

**PENGARUH SUHU TUBUH HEWAN COBA TERHADAP
VOLUME ISKEMIA OTAK DAN ANGKA MORTALITAS
TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*) PASCA *TRANSIENT*
BILATERAL COMMON CAROTIS ARTERY OCCLUSION
(BCCAO)**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER



Oleh :

Muh Ikram M Tahir

11711042

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2017**

**EFFECT OF BODY TEMPERATURE OF ANIMAL TRIAL ON
CEREBRAL ISCHEMIA VOLUME AND MORTALITY RATE
OF RATS (*RATTUS NORVEGICUS*) AFTER TRANSIENT
OCCLUSION OF BILATERAL COMMON CAROTID
ARTERY**

A SCIENTIFIC PAPER

Submitted in Partial Fulfillment of Requirement
for the Medical Scholar Degree

MEDICAL EDUCATION PROGRAM



By :

Muh Ikram M Tahir

11711042

FACULTY OF MEDICINE

ISLAMIC UNIVERSITY OF INDONESIA

YOGYAKARTA

2017

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH SUHU TUBUH HEWAN COBA TERHADAP VOLUME
ISKEMIA OTAK DAN ANGKA MORTALITAS TIKUS (*RATTUS
NORVEGICUS*) PASCA TRANSIENT BILATERAL COMMON CAROTIS
ARTERY OCCLUSION (BCCAO)**

Disusun dan diajukan oleh:

Muh Ikram M Tahir

11711042

Telah diseminarkan tanggal 5 Maret 2017 disahkan dan disetujui oleh:

Penguji

Pembimbing Utama

dr. Kuswati M.Sc

dr. Ety Sari Handayani M.Kes

Ketua Prodi Pendidikan Dokter

dr. Hj. Erlina Marfianti, M.Sc., Sp.PD

Disahkan

Dekan Fakultas Kedokteran



dr. Hj. Linda Rosita, M Kes, Sp.PK

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	iii
Daftar Isi.....	iv
Daftar Tabel.....	vi
Daftar Gambar.....	vii
Halaman Pernyataan.....	viii
Kata Pengantar.....	ix
Intisari.....	xi
<i>Abstract</i>	xii
BAB I. Pendahuluan.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Pertanyaan Penelitian.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat penelitian.....	3
1.5 Keaslian Penelitian.....	3
BAB II. Tinjauan Pustaka.....	5
2.1 Tinjauan Pustaka.....	5
2.2 Kerangka Teori.....	19
2.3 Kerangka Konsep.....	20
2.4 Hipotesis.....	20
BAB III. Metode Penelitian.....	21
3.1 Rancangan Penelitian.....	21
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.3 Subyek Penelitian.....	21
3.4 Variabel Penelitian.....	22
3.5 Definisi Operasional.....	22
3.6 Instrumen Penelitian.....	22
3.7 Alur Penelitian.....	23
3.8 Analisis Data.....	25
3.9 Etika Penelitian.....	25

BAB IV. Hasil dan Pembahasan.....	26
4.1 Hasil.....	26
4.2 Pembahasan.....	28
BAB V. Kesimpulan dan Saran.....	31
5.1 Kesimpulan.....	31
5.2 Saran.....	31
Daftar Pustaka.....	32
Lampiran.....	36



DAFTAR TABEL

Tabel I.....	27
Tabel II.....	28



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.....	16
Gambar 2.....	17
Gambar 3.....	25
Gambar 4.....	26
Gambar 5.....	27



HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul Pengaruh Suhu Tubuh Hewan Coba Terhadap Volume Iskemia Otak dan Angka Mortalitas Tikus (*Rattus Norvegicus*) Pasca *Transient Bilateral Common Carotis Artery Occlusion* (BCCAO) ini belum terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di perguruan tinggi manapun, dan sepanjang yang penulis ketahui belum terdapat karya atau pendapat yang ditulis dan diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustakan.

Yogyakarta, 6 Maret 2017



Muh Ikram M Tahir

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillah syukur sebesar-besarnya kita limpahkan pada rab semesta alam Allah SWT, karena limpahkan rahmat dan karunia-nya penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini tanpa hambatan yang berat dan tanpa kurang satu apapun. Rahma serta salam tidak lupa kita panjatkan pada rasul tercinta Rasulullah Muhammad SAW, yang telah mengeluarkan kita dari jaman jahiliyah yang penuh kegelapan menuju jaman yang terang-benderang seperti yang dapat kita rasakan saat ini.

Dalam penulisan KTI ini sebagai tugas akhir untuk memenuhi syarat memperoleh gelar kesarjanaan S.Ked, penulis telah melalui banyak hal dalam menyelesaikan KTI ini, suka dan duka, beberapa halangan yang harus dilewati, tidak mungkin penulis dapat selesaikan tanpa dukungan dan bantuan dari beberapa pihak. Maka dari itu penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Keluarga besar H. M Tahir wahab, ayahanda yang telah dan selalu mendukung langkah terbaik yang dipilih oleh putranya. Ibunda tercinta Hj. Murni Ali, yang tidak berhenti memberikan restu dan doanya dalam mengiringi langkah putranya. Abang tersayang Muh Ilham Tahir beserta istri, yang selalu mendukung moral dan semangat. Adik tercinta Muh Imran Tahir yang selalu mendukung. Adik bungsu yang selalu saya banggakan Salman Alfarizy Tahir yang selalu mencontoh hal-hal baik yang dilakukan oleh kakak-kakaknya.
2. dr. Ety Sari Handayani M.Kes selaku pembimbing yang sudah membimbing dan meluangkan waktunya untuk penulis, dan tidak lelah dalam memberikan masukan yang positif.
3. dr. Kuswati M.Sc selaku penguji yang selalu memberikan arahan terbaik dan bimbingan dalam penyusunan KTI ini.
4. Seluruh keluarga besar H. Ali Taba.
5. Sahabat-sahabat yang selalu mendukung dalam susah dan senang: Rizky Arianto, Ferry Herdian, Alifan Haqi, Ayu Dilla.

6. Sahabat-sahabat no name yang mendorong selesainya KTI ini: Rendy Dwi, AM Farid, Irawan, Brama D.S, Ibnu H, Yustian, Ardi MP, Alfikry Ronaldo, Benanda, Yekti, Deni K, Trias.
7. Adik-adikku yang telah membantu: Rima N.R, Dinda Admira, Muthia Kamilla dan Uswatun Hasanah.
8. Keluarga besar TBMM HUMERUS yang saya cintai dan sayangi.
9. Pihak-pihak yang membantu yang tidak mungkin penulis tuliskan satu-persatu, penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya.

Semoga KTI ini dapat bermanfaat, dalam dunia kesehatan khususnya, dan bagi siapapun yang membacanya, sehingga menjadi tambahan wawasan dan pengetahuan yang dapat bermanfaat bagi seluruhnya.

Tidak banyak hal lagi yang dapat penulis sampaikan, mohon maaf sebesar-besarnya jika dalam pembuatan KTI ini penulis melakukan kesalahan, penulis selalu menerima saran dan kritik serta masukan yang dapat menjadikan penulis lebih baik kedepannya.

Akhir kata, terimakasih.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Yogyakarta, 6 Maret 2017

Muh Ikram M Tahir

INTISARI

Latar Belakang : Studi meta analisis menunjukkan bahwa hipotermia dapat memperbaiki kondisi iskemia otak dan mengurangi angka mortalitas pada hewan model stroke. Suhu lingkungan akan mempengaruhi keberhasilan model stroke pada hewan coba. Penelitian yang menilai pengaruh suhu terhadap angka mortalitas dan volume iskemia otak tikus belum pernah dilakukan di Indonesia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah ada pengaruh perubahan suhu tubuh hewan coba terhadap volume iskemia otak dan angka mortalitas tikus (*Rattus Norvegicus*) pasca *transient* BCCAO.

Metode Penelitian : Rancangan penelitian ini adalah *post test only control group design*, menggunakan tikus putih berusia 3 bulan, dan berat badan 150-200 gram, menggunakan tikus sebanyak 43 ekor. Induksi iskemia selama 5 dan 10 menit dengan *reperfusion* 24 jam. Kelompok tikus dibagi berdasarkan suhu optimal tikus $>36^{\circ}\text{C}$ dan suhu non optimal $< 36^{\circ}\text{C}$. Volume iskemia otak diukur menggunakan metode Cavalieri pada otak yang diwarnai dengan TTC. Uji pengaruh suhu tubuh terhadap angka mortalitas tikus menggunakan kai kudarat. Uji pengaruh suhu terhadap volume iskemia otak menggunakan one way ANOVA.

Hasil : Tidak terdapat perbedaan bermakna antara suhu dengan angka mortalitas ($p>0,05$) dan rerata volume iskemia antar kelompok ($p>0,05$).

Kesimpulan : Tidak terdapat pengaruh suhu terhadap angka mortalitas dan volume iskemia otak tikus pasca *transient* BCCAO

Kata Kunci : Suhu, BCCAO, Volume Iskemia Otak, Angka Mortalitas.

ABSTRACT

Background : Some journals and meta-analyzes have shown an improvement of stroke with cold therapy or therapeutic hypothermia, and has conducted research on mortality in mice with changes in temperature, but there has been no research done in Indonesia. To determine whether there is influence changes in body temperature of experimental animals to the volume of cerebral ischemia and mortality rat (*Rattus Norvegicus*) post transient BCCAO.

Methods : The research was post test only control group design, using 43 white mouse aged 3 months, and weigh 150-200 grams. Induction of ischemia for 5 and 10 minutes with a 24-hour reperfusion. Group of rats was divided by the optimal temperature rat $> 36^{\circ}\text{C}$ and non-optimal temperatures $< 36^{\circ}\text{C}$. The volume of cerebral ischemia measured using the Cavalieri method on brain stained with TTC. Test of the effect of temperature on mortality in mice using kai Kuadrat. Test of the effect of temperature on the volume of cerebral ischemia using one-way ANOVA.

Results : There was no significant difference between the temperature with mortality ($p > 0.05$) and the mean volume of ischemia between groups ($p > 0.05$).

Conclusion : There is no effect of temperature on mortality rate and cerebral ischemia volume after transient BCCAO.

