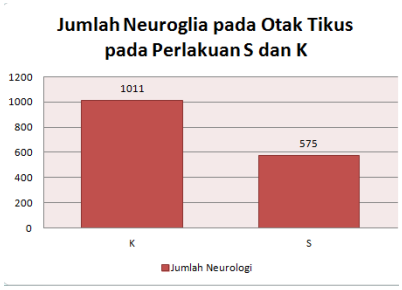
BAB lV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL

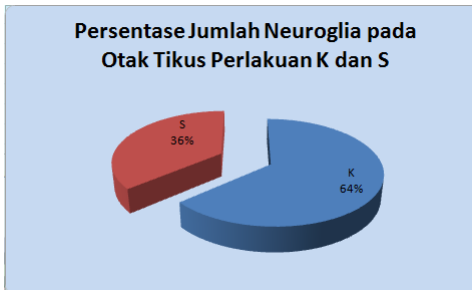
Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik FK UII dengan Nomor : 10/Ka.Kom.Et/70/KE/VII/2016. Pada penelitian ini menggunakan 10 blok biologis tersimpan. Blok ini berasal dari dari tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, yang telah memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi penelitian sebelumnya adalah tikus berusia 3-4 bulan, berat badan 175-250 gr, sehat. dan 10 ekor tikus tersebut tidak ada yang mengalami kematian ataupun sakit selama perlakuan penelitian.

Hasil pengamatan uji eksperimental quasi ini berupa neuroglia yang berasal dari otak tikus *Rattus norvegicus* yang tidak di lakukan BCCAO sebagai *control* (*sham operated*) dan yang dilakukan teknik BCCAO selama 20 menit induksi dan 2 jam *reperfusion*.



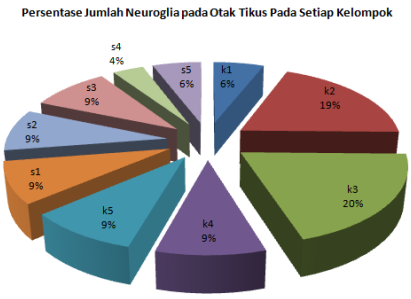
Gambar 10. Jumlah neuroglia pada pada otak tikus pada kelompok sham dan kelompok perlakuan

Pada (Gambar.10) menunjukkan diagram batang jumlah neuroglia pada otak tikus yang diberikan dua perlakuan yaitu S dan K. Dapat dilihat bahwa jumlah neuroglia pada perlakuan K yaitu sebanyak 1011 sedangkan pada perlakuan S menunjukkan jumlah neuroglia sebanyak 575. Sehingga total jumlah neuroglia pada kedua jenis perlakuan yaitu sebanyak 1586.



Gambar 11. Persentase jumlah neuroglia pada otak tikus kelompok sham dan kelompok perlakuan

Selanjutnya pada (Gambar.11) menjelaskan persentase jumlah neuroglia pada otak tikus pada perlakuan K dan S. Persentase jumlah neuroglia pada perlakuan S yaitu sebesar 36% sedangkan pada perlakuan K sebesar 64% .

