



**HUBUNGAN ANTARA PEMBERIAN *ALPHA LIPOIC ACID*
DENGAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA OTAK
TIKUS MODEL CEDERA OTAK TRAUMATIK**

SKRIPSI

Oleh

**Nastiti Bakti Utami
NIM 142010101087**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**HUBUNGAN ANTARA PEMBERIAN *ALPHA LIPOIC ACID*
DENGAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA OTAK
TIKUS MODEL CEDERA OTAK TRAUMATIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Nastiti Bakti Utami
NIM 142010101087

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas rahmat, hidayah, anugerah dan kesempatan yang telah diberikan kepada saya;
2. Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan dan tauladan;
3. Orang tua saya tercinta, Bapak Santosa dan Ibu Yekti Purwani yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang dan dukungan tiada henti serta telah mendidik dan menjadikan saya manusia yang lebih baik;
4. Adik saya Nisa Dwirahma Widhiasih dan Nafisa Nur Azmi Saniarsa yang selalu memberikan semangat yang memotivasi saya;
5. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah mendidik dan memberi ilmu dengan penuh kesabaran;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Sesungguhnya beserta kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.
(terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 6-8)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia*. Bogor: Sygma.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nastiti Bekti Utami

NIM : 142010101087

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Hubungan antara Pemberian *Alpha Lipoic Acid* dengan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata pernyataan ini tidak benar.

Jember, 6 Desember 2017

Yang menyatakan,

Nastiti Bekti Utami
NIM 142010101087

SKRIPSI

**HUBUNGAN ANTARA PEMBERIAN *ALPHA LIPOIC ACID*
DENGAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA OTAK
TIKUS MODEL CEDERA OTAK TRAUMATIK**

Oleh

Nastiti Bekti Utami
NIM 142010101087

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Dini Agustina, M.Biomed

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Erfan Efendi, Sp. An

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Hubungan antara Pemberian *Alpha Lipoic Acid* dengan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

hari , tanggal : Rabu, 6 Desember 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

dr. Laksmi Indreswari, Sp. B.
NIP 198309012008012012

dr. Hairrudin, M.Kes.
NIP 197510112003121008

Anggota II,

Anggota III,

dr. Dini Agustina, M.Biomed.
NIP 198308012008122003

dr. Erfan Efendi, Sp. An.
NIP 196803281999031001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Hubungan antara Pemberian *Alpha Lipoic Acid* dengan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik; Nastiti Bekti Utami, 142010101087; 2017; 62 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Chronic traumatic encephalopathy (CTE) adalah sindrom neurodegeneratif progresif yang disebabkan oleh cedera benda tumpul yang mengenai kepala secara tunggal, episodik, berulang dan transfer kekuatan akselerasi-deselerasi ke otak. Penyakit ini ditandai dengan atrofi sebagian otak yang mengakibatkan disfungsi kognitif, afektif dan tingkah laku selanjutnya mengakibatkan demensia, alzheimer dan parkinsonisme. Cedera otak traumatik akan meningkatkan radikal bebas dalam jaringan otak. Pada kondisi antioksidan dalam tubuh tidak dapat mengompensasi radikal bebas yang meningkat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif selanjutnya akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid yang akan merusak sel dengan memecah PUFA sehingga menghasilkan malondialdehid (MDA) yang merupakan biomarker adanya radikal bebas yang tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan dalam tubuh. *Alpha lipoic acid* (ALA) merupakan antioksidan potensial yang memiliki kemampuan luas karena sifatnya yang larut dalam air dan lemak sehingga dapat berdifusi pada lingkungan lipofilik maupun hidrofilik dan menembus sawar darah otak. Selain itu ALA juga berperan dalam regenerasi antioksidan lain, seperti vitamin C dan E, koenzim Q, dan glutathion.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *true experimental design* secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*, bertujuan untuk mengetahui hubungan antara pemberian *alpha lipoic acid* dengan kadar MDA pada otak tikus model cedera otak traumatik. Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakologi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 28 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan berat 150-200 gram yang diambil secara *simple*

random sampling dan dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok normal (N), kelompok kontrol positif (K₍₊₎), kelompok kontrol negatif (K₍₋₎), kelompok perlakuan 1 (K₁), kelompok perlakuan 2 (K₂), kelompok perlakuan 3 (K₃) dan kelompok perlakuan 4 (K₄). Kelompok normal tidak diberi obat maupun perlakuan cedera otak traumatik. Kelompok kontrol positif K₍₊₎ diberikan citicoline intraperitoneal dengan dosis 6,75mg/150gBB 5 menit sebelum perlakuan. Kelompok kontrol negatif K₍₋₎ diberikan NaCl 0,9% sebanyak 1,5 ml intraperitoneal 5 menit sebelum perlakuan. Dosis ALA yang digunakan yaitu 600mg/hari untuk manusia yang dikonversi menjadi dosis untuk tikus sebesar 8,1 mg/150gBB. Kelompok perlakuan K₁, K₂, K₃ dan K₄ diinjeksi ALA intraperitoneal dengan variasi dosis 1,0125mg/150gBB, 2,025mg/150gBB, 4,05mg/150gBB dan 8,1mg/150gBB 5 menit sebelum perlakuan cedera otak traumatik. Sampel dianestesi sebelum diberi perlakuan cedera otak traumatik menggunakan pethidine dengan dosis 0,45mg/150gBB dan midazolam 0,75mg/150gBB diinjeksikan intraperitoneal. Perlakuan cedera otak traumatik menggunakan alat *non penetration closed head injury* menggunakan prinsip *weight drop injury* dengan gaya sebesar 0,84 Joule. Perlakuan diberikan 1 kali per hari selama 30 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar MDA dari jaringan otak tikus dengan metode MDA-TBA.

Data yang didapat berupa kadar MDA dengan satuan $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengukuran rata-rata kadar MDA \pm SD tiap kelompok perlakuan yaitu N 1,64 \pm 0,61; K₍₊₎ 2,09 \pm 0,17; K₍₋₎ 4,87 \pm 0,86; K₁ 2,73 \pm 0,60; K₂ 2,68 \pm 0,35; K₃ 2,20 \pm 0,23 dan K₄ 2,02 \pm 0,16. Hasil pengukuran kadar MDA otak diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hubungan pemberian dosis ALA dengan kadar MDA otak dianalisis dengan uji korelasi *Pearson* dilanjutkan uji regresi untuk mengetahui dosis efektif ALA. Terdapat hubungan negatif yang kuat antara pemberian ALA terhadap kadar MDA otak tikus model cedera otak traumatik, yaitu semakin semakin tinggi pemberian dosis ALA maka semakin turun kadar MDA otak tikus ($p < 0,05$). Sedangkan untuk dosis efektif dari ALA untuk mencegah peningkatan kadar MDA otak tikus yaitu 8,625 mg/150gBB.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Hubungan antara Pemberian *Alpha Lipoic Acid* dengan Kadar Malondialdehid (MDA) pada Otak Tikus Model Cedera Otak Traumatik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Dini Agustina, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Erfan Efendi, Sp. An selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
2. dr. Laksmi Indreswari, Sp. B dan dr. Hairrudin, M.Kes sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Ida Srisurani Wiji Astuti selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
4. Orang tua saya tercinta, Bapak Santosa dan Ibu Yekti Purwani, terima kasih atas doa, kasih sayang dan dukungan tiada henti yang telah diberikan setiap waktu;
5. Nisa Dwirahma Widhiasih dan Nafisa Nur Azmi Saniarsa, adik-adik saya yang selalu memberikan doa dan semangat yang memotivasi saya;
6. Keluarga besar Mbah Kung Basir dan Mbah Yi Parni yang telah memberikan doa dan dukungan demi terselesaikannya penelitian ini;
7. Sahabat-sahabat saya Rudy Gunawan, Gusfita Trisna Ayu Putri, Khanif Muflikhatun, dan Nadia Jean Romadhon yang telah menjadi rekan kerja terbaik dan memberi semangat selama penelitian;

8. Sahabat-sahabat saya Faradila Praginta Syaputri, Khana Nurfadhila, Sheillavi Fauziah Alex Saddamiah, Nur Ulfiatus Sholichah, Nikmatul Maula Nur Rahmadani, Sastika Herdiyanti Rifultono Doom, Trinita Diyah Permatasari, Monika Rosyidah, Fairuza Nafilahsari, Nourma Sabila, Emma Enggar Safitri, dan Rifki Dwisetyo Wicaksono yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini;
9. Sahabat-sahabat saya Eria Nikmatul Hidayani, Firda Nirmala Putri, dan Vidilla Aurin yang telah memberikan dukungan dan semangat sejak bangku SMP;
10. Mbak Nuris selaku Analis Laboratorium Biokimia dan Mbak Lilik selaku analis Laboratorium Farmakologi yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
11. Keluarga besar angkatan 2014 Elixir Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah berjuang bersama-sama demi gelar Sarjana Kedokteran;
12. Keluarga besar Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
13. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
14. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengaharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Chronic Traumatic Encephalopathy</i>	4
2.1.1 Definisi	4
2.1.2 Epidemiologi	4
2.1.3 Faktor Risiko	4
2.1.4 Patogenesis	5
2.1.5 Manifestasi Klinis	6
2.2 Radikal Bebas	8
2.3 Antioksidan	9
2.4 Stres Oksidatif	10

2.5 Malondialdehyde (MDA)	10
2.6 Alpha Lipoic Acid	11
2.6.1 Aktivitas ALA sebagai Antioksidan	12
2.6.2 Manfaat ALA	14
2.6.3 Peran ALA terhadap Perkembangan Otak akibat Chronic Traumatic Ensefalopathy terhadap Hewan Coba	15
2.6.4 Dosis	16
2.6.5 Efek Samping	17
2.7 Citicoline	17
2.7.1 Farmakokinetik Citicoline	18
2.7.2 Mekanisme Kerja	19
2.7.3 Toksikologi	19
2.8 Kerangka Teori	21
2.9 Kerangka Konsep Penelitian	22
2.10 Hipotesis Penelitian	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Rancangan Penelitian	23
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	24
3.3.1 Populasi Penelitian	24
3.3.2 Sampel Penelitian	24
3.3.3 Kriteria Inklusi	24
3.3.4 Kriteria Eksklusi	25
3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.5 Variabel Penelitian	25
3.5.1 Variabel Bebas	25
3.5.2 Variabel Terikat	25
3.5.3 Variabel Terkendali	25
3.6 Definisi Operasional	26
3.6.1 Dosis <i>Alpha Lipoic Acid</i>	26

3.6.2 Kadar MDA Otak	26
3.6.3 Perlakuan Cedera Otak Traumatik	26
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.7.1 Alat Penelitian	27
3.5.1 Bahan Penelitian	27
3.8 Prosedur Penelitian	27
3.8.1 Uji Kelayakan Etik	27
3.8.2 Adaptasi Hewan Coba	28
3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan	28
3.8.4 Pemberian Dosis Citicholine	28
3.8.5 Pemberian Dosis <i>Alpha Lipoic Acid</i> (ALA)	29
3.8.6 Pemberian Dosis Plasebo	29
3.8.7 Pemberian Dosis Anestesi	30
3.8.8 Perlakuan Cedera Otak Traumatik pada Hewan Coba .	30
3.8.9 Pemeriksaan Kadar MDA Otak Tikus	31
3.9 Analisis Data	32
3.11 Alur Penelitian	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Penelitian	34
4.2 Analisis Data	35
4.3 Pembahasan	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Gejala awal <i>chronic traumatic encephalopathy</i>	7
3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan	28



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia MDA	10
2.2 Struktur kimia <i>alpha lipoic acid</i>	11
2.3 Aktivitas ALA terhadap radikal bebas	15
2.4 Struktur kimia Citicoline	17
2.5 Kerangka teori	21
2.6 Kerangka konsep penelitian	22
3.1 Skema rancangan penelitian	23
3.2 Alat <i>weight drop traumatic brain injury</i>	30
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan.....	48
3.2 Tabel Konversi Perhitungan Dosis Untuk Berbagai Jenis (Spesies) Hewan Uji.....	59
3.3 Etik Penelitian	50
3.4 Perhitungan Dosis Hewan Coba	52
4.1 Kurva Standar Malondialdehid	53
4.2 Data Kadar MDA Otak	54
4.3 Hasil Analisis Statistik	55
4.4 Dokumentasi Penelitian	61

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Chronic traumatic encephalopathy (CTE) adalah sindrom neurodegeneratif progresif yang disebabkan cedera benda tumpul yang mengenai kepala secara tunggal, episodik, atau berulang dan perpindahan gaya akselerasi-deselerasi pada otak (Omalu *et al.*, 2011). CTE merupakan konsekuensi jangka panjang dari cedera otak traumatik berulang yang biasanya terjadi pada atlet olahraga maupun tentara yang ada di medan perang (Wold *et al.*, 2015). Berdasarkan tinjauan di Amerika Serikat dari 51 kasus neuropatologi yang telah dikonfirmasi mengalami CTE, 46 (90%) diantaranya terjadi pada atlet, meliputi 39 orang petinju yang telah bertanding selama 4 hingga 25 tahun, 5 orang pemain *football* Amerika yang telah bermain selama 14 hingga 23 tahun, 1 orang pegulat dan 1 orang pemain sepak bola (McKee *et al.*, 2009). Di Indonesia belum banyak penelitian tentang CTE namun kasus cedera otak traumatik terus meningkat. Data cedera kepala di RS dr. Wahidin Sudirohusodo Makasar pada tahun 2006 terdapat 817 kasus dan tahun 2007, 1078 kasus. Data di RS dr. Saiful Anwar Malang tahun 2007 terdapat 89 kasus cedera kepala berat dengan angka kematian 42,7% (Purwati, 2009; Lisnawati, 2012).

Chronic traumatic encephalopathy dapat menyebabkan atrofi dari sebagian otak sehingga menimbulkan disfungsi kognitif, afektif dan tingkah laku selanjutnya mengakibatkan gangguan berbicara, gangguan pengelihatian demensia, alzheimer dan parkinsonisme (Baugh *et al.*, 2012). Sebagian kecil kasus CTE berkembang menjadi demensia sebelum meninggal dan tidak jarang pasien akan bunuh diri, meninggal karena kecelakaan, atau overdosis obat pada usia dini (Gavett *et al.*, 2011).

