

PENGARUH PEMBERIAN RANITIDIN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PUTAMEN TIKUS WISTAR PADA PEMBERIAN METANOL DOSIS BERTINGKAT

Tan Nadia Paramitha Purnama¹, Gatot Suharto², Saebani²

¹Mahasiswa Program Studi S-1 Ilmu Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Forensik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Metanol merupakan bahan yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari seperti pada pelarut industri, bahan penambah bensin, dan lain-lain namun, metanol sering disalahgunakan sebagai minuman oplosan yang menimbulkan gejala toksisitas pada metanol akibat dari zat metabolitnya yaitu asam format. Gejala ini diawali dengan kerusakan sistem ekstrapiramidal dengan putamen sebagai salah satu komponennya.

Ranitidin memiliki kemampuan untuk menghambat enzim alkohol dehidrogenase yang mengubah metanol menjadi asam format yang merupakan zat toksik.

Tujuan : Mengetahui pengaruh pemberian ranitidin terhadap gambaran histopatologi putamen tikus wistar pada pemberian metanol dosis bertingkat.

Metode Penelitian *true experimental laboratorik* dengan *post-test only control group design*. Sampel penelitian adalah tikus wistar jantan sesuai kriteria inklusi dan eksklusi yang kemudian dibagi dengan *simple random sampling*. Sampel dibagi menjadi 7 kelompok (kontrol negatif, 3 kontrol positif (0.7ml, 1.4ml, 2.8ml), 3 perlakuan (0.7ml, 1.4ml, 2.8ml dengan pemberian ranitidin 4.5mg 4 jam setelahnya). Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan langsung gambaran histopatologi otak. Uji hipotesis menggunakan uji Mann-Whitney.

Hasil : Didapatkan perbedaan kontrol yang bermakna ($p < 0,05$) pada kontrol negatif dengan kontrol positif LD dengan perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan lapangan pandang 3 yang tidak bermakna jika dibandingkan dengan kontrol negatif

Kesimpulan : Pemberian ranitidin 4.5 mg 4 jam setelah pemberian metanol 2,8 ml tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan nekrosis putamen tiksu wistar.

Kata Kunci : Metanol, ranitidin, alkohol dehidrogenase, Gambaran histopatologi putamen, tikus wistar

ABSTRACT

THE EFFECT OF RANITIDINE TOWARDS WISTAR RAT'S PUTAMINAL HISTOPATHOLOGY REPRESENTATION ON THE ADDUCTION OF GRADUAL DOSAGES METHANOL

Background : Methanol is an ingredient oftenly used in daily life for industrial solvents, additional ingredient in fuel etcetera but somehow, methanol oftenly abused as adulterated drinks which caused the symptoms of methanol intoxication by its metabolites, i.e. formic acid. These symptoms start with the damage of extrapyramidal system by putamen as one of its system's component. Ranitidin can inhibit alcohol dehydrogenase enzym that has a role in the methanol transformation to formic acid which is the toxic substance.

Aims : Knowing ranitidin's effect to the histopathological pictures of wistar rat's putamen after gradual doses of methanol administration.

Methods : True experimental laboratory research with post-test only control group design. The study samples were male wistar rats that has met inclusion and exclusion criteria and were randomized by simple random sampling. Samples were separated into 7 groups (negative control, 3 positive control (0.7ml, 1.4ml, 2.8ml), 3 treatment (0.7ml, 1.4ml, 2.8ml with the administration of 4.5 mg of ranitidine 4 hours afterwards). Data then collected through direct observation of histopathologic picture of the putamen. Then, Mann-Whitney test was used to hypothesis test.

Results : Mann Whitney test only showed a significant difference ($p < 0,05$) in negative control and positive control for LD with a significant difference compared to treatment control in 3rd field of view that not significant compared to the negative control

Conclusion : The given of 4.5 mg of ranitidine 4 hours after 2.8 ml of methanol administrassions didn't give a significant decrease of wistar rat's putaminal necrosis.

