BAB IV

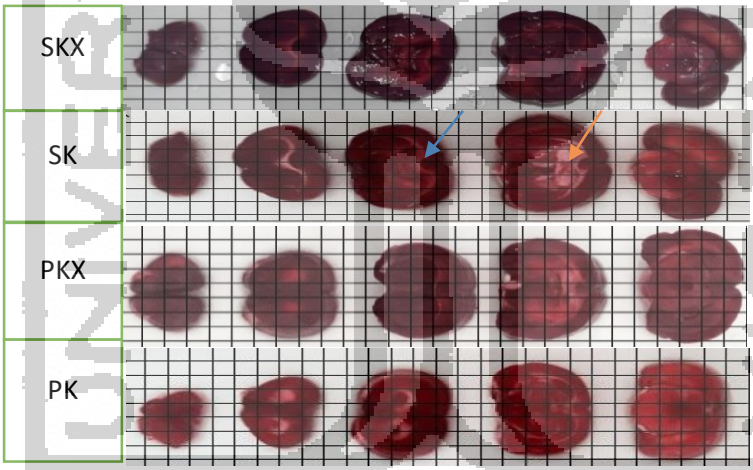
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratoium Fisiologi dan Laboratorium *Reasearch* serta telah mendapatkan persetujuan Komite Etik Fakultas Kedoteran Universitas Islam Indonesia dengan Nomor 53/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2019. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus yang terdiri dari 20 ekor tikus jantan galur wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.1.1 Hasil Pengamatan Volume Iskemia Otak Tikus

Hasil pengamatan pada kelompok SKX, SK, PKX dan PK dengan Metode Cavalieri. Berikut gambar sampel :



Gambar 3. Gambaran daerah iskemik pada otak pada kelompok perlakuan (SKX) kelompok *sham operated* + ketamin-xylazin, (SK) kelompok *sham operated* + ketamin, (PKX) kelompok BCCAO + ketamin-xylazine, (PK) kelompok BCCAO + ketamin. (biru = area penumbra ; oranye = area iskemik)

Setelah penelitian selesai, dilakukan terminasi terhadap hewan coba dan diambil organ otak berikut adalah hasil rerata volume iskemik dan penumbra jaringan otak.

Tabel 1. Rerata Volume Iskemik dan Penumbra Jaringan Otak.

Kelompok Penelitian	Rerata Volume Penumbra (mm^3)	Rerata Volume Iskemik (mm^3)
SKX	362,3±9,3	52.0±3,4
SK	409,3±15,6	72,0±4,1
PKX	394,0±13,21	152,0±3,2
PK	456,0±17,5	168,0±5,65

4.1.2 Analisis Data Penelitian

Hasil pengamatan volume iskemik otak tikus pasca BCCAO antara kelompok ketamin, ketamin + xylazin *sham operated* dan kelompok ketamin, ketamin + xylazin BCCAO dianalis menggunakan aplikasi statistik dan didapatkan bahwa data penelitian terdistribusi normal, dibuktikan dengan nilai *p >0,05* pada semua kelompok di tabel *Shapiro-Wilk* . Tabel *Shaphiro-Wilk* dipilih karena subjek penelitian kurang dari 50 subjek (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji normalitas data *Shapiro-Wilk*

Tests of Normality				
	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.
Volume Penumbra	SKX	0,950	6	0,741
	SK	0,878	6	0,259
	PKX	0,808	4	0,117
	PK	0,980	4	0,900
Volume Iskemik	SKX	0,960	6	0,820
	SK	0,831	6	0,110
	PKX	0,945	4	0,683

	PK	0,827	4	0,161

Untuk mengetahui variansi data digunakan *test of homogeneity of variance* dan didapatkan hasil bahwa data yang ada tidak bervariansi (data homogen) yang ditunjukkan dengan nilai *p>0,05* (Tabel 3).

Tabel 3. Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig
Penumbra Volume	1,821	3	16	0,184
Iskemik Volume	0,604	3	16	0,622

Kemudian dilakukan analisis *One Way Anova* karena data penelitian ini terdistribusi normal dan homogen. Uji *One Way Anova* digunakan dipilih karena penelitian ini ingin mengatahui perbedaan antar kelompok penelitian setelah dilakukan intervensi penelitian. Dari hasil uji *One Way Anova* , setelah diilakukan didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan antar kelompok penelitian ini ditunjukkan dengan nilai *p< 0,05.* Hasil ini menunjukkan bahwa hasil *One Way Anova* menunjukkan hasil yang signifikan. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc Bonferoni*.