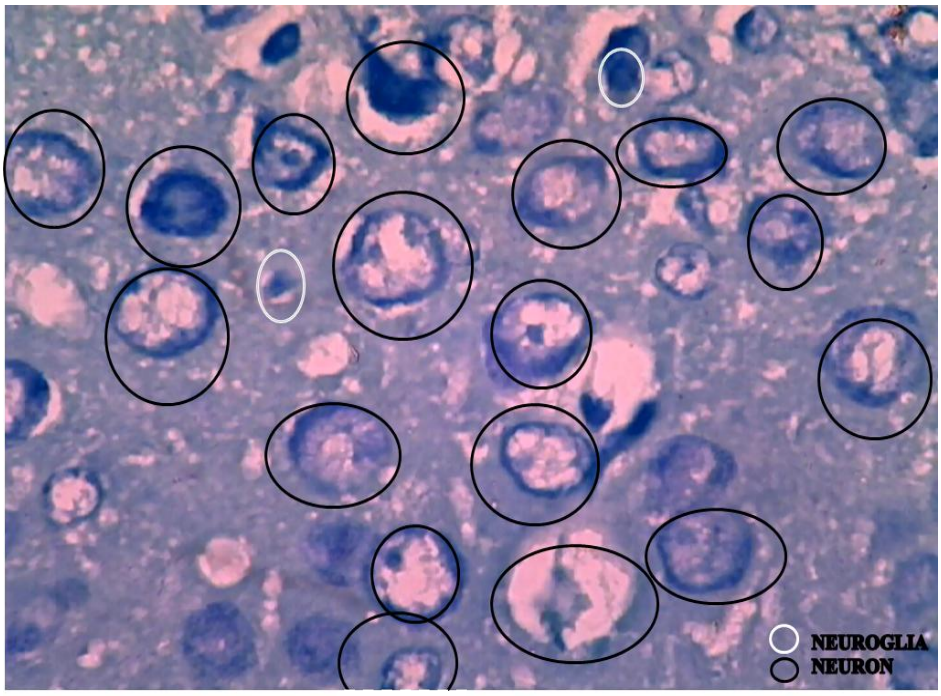


Gambar 12. Presentase jumlah neuroglia pada otak tikus pada pada setiap kelompok

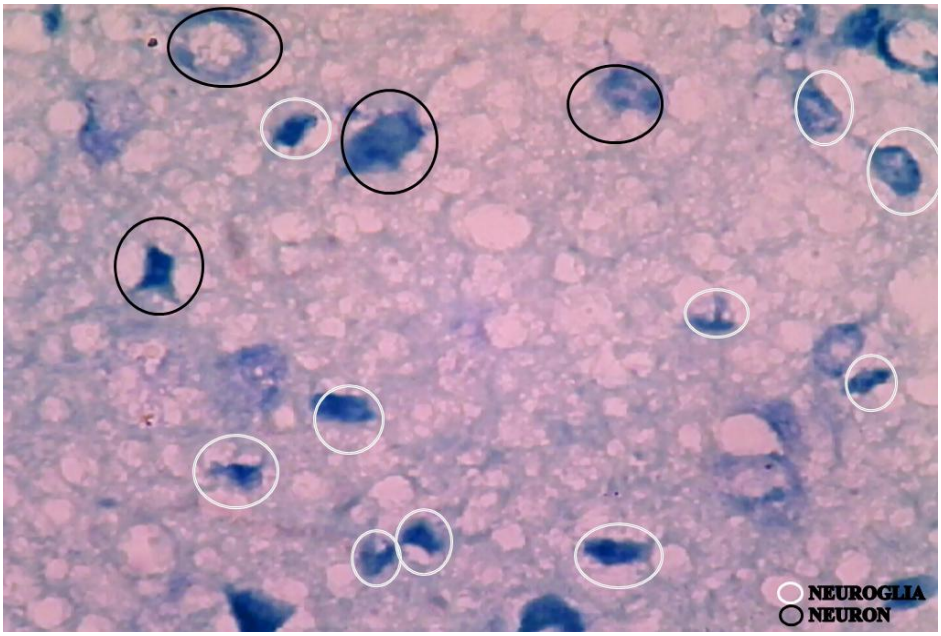
Pada (Gambar.12) menunjukkan persentase jumlah neuroglia pada otak tikus pada kelompok S1, S2, S3, S4, S5, K1, K2, K3, K4, dan K5. Dari diagram pada (gambar 12) dapat dilihat bahwa jumlah neuroglia paling banyak yaitu pada kelompok K3 yaitu sebanyak 20% selanjutnya yaitu pada K2 sebesar 19 % kemudian pada kelompok S1, S2, S3,K5, K4 masing-masing sebesar 9%. Berikut adalah gambaran dari hasil penelitian.