Otak sangat rentan terhadap stres oksidatif karena menggunakan oksigen relatif besar dibanding massanya, memiliki kapasitas perbaikan sel yang rendah dan sifat jaringan otak yang tidak replikatif. Jaringan otak terutama terbentuk dari lipoprotein, dengan konsentrasi *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) tinggi yang mudah mengalami peroksidasi lipid (Homi *et al.*, 2002). Cedera otak traumatik

akan meningkatkan radikal bebas yang akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan merusak sel karena strukturnya belum stabil dan mencari pasangan elektron lainnya dari membran sel dengan cara memecah PUFA sehingga menghasilkan malondialdehid (MDA) yang menjadi salah satu biomarker adanya radikal bebas yang tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan dalam tubuh (Ayala *et al.*, 2014).

Radikal bebas memerlukan antioksidan untuk menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan. Secara alami, tubuh memiliki sistem pertahanan untuk menghadapi serangan radikal bebas dengan mengaktifkan antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, metionin reduktase, glutathion peroksidase (GSH-Px), dan glutathion reduktase. Selain itu, terdapat antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh yang terdapat dalam makanan sehari-hari, seperti minyak ikan, hati, buah, sayur, vitamin (vitamin C, vitamin E), mineral (zinc, selenium), beta karoten, likopen, asam lemak, *alpha lipoic acid* (ALA) dan senyawa lainnya (Stahl & Sies, 2002).

Selama ini pencegahan CTE hanya memakai helm sebagai alat pelindung diri pada benturan kepala seperti pada permainan *rugby* atau *hockey*, namun ternyata hal tersebut belum efektif dan tidak bisa meminimalisir terjadinya CTE (Cusimano, 2010) sehingga perlu pencegahan alternatif untuk mengurangi angka morbiditas CTE. *Alpha lipoic acid* merupakan antioksidan potensial yang memiliki kemampuan yang luas karena sifatnya yang larut dalam air dan lemak sehingga dapat berdifusi pada lingkungan lipofilik maupun hidrofilik dan menembus sawar darah otak (Suzuki *et al.*, 1993). ALA juga berperan dalam regenerasi antioksidan lain, seperti vitamin C dan E, koenzim Q, dan glutathion (Mason, 2001; Kim *et al.*, 2013). ALA dengan dosis 50 mg/kg memiliki efek neuroprotektif pada cedera medula spinalis pada tikus metode penjatuhan beban standar 10 gram dari ketinggian 10 cm (Toklu *et al.*, 2010). Efek neuroprotektif lain terbukti pada tikus yang diinduksi haloperidol dengan dosis 2 mg/kgBB selama 21 hari ditandai dengan berkurangnya atrofi neuron (Perera *et al.*, 2011). Selain itu, ALA juga dapat menjadi agen terapi pada iskemi dan gangguan

reperfusi (Glantzounis *et al.*, 2006) dan neuropati diabetik yang berkaitan dengan stres oksidatif (Foster, 2007).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti merasa perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan pemberian ALA dengan kadar MDA pada otak tikus model cedera otak traumatik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti merumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah terdapat hubungan antara pemberian *alpha lipoic acid* dengan kadar malondialdehid (MDA) pada otak tikus model cedera otak traumatik?
2. Berapakah dosis efektif *alpha lipoic acid* dalam mencegah peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada otak tikus model cedera otak traumatik?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui hubungan antara pemberian *alpha lipoic acid* dengan kadar malondialdehid (MDA) pada otak tikus model cedera otak traumatik.
- b. Mengetahui dosis efektif *alpha lipoic acid* dalam mencegah peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada otak tikus model cedera otak traumatik.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat keilmuan

Dapat dijadikan sebagai informasi ilmiah mengenai potensi *alpha lipoic acid* sebagai neuroprotektor dalam mencegah peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada otak tikus model cedera otak traumatik.

1.4.2 Manfaat aplikatif

Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat, khususnya di bidang olahraga untuk melakukan upaya preventif dan mengurangi morbiditas pada cedera otak traumatik.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Chronic Traumatic Encephalopathy*

2.1.1 Definisi

Chronic traumatic encephalopathy (CTE) adalah sindrom neurodegeneratif progresif yang disebabkan oleh cedera benda tumpul yang mengenai kepala secara tunggal, episodik, atau berulang dan transfer kekuatan akselerasi-deselerasi ke otak (Omalu *et al.*, 2011). CTE ditandai dengan atrofi belahan otak, lobus temporal medial, thalamus, badan mamilari, dan batang otak, dengan dilatasi ventrikel dan cavum septum pellucidum (McKee *et al.*, 2009). Atrofi dari sebagian otak mengakibatkan disfungsi kognitif, afektif dan tingkah laku selanjutnya mengakibatkan gangguan berbicara, gangguan pengelihan demensia, alzheimer dan parkinsonisme (Baugh *et al.*, 2012). Sebagian kecil kasus CTE berkembang menjadi demensia sebelum meninggal dan tidak jarang pasien akan bunuh diri, meninggal karena kecelakaan, atau overdosis obat pada usia dini (Gavett *et al.*, 2011).

2.1.2 Epidemiologi

Berdasarkan tinjauan di Amerika Serikat dari 51 kasus neuropatologi yang telah dikonfirmasi mengalami CTE, 46 (90%) diantaranya terjadi pada atlet, meliputi 39 orang petinju yang telah bertanding selama 4 hingga 25 tahun, 5 orang pemain *football* Amerika yang telah bermain selama 14 hingga 23 tahun, 1 orang pegulat dan 1 orang pemain sepak bola (McKee *et al.*, 2009).

2.1.3 Faktor Risiko

Beberapa faktor yang diduga dapat meningkatkan risiko dan mempengaruhi terjadinya CTE yaitu:

a. Riwayat cedera otak berulang

Riwayat cedera otak berulang menjadi faktor risiko yang sangat penting terhadap terjadinya CTE. Meskipun demikian beberapa individu yang mengalami cedera otak berulang tidak menunjukkan adanya CTE setelah

dilakukan pemeriksaan neuropatologi. Hal ini kemungkinan karena kekuatan pukulan ke kepala kurang adekuat untuk menimbulkan gejala klinis dan memulai kaskade terjadinya CTE (McKee *et al.*, 2009).

b. Usia saat otak mulai mengalami cedera otak berulang

Ada kemungkinan bahwa cedera otak pada usia muda lebih rentan mengalami defisit kognitif yang lebih parah di kemudian hari (Field *et al.*, 2003; Püllela *et al.*, 2006).

c. Mekanisme terjadinya cedera otak berulang

Besarnya kekuatan pukulan, frekuensi dan posisi cedera otak dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat keparahan CTE dan defisit neurologis yang timbul (Crisco *et al.*, 2010).

d. Predisposisi genetik

Indikasi bahwa adanya predisposisi genetik dapat menjadi faktor risiko CTE dipengaruhi oleh gen apolipoprotein E (APOE) alel $\epsilon 4$. APOE merupakan gen terkuat yang diduga menyebabkan penyakit Alzheimer. APOE $\epsilon 4$ berhubungan dengan lamanya waktu penyembuhan dan tingkat keparahan defisit kognitif cedera otak traumatik tunggal pada petinju dan pemain *football* Amerika (Kutner *et al.*, 2000). Individu dengan pembawa gen APOE $\epsilon 4$ menunjukkan penurunan kemampuan untuk memperbaiki kerusakan otak karena cedera berulang. Pada 12 kasus CTE, 5 kasus merupakan karier gen APOE $\epsilon 4$ dan 2 diantaranya merupakan homozigot (McKee *et al.*, 2009).

2.1.4 Patogenesis

Cedera otak traumatik meliputi cedera otak primer dan sekunder. 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 langsung. Proses kematian sel primer ini berlangsung relatif cepat, diikuti dengan proses degenerasi pada sel neuron. Salah satu aspek penting dari cedera otak primer adalah depolarisasi yang terjadi akibat benturan, ditandai dengan peningkatan ion kalium ekstraseluler dan memicu

pelepasan neurotransmitter eksitatorik glutamat (Kochanek *et al.*, 2007). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tidak semua kerusakan neuron yang berkontribusi terhadap luaran yang buruk pada cedera otak traumatik terjadi pada waktu cedera primer, sebagian besar kerusakan neuron justru diakibatkan oleh cedera otak sekunder karena bersifat lebih progresif dan menjadi faktor yang menentukan dalam pemulihan cedera otak traumatik. Cedera sekunder yang terjadi meliputi peningkatan asam amino eksitatorik, ketidakseimbangan ion, penurunan kadar ATP, aktivasi enzim proteolitik dan stres oksidatif yang akan menyebabkan terjadinya disfungsi neuron bahkan kematian neuron (Suarjaya *et al.*, 2012). Faktor molekuler yang terlibat termasuk perubahan mekanik pada membran sel yang mengakibatkan adanya gangguan homeostasis ion, adanya influks kalsium, pembentukan ROS dan radikal oksigen, dan gangguan mekanisme homeostasis kalsium yang akan mengakibatkan kematian sel melalui aktivasi jalur enzim proteolitik (Greve & Zink, 2009).

Terdapat suatu protein penting di otak yang membantu menstabilkan dan mendukung struktur tertentu dalam sel otak, termasuk sistem transportasi internal sel yaitu protein tau. Cedera berulang dapat menyebabkan protein tau gagal melipat dan mengubah bentuknya. Kegagalan melipat dari protein tau menyebabkan protein tau terlepas ke dalam sel kemudian mengaktifkan reaksi berantai yang menyebabkan degenerasi neuron dan menyebar ke sel-sel di dekatnya. Hal ini akan menyebabkan kerusakan sel-sel otak yang menimbulkan terjadinya CTE dan munculnya gejala berupa gangguan kognitif, afektif dan tingkah laku (McKee *et al.*, 2013).

2.1.5 Manifestasi Klinis

Gejala awal CTE diketahui mulai muncul pada usia sekitar 25 sampai 76 tahun, sepertiga diantaranya mengalami gejala saat pensiun dari olah raga dan setengahnya saat berhenti menjadi atlet selama 4 tahun. Umumnya gejala yang muncul berupa hilang ingatan, mudah marah, cenderung agresif atau melakukan tindak kekerasan, bingung, gangguan berbicara, kemunduran tingkah laku, gangguan berjalan, ketidakstabilan postur, sakit kepala dan parkinsonisme. Pada

14 kasus terjadi gangguan afektif menetap berupa depresi (28%) meliputi *euphoric dementia*, depresi manik dan bipolar (McKee *et al.*, 2013).

Gejala berupa perubahan kognitif dan perilaku berhubungan dengan daerah atau regio kerusakan otak yang mengalami CTE. Perubahan neuropsikologis dan neuropsikiatri yang terjadi berkaitan dengan CTE dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kategori seperti pada Tabel 2.1 (Baugh *et al.*, 2012).

Tabel 2.1 Gejala awal *chronic traumatic encephalopathy*

Domain	Gejala
Kognitif	Penurunan daya ingat Gangguan fungsi eksekutif (contoh : gangguan fungsi perencanaan, organisasi, penilaian) Depresi
Afektif (<i>mood</i>)	Apatis Mudah marah Keinginan bunuh diri Ketidakmampuan mengontrol rangsangan (contoh : “sumbu pendek”, lepas kendali)
Tingkah laku	Gangguan inhibisi Ketergantungan dan penyalahgunaan zat terlarang Agresif dan meningkatnya tindak kekerasan

Gejala-gejala ini umumnya mulai muncul bertahun-tahun bahkan puluhan tahun setelah mengalami trauma kepala berulang ketika degenerasi saraf sudah cukup parah untuk memunculkan gejala klinis. Pada tahap awal neuropatologi CTE dapat tidak menimbulkan gejala klinis. Tahap selanjutnya dari CTE ketika gangguan kognitif, afektif dan tingkah laku menjadi semakin buruk dan terjadinya demensia pada semua kasus di usia lanjut (≥ 65 tahun) dengan CTE tahap lanjut (Baugh *et al.*, 2012).

Seiring dengan buruknya gejala klinis yang muncul pada tahap lanjut akan semakin sulit untuk membedakan CTE dengan penyakit lain yang mendasari demensia. Meskipun demikian, gejala awal CTE dapat dibedakan dengan penyakit lain penyebab demensia, misalnya *frontotemporal dementia* (FTD). Gejala FTD umumnya dimulai pada usia 45-65 tahun dengan progresifitas yang cepat dan adanya riwayat demensia dalam keluarga pada 40% kasus. Sedangkan, gejala

awal CTE umumnya muncul pada usia 30-50 tahun dengan progresifitas yang lambat dan tidak ada riwayat dari keluarga. Meskipun tidak menjadi standar untuk membedakan CTE dengan FTD namun semua kasus CTE pasti mempunyai riwayat paparan cedera otak berulang yang tidak dimiliki oleh FTD (Baugh *et al.*, 2012).

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif karena kehilangan satu atau lebih elektron yang bermuatan listrik dan untuk mengembalikan keseimbangannya radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Kumar *et al.*, 2007).

Setiap saat tubuh terpapar oleh radikal bebas. Radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh secara alami disebut radikal bebas endogen, sedangkan yang berasal dari luar tubuh disebut radikal bebas eksogen (Lingga, 2012). Sumber radikal bebas tersebut adalah sebagai berikut (Pham-Huy *et al.*, 2008).

- a. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, timbul akibat proses enzimatik di dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi yang berlangsung pada proses respirasi sel, proses pencernaan, dan proses metabolisme aerobik normal. Radikal bebas ini dikenal sebagai senyawa oksigen reaktif atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). Di dalam tubuh, ROS diproduksi oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma, dan inti sel.
- b. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, timbul akibat bermacam-macam proses non-enzimatik di dalam tubuh, merupakan reaksi oksigen dengan senyawa organik dengan cara ionisasi dan radiasi, contohnya proses inflamasi dan iskemia.
- c. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh berupa polutan seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, radiasi sinar matahari (sinar UV), makanan berlemak, kopi, alkohol, obat, bahan racun, pestisida dan lain-lain.