Berdasar hasil uji *Pos Hoc* yang sudah dilakukan, mendapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan signifikan dengan nilai *p<0,05*. Kecuali pada variabel volume penumbra antara kelompok SKX-SK karena tidak terdapat perbedaan signifikan dengan hasil *p> 0,05* (P = 0,123), kelompok SKX-PKX nilai *p* (P = 0,852), kelompok SK-PKX nilai *p* (P = 1,000), kelompok SK-PK nilai *p* (P = 0,211) dan pada kelompok PKX-PK nilai *p* (P = 0,079) sedangkan pada variabel volume iskemik terdapat pula variabel yang tidak signifikan yaitu antara kelompok PKX-PK dengan nilai *p* (P = 0,160) (Tabel 5).

Tabel 4. Hasil uji Anova

		Sum of Squares	*Mean Square*	*P value test*
Penumbra Volume	***Between Groups***	21522,133	7174,044	0,003
	Within Groups	15802,667	987,667	
	Total	37324,800		
Iskemik Volume	***Between Groups***	47811,200	15937,067	0,000
	Within Groups	1376,000	86,000	
	Total	49187,200		

Tabel 5. Hasil *Pos Hoc Bonferonni*

	Perlakuan		*Mean Difference*	*p-value*
PenumbraVolume	Skx	Sk	-46,66667	0,123
		Pkx	-31,33333	0,852
		Pk	-93,33333	0,002
	Sk	Skx	46,66667	0,123
		Pkx	15,33333	1,000
		Pk	-46,66667	0,211
	Pkx	Skx	31,33333	0,852
		Sk	-15,33333	1,000
		Pk	-62,00000	0,079
	Pk	Skx	93,33333	0,002
		Sk	46,66667	0,211
		Pkx	62,00000	0,079
IskemikVolume	Skx	Sk	-20,00000	0,011
		Pkx	-100,00000	0,000
		Pk	-116,00000	0,000
	Sk	Skx	20,00000	0,011
		Pkx	-80,00000	0,000
		Pk	-96,00000	0,000
	Pkx	Skx	100,00000	0,000
		Sk	80,00000	0,000
		Pk	-16,00000	0,160
	Pk	Skx	116,00000	0,000

	Sk	96,00000	0,000
	Pkx	16,00000	0,160

4.2 Pembahasan

Pada tabel 1 penelitian ini menunjukkan bahwa volume iskemia dan penumbra pada otak tikus dengan anastesi ketamin-xylazin memiliki volume yang lebih sedikit yaitu 362 mm^3 pada kelompok SKX (operasi sham) dan 394 mm^3 pada kelompok PKX (BCCAO) pada variabel penumbra. Tikus yang hanya diberi anastesi ketamin menunjukkan nilai 409 mm^3 pada kelompok SK dan 456 mm^3 pada PK. Volume iskemik pada kelompok SKX menunjukkan nilai 52 mm^3 dan pada kelompok PKX dengan nilai 152 mm^3 . Tikus dengan anastesi ketamin saja menunjukkan hasil 72 mm^3 pada kelompok SK dan 168 pada kelompok PK.

Berdasarkan data tersebut, penelitian ini menunjukkan bahwa proses operasi BCCAO maupun sham dengan kombinasi anastesi ketamin/ketamin-xylazin memiliki pengaruh terhadap volume iskemia maupun penumbra pada otak tikus dengan nilai *p* (P = 0,003) untuk volume penumbra dan (P= 0,000) untuk volume iskemik. (Tabel 4)

4.2.1 Efek BCCAO dan Sham Terhadap Volume Iskemia

Iskemia merupakan keadaan dimana suatu jaringan mengalami kekurangan suplai darah yang diakibatkan oleh sumbatan yang terjadi pada pembuluh darah (Setyopranoto, 2011). Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi iskemia dengan operasi sham (tanpa ligasi arteri) maupun BCCAO menimbulkan terjadinya keadaan iskemia pada otak tikus. Ini dapat dilihat karena munculnya area iskemik pada kelompok yang diuji. Hal ini dikarenakan suplai darah ke otak mengalami penurunan sehingga otak kekurangan darah dan sel-sel otak mulai menurun aktivitasnya dan bahkan mati. Dapat diketahui dari volume iskemik pada kelompok SKX dan PKX yang menunjukkan nilai *p* (P = 0,000) ini menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang signifikan antara kelompok SKX (sham) dengan PKX (BCCAO) (Tabel 5).

Perbedaan signifikan antara kelompok SKX dengan PKX terletak pada rerata volume iskemik yang ada pada kelompok tersebut yaitu (52 mm^3) pada kelompok SKX dan (152 mm^3) pada kelompok PKX. Hal ini membuktikan bahwa antara kelompok PKX yang menjalani operasi BCCAO dengan ligasi arteri dan diberi anastesi ketamin-xylazin memiliki volume iskemik yang lebih tinggi dari pada kelompok SKX yang menjalani operasi sham tanpa ligasi arteri dengan kombinasi anastesi yang sama. Operasi BCCAO dapat meningkatkan volume iskemik pada otak tikus.

Penggunaan ketamin/ketamin-xylazin antar kelompok BCCAO dengan sham berbeda secara signifikan namun ini dikarenakan perbedaan pada prosedur operasi yang dilakukan. Pengaruh obat anastesi ketamin/ketamin-xylazin kurang dapat dinilai pada perbandingan ini.