Keywords : Temperature, BCCAO, Ischemia Volume, Mortality Rate.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stroke adalah penyakit multifaktorial yang disebabkan oleh berbagai penyebab dan disertai manifestasi mayor, menjadi penyebab utama kecacatan dan kematian di negara-negara berkembang (Saidi *et al.*, 2010). Stroke didefinisikan oleh WHO sebagai suatu tanda klinis yang berkembang dengan cepat diakibatkan oleh gangguan otak fokal (atau global) dengan gejala yang berlangsung selama 24 jam atau lebih, dan dapat menyebabkan kematian tanpa adanya penyebab lain yang jelas selain vaskuler (WHO, 2006).

Menurut data WHO (2010-b), terdapat 15 juta orang diseluruh dunia menderita stroke setiap tahunnya. Ditemukan jumlah kematian diantaranya 5 juta orang, dan 5 juta penderita lainnya mengalami kecacatan permanen. Penyakit stroke telah menjadi masalah kesehatan yang menjadi penyebab utama kecacatan pada usia dewasa dan merupakan salah satu penyebab terbanyak di dunia (Xu *et al.*, 2010). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (RisKesDas 2013), stroke menjadi penyebab kematian utama di Indonesia. Penderita penyakit stroke berdasarkan diagnosis Tenaga Kesehatan (NaKes) pada 2013 diperkirakan sebanyak 1.236.825 orang (7,0%), sedangkan berdasarkan diagnosis Nakes/gejala diperkirakan sebanyak 2.137.941 orang (12,1%). Berdasarkan diagnosis Nakes maupun diagnosis/ gejala, Provinsi Jawa Barat memiliki estimasi jumlah penderita terbanyak yaitu sebanyak 238.001 orang (7,4%) dan 533.895 orang (16,6%), sedangkan Provinsi Papua Barat memiliki jumlah penderita paling sedikit yaitu sebanyak 2.007 orang (3,6%) dan 2.955 orang (5,3%) (Kemenkes RI, 2014).

Beberapa tahun terakhir penggunaan model hewan meningkatkan pemahaman terhadap mekanisme patofisiologi stroke. Tikus adalah hewan model stroke yang paling umum dilakukan (Cassals *et al.*, 2011; Bacigaluppi *et al.*, 2010)

Rat stroke model terdiri dari global iskemia dan *focal* iskemia. Iskemia *focal* ditandai dengan pengurangan aliran darah otak di daerah yang berbeda dari otak, sedangkan di iskemia global pengurangan aliran darah mempengaruhi seluruh otak atau otak depan. Salah satu contoh global iskemik adalah oklusi arteri carotis communis bilateral (Cassals *et al.*, 2011). Nandagopal *et al.* (2010) menyatakan bahwa teknik BCCAO dapat digunakan untuk mempelajari mekanisme obat neuroprotektan. Model ini dapat mengidentifikasi mekanisme yang menyebabkan kerusakan jaringan serta menjadi dasar pengembangan terapi stroke pada tingkat pre klinis (Bacigaluppi *et al.*, 2010).

Teknik BCCAO dilakukan dengan mengikat arteri karotis komunis bilateral tikus selama beberapa menit, kemudian dilanjutkan dengan pelepasan ikatan tersebut (*reperfusion*). Periode ikatan dan periode *reperfusion* menyebabkan kerusakan pada sel otak. Studi literatur menunjukkan bahwa ada beberapa variasi oklusi BCCAO dan durasi *reperfusion* pasca BCCAO yang dapat menyebabkan iskemia otak. Variasi oklusi arteri komunis bilateral adalah 15 – 60 menit, sedangkan durasi periode *reperfusion* pasca BCCAO bervariasi antara 1 jam, 24 jam dan 48 hari. Perbedaan durasi BCCAO akan menyebabkan perbedaan area iskemia pada otak (Singh *et al.*, 2007; Nandagopal *et al.*, 2010; Lapi *et al.*, 2012; Deb *et al.*, 2012; Cai *et al.*, 2016; Aktürk *et al.*, 2014; Kumar & Sastry, 2012; Rekabi *et al.*, 2015).

Telaah sistematis dan meta-analisis model iskemia pada hewan coba menunjukkan bahwa suhu tubuh hewan coba dapat mempengaruhi kejadian iskemia dan perbaikan neuron. Disebutkan bahwa penurunan suhu tubuh tikus saat diinduksi iskemia akan menyebabkan perbaikan fungsi neuron (Olai *et al.*, 20016). Sebaliknya, jika suhu tubuh hewan coba stabil pada suhu 30°C maka akan terjadi kerusakan pada hewan coba. Sayangnya, data yang menggambarkan hubungan antara suhu tubuh dan besar volume iskemia tikus dan angka kematian pasca induksi iskemia 5, dan 10 dengan *reperfusion* selama 24 jam di Indonesia belum tersedia.

1.2 Pertanyaan Penelitian

Apakah ada pengaruh suhu tubuh terhadap volume iskemia dan angka mortalitas tikus (*Rattus Norvegicus*) pasca *transient* BCCAO?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui apakah ada pengaruh perubahan suhu tubuh hewan coba terhadap volume iskemia otak dan angka mortalitas tikus (*Rattus Norvegicus*) pasca *transient* BCCAO?

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Manfaat penelitian ini adalah menambah pengetahuan peneliti tentang pengaruh terhadap perubahan suhu tubuh hewan terhadap angka mortalitas tikus (*Rattus Norvegicus*) pasca ligase *transient* carotis communis arteri
- b. Hasil karya tulis ilmiah dapat dijadikan sebagai syarat kelulusan pendidikan sarjana kedokteran bagi peneliti
- c. Menambah pengalaman peneliti dalam bidang penelitian

1.5 Keaslian penelitian

Penelitian yang dilakukan Gopalakrishnan *et al.* (2016). *Impact Of Seasonal Temperatures and Laboratory Room on Mortality of Rats with Ischemic Brain Injury*. Penelitian ini menggunakan data retrospektif untuk mengeksplorasi hubungan antara musim letak geografis (musim panas dan dingin) dengan kemudian menyelidiki pengaruh suhu terkondisi laboratorium.

Pada penelitian meta-analisis yang lain oleh Olai *et al.* (2016). *Protocol For Meta-Analysis of Temperature Reduction in Animal Model of Cardiac Arrest*. Melakukan manajemen suhu tertarget (TTM) dari 32-34°C. Melihat adanya

intervensi suhu mengurangi iskemia global dalam hewan coba.

Penelitian meta-analisis oleh Bart *et al.* (2007), *Hypothermia in Animal Models of Acute Ischemic Stroke: A Systemic Review and Meta-Analysis*. Dilakukan dengan menginduksi tikus dengan hipotermia sebagai pengobatan terhadap stroke akut, sudah ada beberapa penelitian tentang manfaat terapi pendinginan pada stroke. Tikus dibuat hipotermia dengan suhu rendah $< 31^{\circ}\text{C}$. Selain itu juga diamati dalam suhu 35°C dengan memulai pengobatan antara 90 sampai 180 menit.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Stroke

a. Definisi

Menurut WHO stroke didefinisikan sebagai tanda klinis fokal yang berkembang cepat (terkadang global) gangguan fungsi otak, yang berlangsung lebih dari 24 jam atau mengakibatkan kematian tanpa ada penyebab lain selain vaskular. Presentasi klinis yang berlangsung kurang dari 24 jam diklasifikasikan sebagai serangan iskemik transien (TIA). Baru-baru ini definisi TIA dan stroke telah direvisi berdasarkan ada atau tidaknya iskemia akut atau perdarahan pada neuroimaging (Canavan *et al.*, 2013).

Istilah penyakit serebrovaskular atau stroke mengacu pada gangguan neurologik mendadak yang terjadi karena pembatasan atau terhentinya aliran darah melalui sistem suplai arteri otak. Istilah stroke biasanya digunakan secara spesifik untuk menjelaskan adanya infark serebrum (Sylvia, 2012)

Stroke terbagi menjadi dua jenis, yaitu stroke iskemik dan stroke hemmorgic (Ropper and Brown, 2005). Stroke yang terjadi karena adanya sumbatan aliran darah ke otak disebut sebagai stroke iskemik, disebabkan oleh berbagai faktor seperti aterotrombosis, emboli, dan ketidakstabilan hemodinamik yang menimbulkan gejala serebral fokal, terjadi mendadak, dan tidak menghilang dalam waktu 24 jam atau lebih. Stroke hemmorigik merupakan penyakit gangguan fungsional otak fokal maupun global dengan gejala dan tanda sesuai dengan bagian otak yang terkena dan disebabkan karena pecahnya pembuluh darah otak (Junaidi, 2004).

b. Epidemiologi

Diperkirakan oleh WHO bahwa setiap tahunnya 15 juta jiwa menderita stroke, dan yang tersisa dengan cacat permanen berkisar 5 juta jiwa pada 2005, diperkirakan terjadi kematian akibat stroke 5.7 juta, diperkirakan sekitar 10% dari kematian diseluruh dunia. Penurunan angka kematian stroke pada usia tertentu diproyeksikan dari 2005-2030, terutama yang disebabkan oleh penurunan tingkat kematian di negara-negara berpenghasilan tinggi. Namun karena mengingat semakin meningkatnya populasi usia tua diseluruh negara, diperkirakan angka kematian stroke disemua usia, dari angka 98 per 100.000 pada tahun 2005 diperkirakan pada tahun 2030 menjadi 98 per 100.000. Diperkirakan berdasarkan intervensi populasi, diperkirakan akan terjadi angka kematian stroke pada tahun 2015 sebanyak 6.7 juta dan pada tahun 2030 sebanyak 7.8 juta angka kematian disebabkan stroke. Peningkatan kejadian stroke paling menonjol ditandai dengan peningkatan angka kematian disebabkan oleh stroke di negara berkembang. Stroke menunjukkan variasi geografis yang signifikan diseluruh dunia. Pengamatan sistematis berdasarkan studi populasi melaporkan bahwa mulai dari tahun 1970 hingga 2008 terjadi penurunan 42% angka kejadian stroke dinegara berpenghasilan tinggi, dibandingkan negara dengan penghasilan rendah, oleh karena itu dapat diperkirakan angka insiden kejadian stroke akan meningkat pada negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah (Canavan *et al.*, 2013).

c. Etiologi

Stroke dapat diklasifikasikan pada umumnya menjadi dua, yaitu stroke iskemik dan stroke hemoragik. Pada stroke hemoragik dapat berkembang menjadi perdarahan intraserebral dan perdarahan sub-arachnoid. Sekitar 87% stroke disebabkan oleh iskemik, dan 13% disebabkan oleh perdarahan pada negara-negara eropa dan amerika. Sedangkan pada negara-negar berkembang stroke lebih sering disebabkan oleh perdarahan intraserebral (Canavan *et al.*, 2013).