Peningkatan radikal bebas pun dapat dipicu oleh stres atau olah raga yang berlebihan. Radikal bebas yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan sampai ke tingkat seluler karena pengambilan elektron baik dari komponen lemak, protein, DNA maupun kerusakan pada sel yang berhubungan dengan proses penuaan (Moini *et al.*, 2002). Dalam keadaan normal tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap perusakan oleh radikal bebas yang beragam dan tersebar di berbagai tempat dalam sel dikenal sebagai antioksidan endogen. Menurut konsep radikal bebas, kerusakan sel akibat molekul radikal baru dapat terjadi bila kemampuan mekanisme pertahanan antioksidan tubuh sudah dilampaui atau menurun (Halliwell & Gutteridge, 2007).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas sehingga menjadi stabil dan menghambat terjadinya reaksi berantai pembentukan radikal bebas baru (Halliwell & Gutteridge, 2007).

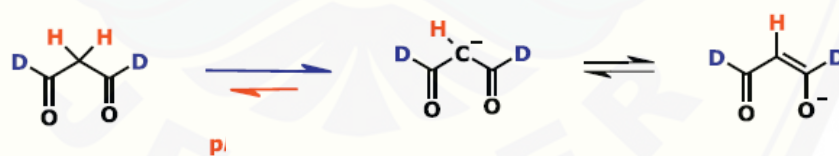
Secara alami, tubuh memiliki sistem pertahanan untuk menghadapi serangan radikal bebas dengan mengaktifkan kinerja antioksidan endogen atau antioksidan primer yang diproduksi oleh tubuh, meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, metionin reduktase dan glutathion peroksidase (GSH-Px), dan glutathion reduktase (GR). Seluruh antioksidan endogen tersebut berupa enzim yang bekerja menetralkan radikal bebas hasil metabolisme tubuh atau radikal bebas dari luar tubuh, sehingga antioksidan endogen dapat disebut juga sebagai antioksidan enzimatis (Lingga, 2012). Sedangkan antioksidan eksogen adalah antioksidan yang berasal dari luar tubuh seperti minyak ikan, hati, jeruk, nanas, sayuran hijau, dan dapat berupa vitamin (vitamin C, vitamin E), mineral (zinc, selenium), beta karoten, likopen, asam lemak, *alpha-lipoic acid* (ALA) dan sejumlah senyawa lainnya (Stahl & Sies, 2002).

2.4 Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan. Pada usia muda, keseimbangan antara radikal bebas dan pertahanan antioksidan berfungsi dengan baik, seiring dengan penambahan usia, keseimbangan tersebut terganggu. Kelebihan radikal bebas akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan sel atau jaringan. Stres oksidatif yang diinduksi oleh radikal bebas telah dikaitkan dengan beberapa penyakit seperti penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, iskemia, proses penuaan dan penyakit neurodegeneratif (parkinson, alzheimer) (Dhibi *et al.*, 2011).

2.5 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehid yang memiliki tiga rantai karbon dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. Senyawa ini merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh (Tsikas *et al.*, 2015). Malondialdehid merupakan produk oksidasi asam lemak tak jenuh oleh radikal bebas sehingga banyak digunakan sebagai indikator stres oksidatif yang dapat ditentukan secara spesifik maupun non-spesifik dalam suatu pengukuran menggunakan asam (Repetto *et al.*, 2012).



Gambar 2.1 Struktur kimia MDA (Tsikas *et al.*, 2015)

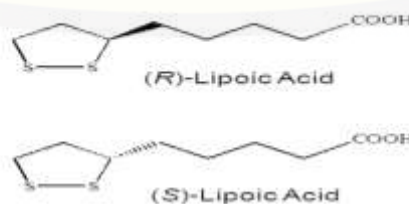
Malondialdehid dihasilkan oleh radikal bebas melalui proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan reaksi rantai antara radikal bebas maupun oksidan dengan lipid yang mengandung ikatan karbon rangkap lebih dari satu yaitu PUFA. Peroksidasi lipid melibatkan pemisahan hidrogen dari rantai karbon yang digantikan oleh oksigen untuk menjadikan *lipid peroxy radicals* dan lipid hidroperoksida. Radikal hidroksil merupakan radikal bebas paling reaktif yang

dengan mudah menempel pada membran sel karena pada membran sel terdapat PUFA selanjutnya menginduksi reaksi peroksidasi lipid. Hasil utama dari reaksi tersebut adalah lipid hidroperoksida namun ada hasil lain yang juga membahayakan bagi sel yaitu malondialdehid (MDA), propanal, heksanal dan 4-hidroksinoneal. 4-hidroksinoneal (4HNE) bersifat sitotoksik pada mikrosomal lipid. Lipid peroksida akan menempel pada asam lemak bebas, triasilgliserol, fosfolipid dan sterol pada membran sel (Ayala *et al.*, 2014).

Keunggulan pemeriksaan MDA dibandingkan dengan produk peroksidasi lipid yang lain yaitu signifikan, lebih akurat, stabil daripada senyawa lainnya dan sangat cocok sebagai biomarker untuk stres oksidatif karena beberapa alasan yaitu pembentukan MDA meningkat sesuai dengan peningkatan stres oksidatif, kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode yang telah tersedia, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, pengukurannya tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak dalam diet, merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, dan terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis sehingga memungkinkan untuk menentukan referensi interval (Swastika, 2013).

2.6 *Alpha Lipoic Acid*

Alpha-lipoic Acid (ALA), atau *1,2-dithiolane-3-pentanoic acid*, merupakan komponen dithiol yang secara alami disintesis secara *de novo* di dalam mitokondria dari asam oktanoat. ALA merupakan suatu kofaktor untuk enzim *ketoacid dehydrogenase* di mitokondria dan memegang peran penting dalam metabolisme energi (Shay *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Struktur kimia *alpha lipoic acid* (Shay *et al.*, 2009)

ALA tersusun atas suatu karbon asimetris, yang berarti bahwa ada dua isomer optikal dari LA yang bentuknya saling menyerupai satu sama lain seperti bayangan di cermin (R-LA dan S-LA) (Higdon, 2006). Namun hanya R-LA yang disintesis secara endogen, terikat dengan protein, terkonjugasi yang meresidu lisin dalam hubungan amida, sehingga membuat isoform ini penting sebagai kofaktor dalam sistem biologi (Shay *et al.*, 2009).

Reaktivitas kimiawi ALA terutama ditentukan oleh cincin dithiolane-nya. ALA memiliki potensial redoks yang rendah dan sangat mudah memberikan elektronnya ke senyawa lain, sehingga di dalam sel ALA akan cepat direduksi. Bentuk tereduksinya dikenal sebagai dihydrolipoic acid (DHLA). Bentuk teroksidasi (ALA) dan bentuk tereduksi (DHLA) menciptakan pasangan redoks potensial yang mampu menangkal berbagai macam ROS, serta memiliki kemampuan yang unik dalam menetralkan radikal bebas secara langsung, tanpa turut menjadi radikal bebas juga dalam prosesnya (Shay *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2013).

Alpha lipoic acid umumnya ditemukan dalam komponen makanan seperti bayam, brokoli, tomat dan daging. ALA dapat juga disintesis melalui reaksi enzimatik pada tanaman dan mitokondria hewan dari asam oktanoat dan sistein. Sebagai zat yang mengandung sulfur ALA disebut juga senyawa tiol. Sel mamalia dapat mensintesis ALA melalui aksi mitokondria asam lipoat sintase dapat turun dalam kondisi klinis yang berbeda (Gomes & Negrato, 2014). Rata-rata kandungan *alpha lipoic acid* pada tumbuhan diantaranya yaitu bayam 92,51 ng/mg, brokoli 41,01 ng/mg, tomat 48,61 ng/mg, kacang hijau 17,13 ng/mg, kecambah 18,39 ng/mg, dan bekatul 4,44 ng/mg (Wolinsky *et al.*, 2004).

2.6.1 Aktivitas ALA sebagai Antioksidan

Sebagai antioksidan, ALA merupakan antioksidan universal yang juga dikenal sebagai “*king of antioxidant*”. ALA merupakan antioksidan potensial yang memiliki kemampuan yang luas karena sifatnya yang larut dalam air dan lemak, dan hal ini memfasilitasinya untuk dapat berdifusi pada lingkungan lipofilik

maupun hidrofilik sehingga mampu menembus sawar darah otak (Kim *et al.*, 2013). Peran ALA sebagai antioksidan adalah sebagai berikut.

a. Reregenerasi Antioksidan Lain

ALA juga berperan dalam regenerasi komponen-komponen antioksidan lain, seperti vitamin C dan E, koenzim Q, dan glutathion. ALA juga melindungi tubuh dari keracunan arsen, cadmium, timbal, dan merkuri (Mason, 2001; Shay *et al.*, 2009).

b. Penangkap *Reactive Oxygen Species* dan *Reactive Nitrogen Species*

Kadar ROS dan RNS yang tinggi diketahui dapat merusak sel-sel (DNA, protein, dan lipid) dan dikaitkan dengan berbagai macam patogenesis dan progresivitas penyakit kronis. ALA diketahui dapat menetralkan ROS dan RNS seperti asam hipoklorus (HOCL), radikal hidroksil, radikal peroksil, superoksida dan peroksinitrit (Higdon, 2006).

c. Pengikat Logam atau *Metal Chelation*

Ion-ion *redox-active metal*, seperti besi dan tembaga, dapat mendorong kerusakan oksidatif dengan mengkatalisis reaksi yang menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif. Suatu komponen yang dapat mengikat ion-ion logam bebas maka dapat mencegah reaksi-reaksi tersebut menghasilkan radikal bebas, memberikan harapan dalam terapi penyakit-penyakit neurodegeneratif dan penyakit kronis lainnya dimana kerusakan oksidatif yang diinduksi logam memegang peran patogeniknya. ALA secara efektif akan mengkelasi dan membuang logam transisi secara *in vivo* (Shay *et al.*, 2009).

d. Induksi Sintesis Glutathion

Glutathion adalah suatu antioksidan intraselular yang memegang peran penting dalam detoksifikasi dan eliminasi karsinogen-karsinogen dan toksintoksin potensial. Penelitian pada tikus telah menemukan bahwa sintesis glutathion dan kadarnya di jaringan lebih rendah secara signifikan pada hewan yang tua dibandingkan dengan hewan yang lebih muda, sehingga menyebabkan penurunan kemampuan merespon kerusakan akibat stres oksidatif atau paparan toksin. ALA diketahui dapat meningkatkan

kadar glutathione dalam sel-sel yang dikultur dan dalam jaringan hewan (Higdon, 2006; Shay *et al.*, 2009).

2.6.2 Manfaat ALA

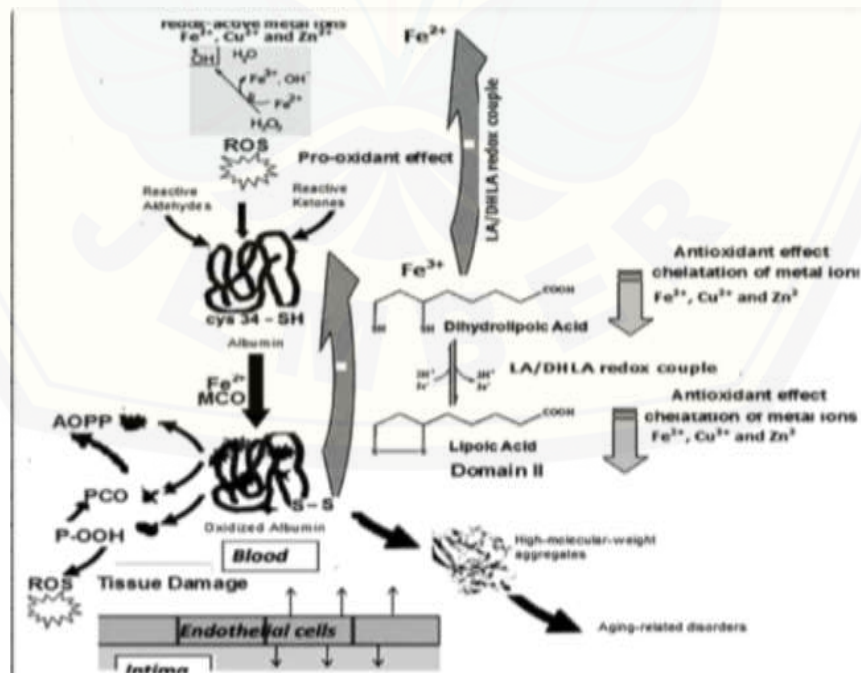
- a. Penelitian membuktikan bahwa suplementasi ALA secara rutin bermanfaat bagi penderita demensia dan alzheimer. ALA sangat efektif mereduksi radikal bebas beta-amiloid yang mengganggu fungsi neuron serta melemahkan kemampuan berpikir. (Hoimcuist *et al.*, 2007).
- b. Antiinflamasi
ALA mampu mengatasi inflamasi yang diinduksi sitokin. Inflamasi terkait stres oksidatif memerlukan aktivasi NFB, suatu faktor transkripsi yang menginduksi ekspresi banyak gen yang terlibat dalam inflamasi dan migrasi sel endotel. ALA telah dikenal sebagai inhibitor untuk NFB. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ALA menurunkan ekspresi dari *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan adhesi endotelial ke monosit, dan menghambat ekspresi MMP yang tergantung NFB pada percobaan *in vitro* (Shay *et al.*, 2009).
- c. Antiaging
ALA juga telah dibuktikan dapat menekan ekspresi gen sitokin proinflamasi, sehingga dapat memperbaiki tanda klinis penuaan kulit (Higdon, 2006; Kim *et al.*, 2007). ALA juga menghambat penuaan yang terjadi akibat reaksi glikasi antara glukosa-protein, sehingga mengurangi terjadinya kerusakan kolagen pada kulit (Higdon, 2006).
- d. Menurunkan plak aterosklerotik
Uji ISLAND menunjukkan adanya penurunan kadar IL-6 dalam serum yang signifikan sebesar 15%, setelah pemberian suplementasi ALA selama empat minggu (300 mg/hari). Penemuan ini penting untuk kesehatan manusia karena IL-6 dikenal sebagai penanda inflamasi dalam plak aterosklerotik koroner, dan juga meregulasi ekspresi sitokin-sitokin inflamasi lainnya seperti IL-1 dan TNF- (Shay *et al.*, 2009).
- e. Mencegah dan mengobati neuropati diabetikum

Pemberian ALA dapat membantu untuk penanganan kasus neuritis perifer. Sebanyak 181 kasus diberikan dosis 600 mg, 1200 mg atau 1800. Setelah 5 minggu, tampak perubahan gejala dan tanda yang terlihat membaik secara bermakna. Pada penelitian ini, dosis yang terbaik ditoleransi dan tetap memberikan manfaat adalah 600 mg sekali sehari (Shay *et al.*, 2009).

f. Perbaikan toleransi glukosa

Paparan ALA mengaktifkan elemen-elemen penting dalam *insulin signaling pathways*, termasuk di dalamnya fosforilasi tirosin dari IR dan IRS-1, pengaktifan PI3-kinase, dan fosforilasi Akt. Peningkatan kerja insulin setelah pemberian ALA akan diikuti dengan penurunan hiperinsulinemia dan dislipidemia (Henriksen, 2006). ALA juga dapat meningkatkan translokasi *glucose transporters* (GLUT4) ke membran sel dan meningkatkan ambilan glukosa pada sel adiposa dan sel otot yang dikultur (Higdon, 2006; Shay *et al.*, 2009).