Keywords : methanol, ranitidine, alcohol dehydrogenase, histopathological pictures of putamen, wistar rat

PENDAHULUAN

Metanol merupakan alkohol sederhana yang biasa disebut sebagai spiritus. Penggunaan metanol seharusnya adalah sebagai bahan penambah bensin, bahan pemanas ruangan, pelarut industri, larutan fotokopi, serta bahan makanan untuk bakteri yang memproduksi protein. Keadaan toksisitas metanol sering terjadi akibat dari konsumsi metanol sebagai alkohol oplosan.¹

Berdasarkan data WHO, pada tahun 2011, didapatkan 320.000 orang meninggal setiap tahunnya akibat dari keracunan metanol dengan salah satu negara yang mengalami wabah keracunan metanol ini adalah Indonesia. Kasus meninggal akibat keracunan metanol ini banyak juga terjadi di Jawa Tengah yaitu sebanyak 29 kasus dan berdasarkan data dari Polrestabes Semarang, total korban meninggal akibat minuman alkohol oplosan mencapai 15 orang. Harga metanol yang jauh lebih murah dari etanol menjadi penyebab penggunaan metanol sebagai alkohol oplosan tanpa mengetahui bahwa metanol akan memberikan dampak yang lebih buruk akibat dari zat metabolitnya yang lebih berbahaya bagi tubuh.²

Di dalam tubuh, metanol akan dimetabolisme sehingga terbentuk asam format yang akan menyebabkan asidosis metabolik sehingga menyebabkan kematian pada kasus intoksikasi metanol. Gejala akut dari intoksikasi metanol adalah adanya depresi SSP berupa *Parkinsonian like condition* karena adanya kerusakan sistem ekstrapiramidal yang salah satu komponennya adalah putamen dengan proses yang diduga adalah akibat dari terbentuknya asam format.^{3,4} Dengan hasil CT-scan yang tampak adanya nekrosis putamen bilateral pada mayoritas kasus intoksikasi metanol.⁵

Etanol merupakan inhibitor kompetitif dari metanol sehingga dapat digunakan sebagai terapi dari kasus intoksikasi metanol. Namun karena bahaya terjadinya misdiagnosis yang dapat menyebabkan terjadinya intoksikasi etanol, serta harganya yang mahal, maka dilakukan penelitian oleh *El-Bakary et al* mengenai fungsi ranitidin sebagai inhibitor enzim alkohol dehidrogenase sehingga metanol tidak dapat dimetabolisme menjadi asam format yang merupakan zat metabolit toksik dari metanol.⁶

Berdasarkan hal tersebut, peneliti merasa perlu untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ranitidin terhadap gambaran histopatologi putamen tikus wistar pada pemberian metanol dosis bertingkat

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Unnes, Laboratorium Forensik RSUP dr. Karyadi, dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUP dr. Karyadi yang dimulai dari bulan Mei 2016 sampai Juli 2016. Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design* menggunakan binatang coba sebagai sample penelitian. Sample yang digunakan adalah tikus wistar jantan dengan usia 2-3 bulan, berat badan 150 gram dalam kondisi sehat tanpa kelainan anatomi, tidak sakit maupun mati saat dilakukan adaptasi. Pengambilan sampel dilakukan dengan *allocation random sampling*. Sample yang digunakan adalah sebanyak 35 ekor tikus wistar yang terbagi menjadi 7 kelompok dengan jumlah sample tiap kelompok didasarkan pada kriteria WHO yakni minimal 5 ekor tiap kelompok dimana 7 kelompok tersebut adalah 1 kelompok kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan apapun; 3 kelompok positif dengan dosis metanol 0,7 ml, 1,4 ml, dan 2,8 ml per oral; dan 3 kelompok perlakuan dengan dosis metanol 0,7 ml, 1,4 ml, dan 2,8 ml per oral disertai dengan pemberian 4,5 mg ranitidin intraperitoneal. Variabel bebas dari penelitian ini adalah dosis metanol dan dosis ranitidin dengan variabel terikatnya adalah jumlah nekrosis putamen.