Berikut adalah gambaran hasil pengamatan:

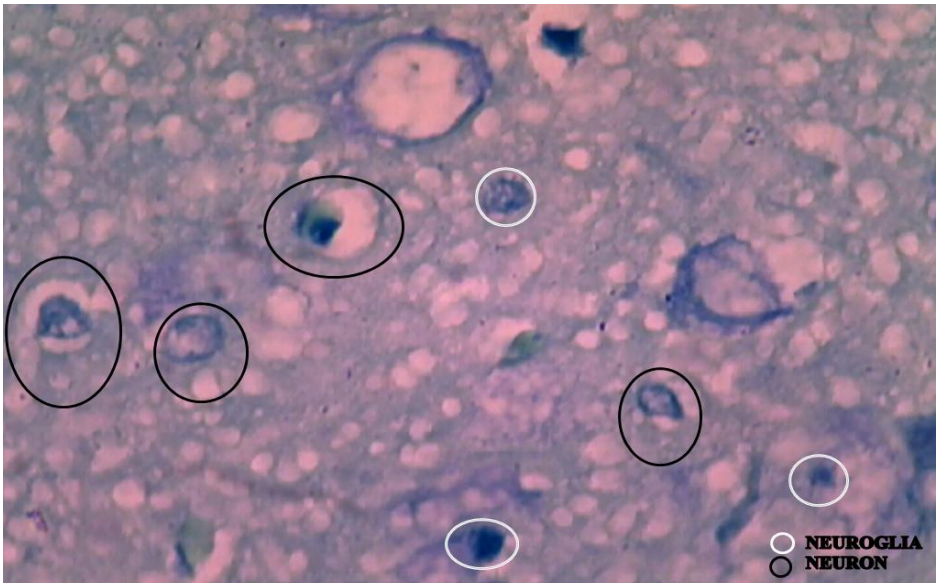
A. KELOMPOK S1.



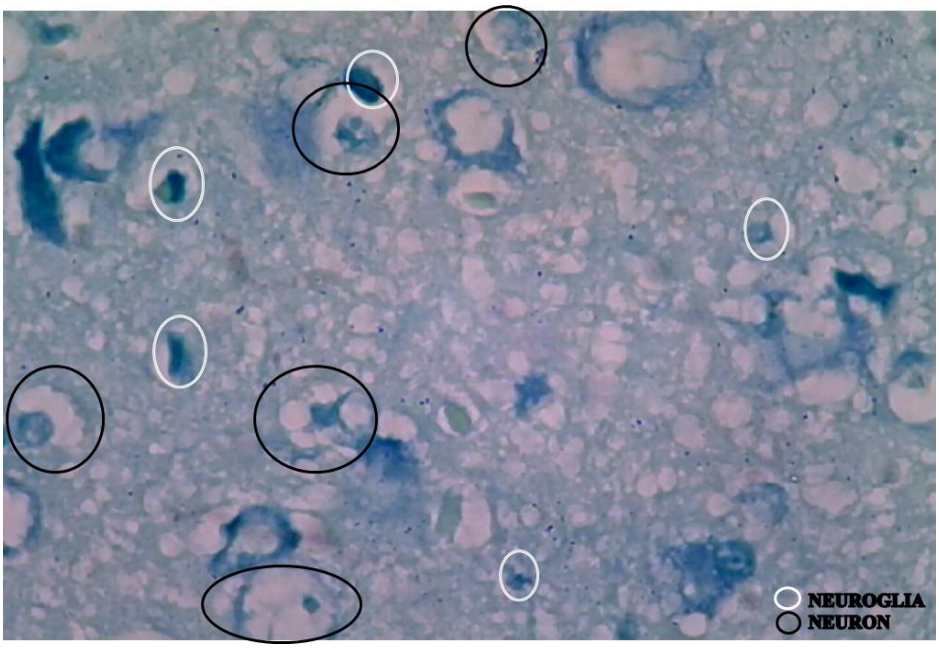
B. KELOMPOK S2.