2.6.3 Peran ALA terhadap Perkembangan Otak akibat Chronic Traumatic Encephalopathy terhadap Hewan Coba



Gambar 2.3 Aktivitas ALA terhadap radikal bebas

Cedera otak berulang memiliki 3 efek utama : transportasi gelombang melalui jaringan, percepatan/perlambatan menyebabkan pergeseran akson, dan gangguan sawar darah otak. Biasanya kerusakan utama CTE diikuti oleh cedera sekunder yang dapat berkembang di kemudian hari. Cedera awal dapat menyebabkan kerusakan otak besar dan kehilangan kemampuan fungsional. Cedera sekunder memicu kaskade peristiwa biokimia yang mengarah pada peradangan neuron, edema otak, kematian sel neuron dan neurodegenerasi. Banyak jalur yang berkontribusi dalam aktivasi apoptosis sel, salah satu metode utama adalah pengembangan dan penyebaran spesies oksigen radikal bebas (ROS). Penciptaan ROS telah dikaitkan dengan aktivasi adenin dinukleotida fosfat (NADPH) oksidase nikotinamid. Dalam keadaan *noninjury*, NADPH oksidase (Nox) berpartisipasi dalam pertahanan selular melalui sinyal sitokin, regulasi ekspresi gen, pasca translasi pengolahan protein, respon stres retikulum endoplasma, dan homeostasis jaringan. Setelah cedera atau infeksi jalur Nox berkontribusi untuk pembentukan ROS (Wold *et al.*, 2015).

ALA mampu mengurangi aktivitas Nox, p22phox, dan hiperfosforilasi dari protein tau penyebab radikal bebas karena ALA melewati sawar darah otak dan bertindak sebagai pasangan redoks dengan potensial reduksi yang sangat rendah. Karena sifat ini ALA mampu regenerasi antioksidan penting lainnya seperti glutation, vitamin C, dan vitamin E. ALA juga memiliki kemampuan untuk mendinginkan radikal bebas dan mengikat logam selain regenerasi antioksidan seluler lainnya yang melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif. ALA mencegah kerusakan oksidatif dengan berinteraksi dengan ROS. ALA mampu mengikat radikal bebas seperti singlet oksigen dan radikal hidroksil dan berfungsi sebagai pengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan ROS. (Perera *et al.*, 2011).

2.6.4 Dosis

Suatu penelitian pada 9 orang pasien yang dicurigai menderita penyakit alzheimer dan demensia dan mengkonsumsi inhibitor asetilkolinesterase, melaporkan bahwa pemberian suplementasi ALA per oral dengan dosis 600

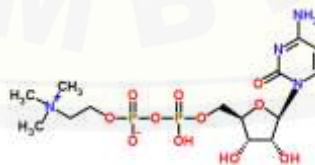
mg/hari dapat menstabilkan fungsi kognitif selama periode 1 tahun (Higdon, 2006).

2.6.5 Efek Samping

Efek samping ALA, dari beberapa penelitian ternyata sangat kecil, sehingga preparat ALA meningkat penggunaannya sebagai suplemen kesehatan. ALA mungkin menimbulkan efek samping ringan seperti, sakit kepala, kesemutan, ruam kulit serta kram otot. Efek samping yang paling sering dilaporkan adalah reaksi alergi yang mempengaruhi kulit, seperti kemerahan, bentol-bentol, dan gatal. Pernah dilaporkan adanya nyeri abdomen, mual, muntah, diare, dan vertigo dalam hal ini gejala-gejala tersebut tidak terkait dosis. Pernah ditemukan adanya reaksi anafilaktik ringan dan 1 reaksi anafilaktik berat, termasuk laringospasme, setelah pemberian ALA secara intravena. Lebih lanjut lagi, pernah dilaporkan malodorous urine pada orang yang mengkonsumsi ALA dengan dosis 1.200 mg/hari secara oral (Higdon, 2006).

Meskipun keamanan penggunaan ALA dalam dosis tinggi telah dibuktikan, namun suatu penelitian menunjukkan bahwa pemberian ALA dengan dosis tinggi secara intraperitoneal jangka panjang dapat memediasi terjadinya kerusakan oksidatif. Oleh karena itu, masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan keamanan dan dosis optimal dari ALA (Shay *et al.*, 2009).

2.7 Citicoline



Gambar 2.4 Struktur kimia Citicoline (Royal Society of Chemistry, 2015)

Citicoline atau *cytidine diphosphate choline* (CDP-choline) merupakan senyawa endogen yang berfungsi sebagai senyawa intermediet dalam sintesis membran fosfolipid, sintesis asetilkolin dan sebagai donor metil. Citicoline termasuk kelompok nukleotida yang memiliki peran penting dalam metabolisme selular. Citicoline tersusun dari ribosa, pirofosfat, cytosine dan choline (Conant & Schauss, 2004).

2.7.1 Farmakokinetik Citicoline

Citicoline oral bersifat larut air yang pada pemberian per oral cepat diabsorpsi. Kadar puncak plasma bersifat bifasik, pertama 1 jam, dan kedua yang lebih besar adalah 24 jam setelah makan obat. Bioavailabilitas > 90%, kurang dari 1% diekskresi melalui feses (Suyatna, 2010).

Citicoline dihidrolisis dalam usus dan hati. Produk hasil hidrolisis pada dinding usus berupa kolin dan sitidin. Di dalam tubuh kedua senyawa ini terdistribusi dalam jaringan, termasuk susunan saraf pusat dan mengalami resintesis menjadi citicoline oleh enzim *cytidine-triphosphate-phosphocholine cytidyl transferase*. Pemeriksaan kinetik radioaktif citicoline menunjukkan bahwa 0.5 % radioaktivitas total ditemukan dalam SSP. Asupan SSP meningkat hingga 2 % bila citicoiine diberikan secara intravena. Pemberian dalam liposom meningkatkan transport citicoline eksogen ke dalam SSP (Suyatna, 2010).

Eliminasi citicoline terutama lewat pernafasan (CO₂) dan urin, waktu paruh eliminasi 56 jam untuk CO₂ dan 71 jam untuk urin. Citicoline endogen berperan sebagai perantara dalam biosintesis fosfolipid. Pemberian citicoline pada tikus meningkatkan kadar kolin dan sitidin plasma dalam 6-8 jam. Pemberian kronik meningkatkan kadar fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin dan fosfatidilserin dalam otak (Suyatna, 2010).

Pemberian citicoline tunggal meningkatkan kadar kolin plasma pada subyek muda dan tua. Kadar kolin SSP pada subyek berusia tua menurun, sedangkan pada subyek berusia muda meningkat. Diduga sitidin yang merupakan bagian citicoline diasup lebih banyak pada sel SSP subyek berusia tua dibandingkan subyek berusia muda. Berdasarkan hal ini diduga sitidin terutama

berperan dalam menstimulasi sintesis fosfatidilkolin pada subyek berusia tua. Peningkatan fosfodiester setelah pemberian sitikolin pada subyek berusia tua dianggap akibat peningkatan sintesis dan *turnover* fosfolipid yang dapat memperbaiki defisit kognitif fungsional, yang ditemukan pada usia tua (Suyatna, 2010).

2.7.2 Mekanisme Kerja

Citicoline berfungsi dalam metabolisme fosfolipid, sebagai prekursor fosfatidilkolin dan asetilkolin. Pada penyakit alzheimer citicoline memperbaiki fungsi kognitif dengan cara meningkatkan kadar kolin. Bila kebutuhan kolin meningkat, citicoline eksogen dapat mencegah katabolisme membran sel saraf dalam upaya memperoleh kolin untuk transmisi impuls (Suyatna, 2010).

Citicoline diduga bermanfaat dalam terapi stroke dengan cara memperbaiki kerusakan membran saraf lewat sintesis fosfatidilkolin, memperbaiki aktivitas saraf kolinergik dengan cara meningkatkan produksi asetilkolin dan mengurangi akumulasi asam lemak di daerah kerusakan saraf (Suyatna, 2010).

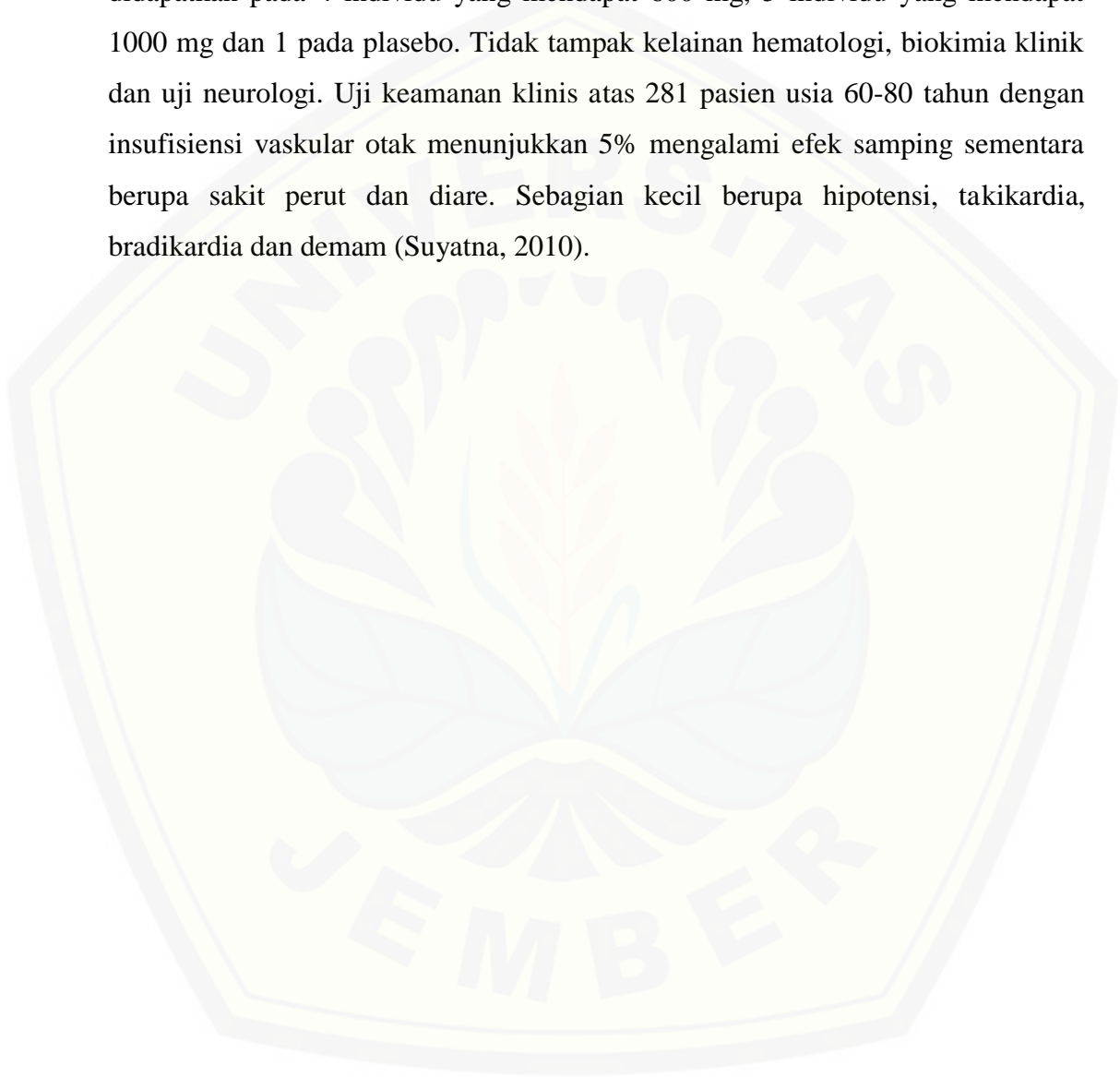
Efek citicoline ini berlangsung lewat pencegahan autokanibalisme saraf, sebagai prekursor sfingomielin yang juga merupakan komponen fosfolipid membran sel saraf dan mengembalikan kadar kardioplipin yang merupakan komponen membran mitokondria. Efek perlindungan fosfolipid ini antara lain disebabkan penghambatan aktivitas fosfolipase A2 oleh citicoline. Percobaan pada hewan menunjukkan citicoline mencegah akumulasi beta amiloid yang berperan dalam penyakit alzheimer dan memperbaiki memori (Suyatna, 2010).