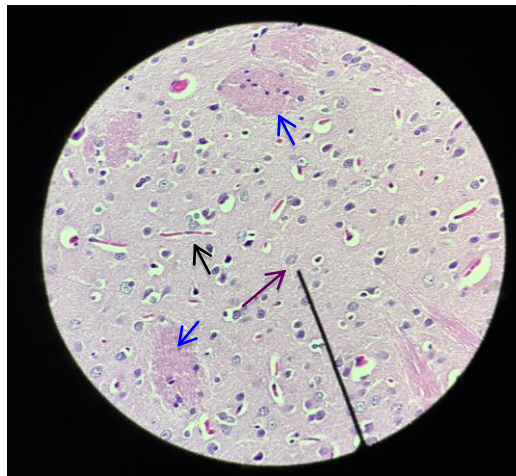
Tikus diadaptasi selama 7 hari. Pada hari ke-8, dilanjutkan dengan perlakuan pada masing-masing kelompok dengan metanol murni sesuai dosis masing-masing kelompok yang diencerkan hingga volume 3 ml yang diberikan secara peroral (sonde). Untuk kelompok perlakuan, dilakukan injeksi intraperitoneal ranitidin 4 jam setelah pemberian metanol. Delapan jam kemudian, dilakukan dekapitasi pada semua sampel dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ otaknya yang kemudian dilanjutkan dengan pembuatan preparat histopatologis dan dilakukan pengamatan dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x

untuk dihitung jumlah nekrosis sel putamen dan dikelompokkan dengan kelompok 1 (0-25% nekrosis), 2 (26-50% nekrosis), 3 (51-75% nekrosis), dan 4 (76-100% nekrosis).

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif setelah sebelumnya dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*. Kemudian dilakukan uji perbedaan pengaruh dari masing-masing kelompok perlakuan yang dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*, dan dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitney* untuk membandingkan antar 2 kelompok penelitian dengan ketentuan jika $p < 0,05$ maka ada perbedaan yang bermakna antar kelompok.

HASIL

Gambaran histopatologis yang khas pada otak adalah adanya *Virchow-Robin space* (panah hitam) yang merupakan celah di antara jaringan parenkim otak dan pembuluh darah. Sedangkan gambaran khas pada jaringan putamen adalah gambaran *pencil fiber of Wilson* (panah biru). Panah ungu menunjukkan gambaran sel yang nekrosis dimana intinya sudah tampak tidak jelas.⁸



Hasil perhitungan terhadap jumlah nekrosis neuron dalam penelitian ini tampak pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Ukuran pemusatan data dan ukuran penyebaran data jumlah nekrosis putamen tikus wistar tiap lapangan pandang pada sediaan histopatologi putamen tikus wistar

Kelompok	Jumlah putamen tikus wistar yang teramati tiap lapangan pandang (Mean \pm SD)
Kontrol	1 (konstan)
¼ LD100 (0,7 ml)	1,28 $\square\square\square\square\square$
½ LD100 (1,4 ml)	1,36 $\square\square\square\square\square\square$
LD100 (2,8 ml)	2,16 $\square\square\square\square\square\square$

¼ LD100 + R	1,28 □□□□□□
½ LD100 + R	1,16 □□□□□□□□
LD100 + R	1,76 □□□□□□

Kelompok kontrol negatif tampak konstan pada kelompok 1 sehingga membuktikan bahwa tikus yang digunakan belum terdapat / sedikit mengalami nekrosis putamen tikus wistar sebelum pemberian metanol. Kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif pada dosis 0,7 ml memberikan hasil nekrosis yang sama, sedangkan terdapat penurunan jumlah nekrosis putamen tikus wistar pada kelompok perlakuan pada dosis metanol 1,4 ml dan 2,8 ml.