Menurut Adam dan Victor (2005), kelainan pembuluh darah seperti trombosis aterosklerosis, transient iskemik, emboli, perdarahan hipertensi, ruptur dan sakular aneurisma atau malformasi arteri vena, trombophlebitis serebral, kelainan hematologi, angiopati amiloid, kerusakan aneurisma aorta, komplikasi angiografi, adalah penyebab terjadinya stroke.

d. Faktor Resiko

Riwayat stroke dalam keluarga meningkatkan resiko terkena stroke iskemik sebesar 75% (Canavan *et al.*, 2013). Faktor resiko untuk terjadinya penyakit jantung aterosklerotik juga menjadi faktor resiko terjadinya stroke. Faktor demografis juga menjadi faktor resiko seperti usia lanjut, ras dan etnis (warga amerika keturunan afrika memiliki angka faktor resiko yang lebih tinggi dari keturunan kaukasian), serta terdapat faktor resiko dari riwayat keluarga. Faktor resiko yang dapat dimodifikasi seperti diabetes mellitus, apnea tidur, merokok, fibrilasi atrium, dan kecanduan alkohol (Sylvia, 2012).

Obesitas atau kegemukan telah menjadi masalah kesehatan utama di amerika, dan telah dibuktikan baru-baru ini menjadi faktor resiko independent untuk stroke. Dengan penggunaan variabe indeks massa tubuh (IMT), para peneliti menemukan bahwa subjek yang ikut serta dlam U.S *Physician Health Study* dengan IMT lebih besar dari 27.8 kg/m² memiliki resiko yang lebih besara secara bermakna untuk stroke iskemik dan hemoragik (Sylvia, 2012).

Dislipidemia dengan penyakit jantung koroner (PJK) juga menjadi faktor resiko stroke. Pengidap PJK mempunyai hubungan yang jelas antara meningkatnya kadar lemak dan resiko prospektif terjangkit stroke dan serangan iskemik transien (TIA) untuk kolesterol total, kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL), dan trigliserida (Sylvia, 2012).

e. Manifestasi Klinis

Stroke merupakan salah satu kedaruratan medis, karena intervensi dini dapat menghentikan bahkan memulihkan kerusakan pada neuron akibat gangguan perfusi. Tanda utama stroke adalah munculnya secara mendadak satu atau lebih defisit neurologik fokal. Terdapat kemungkinan terjadinya perbaikan dengan cepat terhadap defisit tersebut, mengalami perburukan secara progresif, atau menetap. Secara umum gejala yang muncul seperti lemas mendadak diwajah, lengan, dan tungkai, terutama disalah satu tubuh, gangguan penglihatan seperti penglihatan ganda atau kesulitan penglihatan disalah satu atau pada kedua mata, kebingungan mendadak, hilangnya keseimbangan atau koordinasi, pusing bergoyang-goyang, dan nyeri kepala mendadak tanpa sebab yang jelas (Sylvia, 2012).

Defisit neurologi fokal yang berlangsung selama 24 jam merupakan salah satu tanda stroke, penurunan kesadaran, ataksia, diplopia, dan vertigo. Sejumlah kondisi klinis juga dilaporkan terdapat nyeri kepala seperti terkena pukulan (Canavan *et al.*, 2013).

f. Pemeriksaan

Keadaan klinis pasien, gejala, dan riwayat perkembangan gejala dan defisit yang terjadi merupakan hal penting untuk menentukan sebab yang paling mungkin dari stroke pasien. Anamnesis adalah pemeriksaan yang dapat dilakukan dengan penjelasan tentang awitan dan gejala awal, perkembangan gejala atau keluhan pasien atau keduanya. Pertanyaan tentang faktor resiko (hipertensi, fibrilasi atrium, diabetes, merokok, pemakaian alkohol), riwayat TIA, pengobatan yang sedang dijalani termasuk obat-obatan yang sedang dikonsumsi (Sylvia, 2012)

Perkembangan teknologi CT-scan dan MRI meningkatkan derajat keakuratan diagnosis stroke iskemik akut. Dengan melakukan kombinasi pemeriksaan CT-scan perfusi dan angiografi CT-scan dalam 24 jam awitan stroke,

maka akan terjadi peningkatan derajat akurasi dalam penentuan lokalisasi secara dini, lokalisasi vaskular, dan diagnosis terhadap etiologi (Sylvia, 2012).

Pemeriksaan rontgen thoraks merupakan standar prosedur karena dapat mendeteksi perbesaran jantung dan infiltrat paru yang berkaitan dengan gagal jantung kongestif (Sylvia, 2012). Angiografi serebrum juga dapat dilakukan untuk memberikan informasi penting dalam mendiagnosis penyebab dan lokasi stroke. Secara spesifik, angiografi serebrum dapat mengungkapkan lokasi lesi ulseratif, stenosis, displasia fibromuskular, fistula arteriovena, vaskulitis, dan pembentukan trombus di pembuluh darah besar. Namun kegunaan metode ini agak terbatas oleh penyulit yang dapat terjadi pada hampir 12% pasien yang dicurigai mengidap stroke. Metode ini memiliki risiko robeknya aorta atau arteri karotis dan embolisasi dari pembuluh darah besar ke pembuluh intrakranium. Dengan demikian, harus dipertimbangkan kemungkinan meluasnya stroke saat medium kontras yang disuntikkan menggantikan aliran darah. Angiografi biasanya dicadangkan untuk pasien dengan TIA di bagian anterior sirkulus willisi, karena kelainan penyebab mungkin dapat diperbaiki secara bedah. Namun, angiografi sebaiknya tidak dilakukan pada pasien dengan gejala dan tanda lesi sirkulasi posterior, karena lesi-lesi ini tidak dapat diakses secara bedah (Sylvia, 2012).

MRI dan Ct-scan wajib dilakukan pada pasien penderita stroke akut, MRI lebih unggul dari CT-scan dalam mendeteksi iskemia akut. Bentuk penyempurnaan dalam teknologi MRI adalah DWI (*Diffusion Weighted Imaging*) yang didasarkan pada deteksi gerakan acak proton dalam molekul air. Pada stroke, saat jaringan saraf mengalami iskemia, integritas membran sel terganggu sehingga kebebasan molekul air bergerak menjadi terbatas. Dengan penggunaan DWI kerusakan saraf dapat dideteksi berdasarkan perubahan gerakan molekul, daerah-daerah yang mengalami infark terlihat tampak daerah putih terang (Sylvia, 2012).

Pemeriksaan lain untuk menentukan faktor resiko, seperti pemeriksaan darah rutin (Hb, hematokrit, leukosit, eritrosit), hitung jenis, dan bila diperlukan pemeriksaan gambaran darah. Komponen kimia darah, elektrolit, gas, doppler, dan elektrokardiografi (Sylvia, 2012)

g. Terapi

Terapi yang terbukti efektif dalam memulihkan fungsi otak dan memperkecil kerusakan neuron setelah stroke iskemik. Aspirin dapat diberikan dalam 48 jam, terapi trombolitik yang diberikan dalam 3 jam, perawatan intensif di unit stroke khusus. Perawatan di unit khusus stroke carotid stenting dilaporkan cukup berhasil untuk memulihkan perfusi ke daerah otak yang terkena pada kasus aterosklerosis dengan trombosis (Sylvia, 2012).

Disfungsi jantung dan aritmia sering berkaitan dengan stroke, maka pemantauan EKG menjadi penting saat pasien dimasukkan kedalam ruang perawatan intensif. Telah dibuktikan bahwa pada stroke iskemik atau hemoragik sedang sampai besar, interval QT sering memanjang. Dengan demikian obat yang meningkatkan interval QT dikontraindikasikan pada pasien dengan stroke akut (Sylvia, 2012).

Penggunaan anti-hipertensi pada stroke iskemik diberikan apabila *Mean Arterial Blood Pressure* (MABP) lebih dari 130-140 mmHg. Batas penurunan tekanan darah maksimal 20%-25% dari MABP pada jam pertama (PERDOSSI, 2007).

h. Pencegahan

Menurut Sylvia (2012), pencegahan stroke terbagi menjadi primer dan sekunder. Pencegahan primer adalah mencegah dan mengatasi faktor-faktor resiko yang dapat dimodifikasi. Hipertensi adalah faktor resiko paling relevan dan telah dibuktikan bahwa penurunan tekanan darah memiliki dampak yang besar terhadap resiko stroke. Akhir ini perhatian ditujukan kepada pentingnya hipertensi sistolik (ISH) yang dianggap sebagai faktor utama resiko stroke. Dibuktikan bahwa terapi aktif pada ISH bermakna menurunkan resiko stroke terutama pada usia lanjut.

Meningkatnya kadar gula darah dalam waktu berkepanjangan sangat erat dengan disfungsi sel endotel yang pada waktunya akan memicu terbentuknya

aterosklerosis, maka penatalaksanaan diabetes yang baik merupakan faktor penting dalam pencegahan stroke secara primer (Sylvia, 2012).

Terdapat dua pendekatan utama pada pencegahan stroke yaitu strategi kesehatan masyarakat atau populasi, strategi populasi didasarkan pada peraturan dan program pendidikan yang bertujuan mengurangi perilaku berisiko pada seluruh populasi. Kedua, strategi risiko tinggi, strategi resiko tinggi mengerahkan upaya untuk orang-orang dengan faktor resiko tinggi.