2.7.3 Toksikologi

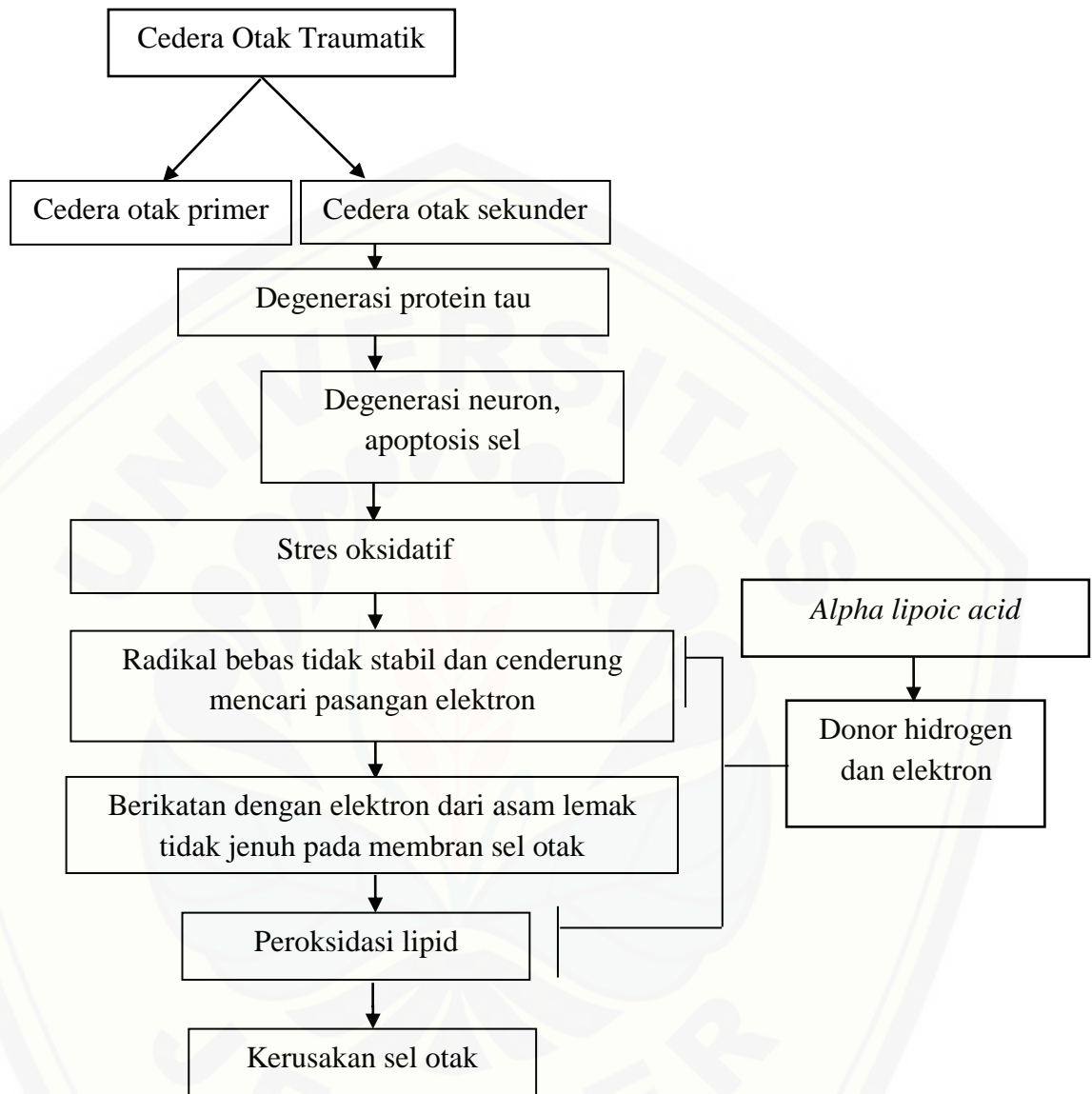
LD50 citicoline IV adalah 4.600 mg/ kgBB (mencit) dan 4.150 mg/kgBB (tikus) (Gray *et al.*, 1983). LD50 oral tidak dapat ditentukan karena tidak ada kematian pada dosis maksimum yang dapat dicoba. Pada pemeriksaan toksisitas subkronik 30 hari, citicoline per oral dosis 100-150 mg/kgBB tidak menghasilkan kelainan parameter biokimia, histologi dan urinalisis. Pemberian oral citicoline

1.5 g/kgBB secara kronik selama 6 bulan pada anjing tidak menyebabkan kelainan fisiologi, biokimia, neurologi dan morfologi (Suyatna, 2010).

Pada manusia sukarelawan sehat yang mendapat 600 mg, 1000 mg dan plasebo selama 5 hari berturut-turut dalam studi silang, nyeri kepala sementara didapatkan pada 4 individu yang mendapat 600 mg, 5 individu yang mendapat 1000 mg dan 1 pada plasebo. Tidak tampak kelainan hematologi, biokimia klinik dan uji neurologi. Uji keamanan klinis atas 281 pasien usia 60-80 tahun dengan insufisiensi vaskular otak menunjukkan 5% mengalami efek samping sementara berupa sakit perut dan diare. Sebagian kecil berupa hipotensi, takikardia, bradikardia dan demam (Suyatna, 2010).



2.8 Kerangka Teori



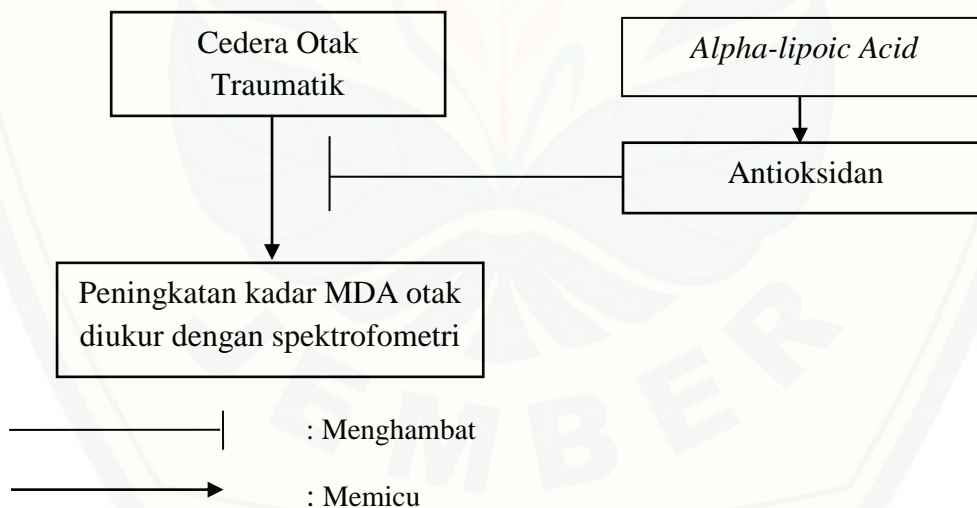
Gambar 2.5 Kerangka teori

Cedera otak traumatik meliputi cedera otak primer dan sekunder. Cedera otak primer adalah cedera akibat trauma langsung pada jaringan otak. Proses kematian sel primer ini berlangsung relatif cepat, diikuti dengan proses degenerasi pada sel neuron. Namun sebagian besar kerusakan neuron justru diakibatkan oleh cedera otak sekunder karena bersifat lebih progresif dan menjadi faktor yang menentukan dalam pemulihan cedera otak traumatik. Cedera sekunder

menyebabkan protein tau gagal melipat dan mengubah bentuknya. Kegagalan melipat menyebabkan protein tau terlepas ke dalam sel dan mengaktifkan reaksi berantai yang menyebabkan degenerasi neuron hingga apoptosis sel yang menyebar kemudian menimbulkan stres oksidatif.

Radikal bebas akan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Proses radikal bebas yang mencari pasangan dengan PUFA adalah proses peroksidasi lipid. Proses ini akan menghasilkan suatu senyawa yaitu *malondialdehyde* (MDA) yang berbahaya bagi sel lain jika tidak di metabolisme menjadi zat yang tidak berbahaya bagi tubuh. PUFA akan mengalami fragmentasi sehingga membran sel hati menjadi hancur. *Alpha lipoic acid* (ALA) merupakan antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel otak dengan cara mendonorkan elektron dan hidrogen sehingga mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA dalam otak.

2.9 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.6 Kerangka konsep penelitian

2.10 Hipotesis Penelitian

Terdapat hubungan negatif antara pemberian *alpha lipoic acid* dengan kadar malondialdehid pada otak tikus model cedera otak traumatik, yaitu semakin tinggi pemberian *alpha lipoic acid* maka semakin rendah kadar malondialdehid.

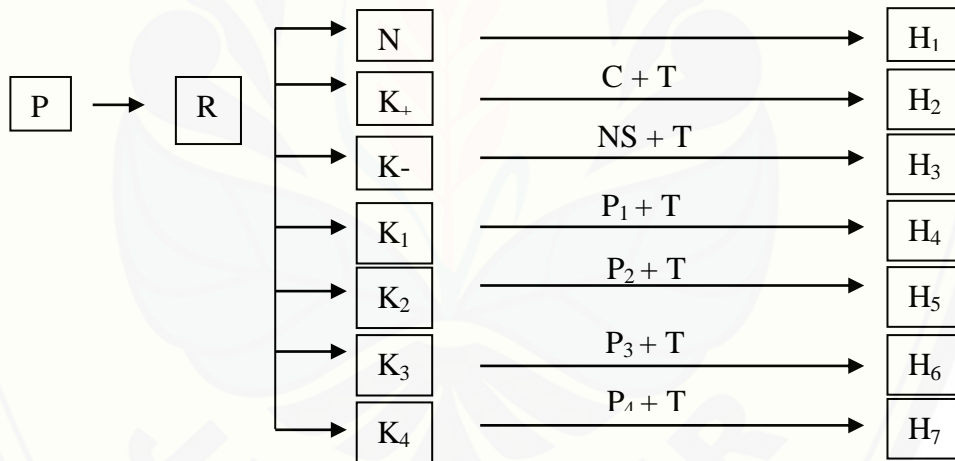
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *post test only control group design* (Damayanti *et al.*, 2016).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *post test only control group design*. Penelitian hanya dilakukan dengan *post test* yaitu setelah mendapat perlakuan berupa pemberian *alpha lipoic acid* (ALA). Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



- P : Populasi
- R : Randomisasi
- N : Kelompok normal
- K⁽⁺⁾ : Kelompok kontrol positif
- K⁽⁻⁾ : Kelompok kontrol negatif
- K_{1,2,3,4} : Kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan 4
- NS : Pemberian NaCl pada hewan coba sebanyak 1,5 ml
- T : Pemberian perlakuan cedera otak traumatik
- C : Pemberian citicholine intraperitoneal 6,75 mg/150gBB
- P₁ : Pemberian ALA 1,0125 mg/150gBB intraperitoneal
- P₂ : Pemberian ALA 2,025 mg/150gBB intraperitoneal
- P₃ : Pemberian ALA 4,05 mg/150gBB intraperitoneal
- P₄ : Pemberian ALA 8,1 mg/150gBB intraperitoneal
- H₁ : Kadar MDA N

H ₂	:	Kadar MDA K ₍₊₎
H ₃	:	Kadar MDA K ₍₋₎
H _{4,5,6,7}	:	Kadar MDA K ₁ , K ₂ , K ₃ , dan K ₄

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diperoleh dari peternak tikus di Universitas Brawijaya, Malang.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik acak sederhana (*simple random sampling*) dari populasi tikus yang kemudian dibagi menjadi tujuh kelompok. Besar sampel yang digunakan dan jumlah pengulangan tiap kelompok dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

$$(p - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(7 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$6 (n - 1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 2,5$$

$$n \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } 4$$

Pada rumus tersebut, p adalah jumlah perlakuan dan n adalah banyaknya pengulangan tiap kelompok perlakuan. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 ekor tikus untuk 7 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 28 ekor tikus.

3.3.3 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi: tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, sehat (bergerak aktif), usia 2-3 bulan dan berat rata-rata 150-200 gram.

3.3.4 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi meliputi: tikus yang sakit dengan ciri-ciri tidak bergerak aktif atau rambut rontok dan mati selama penelitian.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan dan perlakuan tikus, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan alat *non penetration closed head injury* dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan MDA otak tikus. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2017.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis *alpha lipoic acid* yang digunakan pada tikus.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar *malondialdehyde* (MDA) pada otak tikus.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Usia hewan coba
- b. Jenis kelamin tikus
- c. Berat badan tikus
- d. Pemeliharaan dan perlakuan tikus
- e. Waktu dan lama perlakuan tikus
- f. Dosis dan frekuensi perlakuan model *chronic traumatic encephalopathy*

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Dosis *Alpha Lipoic Acid*

ALA dalam bentuk serbuk didapat dari perusahaan Santacruz biotechnology yang bergerak pada bidang analisis, biologi, kimia, dan bahan laboratorium di Jepang sebanyak 5 gram. Dosis ALA diukur dengan satuan mg/150gBB. ALA dihaluskan dan dilarutkan dalam NaCl 0,9% sebesar 1,5 ml. Tabel volume maksimal hewan coba dapat dilihat di Lampiran 3.1. ALA diberikan 5 menit sebelum tikus diberi perlakuan cedera otak traumatik. ALA diinjeksi secara intraperitoneal, 1 kali per hari dan diberikan selama 30 hari dengan dosis 1,0125mg/150gBB, 2,025 mg/150gBB, 2,025 mg/150gBB, 4,05 mg/150gBB dan 8,1 mg/150gBB. Skala pengukuran yang digunakan adalah rasio.

3.6.2 Kadar MDA Otak

Kadar MDA otak diukur dengan spektrofotometer dan dinyatakan dengan satuan $\mu\text{g/mL}$. Kadar MDA diukur dengan metode MDA-TBA dengan menggunakan reagen thiobarbiturat (TBA) dan trikloroasetat (TCA). Perubahan warna akan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 533 nm. Skala pengukuran yang digunakan adalah rasio.

3.6.3 Perlakuan Cedera Otak Traumatik

Alat *non penetration closed head injury* sebuah alat untuk model cedera otak traumatik pada tikus. Alat ini kemudian dikembangkan menjadi *Weight Drop Model Traumatic Brain Injury Model* yang menggunakan beban yang dijatuhkan bebas pada satu sisi cranial tikus yang tidak terproteksi. Modifikasi dari *weight drop traumatic brain injury model* dibuat dengan ukuran beban 245 gram digantung pada ketinggian 35 cm sehingga menghasilkan kekuatan hantaman sebesar 0,84 joule. Tikus diposisikan pada alas yang datar sedemikian rupa sehingga beban jatuh tepat di atas tengkorak tikus. Beban dijatuhkan 1 kali tiap hari selama 30 hari.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Alat untuk pemeliharaan tikus yaitu bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label.
- b. Alat untuk pembuatan dan pemberian dosis *alpha lipoic acid* dan citicoline yaitu timbangan (neraca ohaus), *beaker glass*, pengaduk, spuit, jarum steril, label dan *handscoon*.
- c. Alat untuk memberi perlakuan cedera otak traumatik (*non penetration closed head injury*).
- d. Alat untuk mengambil otak tikus yaitu papan fiksasi, scalpel, minor set, tabung organ dan *handscoon*.
- e. Alat untuk mengukur kadar MDA otak yaitu spektrofotometer, *beaker glass*, mortar, tabung reaksi, vortex, rak, mikropipet, eppendorf, cuvet, sentrifuge, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bahan untuk pemeliharaan tikus yaitu makanan pellet, air, dan sekam.
- b. Bahan yang diinjeksikan yaitu *alpha lipoic acid* dalam bentuk bubuk dibeli dari perusahaan *Santacruz Biotechnology* sebanyak 5 gram, citicoline, dan NaCl 0,9%.
- c. Bahan untuk mengukur kadar MDA otak adalah larutan PBS, NaCl 0,9% , TCA 100%, HCl 1 N, Na Thiobarbiturat dan otak tikus.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus yang dalam pelaksanaannya harus mendapat sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Prosedur ini bertujuan untuk menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan

coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti. Lembar etik yang dengan nomor 1.170/H25.1.11/KE/2017 dapat dilihat pada Lampiran 3.3.