C. KELOMPOK S3.

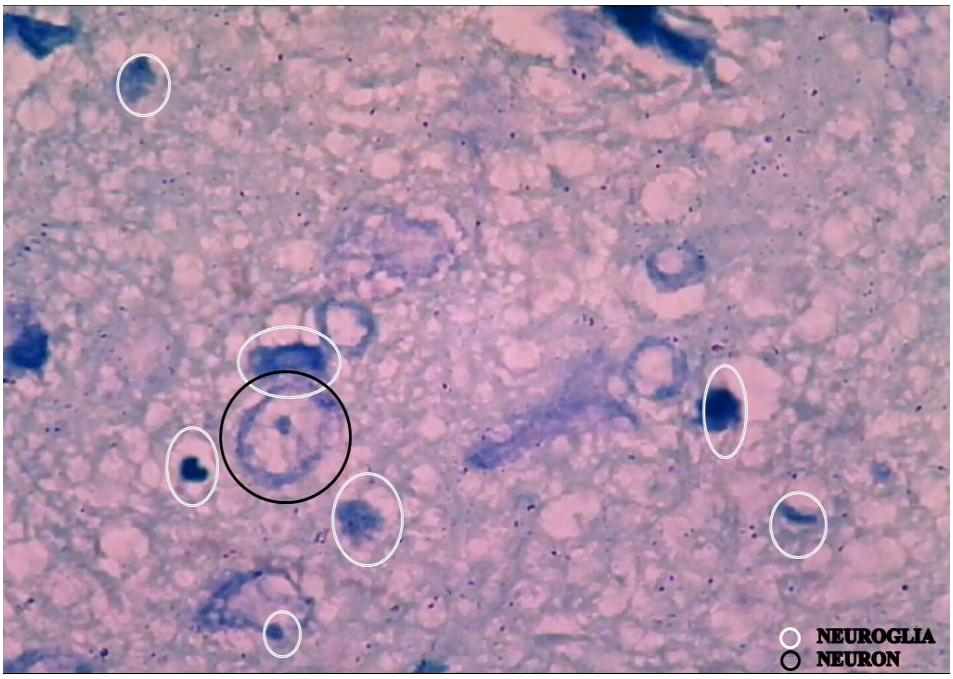


D. KELOMPOK S4.

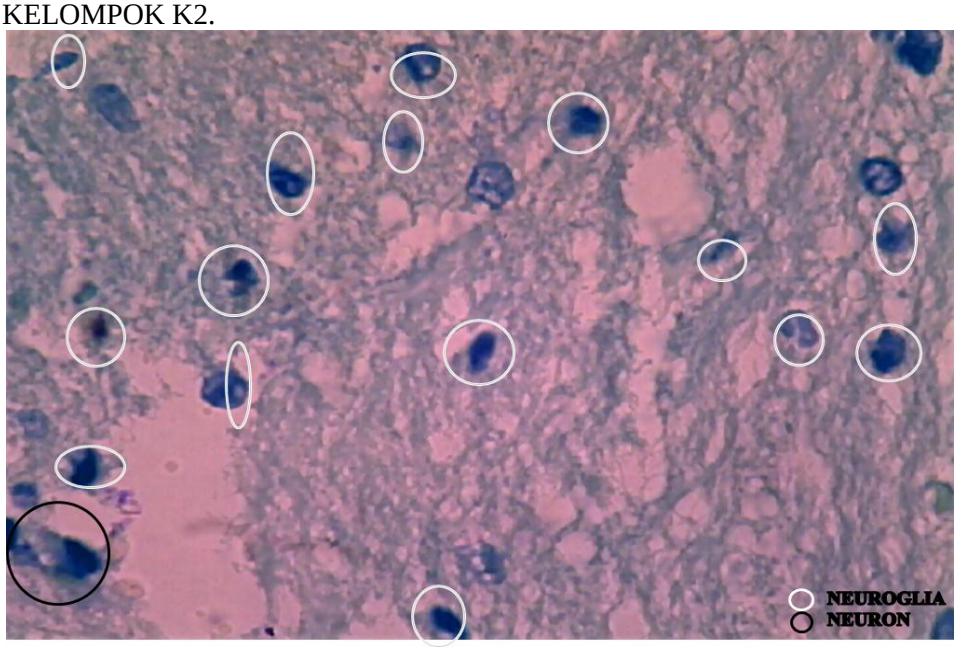