Pencegahan sekunder mengacu pada strategi untuk mencegah kekambuhan stroke. Pendekatan utama adalah mengendalikan hipertensi, dan memakai obat antiagregat antitrombotik. Berbagai penelitian seperti the European Stroke Prevention Study of antiplatelet antiaggregant drugs terhadap obat inhibitor glikoprotein IIb/IIIa jelas memperlihatkan efektivitas obat anti agregasi trombosit dalam mencegah kambuhnya stroke. Aggrenox adalah satu – satunya kombinasi aspirin dan dipiridamol yang telah terbukti efektif untuk mencegah stroke sekunder (Sylvia, 2012).

i. Prognosis

Prognosis setelah stroke bergantung pada usia pasien, penyebab stroke, beratnya defisit neurologis (dan konsekuensi tingkat ketergantungan), dan beban kondisi komorbiditas. Mortalitas lebih tinggi pada pasien dengan intraserebral atau subarachnoid perdarahan. Awal penyebab kematian biasanya neurologis asal (edema serebral, peningkatan tekanan intrakranial) atau komplikasi medis (pneumonia aspirasi). Untuk pasien yang bertahan hidup, dua pertiga disertai dengan cacat kronis. Selain itu, pasien dengan stroke pada peningkatan risiko untuk infark miokardium, patah tulang pinggul, pneumonia, dan berulang masuk ke rumah sakit (Canavan *et al.*, 2013)

Komplikasi kronis umum yang terjadi termasuk gangguan kejang, gangguan kognitif dan demensia, depresi, dan sindrom nyeri kronis (pusat nyeri pasca stroke) (Canavan *et al.*, 2013)

2.1.2 Rat Stroke Model

Sejak 40 tahun yang lalu model stroke pada hewan sudah mulai dikembangkan untuk mengetahui mekanisme yang mendasari iskemia otak dan mengembangkan terapi stroke dan mengetahui mekanisme yang mendasari iskemia otak (Fluri *et al.*, 2015).

a. Klasifikasi

Bacigaluppi *et al.* (2010) menyatakan model stroke dibagi menjadi dua kategori yaitu model untuk mempelajari konsekuensi patofisiologi stroke, dan untuk menguji strategi terapi stroke. Model kedua merupakan model yang dikembangkan untuk mempelajari bagaimana faktor risiko (baik lingkungan dan genetik) yang dapat menyebabkan kerusakan pembuluh darah yang mengarah ke aterosklerosis, hiperkolesterolemia, hipertensi arteri yang pada akhirnya mengarah ke stroke.

Selain itu, model iskemia serebral dapat dibagi lagi menjadi model iskemia fokal dan global. Iskemia fokal ditandai dengan pengurangan aliran darah otak di daerah sebagian dari otak, sedangkan di iskemia global pengurangan aliran darah mempengaruhi seluruh otak atau otak depan (Bacigaluppi *et al.*, 2010).

Teknik GCI dapat dilakukan dengan cara ‘*four vessel occlusion method*’ (4VO), dan *two vessel occlusion* (2VO). Contoh 2VO adalah *Bilateral common carotid arteries occlusion* (BCCAO). Model BCCAO mengakibatkan perlukaan neuron CA1 hippocampus, putamen dan neokorteks. Pengamatan histopatologi otak Mongolian Gerbils menunjukkan adanya fokus nekrosis kecil pada cortex dan ganglia basalis, gliosis dan proliferasi pembuluh darah kecil. BCCAO yang terjadi selama 10 menit mampu menyebabkan kematian neuron di hippocampus. GCI pada gerbils menunjukkan kerusakan berat karena hewan tersebut memiliki sirkulus willis yang tidak sempurna (Bacigaluppi *et al.*, 2010).

b. Teknik BCCAO

Khallout *et al.* (2013) menjelaskan bahwa hipoperfusi serebral kronis diinduksi di tikus Wistar jantan dengan BCCAO terpilih sebagai model untuk mempelajari perubahan akson, myelin dan aktivasi mikroglia. Modifikasi teknik Koizumi digunakan untuk induksi iskemia cerebral unilateral. Adaptasi tikus harus dilakukan selama beberapa hari sebelum memulai operasi, dan dilakukan pengukuran motorik tikus. Selama operasi dilakukan tikus dianestesi menggunakan isofluorane (4-5% induksi, 1,5-2% pemeliharaan dan 300 mmHg O₂) atau eter. Kemudian tikus diletakkan di platform steril dan jaga suhu retal tikus pada temperatur $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Penurunan suhu dapat menyebabkan perbaikan iskemia (Vander Worp *et al.*, 2007).

Langkah yang dilakukan adalah membersihkan permukaan leher anterior tikus. Insisi vertikal bagian median leher anterior, eksplorasi leher anterior dan dilakukan irisan pada glandula submandibular. Musculus sternocleidomastoideus kanan diinsisi bagian medial dan setelah arteri karotis komunis tampak maka dilakukan ligasi arteri karotis komunis.

Waktu yang dibutuhkan dalam pengerjaan operasi maksimal 3 menit. Setelah operasi, tikus diletakkan di kandang transparan dengan suhu ruangan (25°C). Perilaku dan kognitif pada model stroke oklusi permanen dan transien dapat diamati melalui uji *spatial memory*, *contralateral motor function and coordination*. Dapat dilakukan pengamatan gejala neurologi berupa *circling behavior*, *rolling fits*, *seizures and mortality* yang terjadi dalam 48 jam pasca operasi (IBRC, 2013; Molina *et al.*, 1999). Penilaian makroskopis iskemia pada cerebral dapat menggunakan teknik pewarnaan TTC.

Studi pustaka menunjukkan bahwa ada beberapa variasi durasi BCCAO dan durasi reperfusi pasca BCCAO yang dapat menyebabkan iskemia pada otak. Menurut Singh *et al.*, (2007) durasi BCCAO dapat dilakukan selama 30 menit dengan durasi reperfusi 45 menit dengan

pengambilan target otak pada bagian forebrain yang akan menimbulkan histopatologi berupa gliosis, infiltrasi limfosit, edema otak, dan astrositosis. Menurut Nandagopal *et al.* (2010) durasi BCCAO dapat dilakukan 10 – 15 menit dengan target otak pada bagian forebrain, CA1 hippocampus. Menurut Lapi *et al.* (2012) durasi BCCAO dilakukan selama 30 menit dengan reperfusi selama 60 menit menggunakan TTC staining. Menurut Deb *et al.* (2012) durasi BCCAO dilakukan selama 15 menit, dan menurut Akturk *et al.* (2014) durasi BCCAO dilakukan selama 30 menit. Menurut Barbhuiya *et al.* (2015) durasi BCCAO dilakukan selama 15 menit dengan reperfusi selama 72 jam menggunakan 25% Fecl selama 10 menit dan TTC staining selama 30 menit. Menurut Kumar & Sastry (2012), durasi BCCAO dilakukan selama 10 – 15 menit dengan reperfusi selama 24 jam. Menurut Chandrasekhar *et al.* (2010) durasi BCCAO dilakukan selama 30 menit dengan reperfusi selama 60 menit yang akan menimbulkan iskemia global. Durasi BCCAO juga dapat dilakukan selama 20 – 30 menit dengan reperfusi selama 60 menit – 72 jam menggunakan TTC staining dan CA1 (Rekabi *et al.*, 2015; Cai *et al.*, 2016).

Menurut rekomendasi STAIR untuk membuktikan hasil signifikan dalam suatu uji coba obat pada satu spesies harus diverifikasi pada spesies lainnya, baik menggunakan model oklusi permanen maupun transien (Fluri *et al.*, 2015).

2.1.3 Iskemia otak

Otak mendapat suplai darah dari dua pembuluh darah yaitu arteri karotis dan arteri vertebralis, arteri karotis menyalurkan 70% dari arah otak. Arteri karotis bercabang dari leher, membentuk arteri karotis internal, yang memperdarahi otak dan arteri. Karotis eksternal yang memperdarahi wajah dan leher. Arteri karotis interna bercabang membentuk arteri cerebri anterior yang memperdarahi lobus frontalis parietalis dan temporalis kortek cerebri. Sedangkan arteri vertebralis

mengalirkan 30% darah, dari keseluruhan darah otak. Arteri vertebralis bersatu membentuk arteria basilaris dan selanjutnya memecah untuk membentuk kedua arteri cerebral posterior yang menyuplai permukaan otak interior dan mediana juga bagian lateralobus occipita. Bagian pangkal arteri karotis internal merupakan tempat yang sering mengalami penyempitan. Penyempitan ini mempengaruhi aliran darah dan dapat mengakibatkan pembentukan pembekuan darah. Bila bekuan darah terlepas dan terbawa kedalam arteri karotis interna kemudian menyumbat pembuluh arteri yang kecil dalam otak maka serangan stroke dapat terjadi. Bila terdapat gangguan pada pembuluh darah tersebut atau percabangannya dapat timbul infark pada daerah yang dialirinya. Infark cerebri sangat erat kaitannya dengan arterosklerosis, dapat menimbulkan bermacam – macam manifestasi klinik dengan cara menyempitkan lumen pembuluh darah dan mengakibatkan insupressu aliran darah (Lanny Sustrani *et al.*, 2003).

Iskemia otak adalah ketidakmampuan perfusi otak untuk mencukupi pasokan oksigen dan nutrien yang diperlukan untuk pemeliharaan integritas metabolisme dan fungsi neuron (sylvia, 2012). Khallout *et al.* (2013) menjelaskan bahwa pembuluh darah, terutama disfungsi pembuluh darah otak mungkin menjadi faktor penting dalam penuaan dan demensia.

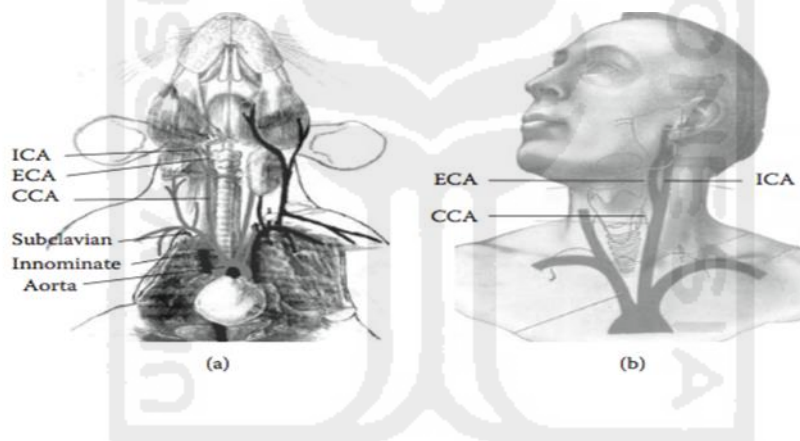
Iskemia jaringan otak biasanya disebabkan oklusi mendadak arteri di otak (biasanya arteri vertebrobasilar) bila ada ruptur plaque, kemudian akan mengaktifasi sistem pembekuan. Interaksi ateroma dengan bekuan akan mengisi lumen arteri sehingga aliran darah mendadak tertutup. Pusat dari daerah otak dengan aliran darah berkurang diikuti iskemia serebral adalah inti dari iskemik otak. Di wilayah ini, aliran darah mengalami penurunan dan neuron mengalami kematian secara ireversibel dalam hitungan menit (Minnerup, 2012)

2.1.4 Anatomi Tikus

Pada dasarnya anatomi arteri dan saraf tikus mirip dengan manusia, seperti berikut:

a. Aorta

Ascending aorta muncul sebagai segmen kecil di perikardium, yang muncul disebelah kanan dan arteri koroner kiri, yang meninggalkan aorta dekat dengan asal-usulnya dan mengalir kebawah untuk menyuplai dinding jantung. Bagian lengkungan aorta melintasi ventral trakea, memutar bagian punggung sebelah kiri trakea dan terus kebawah sebagai aorta *descending*. Dari itu muncul *innominate*, *left common carotid* dan *left subclavian arteries*. Arteri subklavia kanan dan arteri carotis kanan berasal dari kelanjutan *innominate* (Wang-Fischer *et al.*, 2009).