Data kemudian diolah dengan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan didapatkan distribusi data tidak normal ($p < 0,05$) dengan beberapa data yang konstan sehingga dapat diabaikan. Kemudian dilanjutkan dengan uji analisis *Kruskall-Walis* dan didapatkan hasil yang bermakna ($p < 0,05$) pada keseluruhan lapangan pandang selain pada lapangan pandang 4 sehingga tidak diperlukan analisis lebih lanjut untuk lapangan pandang 4.

Data yang telah dianalisis dengan uji *Kruskall-Walis* kemudian dianalisis lebih lanjut dengan uji *Mann-Whitney* dan didapatkan hasil yang tidak bermakna ($p > 0,05$) pada kelompok kontrol positif ¼ LD100 dan kelompok kontrol positif ½ LD100 di semua lapangan pandang sehingga tidak dapat dilanjutkan untuk penilaian uji hipotesis dengan kelompok perlakuan. Sedangkan pada kelompok kontrol positif dosis LD100, didapatkan hasil yang bermakna pada semua lapangan pandangnya sehingga kemudian dilanjutkan untuk perbandingan dengan kelompok perlakuan dosis LD100.

Kelompok perlakuan dosis LD100 dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dosis LD100 dengan uji *Mann-Whitney* dan didapatkan hasil yang bermakna pada lapangan pandang 3 yang jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif melalui uji *Mann-Whitney*, didapatkan hasil yang tidak bermakna.

Tabel 2. Tabel signifikansi *Mann-Whitney*

	Median (minimum – maximum)				
	Nilai <i>p</i>				
	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5
Kontrol	1	1	1	1	1
¼ LD100	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)
nilai <i>p</i>	0.317	0.317	0.134	0.134	0.317
Kontrol	1	1	1	1	1

$\frac{1}{2}$ LD100	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)
nilai <i>p</i>	0.134	0.134	0.134	0.317	0.134
Kontrol	1	1	1	1	1
LD100	2 (1-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (1-3)	2 (1-3)
Nilai <i>p</i>	0.017	0.004	0.005	0.032	0.032
LD100	2 (1-3)	2 (2-3)	2 (2-3)	2 (1-3)	2 (1-3)
LD100 + R	2 (1-3)	2	1	2 (1-3)	2 (1-2)
Nilai <i>p</i>	0.650	0.317	0.005	1.000	0.212
Kontrol	1	1	1	1	1
LD100 + R	2 (1-3)	2	1	2 (1-3)	2 (1-2)
Nilai <i>p</i>	0.018	0.003	1.000	0.017	0.050

Pada hasil uji beda dengan *Mann Whitney* tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dosis $\frac{1}{4}$ LD100 dan $\frac{1}{2}$ LD100 yang diakibatkan oleh tingginya kadar folat pada tikus sehingga dosis tersebut masih dapat diatasi oleh sistem metabolisme tikus; sehingga jika dibandingkan dengan kelompok dosis 0.7 ml dan 1.4 ml dengan pemberian ranitidin tidak akan memberikan hasil statistik yang signifikan meskipun nilai *mean* pada kelompok perlakuan lebih rendah daripada kelompok kontrol positif. Pada kelompok kontrol positif dosis 2.8 ml, didapatkan hasil nekrosis yang bermakna pada keseluruhan lapangan pandangnya, namun tidak memberikan penurunan nekrosis signifikan setelah pemberian ranitidin. Hal ini diakibatkan dari ranitidin yang diberikan setelah metanol menyebabkan perdarahan putamen bilateral sehingga efek inhibisi dari ranitidin tidak memberikan dampak pada metabolisme metanol. Perdarahan putamen bilateral ini menyebabkan efek *Parkinsonian-like syndrome* yang terjadi 30 menit sampai 2 jam setelah pemberian metanol karena metanol merupakan derivat glukosa yang dapat menembus BBB. Sehingga meskipun organ lain belum mencapai nekrosis akibat dari asidosis metabolik yang terjadi selama 12-24 jam, putamen dapat telah terjadi nekrosis akibat hipoksia dari perdarahan.^{1,7}

Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan gas N₂O yang menurunkan kadar folat pada tikus, sehingga pada dosis yang jauh lebih kecil daripada yang digunakan pada penelitian ini, dapat tampak nekrosis yang nyata akibat dari penurunan ketahanan intoksikasi metanol tikus. Selain itu, pada penelitian sebelumnya digunakan organ retina yang merupakan organ kedua yang terserang pada intoksikasi metanol sehingga dengan waktu yang

sama, retina belum mengalami nekrosis, sedangkan putamen yang merupakan organ yang terserang pertama akan mengalami nekrosis terlebih dahulu.⁴

Keterbatasan dari penelitian ini adalah sulitnya memperoleh zat N₂O yang dapat menurunkan kadar folat pada tikus sehingga pengaruh dari asam format dalam menyebabkan nekrosis putamen kurang tampak yang menyebabkan hasil akhir setelah pemberian ranitidin juga menjadi kurang bermakna. Selain itu karena adanya keterbatasan biaya sehingga tidak dapat menggunakan sampel yang lebih banyak lagi. Penelitian ini juga menggunakan dosis yang terlalu kecil untuk melihat kejadian intoksikasi metanol sehingga tidak memberikan gejala dan gambaran histopatologi yang jelas.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Tidak terdapat perubahan gambaran histopatologis sel putamen tikus wistar yang bermakna setelah diberi metanol dengan dosis 0,7 ml dan 1,4 ml sehingga tidak dapat dinilai pengaruh dari ranitidin terhadap gambaran histopatologis sel putamen tikus wistar pada pemberian metanol dosis 0,7 ml dan 1,4 ml.

Pemberian ranitidin 4,5 mg 4 jam setelah pemberian metanol dosis 2.8 ml tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada penurunan nekrosis putamen tikus wistar.

Saran

Sebelum melakukan penelitian, sebaiknya dilakukan pencarian dosis LD₁₀₀ untuk tikus wistar dengan penelitian pendahuluan terlebih dahulu untuk mencari dosis dengan kematian populasi tikus 100%.

Pada penelitian selanjutnya, disarankan untuk dilakukan penelitian serupa dengan modifikasi onset pemberian ranitidin dan dosis metanol yang berbeda. Jika menggunakan dosis metanol yang kurang dari 1,4 ml, disarankan untuk dilakukan pemberian gas N₂O untuk menurunkan asam folat pada tikus. Perlu dilakukan juga penambahan sampel untuk tiap kelompok penelitian

Selain itu, juga diperlukan pertimbangan penelitian untuk ranitidin sebagai pencegahan intoksikasi metanol sehingga ranitidin diberikan terlebih dahulu sebelum pemberian methanol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Public Health England. Toxicological overview [Internet]. 2015 [cited 2015 November 22]. Available from :
https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/456293/Methanol_TO_PHE_260815.pdf
2. World Health Organization. Methanol poisoning outbreaks. 2014.
3. Acute toxicity summary : methanol [Internet]. 1999 [cited 2015 November 22]; 67-56-1:199-206. Available from : http://oehha.ca.gov/air/acute_rels/pdf/67561a.pdf
4. Halisa S, Prayitnaningsih S. Perbandingan Efek Ranitidin, Dexametason dan Kombinasinya terhadap kadar asam format darah dan pelepasan sitokrom C retina pada model tikus intoksikasi metanol akut. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2011 Februari; 26(3):171-175.
5. Babu K, Rosenbaum C, Boyer W. Head CT in patient with metabolic acidosis. *Journal of Medical Toxicology*. 2008 December; 4:275.
6. El-Bakary A, El-Dakrory S, Attalla S, et al. Ranitidine as an alcohol dehydrogenase inhibitor in acute methanol toxicity in rats. *Hum Exp Toxicol OnlineFirst*. 2009;000(00):1-9. DOI:10.1177/0960327109353777.
7. Curtis P, John B. Casarett and Doulls toxicology the basic science of poisons. United States of America: McGraw-Hill; 1999.
8. Perry A, Brat DJ. *Practical surgical neuropathology : a diagnostic approach*. Philadelphia: Elsevier; 2010.