E. KELOMPOK S5.

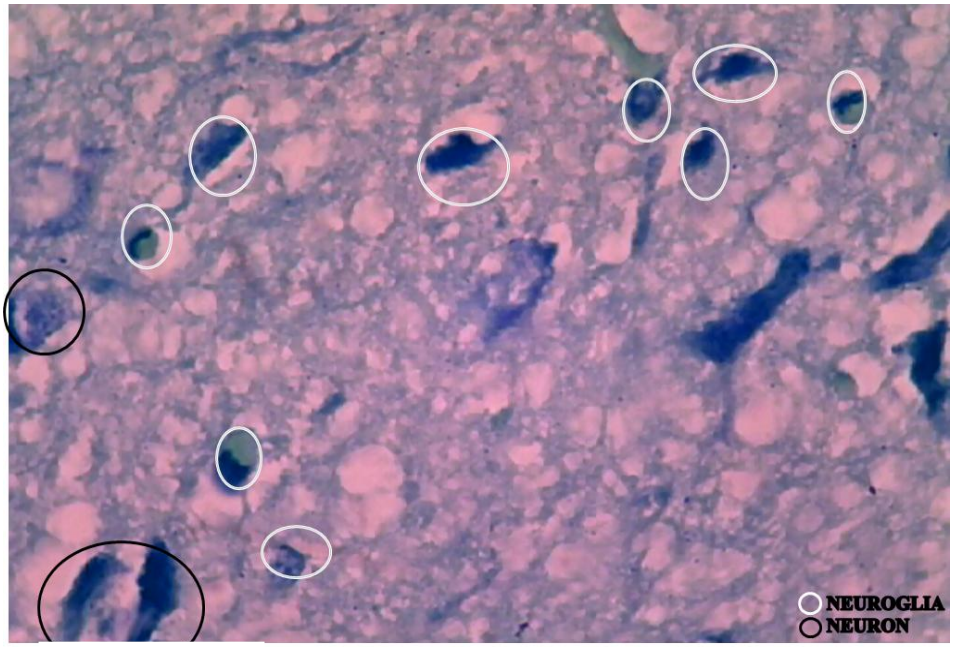
F. KELOMPOK K1.



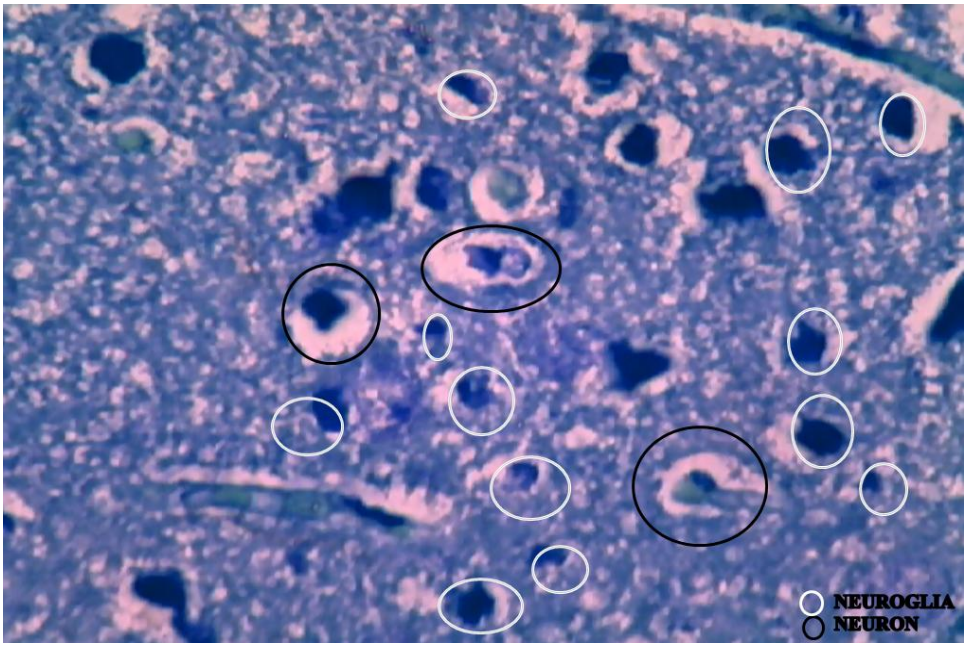
G. KELOMPOK K2.