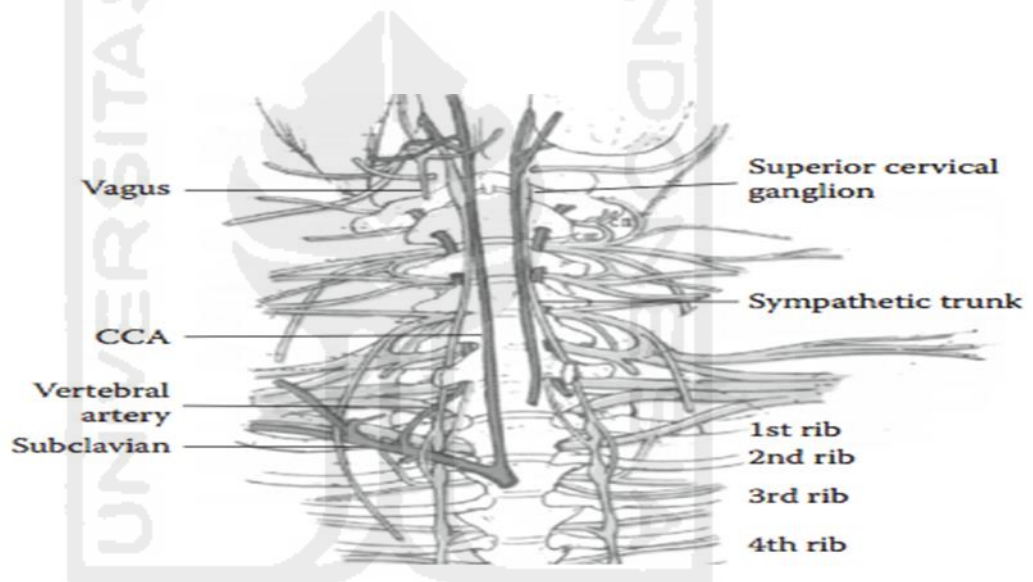
Gambar 1. Anatomi aorta tikus dan pecabangannya

b. Arteri Subklavia

Arteri subklavia cukup pendek, memperpanjang dari arteri innominate ke perbatasan rusuk pertama. Ini menghasilkan cabang-cabang yaitu trunkus costocervikal dan mammary internal, vertebra dan arteri trunkus cervical (Wang-Fischer *et al.*, 2009).

c. Arteri Vertebral

Arteri vertebralis muncul dari permukaan anterior arteri subklavia, melintasi akar pleksus brakhialis, dan kemudian berjalan ke atas di bawah tuberkulum karotis dari vertebra cervical keenam. Melalui foramen magnum, memasuki tengkorak dan bergabung dengan arteri vertebralis dari sisi kontralateral untuk membentuk arteri basilar (BA) di tingkat pons. Arteri vertebra sesekali muncul dari trunkus cervical. Arteri basilar adalah komponen dari lingkaran willis (Wang-Fischer *et al.*, 2009).



Gambar 2. Arteri vertebralis

d. Common Carotid Arteris

Common carotid arteries kanan dan kiri menyuplai kepala dan leher. Anatomi aliran darah di tikus pada dasarnya sama dengan manusia. Arteri carotid interna dan eksterna berasal dari common carotid arteri. Common carotid artery kanan kelanjutan dari arteri innominate. Common carotid artery kiri muncul dari lengkungan aorta (Wang-Fischer *et al.*, 2009).

e. External Carotid Artery

Arteri karotis eksterna dimulai pada sudut posterior dari tulang hyoid, sekitar 2 sampai 4 mm di bawah sudut pada tikus dewasa, sebagai kelanjutan langsung dari karotis umum. Sebelum mencapai sudut rahang, cabang tersebut menjadi lima arteri utama: occipital, superior tiroid, ascending pharyngeal, lingual, dan ascending palatine. Perhatikan bahwa tulang hyoid berbentuk seperti tapal kuda dan di suspensi dari ujung prosesus styloid dari tulang temporal oleh ligamen stylohyoid. Ini terdiri dari lima segmen adalah tubuh, dua sudut yang lebih besar dan dua sudut yang kecil (Wang-Fischer *et al.*, 2009).

f. Internal Carotid Artery

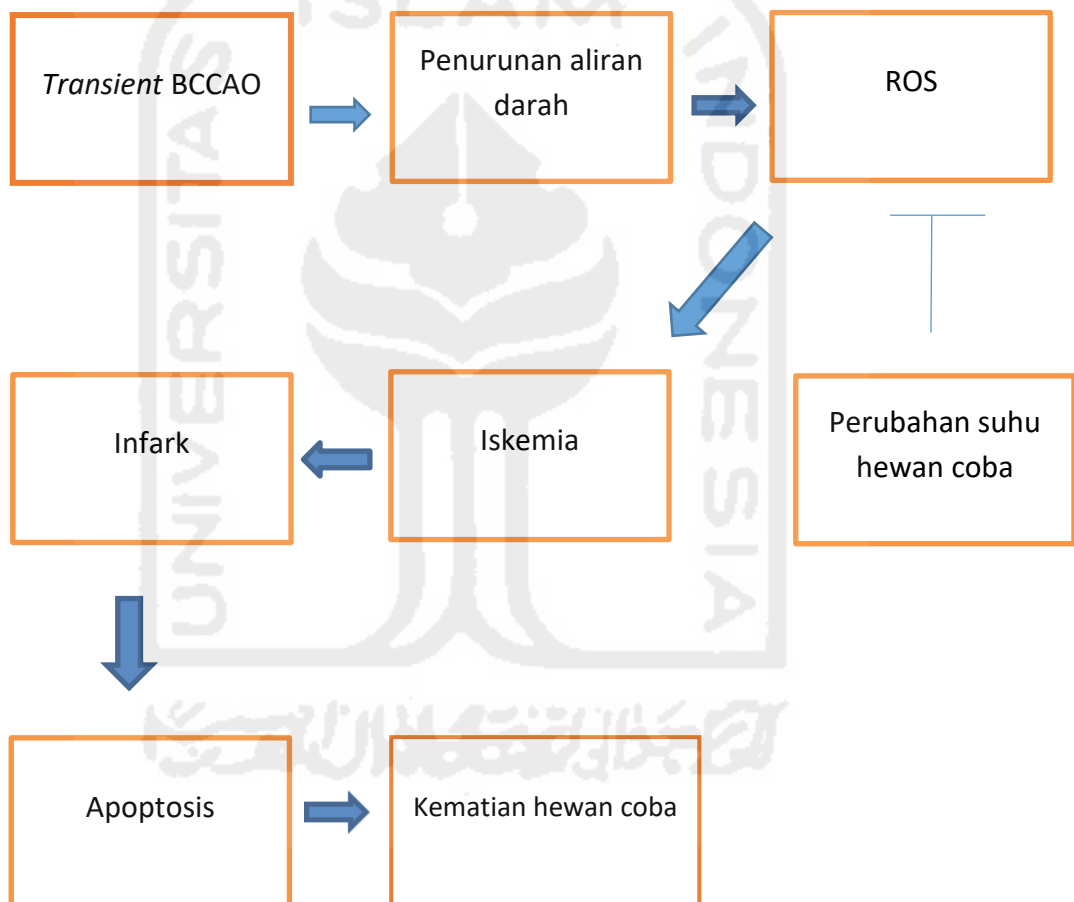
Arteri karotis interna muncul dari CCA dan mengikuti arah umum yang sama melalui leher sebagai arteri karotis eksterna tetapi lebih dalam di sepanjang dasar tengkorak. Mencapai tympanic bulla, cabang tersebut ke pterygopalatine artery (PPA). Arteri ini merupakan apa yang ada dalam manusia sebagian dari cabang maksilaris interna dari arteri karotis eksternadan terletak dibelakang arteri karotis interna. Arteri karotis interna berlanjut sepanjang permukaan medial bula untuk jarak pendek dan memasuki kanal karotis antara bulla dan lempeng basal dari tulang oksipital untuk mencapai dasar tengkorak (Wang-Fischer *et al.*, 2009).

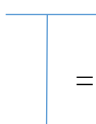
2.1.5 Angka Mortalitas

Mortalitas atau kematian adalah merupakan keadaan hilangnya semua tanda-tanda kehidupan secara permanen yang dapat terjadi setiap saat setelah kelahiran hidup. Informasi mengenai kematian sangatlah penting, tidak hanya bagi pemerintah melainkan juga bagi pihak swasta, yang terutama berkecimpung dalam bidang kesehatan. Data kematian sangat diperlukan antara lain untuk

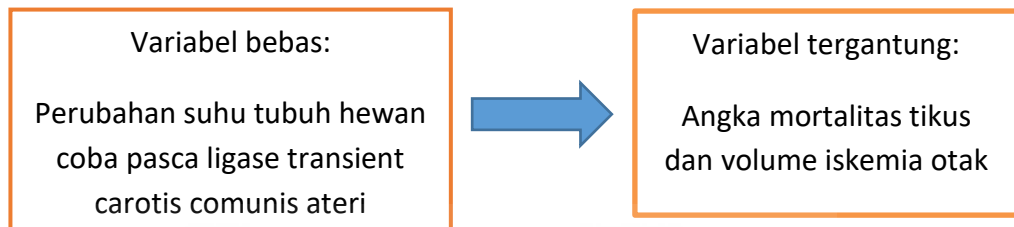
mengevaluasi kinerja pemerintah dalam hal meningkatkan kesejahteraan penduduk pada umumnya, dan meningkatkan derajat kesehatan pada khususnya. Data kematian juga sangat penting untuk kepentingan evaluasi terhadap program-program kebijaksanaan penduduk (Lidya, 2010).

