antara semua kelompok dengan nilai $p = 0.004$ ($p < 0.05$). Angka ini sama pada uji yang dilakukan antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif, kontrol positif dengan perlakuan, dan kelompok negatif dengan perlakuan.

Simpulan

Pemberian ramipril dapat mengurangi jumlah kerusakan sel neuron otak tikus wistar yang mengalami edema otak dengan induksi isoproterenol. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang mendapatkan ramipril dengan kelompok tanpa ramipril. Jumlah sel neuron yang mengalami kerusakan lebih sedikit ditemukan pada kelompok dengan pemberian ramipril dibanding kelompok tanpa ramipril.

Ucapan Terima Kasih

Kepada dr. Gestina Aliska, SpFK, dr. Tofrizal, M.Biomed, SpPA, Ph.D, dr. Shinta Ayu Intan, Sp.PA dan dr. Alief Dhuha, Ph.D yang telah membantu penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Mahajan S, Bhagat H. Cerebral oedema: pathophysiological mechanisms and experimental therapies. *J Neuroanaesth Crit Care*. 2016;03(04):S22-S28.
2. Nehring SM, Tadin P, Tenny S. Cerebral edema [Internet]. In: StatPearls [Internet]: Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. 1 p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537272/> - Diakses April 2020
3. Dostovic Z, Dostovic E, Smajlovic D, Ibrahimagic OC, Avdic L. Brain edema after ischaemic stroke. *Med Arch*. 2016;70(5):339-341.
4. American Heart Association. 2020 Heart disease and stroke statistical update fact sheet at-a-glance. Published online 2020:1-5.
5. Ramadany AF, Pujarini LA, Candrasari A. Hubungan diabetes melitus dengan kejadian stroke iskemik di RSUD dr. Moewardi Surakarta tahun 2010. 2013;5:11-6.
6. Liang D, Bhatta S, Gerzanich V, Simard JM. Cytotoxic edema: Mechanisms of pathological cell swelling. *Neurosurg Focus*. 2007.
7. Husna U, Dalhar M. Patofisiologi dan penatalaksanaan edema serebri. *MNJ*. 2017;03(2).
8. Wilder J, Sabatine MS, Lilly LS. Sindroma Koroner Akut. In : Lilly LS. Patofisiologi penyakit jantung : kolaborasi mahasiswa dan dosen; alih bahasa Denio A. Ridjab; editor edisi Bahasa Indonesia, Dafsah A. Juzar. Edisi 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran MEDIK; 2019. 169-175 p.
9. Sherwood L. Introduction to human physiology. Edisi 8. China: Yolanda Cossio; 2013. 151-153 p.

10. Kaplan A, Yabluchanskiy A, Ghali R, Altara R, Booz GW, Zouein FA. Cerebral blood flow alteration following acute myocardial infarction in mice. *Biosci Rep.* 2018;38(5):0-3.
11. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the american heart association. *Circulation.* 2019.
12. Ghani L, Mihardja LK, Delima D. Faktor risiko dominan penderita stroke di indonesia. *Bul Penelit Kesehat.* 2016;44(1):49-58.
13. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian RI. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS) tahun 2013. http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2013/Laporan_riskesdas_2013_final.pdf - Diakses April 2020
14. Widyarningsih W, Sugiyanto, Widyarini S, Pramono S. Isoproterenol sebagai model infark miokardial akut pada tikus wistar. 2015;20.
15. Szymanski MW, Singh DP. Isoproterenol. *StatPearls*. Published online 2020.
16. Song D, Xu J, Du T, Yan E, Hertz L, Walz W et al. Inhibition of brain swelling after ischemia-reperfusion by β -adrenergic antagonists: correlation with increased K⁺ and decreased Ca²⁺ concentrations in extracellular fluid. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
17. Upaganlawar A, Gandhi H, Balaraman R. Isoproterenol induced myocardial infarction: protective role of natural products. *J Pharmacol Toxicol.* 2011;6(1):1-17.
18. Gunawan SG. Farmakologi dan terapi. 6th ed. Jakarta: Badan Penerbit FK UI; 2016. 345-365 p.
19. Goodman & Gilman : Manual farmakologi dan terapi/ editor, Laurence I. Brunton et al.; alih bahasa Elin Yulinah Sukandar et al.; editor bahasa indonesia, July Manurung et al. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2010. 485 p.
20. Volpe M. Should all patients at high cardiovascular risk receive renin-angiotensin system blockers?. *Qjm.* 2012;105(1):11-27.
21. Bayir Y, Halici Z, Karakus E, Albayrak A, Ferah I, Kabalar E et al. Comparing effects of lacidipine, ramipril, and valsartan against experimentally induced myocardial infarcted rats. *Cardiovasc Toxicol.* 2012;12(2):166-174.
22. Garry PS, Ezra M, Rowland MJ, Westbrook J, Pattinson KTS. The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment - from bench to bedside. *Exp Neurol.* 2015;263:235-243.
23. Rahaman P, Del Bigio MR. Histology of brain trauma and hypoxia-ischemia. *Acad Forensic Pathol.* 2018;8(3):539-54.
24. Korobitua S, Wangko S, Ticoalu SHR. Gambaran makroskopik dan mikroskopik otak besar pada hewan coba postmortem. *Je-Biomedik.* 2017;5(1).
25. Von Lueder TG, Wang BH, Kompa AR, Huang L, Webb R, Jordaan P, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 attenuates cardiac remodeling and dysfunction after myocardial infarction by reducing cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Hear Fail.* 2015;8(1):71-8.