4.2.2 Efek Ketamin/Ketamin-Xylazin

Pada penelitian ini membuktikan bahwa penggunaan kombinasi anastesi ketamin-xylazin menyebabkan otak tikus mengalami kondisi lebih tidak iskemia dibandingkan dengan kelompok yang hanya menggunakan ketamin sebagai obat anastesi. Dari penelitian sebelumnya didapati bukti bahwa ketamin memiliki cara kerja dengan memblokade reseptor NMDA (*N-Methyl-D-aspartic acid*) yang memiliki fungsi sebagai regulator kinerja mitokondria dalam kondisi *calcium influx* dan menghasilkan eksitasi neurotransmitter. Inhibisi NMDA oleh ketamin mengakibatkan terjadinya penurunan cedera otak (Holm 2011).

Volume iskemia pada kelompok SK (72 $mm^{3)}$ lebih besar dari pada kelompok SKX (52 mm^3) ini menunjukkan bahwa penggunaan anastesi ketamin saja pada kelompok SK memiliki efek neuroprotektif lebih kecil dibanding kelompok SKX secara signifikan dengan nilai *p* (P = 0,011).

Volume penumbra pada kelompok sham memiliki rerata yaitu (362,3 mm^3) pada kelompok SKX dan (409,3 mm^3) pada kelompok SK. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan ketamin-xylazin pada kelompok SKX memiliki efek protektif meskipun tidak signifikan berbeda yaitu $p > 0,05$ (P = 0,123).

Volume iskemia antara kelompok BCCAO yaitu PKX dan PK tidak ditemukan hasil yang signifikan (P= 0,160) meskipun nilai rerata dari kelompok PKX memiliki volume iskemia yang lebih rendah yaitu (152 mm^3)sedangkan pada kelompok PK berjumlah (168 mm^3). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan anastesi ketamin saja pada kelompok PK memiliki efek protektif yang lebih kecil dibandingkan kelompok SKX yang menggunakan ketamin-xylazin sebagai anastesinya meskipun perbedaannya tidak signifikan.

Volume penumbra pada kelompok PKX dan PK tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai *p>0,05* (P= 0,79). Kelompok PKX memiliki rerata volume penumbra (394 mm^3) dan kelompok PK (456 mm^3). Hal ini menunjukkan bahwa rerata volume penumbra kelompok PKX lebih sedikit daripada kelompok PK sehingga dapat dinilai bahwa kelompok PKX dengan anastesi ketamin-xylazin memiliki efek protektif dibandingkan dengan kelompok PK.

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini telah sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa anastesi ketamin-xylazin memiliki respon protektif terhadap bagian dari otak yang mengalami hipoksia. Hal ini berkaitan dengan efek inflamasi yang diminimalisir oleh ketamin-xylazin. Menurut penelitian sebelumnya senyawa inflamatorik iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) dapat diinhibisi oleh ketamin-xylazin (Helmer *et al*. 2003).

Ketamin-xylazin memiliki efek protektif terhadap area spesifik pada otak yaitu *midbrain*. Ini dapat diketahui dari gambaran otak tikus dimana pada kelompok SKX memiliki volume iskemik yang lebih rendah daripada kelompok SK. Hal ini berkaitan dengan menurunnya keberadaan *tyrosine hydroxylase* (TH) yang memiliki peran terhadap akumulasi dopamin pada otak. Keadaan stress akan memicu peningkatan aktivitasi TH secara signifikan, dengan adanya ketamin-xylazin yang bekerja menghambat aktivasinya maka akan menurunkan tingkat stress dan kerusakan jaringan pada area tersebut (Oka *et al*. 2010; Ferro *et al*. 2007).

Selain itu kombinasi anastesi ketamin-xylazin diketahui memiliki efek aktivasi *neuronal ion channel* yaitu dengan cara meningkatkan sinaps reseptor neurotransmitter *nicotinic acetylcholine*, GABA dan glutamat. Munculnya respon dari reseptor tersebut diketahui akan menimbulkan efek berupa amnesia, imobilitas dan analgesik pada anggota gerak tubuh (Lei, 2001). Disebutkan juga bahwa pemberian anastesi xylazin mampu menimbulkan *cereberal blood flow* (CBF) pada *forebrain* akibat dari berinteraksi dengan pusat reseptor α2-adrenergik. Akibat dari interaksi antar senyawa tersebut, xylazin dapat meminimalisir gejala kaku otot, tremor serta takikardi yang biasanya diakibatkan penggunaan anastesi ketamin. Pada saat awal segera setelah dilakukan injeksi xylazin akan terjadi peningkatan tekanan darah akibat kontriksi pembuluh darah namun seiring berjalannya waktu akan terjadi dilatasi pembuluh darah (Lei, 2001).