2.2 Kerangka Teori



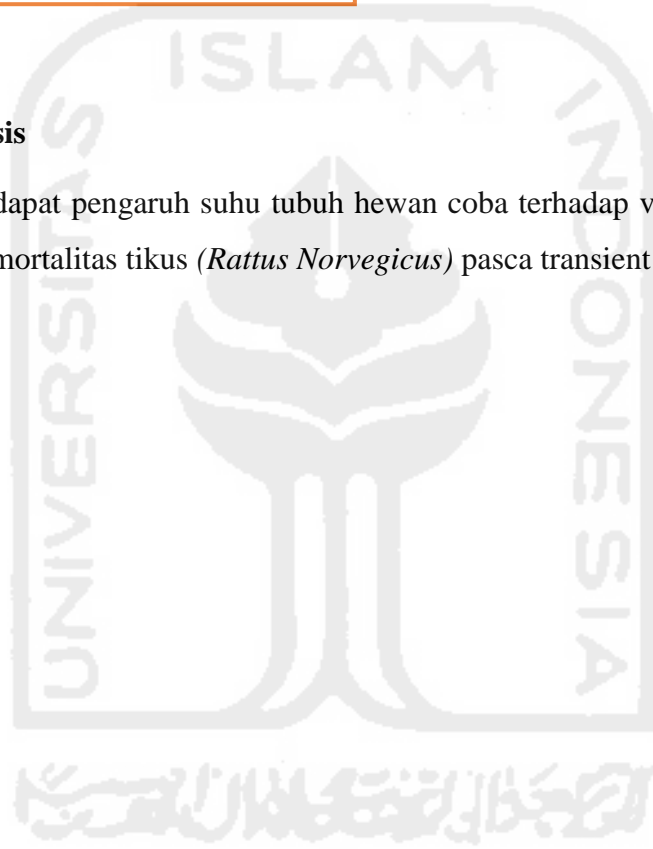
Keterangan :  = Menghambat

2.3 Kerangka Konsep



2.4 Hipotesis

Terdapat pengaruh suhu tubuh hewan coba terhadap volume iskemia otak dan angka mortalitas tikus (*Rattus Norvegicus*) pasca transient BCCAO



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Penelitian ini berjalan 2 tahap yaitu tahap pertama untuk menguji pengaruh suhu tubuh terhadap angka mortalitas tikus pasca BCCAO. Tahap kedua adalah untuk menguji pengaruh suhu tubuh terhadap volume iskemia otak tikus pasca BCCAO

3.3. Subyek Penelitian

Subjek penelitian adalah tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar yang memenuhi kriteri inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah tikus putih *rattus norvegicus*, dengan usia 3 bulan, berat badan 150-200 gram . Kriteria eksklusi adalah tikus yang tidak sehat atau cacat. Pada penelitian ini digunakan hewan coba dengan rincian seperti berikut:

1. Tahap I penelitian. Pada tahap 1 digunakan tikus yang terbagi menjadi 2 kelompok untuk induksi iskemia 5 menit dengan *reperfusion* 24 jam, dan kelompok induksi iskemia 10 menit dengan *reperfusion* 24 jam.
2. Tahap II penelitian. Pada tahap kedua digunakan tikus yang terbagi menjadi kelompok 1 perlakuan suhu optimal dengan durasi 5 menit, kelompok 2 perlakuan suhu non optimal dengan durasi 5 menit, kelompok 3 perlakuan suhu optimal dengan durasi 10 menit dan kelompok 4 perlakuan suhu non-optimal dengan durasi 10 menit.

3.4. Variabel Penelitian

Variabel bebas dari penelitian ini adalah suhu tubuh tikus pasca *transient* BCCAO, sedangkan variabel tergantung adalah volume iskemia otak dan angka mortalitas tikus

3.5. Definisi Operasional

- a. Angka mortalitas tikus adalah angka kematian masing-masing kelompok yang diamati setelah dilakukan *transient* BCCAO selama 5 dan 10 menit dengan *reperfusion* 24 jam .
- b. *Transien* BCCAO adalah pengikatan arteria carotis communis bilateral dengan klem arteri selama 5 dan 10 menit yang dilanjutkan dengan *reperfusion* 24 jam
- c. Suhu tubuh optimal adalah suhu tubuh hewan coba sebesar 36-37°C saat diinduksi iskemia
- d. Suhu tubuh non optimal adalah suhu tubuh hewan coba sebesar < 36°C saat diinduksi iskemia
- e. Volume iskemia otak adalah volume otak yang diukur pasca *transient* BCCAO menggunakan metode cavalieri

3.6 Instrumen Penelitian

Alat :

1. Kandang
2. Alat bedah minor
3. Benang *silk* 3-0
4. Benang *cutgut* 3-0
5. Termometer
6. Jarum suntik 1 cc
7. Isolasi
8. Alas operasi Hotplate
9. Lampu
10. Klem arteri

Bahan :

1. Kapas
2. Povidon iodin
3. Ketamin
4. Analgetik

3.7. Alur Penelitian

3.7.1 Persiapan hewan coba

Tikus berasal dari laboratorium penelitian FK UII. Tikus dipelihara dalam kandang berukuran 40cm x30cm x 20cm. Pakan tikus berupa pelet sedangkan minum berupa air putih yang diberikan secara *ad libitum*.

3.7.2 Tindakan transien BCCAO

- a) Tikus dibius menggunakan ketamin 1000 mg dengan dosis 0,2 cc/ tikus, teknik injeksi IM pada tungkai atas tikus.
- b) Tikus diletakkan di atas alas operasi pada *hotplate* dengan fiksasi secukupnya.
- c) Suhu tubuh tikus diatur menggunakan *hotplate*
- d) Suhu tikus diukur dengan termometer.
- e) Daerah leher tikus disterilkan menggunakan povidon iodin.
- f) Kulit leher bagian medial tikus diinsisi dengan menggunakan gunting.
- g) Arteria carotis communis tikus dieksplorasi menggunakan teknik tumpul.
- h) Arteria carotis communis bilateral diklem menggunakan klem pembuluh darah selama 5 dan 10 menit.
- i) Klem pembuluh darah dilepas setelah 5 dan 10 menit, luka dijahit, tikus diletakkan kembali di kandang
- j) Jumlah tikus yang mati dan hidup dalam 24 jam diamati.

3.7.3. Dekapitasi Tikus dan Pengambilan Otak

Eutanasia dilakukan setelah 24 jam dari ligasi transien arteri carotis comunis bilateral , dengan cara mengeluarkan darah sampai habis dengan teknik

perfusi transkardial. Sebelumnya tikus dianestesi menggunakan ketamin dosis 80-100 mg/kgBB im. Setelah tikus masuk dalam fase anestesi dalam maka dilakukan insisi linea mediana pada dinding abdomen, dilanjutkan insisi sepanjang linea axilaris sampai dinding thoraks terbuka dan jantung terlihat. Ventrikel kiri jantung diinsisi kemudian kanula dimasukkan sampai mencapai aorta ascenden. Kanula difiksasi dengan penjepit arteri. Dilakukan insisi atrium kanan untuk mengeluarkan darah. Cairan perfusi NaCl dialirkan melalui kanula. Agar otak mendapatkan perfusi sepenuhnya maka dilakukan jepitan pada aorta decendens. Perfusi dilanjutkan sampai darah yang keluar melalui atrium kanan tampak jernih dan arteri mamaria interna di sekitar sternum tampak putih karena terisi cairan jernih. Setelah perfusi transkardial sempurna maka dilakukan dekapitasi, kemudian jaringan otak diambil dan dilakukan pewarnaan TTC. Sebelum dilakukan pewarnaan TTC maka dilakukan trimming pada otak tikus dengan ketebalan 2 mm. Selanjutnya dilakukan pewarnaan TTC.

3.7.4 Pewarnaan TTC dan Pengukuran Volume Iskemia Otak

Daerah iskemik pada otak akan kurang terwarnai oleh TTC, sedangkan daerah non iskemik tampak berwarna merah. Analisis volume iskemik pada masing-masing kelompok menggunakan Prinsip Stereologi dengan metode Cavalieri. Hasil volume iskemik dinyatakan dalam satuan mm^3 .

Foto pewarnaan TTC diamati menggunakan *Software Microsoft Word* dengan grid berupa titik. Ketebalan irisan otak (t) adalah 2 mm. Jarak antara titik grid adalah 2 mm. Luas area yang diwakili oleh satu titik (a/p) adalah hasil perkalian 2 mm x 2 mm sehingga didapatkan nilai a/p sebesar 4 mm^2 . Jumlah titik yang jatuh pada area iskemik dinyatakan dalam $\sum P$. Volume Iskemia Otak masing-masing sampel diukur menggunakan rumus yaitu $V=t.(a/p). \sum P$.



Gambar 3. Grid Titik

3.8 Analisis Data

Dilakukan uji normalitas dan homogen, jika normal maka rerata hewan yang mati pada masing masing kelompok akan diuji menggunakan uji kai kuadrat dan rerata volume iskemia otak pada masing masing kelompok diuji dengan uji ANOVO *one way* dan dilanjutkan *post hoc*.