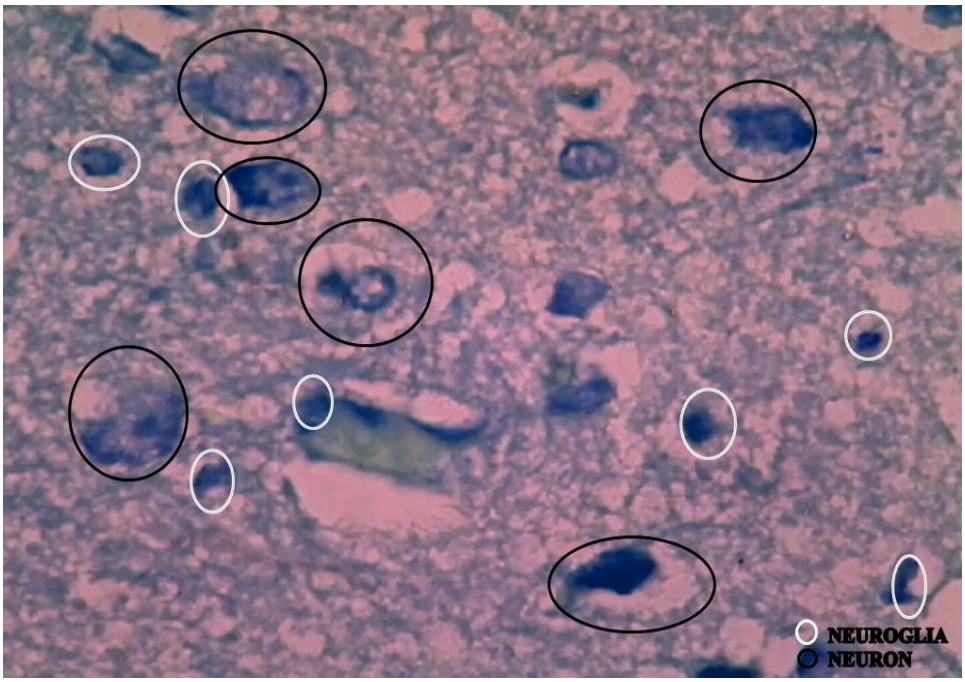
H. KELOMPOK K3.



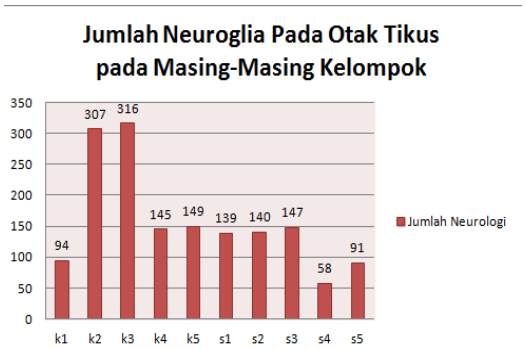
I. KELOMPOK K4.



J. KELOMPOK K5.



Pada kelompok K1 dan S5 jumlhan neuroglia sebesar 6% dari jumlah neroglia secara keseluruhan. Persentase terkecil terdapat pada kelompok S4 yaitu hanya sebesar 4% dari jumlah keseluruhan.



Gambar 13 Jumlah neuroglia pada otak tikus pada setiap

(Gambar.13) menjelaskan persebaran jumlah neuroglia pada otak tikus pada masing-masing kelompok. Jumlah neuroglia paling banyak yaitu pada kelompok K3 yaitu sebanyak 316 selanjutnya yaitu pada K2 sebanyak 307 kemudian pada kelompok S1, S2, S3,K5, K4 masing-masing sebesar 139, 140, 147, 149, 145. Pada kelompok K1 dan S5 jumlah neuroglia masing-masing sebanyak 94 dan 91. Jumlah neurologlia terkecil terdapat pada kelompok S4 yaitu hanya sebanyak 58.