3.8.2 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan baru. Makanan Turbo 521 sediaan pelet dan air yang diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang. Sisa pakan, minum dan sekam dikontrol kebersihannya agar tikus terhindar dari penyakit.

3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 7 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 tikus. Pembagian kelompok tikus dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok N	Tanpa perlakuan
Kelompok K ₍₋₎	Perlakuan cedera otak traumatik dan pemberian NaCl 0,9% 1,5 ml
Kelompok K ₍₊₎	Perlakuan cedera otak traumatik dan pemberian citicholine 6,75 mg/150gBB
Kelompok K ₁	Perlakuan cedera otak traumatik dan pemberian ALA 1,0125 mg/150gBB
Kelompok K ₂	Perlakuan cedera otak traumatik dan pemberian ALA 2,025 mg/150gBB
Kelompok K ₃	Perlakuan cedera otak traumatik dan pemberian ALA 4,05 mg/150gBB
Kelompok K ₄	Perlakuan cedera otak traumatik dan pemberian ALA 8,1 mg/150gBB

3.8.4 Pemberian Dosis Citicoline

Dosis yang diberikan ke tikus sesuai dengan dosis anjuran untuk manusia yaitu 500-2000 mg/hari kemudian dikonversikan dari dosis manusia ke tikus dengan faktor konversi 0,018 yang di dapat dari tabel konversi Laurence and Bacharach, sehingga didapatkan dosis 6,75 mg/150gBB/hari. Faktor konversi dapat dilihat di tabel pada Lampiran 3.2. Citicoline dilarutkan dalam 1,5 ml NaCl

0,9% diberikan 5 menit sebelum tikus diberi perlakuan cedera otak traumatik, diinjeksi secara intraperitoneal, 1 kali per hari dan diberikan selama 30 hari (Zafonte *et al.*, 2009; Grieb, 2014). Perhitungan dosis citicoline dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.8.5 Pemberian Dosis *Alpha Lipoic Acid* (ALA)

Dosis yang diberikan ke tikus sesuai dengan dosis anjuran untuk manusia, yaitu 600 mg/hari (Shay *et al.*, 2009). Dosis tersebut kemudian dikonversikan dari dosis manusia ke tikus dengan faktor konversi 0,018 yang didapat dari Tabel konversi Laurence and Bacharach dapat dilihat di tabel pada Lampiran 3.2, sehingga didapatkan dosis sebagai berikut:

Kelompok 1 : 1,0125 mg/150gramBB/hari

Kelompok 2 : 2,025 mg/150gramBB/hari

Kelompok 3 : 4,05 mg/150gramBB/hari

Kelompok 4 : 8,1 mg/150gramBB/hari

ALA digerus dan dilarutkan dalam NaCl 0,9% sebanyak 1,5 ml. ALA diberikan 5 menit sebelum tikus diberi perlakuan cedera otak traumatik, diinjeksi secara intraperitoneal, 1 kali per hari dan diberikan selama 30 hari (Wold *et al.*, 2015). Perhitungan dosis ALA dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.8.6 Pemberian Dosis Plasebo

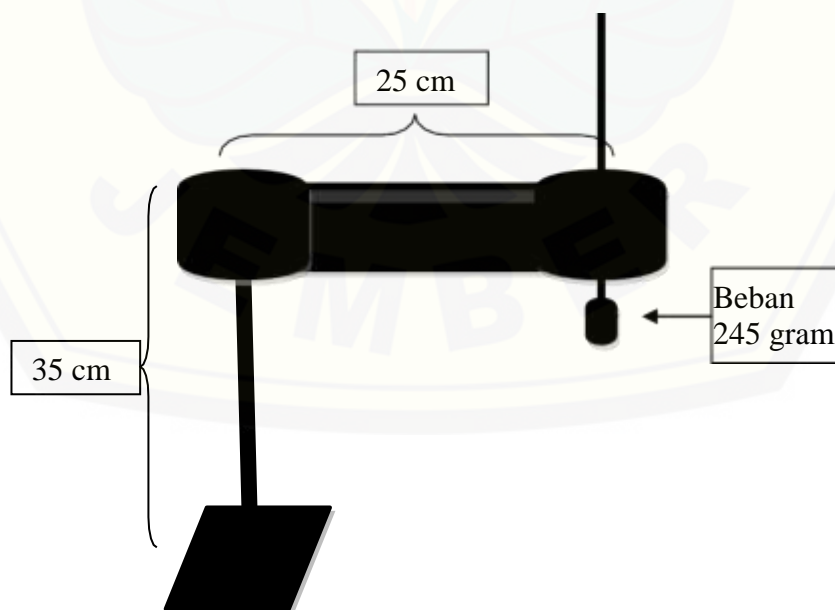
Plasebo adalah substansi yang bukan merupakan zat aktif dan digunakan sebagai kontrol dalam suatu penelitian. Plasebo yang digunakan dalam penelitian ini adalah NaCl 0,9% sebanyak 1,5 ml (Ingriani, 2012). Tabel volume maksimal hewan coba dapat dilihat di Lampiran 3.1. Cara pemberiannya sama dengan cara pemberian ALA, yaitu diberikan 5 menit sebelum tikus diberi perlakuan cedera otak traumatik, injeksi secara intraperitoneal, 1 kali per hari dan diberikan selama 30 hari.

3.8.7 Pemberian Dosis Anestesi

Masing-masing hewan coba berada dalam pengaruh anestesi sebelum dilakukan perlakuan cedera otak traumatik. Dalam penelitian ini digunakan pethidine dengan dosis untuk tikus 0,45mg/150gBB dan midazolam 0,75mg/150gBB diinjeksikan secara intraperitoneal (Jepson, 2016). Perhitungan dosis pethidine dan midazolam dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.8.8 Perlakuan Cedera Otak Traumatik pada Hewan Coba

Alat *non penetration closed head injury* sebuah alat untuk model cedera otak traumatik pada tikus. Alat ini menggunakan pendulum untuk menyerang garis tengah tengkorak pada sudut dan kekuatan tertentu (Cernak *et al.*, 2004). Kemudian Shohami's group mengembangkan alat *Weight Drop Model Traumatic Brain Injury Models* yang menggunakan beban yang dijatuhkan bebas pada satu sisi cranial tikus yang tidak terproteksi. Cedera otak dinilai dapat diproduksi dengan menjatuhkan berat melalui kolom ke *disk stainless steel* terpusat pada tengkorak, dengan keparahan cedera yang berhubungan dengan massa berat dan tinggi dari beban berat yang dijatuhkan (Xiong *et al.*, 2013).



Gambar 3.2 Alat *weight drop traumatic brain injury*

Modifikasi dari *weight drop traumatic brain injury model* dibuat dengan ukuran beban 245 gram digantung pada ketinggian 35cm sehingga menghasilkan kekuatan hantaman sebesar 0,84 joule.

$$\begin{aligned} E_p &= m \times g \times h \\ &= 0,245\text{kg} \times 9,8 \times 0,35\text{m} \\ &= 0,84 \text{ Joule} \end{aligned}$$

Tikus diposisikan pada alas yang datar sedemikian rupa sehingga beban jatuh tepat di atas tengkorak tikus. Beban dijatuhkan 1 kali tiap hari selama 30 hari.

3.8.9 Pemeriksaan Kadar MDA Otak Tikus

Pengukuran kadar MDA pada otak tikus dilakukan menggunakan pereaksi TBA yang akan membentuk produk MDA-TBA berwarna merah muda dan diukur menggunakan metode spektrofotometri. Organ otak dipotong kecil kecil lalu dicuci dengan menggunakan PBS hingga bersih lalu ditimbang sebanyak 1 gram dan digerus dalam mortar di atas balok es kemudian ditambahkan NaCl 0,9% dingin. Dari masing-masing kelompok setelah dilakukan pembuatan homogenat, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 20 menit, supernatan diambil, dan dipindahkan dalam eppendorf (Shofia, 2015).

Sebanyak 100 μL supernatan otak ditambahkan 550 μL aquades steril, 100 μL TCA lalu di vortex. Selanjutnya ditambahkan 250 μL HCl 1 M lalu di vortex. Kemudian ditambahkan 100 μL Na-Thiobarbiturat. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit, diangkat, dan dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam eppendorf baru. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm (Shofia, 2015).

Pembuatan kurva standar dengan menggunakan MDA stok kit dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ yang ditambahkan 550 μL aquades steril, 100 μL TCA lalu di vortex. Selanjutnya ditambahkan 250 μL HCl 1 M lalu di vortex. Kemudian ditambahkan 100 μL Na-Thiobarbiturat. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 20 menit, diangkat dan

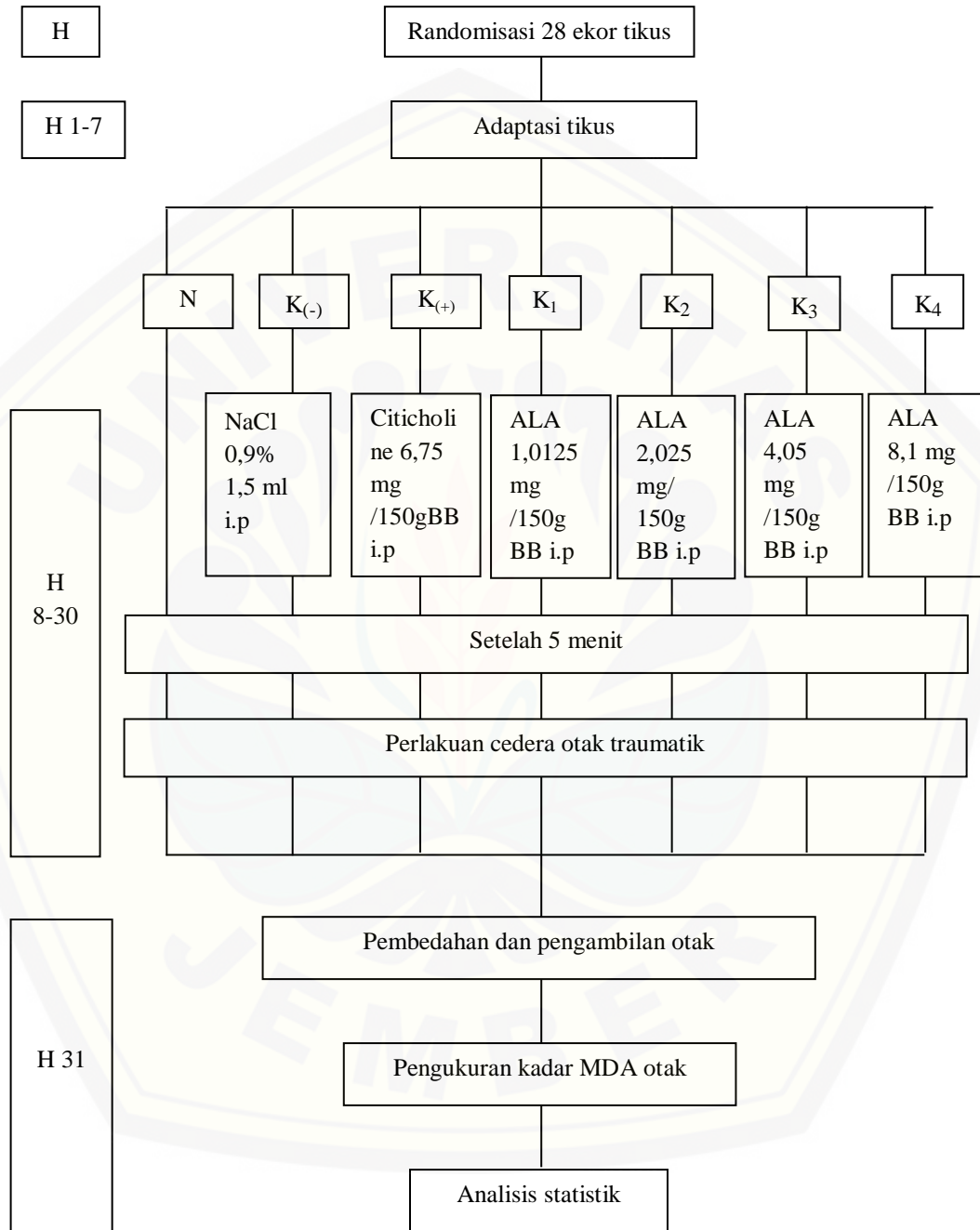
dibiarkan dingin pada suhu ruang. Selanjutnya, disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dan dipindahkan dalam *microtube* baru. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 533 nm (Shofia, 2015).

3.9 Analisis Data

Seluruh data dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Data diuji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50. Jika data yang didapatkan terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji korelasi *Pearson* ($p < 0,05$). Jika data yang didapatkan terdistribusi tidak normal, maka dilanjutkan dengan uji korelasi *Spearman* ($p > 0,05$). Seluruh data selanjutnya dianalisis dengan menentukan kurva yang tepat untuk data penelitian ini dengan uji regresi. Kurva yang tepat dapat menghasilkan persamaan yang digunakan untuk menentukan dosis efektif *alpha lipoic acid*.