3.9 Etika Penelitian

- a) Sebelum melaksanakan prosedur penelitian eksperimental ini di laboratorium terlebih dahulu mengajukan *ethical clearance*
- b) Meminta izin kepada Kepala Bagian Laboratorium tersebut, yaitu Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

BAB IV

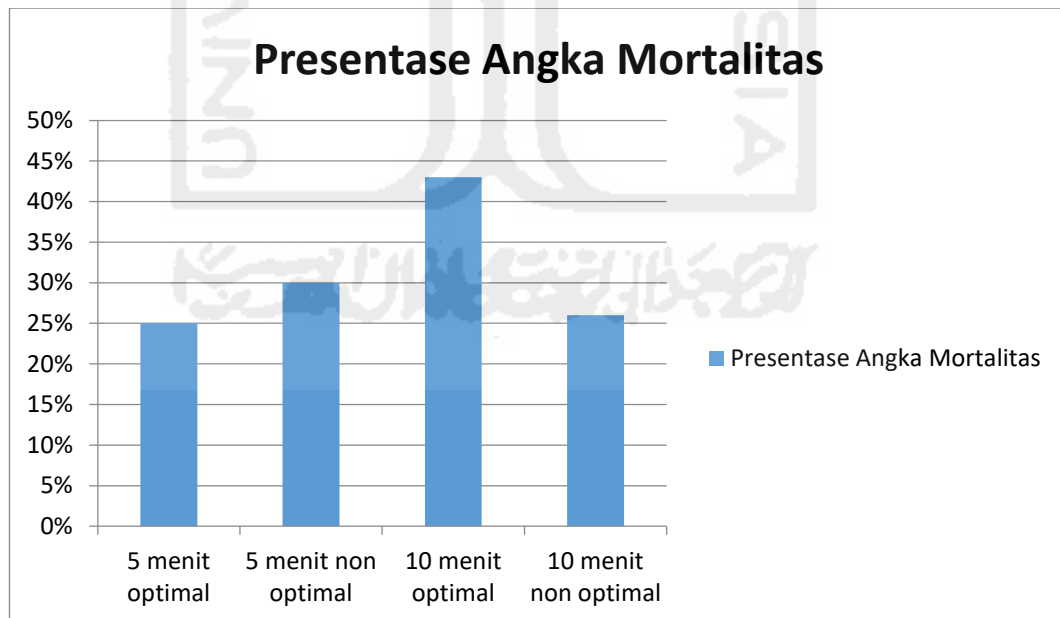
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan no.protokol 19/Ka.Kom.Et/70/KE/II/2017. Subjek penelitian yang digunakan adalah 43 ekor tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar yang mendapatkan perlakuan BCCAO 5 dan 10 menit dengan reperfusi 24 jam.

4.1.1 Pengaruh Suhu Terhadap Angka Mortalitas

Angka mortalitas tikus pasca ligase arteri carotis communis bilateral selama 5 dan 10 menit yang diikuti dengan periode *reperfusion* 24 jam tampak pada gambar 4.



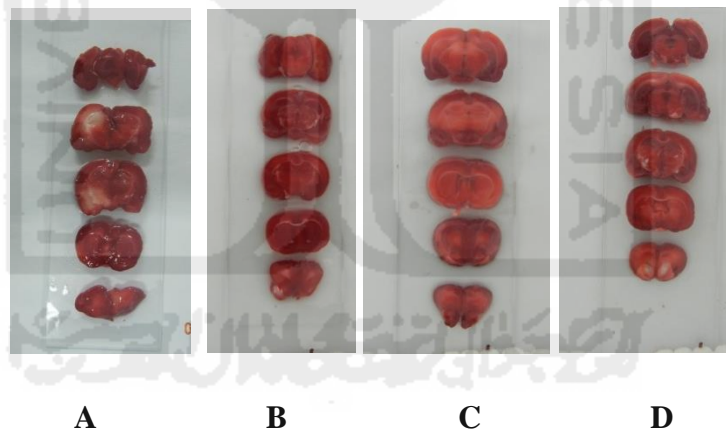
Gambar 4. Angka mortalitas tikus berdasarkan suhu

Uji kai kuadrat dilakukan pada masing-masing waktu induksi iskemia yaitu 5 menit dan 10 menit. Berdasarkan hasil *Fisher's Exact Test* maka didapatkan hasil bahwa tidak terdapat pengaruh bermakna suhu terhadap angka mortalitas tikus pasca ligase arteria carotis communis bilateral selama 5 dan 10 menit dengan *reperfusion* 24 jam (tabel I)

Tabel I. Uji kai kudrat angka mortalitas tikus pasca ligasi 5 menit dan 10 menit

Kelompok	P
Durasi 5 menit	1,000
Durasi 10 menit	0,630

4.1.2 Pengaruh Suhu Terhadap Volume Iskemia Otak Tikus



Gambar 5. Volume Iskemia Otak Tikus . A. Kelompok durasi iskemia 5 menit dengan suhu optimal, B. Kelompok durasi iskemia 5 menit dengan suhu non optimal, C. Kelompok durasi iskemia 10 menit dengan suhu optimal, D. Kelompok durasi iskemia 10 menit dengan suhu non optimal

Hasil pengamatan suhu terhadap volume iskemia diuji dengan menggunakan *One Way Anova*. Sebelum dilakukan uji *One Way Anova*, terlebih dulu dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Hasil uji *One Way*

Anova didapatkan P value 0.474..Tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata volume iskemia kelompok 1,2,3 dan 4 (Tabel II).

Tabel II. Analisis Data Pengaruh Suhu Terhadap Volume Iskemia .

Kelompok	Rerata Volume (mm ³)	SD	P
1	112	21.16	0.474
2	128	19.59	
3	236	218.06	
4	197	181.26	

4.2 Pembahasan

Penelitian ini menguji apakah suhu hewan coba berpengaruh terhadap angka kematian tikus pasca BCCAO dengan durasi iskemia 5 dan 10 menit. Batas suhu hewan coba yang diteliti adalah 36°C. Angka mortalitas pasca ligase arteria carotis communis bilateral selama 5 menit lebih tinggi pada kelompok suhu < 36°C (30%) dibandingkan dengan suhu optimal > 36°C (25%). Sebaliknya pada kelompok durasi iskemia 10 menit, angka mortalitas kelompok suhu optimal (43%) lebih tinggi daripada kelompok suhu non optimal (26%). Walaupun perbedaan angka mortalitas antara kelompok tidak menunjukkan perbedaan bermakna secara statistika ($p > 0,05$).

Penelitian menggunakan teknik BCCAO memiliki prosedur untuk mempertahankan suhu tubuh hewan coba selama tindakan induksi dan periode *reperfusion*. Beberapa penelitian membuktikan bahwa suhu tubuh hewan coba berpengaruh terhadap angka mortalitas tikus. Selain suhu hewan coba maka suhu ruangan laboratorium dan iklim negara tempat penelitian tersebut berlangsung akan mempengaruhi angka mortalitas tikus (Gopalakrishanan *et al.*, 2016). Tindakan BCCAO yang dilakukan pada saat musim panas akan meningkatkan

angka mortalitas tikus. Indonesia merupakan negara dengan dua musim serta terletak di daerah katulistiwa. Iklimnya yang cenderung panas dapat mempengaruhi angka mortalitas tikus pasca BCCAO. Sayangnya, masih sedikit data tentang angka mortalitas tikus pasca BCCAO.

Hasil yang menarik adalah angka mortalitas hewan coba pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan angka kematian hewan coba pasca BCCAO secara umum (44%) (Gopalakrishanan *et al.*, 2016). Penelitian ini dilakukan pada bulan November – desember 2016 dimana Indonesia memasuki musim penghujan. Suhu panas akan mempengaruhi keseimbangan neuroendokrin dan menimbulkan stress oksidatif pada hewan coba wistar (Gopalakrishanan *et al.*, 2016).

Kemungkinan lainnya mengapa angka mortalitas pada penelitian ini lebih rendah dari rerata adalah penggunaan ketamine sebagai anastesi. Kombinasi ketamine–Xylazine (KT-XY) dapat mempengaruhi hemodinamik tubuh dan mekanisme pengaturan suhu tubuh sehingga suhu tubuh hewan coba dapat menurun sampai $32,30 \pm 0,090^{\circ}$ C. Efek ini dapat berlangsung sampai 150 menit pasca anastesi. Penurunan suhu tubuh akibat penggunaan KT-XY merupakan salah satu penyebab tersering kematian hewan coba pasca BCCAO (Gopalakrishanan *et al.*, 2016).

Hasil penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan bermakna angka mortalitas antara masing-masing kelompok. Hal ini dapat disebabkan karena kurangnya jumlah sampel penelitian. Salah satu penelitian meta analisis menganjurkan minimal jumlah sampel untuk menghitung angka mortalitas pasca MCAO adalah 60 ekor tikus (Sena *et al.*, 2013), sedangkan penelitian ini hanya menggunakan 43 tikus.

Penelitian tahap kedua menilai apakah terdapat pengaruh suhu tubuh hewan coba terhadap volume iskemia tikus pasca BCCAO selama 5 dan 10 menit. Hasil uji terhadap rerata volume iskemia menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok suhu $< 36^{\circ}$ C dengan kelompok suhu $> 36^{\circ}$ C ($p > 0,05$).

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menginduksi iskemia pada suhu 33°C. Clark *et al.* (2008) menyebutkan bahwa hipotermia ringan dapat mengurangi cedera iskemia serebral baik global dan fokal. Penelitian ini membandingkan suhu hipotermia (33°C) dengan suhu normal dimulai 1 jam setelah oklusi arteri permanen (pMCAO). Penelitian ini dilakukan dalam 3 waktu yaitu 12, 24, dan 48 jam (Clark *et al.*, 2008).

Suhu hewan coba sebesar 31°C dapat menyebabkan perbaikan pada hewan coba (Worp *et al.*, 2007). Penelitian yang dilakukan Olai *et al.* (2015), menyebutkan bahwa manajemen suhu tertarget (TTM) dari 32-34°C mengurangi iskemia pada hewan coba model global dan fokal (Olai *et al.* 2015). Penelitian yang dilakukan Sena *et al.* (2012) menunjukkan bahwa suhu 33°C mampu melindungi otak dari kejadian stroke. Hasil meta analisis menyebutkan bahwa strain hewan coba mempengaruhi efek hipotermia terhadap iskemia otak. Strain Long evan dan tikus model hipertensi lebih berespon terhadap kondisi hipotermia (van der Worp *et al.*, 2007). Hasil penelitian ini yang tidak bermakna menunjukkan bahwa strain wistar kurang berespon terhadap kondisi hipotermia.