Tabel. 6 Hasil Uji t test

kelompok	Rerata Jumlah Neuroglia	SD	Saphiro Wilk	p
Sham	10.0099		0,15	0,00
Perlakuan	5.6931		0,22	

Hipotesis awal ntuk penujian ini adalah data berdistribusi normal sedangkan hipotesis tandingannya yaitu data tidak berdistribussi normal. Dengan menggunakan tingkat kesalahan (α = 0,01) maka diperoleh keputusan bahwa data berdistribusi normal pada kedua jenis perlakuan, karena nilai p-value 0.22 untuk kelompok S lebih besar dari α=0.01. begitupun pada kelompok K yang memilki nilai P-value =0.15 yang artinya lebih besar dari α=0.01.

Pada (Tabel. 6). dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah neuroglia pada perlakuan S yaitu 5.6931, sedangkan pada perlakuan K rata-rata jumlah neuroglia adalah 10.0099 artinya jumlah

rata-rata neuroglia pada otak tikus pada kelompok K sebanyak 63% lebih besar dibandingkan pada perlakuan kelompok S.

Hipotesis yang diuji yaitu rata-rata jumlah neuroglia otak tikus pada perlakuan S adalah meningkat, sedangkan hipotesis alternatif yaitu jumlah neuroglia otak tikus pada perlakuan S menurun. Dengan menggunakan tingkat kesalahan (α = 0,01) maka diperoleh keputusan bahwa terdapat perbedaan rata-rata kedua jenis perlakuan karena nilai P-value 0.00 yang artinya lebih kecil dari (α = 0.01) sehingga menghasilkan keputusan berhubungan dengan hipotesis awal.

4.2. PEMBAHASAN

Penilaian neuroglia ini dilakukan pada setiap tikus dengan cara menghitung jumlah neuroglia yang terdapat dalam beberapa lapang pandang blok biologis data yang di dapatkan dilakukan penjumlahan dan perhitungan rata-rata dari setiap neuroglia yang dimana pada akhirnya hasil perhitungan neuroglia ini akan dibandingkan.

Pada hasil perhitungan jumlah neuroglia specimen S dengan teknik BCCAO memiliki nilai rata-rata 5.6931, berarti jumlah neuroglia mengalami penurunan, pada tahap ini penurunan jumlah neuroglia terjadi karena pada area iskemik yang mengalami kerusakan akan mengakibatkan terjadinya *pannecrosis* yang tidak hanya merusak neuron melainkan neuroglia pun dapat mengalami kerusakan, karena adanya penurunan aliran darah (Dihné *et. al*,. 2002).

Selain itu kerusan pada sel glia sendiri juga di picu oleh salah satu bagian sel glial sendiri yaitu astrosit, sebab astrosit adalah bagian yang paling melimpah pada serta bertangug jawab pada metabolism dan dukungan trofik ke neuron, pada saat terjadi iskemik astrosit akan mengendalikan berbagai macam hal, diantaranya ialah pengendalian cairan ruang intraseluler dan ekstraseluler, serapan glutamate, metabolisme neurotransmisi normal dan juga pembentukan dari *The blood–brain barrier* (Araya *et al*., 2008)

Pengendalian astrosit pada berbagi substrat ini terutama pada pengendalian glutamate yang mengakibatkan hipereksresibilitas reseptor NMDA dan AMPA yang akan mempengaruhi kadar kalsium intraseluler, yang dapat menginisiasi kerusakan yang di ikuti oleh proses inflamasi dan aktivasi apoptosis pada sel, kalsium yang masuk akan mengaktifkan beberapa enzim sensitif kalsium intraseluler, seperti *neuronal nitric oxide synthase* (nNOS), *death-associated protein kinase* (DAPK), *DAPK related protein kinase-1 (*DRP-1) dan *Ca2+/CaM-dependent kinases* (CaMKs). nNOS akan mengakibatkat terjadinya stres oksidatif, DAPK dan DRP-1 dapat

menginduksi terjdinya kerusakan membran yang berujung pada nekrosisnya sel dan CaMKs yang akan berperan pada proses apoptosis dan nekroptosis (Mehta *et al.,* 2007).

Selain itu Stress oksidatif yang terjadi juga akan mengakibatkan terjadinya nekrosis, apoptosis atau nekroptosis tergantung pada keparahan stres yang di alami. Stress oksidatif akan menginduksi sinyal yang dapat menyebabkan kerusakan membrane protein DNA secara langsung dengan mengfagmen untai DNA sehingga akan terjadi apoptosis. Apoptosis melibatkan protein kunci, seperti caspase, apoptosis-inducing factor (AIF) dan protein turunan Bcl-2 (Mehta *et al.,* 2007).