3.10 Alur Penelitian

3.11.1 Skema Perlakuan terhadap Hewan Coba



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat hubungan yang kuat dan bermakna antara pemberian *alpha lipoic acid* dengan kadar malondialdehid (MDA) pada otak tikus model cedera otak traumatik dengan arah korelasi negatif, yaitu semakin semakin tinggi pemberian dosis *alpha lipoic acid* maka semakin rendah kadar MDA otak tikus.
2. Dosis efektif *alpha lipoic acid* dalam mencegah peningkatan kadar malondialdehid (MDA) otak tikus model cedera otak traumatik yaitu 8,625mg/150gBB atau setara dengan 0,0575mg/gBB.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai pemanfaatan *alpha lipoic acid* sebagai neuroprotektor pada otak tikus dengan model cedera otak traumatik terhadap kadar glutathion peroksidase (GSH-Px), superoksida dismutase (SOD), nitrit oksida (NO) dan katalase (CAT) sebagai biomarker stres oksidatif.
2. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai efek pemberian *alpha lipoic acid* terhadap kadar MDA serum *pre* dan *post test* pada tikus model cedera otak traumatik.
3. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai hubungan antara penurunan kadar MDA otak dengan gambaran histopatologi jaringan otak tikus model cedera otak traumatik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayala, A., M. F. Muñoz, dan S. Argüelles. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014: 2.
- Aytul, K. K. 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Olive Leaf Extract And its Food Applications. *Tesis*. Turki: graduate school of engineering and sciences of Izmir institute of technology.
- Baugh, C.M., J.M. Stamm, D. O. Riley, B.E. Gavett, M. E. Shenton, A. Lin, C. J. Nowinski, R. C. Cantu, A.C. McKee, dan R. A. Stern. 2012. Chronic traumatic encephalopathy: neurodegeneration following repetitive concussive and subconcussive brain trauma. *Brain Imaging Behavior (mTBI Special Issue)*. 6: 244–54.
- Cernak, I., R. Vink, D.N. Zapple, M.I. Cruz, F. Ahmed, T. Chang, S. T. Fricke, dan A. I. Faden. 2004. The pathobiology of moderate diffuse traumatic brain injury as identified using a new experimental model of injury in rats. *Neurobiology Disease*. 17: 29–43.
- Conant R., dan A. G. Schauss. 2004. Therapeutic applications of citicoline for stroke and cognitive dysfunction in the elderly : A review of the literature. *Alternative Medicine Review*. 9(1): 17-31.
- Crisco, J. J., R. Fiore, J. G. Beckwith, J. J. Chu, P. G. Bronlinson, S. Duma, T. W. McAllister, A. C. Duhaime, dan R. M. Greenwald. 2010. Frequency and location of head impact exposures in individual collegiate football players. *Journal of Athletic Training*. 45(6): 549–559.
- Curtis, L., dan P. Epstein. 2014. Nutritional treatment for acute and chronic traumatic brain injury patients. *Journal Of Neurosurgical Sciences*. 8(3): 151-60.
- Cusimano, M. D., F. Nassiri, dan Y. Chang. 2010. The effectiveness of interventions to reduce neurological injuries in rugby union: a systematic review. *Neurosurgery, Oxford Academic*. 67(5): 1404-18.
- Damayanti, R., L. E. Fitri, dan M. Dalhar. 2016. Pengaruh pemberian propolis terhadap ekspresi INOS dan MDA pada otak tikus model cedera otak traumatik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 29(2): 110-116.
- Dhibi, M., F. Brahmi, A. Mnari, Z. Houas, I. Chargui, L. Bchir, N. Gazzah, M. A. Alsaif, dan M. Hammami. 2011. The intake of high fat diet with different trans fatty acid levels differentially induces oxidative stress and non

- alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats. *Nutrition & Metabolism*. 8(65): 1-11.
- Ersahin, M., H. Z. Toklu, S. Cetinel, M. Yuksel, C. Erzik, M. Z. Berkman, B. C. Yegen, dan G. Sener. 2009. Alpha lipoic acid alleviates oxidative stress and preserves blood brain permeability in rats with subarachnoid hemorrhage. *Neurochemical Research Journal*. 35: 418–428.
- Field, M., M. W. Collins, M. R. Lovell, dan J. Maroon. 2003. Does age play a role in recovery from sports related concussion? A comparison of high school and collegiate athletes. *Journal of Pediatrics*. 142(5): 546–553.
- Foster, T. S. 2007. Efficacy and safety of alpha-lipoic acid supplementation in the treatment of symptomatic diabetic neuropathy. *The Diabetes Educator*. 33(1): 111-117.
- Glantzounis, G.K. W. Yang, R. S. Koti, D. P. Mikhailidis, A. M. Seifalian, dan B. R. Davidson. 2006. The role of thiols in liver ischemia reperfusion injury. *Curr Pharm Des*. 12(23): 2891– 2901.
- Gavett, B. E., R. A. Stern, dan A. C. McKee. 2011. Chronic traumatic encephalopathy: a potential late effect of sport-related concussive and subconcussive head trauma. *Clin Sports Med*. 30(1): 179–xi.
- Gomes, M. B., dan C. A. Negrato. 2014. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. *Diabetol Metabolic Syndr*. 6(1):80.
- Gray, T., A. Romero, A. Sacristan, J. A. Ortiz. 1983. CDP-choline: acute toxicity study. *Arzneimittelforschung*. 33(7A): 1033-1034.
- Greve, M.W., dan B. J. Zink. 2009. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*. 76(2): 97-10.
- Grieb, P. 2014. Neuroprotective properties of citicoline: facts, doubts and unresolved issues. *CNS Drugs*. 28: 185–193.
- Halliwel, B., dan J. M. C. Gutteridge. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3th. Ed. New York: Oxford University.
- Higdon, J. 2006. *Lipoic Acid*. Linus Pauling Institute, Oregon State University. http://www.lpi.oregonstate.edu/infocenter/othernuts/la/#biological_activity [Diakses pada 10 Agustus 2017].

- Hoimeuist, L., G. Stuchbury, K. Berbaum, dan S. Muncat. 2007. Lipoic acid as novel treatment for alzheimer's disease and related dementias. *Pharmacol and Therapy*. 113(1): 154-164.
- Homi, H. M., J. J. S. Freitas, R. Curi, I. T. Velasco, dan B. A. S. Junior. 2002. Changes in superoxide dismutase and catalase activities of rat brain regions during early global transient ischemia/reperfusion. *Neurosci Lett*. 333: 37-40.
- Ingriani, N. 2012. Pemberian Ekstrak Biji *Irvingia gabonensis* Mencegah Kenaikan Berat Badan Dan Berat Lemak Abdominal Pada Tikus Jantan Yang Diberi Diet Tinggi Karbohidrat Dan Lemak. *Tesis*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Jepson, L. 2016. *Exotic Animal Medicine: A Quick Reference Guide*. 2nd Edition. United States of America: Elsevier Ltd.
- Kim, D. C., D. W. Jun, E. C. Jang, E. K. Kim, S. P. Lee, K. N. Lee, H. L. Lee, O. Y. Lee, B. C. Yoon, dan H. S. Choi. 2013. Lipoic acid prevents the changes of intracellular lipid partitioning by free fatty acid. *Gut and Liver*. 7(2): 221-227.
- Kochanek, P. M., R. S. B. Clark, dan L. W. Jenkins. 2007. *TBI: Pathobiology*. Dalam *Brain Injury Medicine : Principles and Practice*. Zasler ND, Katz DI, Zafonte RD. New York: Demos Medical Publishing; 81-96.
- Kumar, V., R. S. Cotran, dan S.L Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Kutner, K. C., D. M. Erlanger, J. Tsai, B. Jordan, dan N. R. Relkin. 2000. Lower cognitive performance of older football players possessing apolipoprotein E epsilon4. *Neurosurgery*, 47: 651– 657. discussion 657–658.
- Laurence dan Bacharach, 1964, *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics*, cit: Ngatidjan, 1990, *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lingga, L. 2012. *The Healing Power of Antioxidant: Mengenal Lebih Jauh Sumber Antioksidan Unggulan*. Jakarta : Elex Media Komputindo.
- Lisnawati, K. L., M. Akbar *et al.* 2012. Hubungan antara Skor Cognitive Test For Delirium (CTD) dengan Outcome menurut Glasgow Outcome Scale (GOS) pada Penderita Cedera Kepala Tertutup Ringan Sedang. *Jurnal Sains & Teknologi Seri Ilmu-Ilmu Kesehatan*. 2(2): 163-170.

- Mason, P. 2001. *Dietary Supplements*. 2nd. Edition. United Kingdom : Pharmaceutical Press.
- McKee, A.C., R. C. Cantu, C. J. Nowinski, E. T. Hedley-Whyte, B. E. Gavett, A. E. Budson, V. E. Santini, H. S. Lee, C. A. Kubilus, dan R. A. Stern. 2009. Chronic traumatic encephalopathy in athletes: progressive tauopathy after repetitive head injury. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 68(7): 709–735.
- Moini, H., L. Packer, dan N. E. Saris. 2002. Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 182(1) : 84-90.
- Omalu, B., J. L. Hammers, J. Bailes, R. L. Hamilton, M. L. Kamboh, G. Webster, dan R. P. Fitzsimons. 2011. Chronic traumatic encephalopathy in an Iraqi war veteran with posttraumatic stress disorder who committed suicide. *Journal of Neurosurgery*. 31(5):E3.
- Perera, J., J. H. Tan, S. Jeevathayaparan, S. Chakravarthi, dan N. Haleagrahara. 2011. Neuroprotective effects of alpha lipoic acid on haloperidol-induced oxidative stress in the rat brain. *Cell & Bioscience*. 1:12.
- Pham-Huy, L. A. P., H. He, dan C. Pham-Huy. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal Biomedical Science*. 4(2): 89-96.
- Pullela, R., J. Raber, T. Pfankuch, D. M. Ferriero, C. P. Claus, dan S. E. Koh. 2006. Traumatic injury to the immature brain results in progressive neuronal loss, hyperactivity and delayed cognitive impairments. *Developmental Neuroscience*. 28: 396–409.
- Purwati, W. D., V. Wardhani, G. Mahameru dan M. Istiadjud. 2009. Penggunaan suksinilkolin setelah rapid sequence intubation tidak meningkatkan kadar kalium plasma pasien dengan cedera kepala berat. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2009. 25(2): 71-76.
- Repetto, M., J. Semprine, dan A. Boveris. 2012. Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. *Intech Journal*. DOI: 10.5772/45943.
- Royal Society of Chemistry. 2015. Chemical Structure of Citicoline. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13207.html> [Diakses pada 30 Agustus 2017].
- Senoglu, M., V. Nacitarhan, E. B. Kurutas, N. Senoglu, I. Altun, Y. Atli, dan D. Ozbag. 2009. Intraperitoneal alpha-lipoic acid to prevent neural damage

- after crush injury to the rat sciatic nerve. *Journal of Brachial plexus and Peripheral Nerve Injury*. 5(4): 22.
- Shay, K. P., R. F. Moreau, E. J. Smith, A. R. Smith, dan T. M. Hagen. 2009. Alphalipoic acid as a dietary supplement : molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochem Biophys Acta*. 1790(10): 1149–1160.
- Shofia, V. 2015. Studi In Silioo, In Vitro dan In Vivo Potensi Ekstrak Metanol Kerang Mas Ngur (*Ataotodea strilata*) Terhadap Profil Malondialdehida, Aktivitas protease, Ekspresi Ooccludin dan Histopatologi Jejenum Tikus *Rattus norvegicus* yang Dipapar Indometasin. *Tesis*. Malang: Program Pasca Sarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Stahl, W., dan H. Sies. 2002. Carotenoid and protection against solar uv radiation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 15(5): 291-296.
- Suarjaya, I. P. P., T. Bisri, dan H. Wargahadibrata. 2012. Reaktif oksigen spesies pada cedera otak traumatik. *Jurnal Neuroanastesi Indonesia*. 1(2):144-150.
- Suyatna, F. 2010. *Farmakologi Klinik Citicoline*. Departemen Farmakologi & Terapeutik; Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. http://www.kalbemed.com/Portals/6/12_178Farmakologiklinik.pdf. [Diakses pada 1 September 2017].
- Suzuki, Y.J., M. Tsuchiya, dan L. Packer. 1993. Antioxidant activities of dihydrolipoic acid and its structural homologues. *Free Radic Res Commun*. 18(2): 115–122.
- Swastika, A. P. A. 2013. Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pada Abortus Inkomplit Lebih Tinggi Dibandingkan Dengan Kehamilan Normal. *Tesis*. Denpasar: Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Toklu, H. Z., T. Hakan, H. Celik, N. Biber, C. Erzik, A. V. Ogunc, dan G. Sener. 2010. Neuroprotective effects of alpha-lipoic acid in experimental spinal cord injury in rats. *J Spinal Cord Med* 33 (4), 401-409.
- Tsikas, D., S. Rothmanna, J. Y. Schneidera, M. T. Suchya, A. Trettina, D. Modunb, N. Stukec, N. Maassenc, dan J. C. Frölich. 2015. Development, validation and biomedical applications of stable-isotope dilution GC–MS and GC–MS/MS techniques for circulating malondialdehyde (MDA) after pentafluorobenzyl bromide derivatization: MDA as a biomarker of oxidative stress and its relation to 15(S)-8-iso-prostaglandin F₂ and nitric oxide (•NO). *Journal of Chromatography*. 1019: 95.

- Wei, W., H. Wang, Y. Wu, K. Ding, T. Li, Z. Cong, J. Xu, M. Zhou, L. Huang, H. Ding, dan H. Wu. 2015. Alpha lipoic acid inhibits neural apoptosis via a mitochondrial pathway in rats following traumatic brain injury. *Neurochemistry International*. 87: 85-91.
- Wibowo, R., Zulfikar., H. Paramu., D. Rato, H. S. Addy, E. Sulistyaningsih, S. Bukhori, A. Tallapessy, N. D. Gianawati, Siswoyo, A. Rijadi, dan Nawiyanto. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: UPT Penerbitan Universitas Jember.
- Wold, B. P. L., Z. J. Naser, A. F. Logsdon, R. C. Turner, K. E. Smith, M. J. Robbison, J. E. Bailes, J. M. Lee, C. L. Rosen, dan J. D. Huber. 2015. Amelioration of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate mediated stress reduces cell death after blast induced traumatic brain injury. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 166(6): 509–528.
- Wolinsky, I., dan J. A. Driskell. 2004. *Nutritional Ergogenic Aids*. United States of America: CRC Press. <http://www.crcnetbase.com/isbn/9780203507704> [Diakses pada 22 Juni 2017].
- Xiong, Y., A. Mahmood, dan M. Chopp. 2014. *Animal Models of Traumatic Brain Injury*. USA : National Institute of Health.
- Zafonte, R., W. T. Friedewald, S. M. Lee, B. Levin, R. Diaz-Arrastia, B. Ansel, H. Eisenberg, S. D. Timmons, N. Temkin, T. Novack, J. Ricker, R. Merchant, dan J. Jallo. 2009. The citicoline brain injury treatment (COBRIT) trial: design and methods. *Journal of Neurotrauma*. 26: 2207–2216.