Hal lainnya yang menyebabkan penelitian ini menjadi tidak bermakna adalah teknik hipotermia yang dilakukan pada hewan coba. Pada penelitian ini suhu hewan coba menurun selama dilakukan induksi iskemia dan 3 jam pasca iskemia akibat penggunaan ketamin. Hasil meta analisis menyebutkan bahwa hipotermia akan sangat mempengaruhi iskemia jika dilakukan sebelum induksi transien iskemia, selama induksi iskemia dan sesudah induksi. Jika hipotermia hanya terjadi saat induksi iskemia dan periode *reperfusion* maka kecil kemungkinannya akan mempengaruhi iskemia otak (van der Worp *et al.*, 2007). Hal ini terbukti dari hasil penelitian ini dimana rerata volume iskemia antara kelompok suhu optimal dengan suhu non optimal tidak berbeda secara bermakna.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Tidak ada pengaruh suhu hewan coba terhadap angka mortalitas dan volume iskemia tikus pasca BCCAO.

5.2 Saran

Terdapat beberapa saran yang dapat penulis sampaikan guna perkembangan penelitian pengaruh suhu tubuh hewan coba terhadap volume iskemia otak dan angka mortalitas tikus (*rattus norvegicus*) pasca *transient bilateral common carotis artery occlusion (BCCAO)*, yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh suhu terhadap angka mortalitas dengan suhu 33-34°C, 34-35°C, 35-36°C, dan 36-37°C .
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan jumlah tikus yang lebih banyak.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan model hipotermia sebelum induksi, selama induksi dan setelah induksi iskemia
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan anestesi non ketamine seperti chloral hidrat untuk menilai hubungan suhu hewan coba dengan angka mortalitas dan volume iskemia otak tikus pasca BCCAO

DAFTAR PUSTAKA

- Adam R.D., Victor M., Ropper A.H., 2005. Principles of Neurology (8th ed). New York:McGraw Hill.
- Aktürk, Z., Odaci, E., İkinci, A., Bas, O., Canpolat, S., Colakgu, S., Sonmez, O., 2014. Effect of Ginkgo biloba on brain volume after carotid artery occlusion in rats : a stereological and histopathological study. 44:546–553.
- Alex,O., Akinrinmade., 2015. Potential neuroprotective effects of fermented rooibos herbal tea in a rat model of ischemic brain injury By Supervisor :, (May). <http://hdl.handle.net/11394/4705> [diakses tanggal 28 Agustus 2016]
- Bacigaluppi, M., Comi, G., Hermann, D.M., 2010. Animal Models of Ischemic Stroke. Part Two: Modeling Cerebral Ischemia. The Open Neurology Journal, 4, pp. 34-38.
- Bang, J., Jeon, W. K., Lee, I. S., Han, J., & Kim, B., 2013. Biphasic Functional Regulation in Hippocampus of Rat with Chronic Cerebral Hypoperfusion Induced by Permanent Occlusion of Bilateral Common Carotid Artery, 8(7). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3728362/> [diakses tanggal 15 Agustus 2016]
- Cai, M., 2016. Apigenin-7-O-β-D-(-6''-p-coumaroyl)-Glucopyranoside Treatment Elicits Neuroprotective Effect against Experimental Ischemic Stroke. International Journal of Biological Sciences, 12(1), pp.42–52.
- Canavan, M., McGrath, E., O'Donnel, M., 2013. Stroke, dalam Hoffman, R., Benz, E.J., Silberstein, L.E., Heslop, H., Weitz, J., Anastasi, J., Hematology: Basic Principles and Practice, Sixth Edition, Chapter 147, 2067-2075.
- Cechetti, F., Worm, P. V, Pereira, L. O., Siqueira, I. R., & Netto, C. A. (2010). The modified 2VO ischemia protocol causes cognitive impairment similar to that induced by the standard method , but with a better survival rate, Braz J Med Biol Res. 3(12):1178-83
- Chan, F., Moriwaki, K., Rosa, M.J., 2013. Detection of Necrosis by Release of Lactate Dehydrogenase (LDH) Activity. Methods Mol Biol . 979: 65–70.
- Clark, D.L. et al., 2008. Comparison of 12 , 24 and 48 h of systemic hypothermia on outcome after permanent focal ischemia in rat. *Experimental Neurology*, 212, pp.386–392.

- Deb, B., Sreenath, C., Kumar, N., Elango, K., 2012. Neuroprotective effect of spiradoline and naloxone in focal cerebral ischemia: Promising behavioral and biochemical changes in Wistar rats, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 02(03), pp.106–111.
- Gopalakrishanan, S. et al., 2016. Impact of Seasonal Variant Temperatures and Laboratory Room Ambient Temperature on Mortality of Rats with Ischemic Brain Injury. , pp.1–6.
- Fluri, F., Schuhmann, M.K., Kleinschnitz, C., 2015. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug design, development and therapy*, 9(Desember), pp.3445-54.
- IBRC.2013. Stroke Modelling, TTC Staining, Immunohistochemistry, and Neural Tracing technique. Workshop Module, Surya University Campus, serpong Tangerang
- Isayama, K., Pitts, L.H. & Nishimura, M.C., 1991. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining to delineate rat brain infarcts. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 22, pp.1394–1398.
- Junaidi., Iskandar, 2004. *Panduan Praktis Stroke (Pencegahan dan Pengobatan)*. Edisi 2. Jakarta . PT. Buana Ilmu Populer.
- Kanyal, N., 2016. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research (IJPBR)* Role of Rauwolfia serpentina in stroke induced experimental dementia, 4(1), 19–30
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2014. *Situasi Kesehatan Jantung*, Kementrian Kesehatan Republik indonesia, Jakarta.
- Khallout, K.B.A., 2013. *Cerebral Hypoperfusion In The Rat And Its Consequences*. Doctor of Philosophy, The University of Edinburgh.
- Kheradpezhoh, E., Miri, R., Noorafshan, A., 2008. A New Method of Brain Staining with Triphenyltetrazolium Chloride to Determine the Infarct Size in Rats. *Journal of Applied Animal Research*, 33(2), pp.149–152.
- Kumar, K., Sastry, V.G., 2012. Protective Effect of Trewia Nudiflora Against. , 2(1), pp.7–12.
- Hamada, J., Ushio, Y., Mori, M., 2004. Ischemia-induced neuronal cell death is mediated by the endoplasmic reticulum stress pathway involving CHOP, 403–415.
- Lapi, D., Vagnani, S., Pignataro, G., Esposito, E., Paterni, M., Colantouni, A. 2012. Protective effects of quercetin on rat pial microvascular changes during transient bilateral common carotid artery occlusion and reperfusion. *Frontiers in Physiology*, 3 MAR(March), pp.1–12.

- Ma, M., Hasegawa, Y., Koibuchi, N., Toyama, K., Uekawa, K., Nakagawa, T., Lin, B. 2015. DPP-4 inhibition with linagliptin ameliorates cognitive impairment and brain atrophy induced by transient cerebral ischemia in type 2 diabetic mice. *Cardiovascular Diabetology*, 1–13.
- Majid, A. 2014. Review Article Neuroprotection in Stroke: Past, Present, and Future. *ISRN Neurology*. Article ID 515716, 17 pages.
- Minnerup, et.al., 2012. Neuroprotection For Stroke : Current Status and Future Perspectives. In : *International Journal of Molecular Sciences*. Pp : 11753-11772.
- Molina, V., Arruzazabala, M.L., Carbajal, D., Valdés, S., Noa, M., Más, R., Fraga, V., dan Menéndez, R. 1999. Effect of policosanol on cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *Brazilian Journal and Biological research* ,32: 1269- 1276
- Nandagopal, M. et al., 2010. Behavioral assessment studies in Cerebral ischemia induced by . , 1(1), pp.208–223.
- Narkhede, K. P., Kulkarni, A. R., Savant, C., 2016. Attenuation of Neuronal Damage by Gymnemic acid in Experimentally Induced Cerebral Ischemia in Rats, 6(06), 113–118.
- Onken, M., Berger, S., Kristian, T. 2013. *NIH Public Access*, 204(2), 254–261.
- Olai, H. et al., 2015. Protocol for Meta-Analysis of temperature reduction in animal models of cardiac arrest. , (13), pp.1–18.
- Price, Sylvia A, 2012. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Rekabi, M.D., Hussein, F.H., Mosawi, A., Alwan, M.S, Hussein, A.H., Shaheed, D.K. 2015. Histopathological Effects of L-Methionine in Rat Cerebral Ischemia Reperfusion I/R Injury . *Br J Med Health Res*. 2015; 2(7) ISSN: 2394-2967
- Ropper, A.H., Brown, R.H. 2005. *Cerebrovascular Diseases*. In : *Adam and Victor's Principles of Neurology*. Eight edition. New York : Mc Graw-Hill. 2005.
- Saidi, S., Mahjoub T., Almawi, W.Y., 2010. Aldosterone Syntase Gene (CYP11B2) Promoter Polymorphism as a Risk Factor for Ischemic Stroke in Tunisian Arabs. *Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 11: 180.
- Schilichting, C.L.R., Lima, K.C.M., Junior, L.A.C., Sekiyama, L.Y., Silva, F. M., Milani, H., 2004. Validation of a simple and inexpensive method for the

quantitation of infarct in the rat brain. *Brazilian journal of medical and biological research* 37(4), pp.511–21.

Singh, R.K. et al., 2007. Effect of ethanolic extract of root of *Pongamia pinnata* (L) pierre on oxidative stress , behavioral and histopathological alterations induced by cerebral ischemia – reperfusion and long-term hypoperfusion in rats. , 45(October), pp.868–876.

Sustrani, Lanny, Syamsir Alam, Iwan hadibroto., 2003. *Stroke*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama; 2003.

Sena, E.S. et al., 2013. The benefit of hypothermia in experimental ischemic stroke is not affected by pethidine. *International Journal of Stroke*, 8(3), pp.180–185.

Van der Worp, H.B. et al., 2007. Hypothermia in animal models of acute ischaemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Brain*, 130(12), pp.3063–3074. Available at: <http://www.brain.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/brain/awm083>.

World Health Organization, 2006. STEP Stroke Surveillance. http://www.who.int/entity/chp/steps/Section1_Introduction.pdf [diakses tanggal 4 Mei 2016].

World Health Organization, 2010-a. Deaths from Stroke. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/cvd_atlas_16_death_from_stroke.pdf [diakses tanggal 20 February 2016]

World Health Organization, 2010-b. Global Burden of Stroke. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/cvd_atlas_15_burden_stroke.pdf [diakses tanggal 20 February 2016]

Xu, C. et al., 2010. Minor Allele C of Chromosome 1p32 Single Nucleotide Polymorphism rs11206510 Confers Risk of Ischemic Stroke in Chinese Han Population. *J Stroke* 41:1587-1592.