AIF dapat memfragmentasi DNA dan memicu apoptosis langsung dengan menstimulasi caspase 3. caspase-3 mendegradasi sel dan akhirnya menyebabkan kematian sel. Necroptosis terjadi karena keparahan stress oksidatif (Hong *et al.,* 2004).

Iskemia otak akan menyebabkan reaksi glia, termasuk astrosit, mikroglia, oligodendrosit dan sel ependymal. Astrosit adalah sel berbentuk seperti bintang yang berasal dari *neural stem cells*. Astrosit adalah satu-satunya sel dalam otak yang mampu menyimpan glikogen.

Kondisi iskemia akan menyebabkan pecahnya glikogen dalam astrosit sehingga terbentuknya laktat yang akan menggantikan fungsi glukosa untuk sementara waktu. Selama iskemia, astrosit akan membengkak, elongasi dan terbentuk fragmentasi sitoplasma, yang akan diikuti dengan peningkatan ekspresi *glial fibrillary acidic pro*tein (GFAP). Sebaliknya, prosesus mikroglia akan mengalami retraksi seperti bentuk amoba. Hal ini merupakan bentuk aktif mikroglia. Oligodendosit dan sel ependymal sangat sensitif terhadap hipoksia (Alex 2015).

Iskemia otak menyebabkan astrosit menjadi reaktif yang ditandai dengan adanya hipertrofi dan proliferasi astrosit. Proliferasi astrosit dapat diketahui dengan menggunakan marker *glial fibrillary acidic protein* (GFAP). Beberapa penelitian sudah pernah dilakukan untuk mengetahui waktu terjadinya astrosit reaktif pada peristiwa hipoperfusi otak kronik. Proliferasi astrosit dapat diamati pada kortex dan *visual pathway* setelah 1 minggu pasca BCCAO. Sebaliknya, astrogliosis di hippocampus terjadi minimal enam bulan pasca hipoperfusi otak kronik (Alex 2015).

Aktivasi mikroglia terjadi bervariasi, mulai dari 10 menit sampai enam bulan pasca BCCAO. Peningkatan jumlah mikroglia mulai terjadi di hippocampus 20 menit pasca BCCAO, dan masih bertahan sampai 13 minggu pasca BCCAO (Alex 2015). Mikroglia dapat digunakan sebagai indikator sensitif yang menunjukkan terjadinya iskemia transien. Kerusakan yang

ditimbulkan oleh iskemia yang diikuti dengan *reperfusion* akan lebih berat dibandingkan tanpa *reperfusion*. Aktivasi mikroglia paling awal muncul pasca 10, 15 dan 20 menit BCCAO dan *reperfusion* 1 jam sampai 3 hari. Kondisi hipotermia dapat menyebabkan aktivasi mikroglia di hippocampus. Perlakuan BCCAO selama 10 menit tanpa *reperfusion* dapat meningkatkan reaksi mikroglia di hippocampus (Ábrahám & Lázár 2000). Khallout (2013) menyebutkan bahwa aktivasi mikroglia mulai terjadi pada empat jam pasca BCCAO (Khallout 2013).

(Sugawara *et al*., 2002) meneliti *Effects of Global Ischemia Duration on Neuronal, Astroglial, Oligodendroglial, and Microglial Reactions in the Vulnerable Hippocampal CA1 Subregion in Rats* (Sugawara et al. 2002). Iskemia global diinduksi pada tikus SD dengan cara BCCAO 10 menit, 5 menit dan 3 menit. Pada hari pertama sampai hari ke 56 setelah iskemia dilakukan pengamatan pada morfologi neuron, astrosit, oligodendrosit dan mikroglia menggunakan IHC. Hampir semua neuron CA1 hippocampus mengalami kematian pasca 10 menit dan 5 menit BCCAO dengan *reperfusion* minimal 3 hari. Jumlah astrosit menurun secara perlahan pasca 10 menit dan 5 menit BCCAO.