Lampiran 3.1 Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada berbagai hewan

Jenis Hewan Uji	Volume Maksimal (ml) sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
Mencit (20-30 gr)	0,5	0,5	1,0	0,5-10	1,0
Tikus (100 gr)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmot (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Keterangan:

- i.v. : intravena
- i.m. : intramuscular
- i.p. : intraperitoneal
- s.c. : subcutan
- p.o. : peroral

(Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207)

Lampiran 3.2 Tabel Konversi Perhitungan Dosis Untuk Berbagai Jenis (Spesies) Hewan Uji

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	397,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,12	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Laurence and Bacharach, 1964, Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta)

Lampiran 3.3 Etik Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA

Nomor : 1-170 /H25.1.11/KE/2017

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEK NEUROPROTEKTIF ALPHA LIPOIC ACID TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) PADA OTAK TIKUS MODEL CEDERA OTAK TRAUMATIK

Nama Peneliti Utama : Nastiti Bekti Utami
Name of the principal investigator

NIM : 142010101087

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 20 Oktober 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK


Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

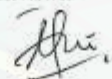
Review Proposal :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian keschatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
- Perlakuan Chronic traumatic encephalopathy dilakukan oleh seseorang yang terampil.
- Mohon di perhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan MDA.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan

Mengstahui
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 10 Oktober 2017
Reviewer


dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.4 Perhitungan Dosis Hewan Coba**1. Pemberian dosis *alpha lipoic acid***

Dosis manusia	= 600mg
Konversi dosis tikus BB 200gr	= 600 x 0,018 = 10,8mg/200gBB
Konversi dosis tikus BB 150gr	= 150grBB/200gBB x 10,8mg
Dosis 1	= 8,1mg/150gBB
Dosis 2	= 4,05mg/150gBB (Penurunan dosis 2x)
Dosis 3	= 2,025mg/150gBB (Penurunan dosis 2x)
Dosis 4	= 1,0125mg/150gBB (Penurunan dosis 2x)

2. Pemberian dosis citicoline

Dosis manusia	= 500mg
Konversi dosis tikus BB 200gr	= 500 x 0,018 = 9mg/200gBB
Konversi dosis tikus BB 150gr	= 150gBB/200gBB x 9mg = 6,75mg/150gBB

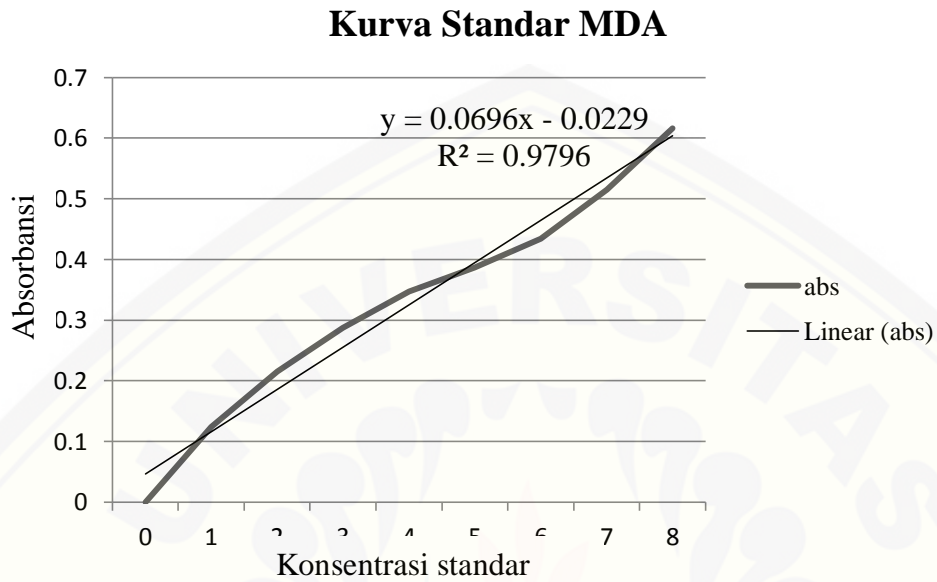
3. Pemberian dosis pethidin

Dosis tikus	= 3mg/kgBB
Konversi dosis tikus BB 150gr	= 3mg/150gBB x 1000 = 0,45mg/150gBB

4. Pemberian dosis midazolam

Dosis tikus	= 5mg/kgBB
Konversi dosis tikus BB 150gr	= 5mg/150gBB x 1000 = 0,75mg/150gBB

Lampiran 4.1 Kurva Standar Malondialdehid



Persamaan kurva:

$$y = 0,069x - 0,022$$

Keterangan: y = nilai absorbansi sample

x = konsentrasi malondialdehid sampel ($\mu\text{g/mL}$)

Lampiran 4.2 Data Kadar MDA Otak

Kelompok	Nomor	Absorbansi	Kadar MDA	Rata-rata
N	1	0.124	2.111	1,644
	2	0.132	2.226	
	3	0.048	1.019	
	4	0.062	1.220	
K(+)	1	0.134	2.254	2,093
	2	0,118	2.024	
	3	0.108	1.880	
	4	0.131	2.211	
K(-)	1	0.386	5.875	4,872
	2	0.281	4.366	
	3	0.254	3.978	
	4	0.344	5.272	
K1	1	0.142	2.369	2,728
	2	0.212	3.375	
	3	0.122	2.082	
	4	0.192	3.088	
K2	1	0.177	2.872	2,685
	2	0.187	3.016	
	3	0.161	2.642	
	4	0.131	2.211	
K3	1	0.108	1.881	2,204
	2	0.133	2.240	
	3	0.135	2.269	
	4	0.146	2.427	
K4	1	0.122	2.082	2,024
	2	0.132	2.226	
	3	0.11	1.909	
	4	0.108	1.881	

Lampiran 4.3 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas

Tests of Normality

KELOM POK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA N	.277	4	.	.848	4	.220
+	.254	4	.	.923	4	.553
-	.222	4	.	.952	4	.731
1	.224	4	.	.929	4	.589
2	.202	4	.	.943	4	.671
3	.312	4	.	.905	4	.456
4	.263	4	.	.909	4	.479

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

KELOMPOK			Statistic	Std. Error
MDA	N	Mean	1.64368	.306448
		95% Confidence Interval for Lower Bound	.66842	
		Mean Upper Bound	2.61893	
		5% Trimmed Mean	1.64607	
		Median	1.66523	
		Variance	.376	
		Std. Deviation	.612896	
		Minimum	1.019	
		Maximum	2.226	
		Range	1.207	
		Interquartile Range	1.128	
		Skewness	-.062	1.014
		Kurtosis	-5.302	2.619
	+	Mean	2.09225	.086589
		95% Confidence Interval for Lower Bound	1.81668	

	Mean	Upper Bound	2.36782	
	5% Trimmed Mean		2.09506	
	Median		2.11750	
	Variance		.030	
	Std. Deviation		.173179	
	Minimum		1.880	
	Maximum		2.254	
	Range		.374	
	Interquartile Range		.327	
	Skewness		-.510	1.014
	Kurtosis		-2.625	2.619
-	Mean		4.87284	.430091
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	3.50410	
	Mean	Upper Bound	6.24158	
	5% Trimmed Mean		4.86686	
	Median		4.81897	
	Variance		.740	
	Std. Deviation		.860181	
	Minimum		3.978	
	Maximum		5.875	
	Range		1.897	
	Interquartile Range		1.649	
	Skewness		.235	1.014
	Kurtosis		-2.908	2.619
1	Mean		2.72845	.301952
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	1.76750	
	Mean	Upper Bound	3.68939	
	5% Trimmed Mean		2.72845	
	Median		2.72845	
	Variance		.365	

	Std. Deviation		.603904	
	Minimum		2.082	
	Maximum		3.375	
	Range		1.293	
	Interquartile Range		1.149	
	Skewness		.000	1.014
	Kurtosis		-3.907	2.619
2	Mean		2.68534	.175773
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.12596	
		Upper Bound	3.24473	
	5% Trimmed Mean		2.69333	
	Median		2.75718	
	Variance		.124	
	Std. Deviation		.351547	
	Minimum		2.211	
	Maximum		3.016	
	Range		.805	
	Interquartile Range		.661	
	Skewness		-.983	1.014
	Kurtosis		.399	2.619
3	Mean		2.20402	.115316
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.83704	
		Upper Bound	2.57101	
	5% Trimmed Mean		2.20961	
	Median		2.25431	
	Variance		.053	
	Std. Deviation		.230632	
	Minimum		1.881	
	Maximum		2.427	
	Range		.546	

	Interquartile Range		.417	
	Skewness		-1.219	1.014
	Kurtosis		2.288	2.619
4	Mean		2.02443	.080426
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.76848	
		Upper Bound	2.28038	
	5% Trimmed Mean		2.02123	
	Median		1.99569	
	Variance		.026	
	Std. Deviation		.160851	
	Minimum		1.881	
	Maximum		2.226	
	Range		.345	
	Interquartile Range		.302	
	Skewness		.616	1.014
	Kurtosis		-2.303	2.619

Uji Korelasi Bivariat *Pearson*

Correlations

		MDA	Dosis
MDA	Pearson Correlation	1	-.790**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
Dosis	Pearson Correlation	-.790**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

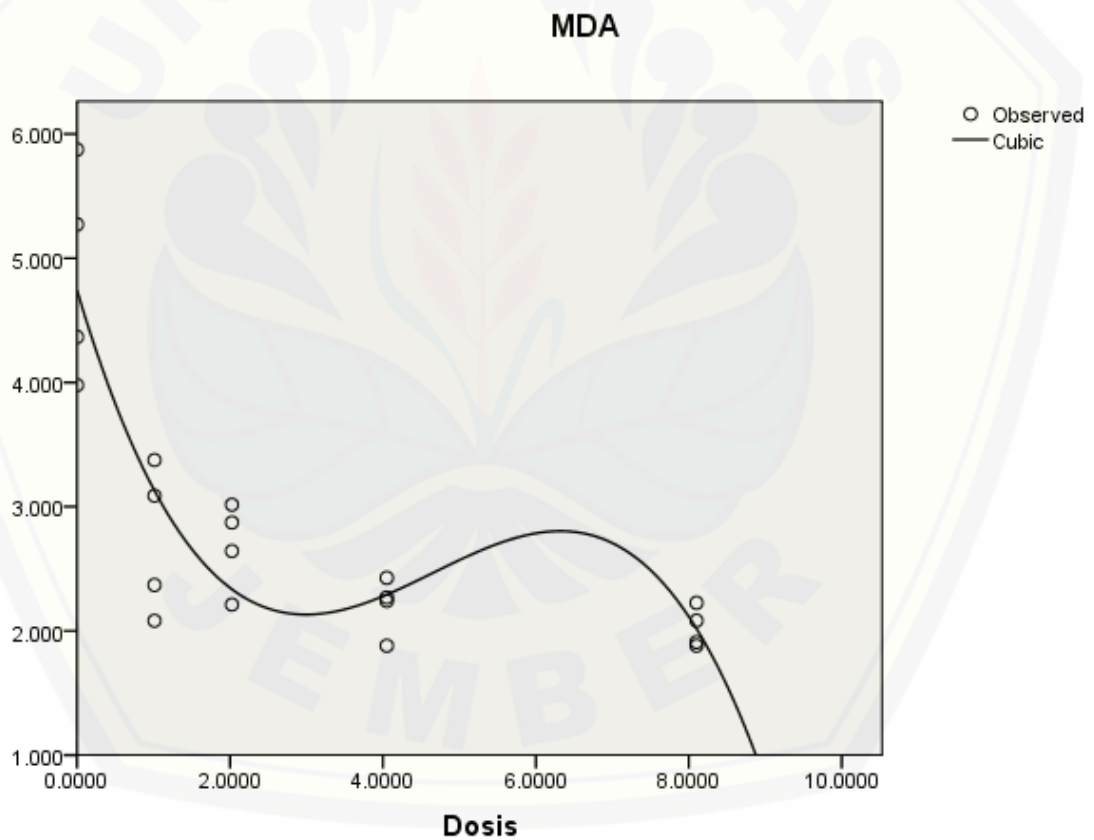
Uji Regresi

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable:MDA

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Cubic	.792	20.312	3	16	.000	4.741	-2.071	.510	-.037

The independent variable is Dosis.





1.644 = 4.741 - 2.071x + 0.509x² - 0.036x³



Web Apps Examples Random

Input:

$$1.644 = 4.741 - 2.071x + 0.509x^2 - 0.036x^3$$

Open code

Result:

$$1.644 = -0.036x^3 + 0.509x^2 - 2.071x + 4.741$$

Alternate forms:

More

$$1.644 = -0.036(x - 9.56342)(x^2 - 4.57547x + 13.7706)$$

$$1.644 = x(x(0.509 - 0.036x) - 2.071) + 4.741$$

$$0.036(x - 4.71296)^3 - 0.327898(x - 4.71296) - 0.873732 = 0$$

Alternate form assuming x is real:

$$1.644 = (4.741 + 0. i) - 0.036x^3 + 0.509x^2 - 2.071x$$

Real solution:

$$x \approx 8.62588$$

Step-by-step solution

Complex solutions:

$$x = 2.75651 - 1.54107i$$

$$x = 2.75651 + 1.54107i$$

Step-by-step solution

Back to the search engine

Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian



Adaptasi Hewan Coba



Alat *Weight Drop Injury*



Induksi *Alpha Lipoic Acid*



Perlakuan Cedera Otak Traumatik



Pembedahan Hewan Coba



Homogenat Otak Tikus



Pengukuran Absorbansi



Sampel setelah di inkubasi dan siap dibaca absorbansinya

