

PENELITIAN

Pengaruh Dexmedetomidine Intravena Terhadap Kadar Superoxide Dismutase 1

Effect On Intravenous Dexmedetomidine Against Superoxide Dismutase 1 (SOD-1) Levels Rabbit Kidney With Renal Ischemic Reperfusion Injury Model

Maulitia Neny Yusuprihastuti✉*, Hari Hendriarto Satoto**, M. Sofyan Harahap**

*PPDS 1 Bagian Anestesi dan Terapi Intensif FK Undip/RSUP Dr. Kariadi Semarang

**Staf Pengajar Bagian Anestesi dan Terapi Intensif FK Undip/RSUP Dr. Kariadi Semarang

ABSTRACT

Background: Hemodynamic changes during surgery can cause organ hypoperfusion resulting in kidney failure. Ischemic reperfusion injury is the leading cause of acute kidney failure, and may result in increased morbidity and mortality. Dexmedetomidine is a selective and potent α_2 -adrenergic receptor agonist, indicating the nature of sparing anesthesia, analgesia and simpatolitik, including as a protective agent for ischemic reperfusion injury (IRI) in many system organ. Superoxide dismutase 1 (SOD-1) play an important role in balancing the oxidation and antioxidant status, provide an important defense against the toxicity of superoxide radicals, so it can protect cells from damage.

Objective: To determine the effect of intravenous dexmedetomidine on levels of SOD-1 in rabbit kidney with renal ischemic reperfusion injury models.

Methods : An experimental study Randomize Post Test Only Control Group Design uses 16 New Zealand rabbits. 8 rabbits given treatment with administration of 0.5 mcg/kg/h dexmedetomidine and performed occlusion of the renalis artery. 8 rabbits untreated also performed occlusion of the renalis artery and SOD-1 examination as a control. Shapiro Wilk normality test continued with parametric test using Mann Whitney - t e s t .

Results : The mean levels of SOD-1 in the control group 0.80 and a P value of 0.389 (normal) and average levels SOD-1 in the treatment group 1.21 and a P value of 0.014 (abnormal). Parametric tests were used Mann Whitney-test with p value = 0.016. Because the value of $p < 0.05$, it can be concluded there is a significant difference.

Conclusion : Dexmedetomidine significantly increase the value of SOD-1 in New Zealand rabbits that were given occlusion of the renalis artery.

Keywords : Dexmedetomidine, levels of superoxide dismutase 1

ABSTRAK

Latar belakang: Perubahan hemodinamik selama operasi dapat menyebabkan hipoperfusi organ yang berakibat pada kegagalan organ ginjal. *Ischemic Reperfusion Injury (IRI)* adalah penyebab utama dari kegagalan ginjal akut, dan dapat berakibat

pada peningkatan morbiditas dan angka kematian. Dexmedetomidine adalah agonis α_2 -adrenergik yang selektif, menunjukkan sifat *sparing* anestesi, analgesia dan sifat simpatolitik, termasuk digunakan sebagai agen pelindung untuk *Ischemic Reperfusion Injury (IRI)* pada banyak sistem organ. *Superoxide Dismutase 1 (SOD-1)* memainkan peran penting dalam menyeimbangkan status oksidasi dan antioksidan, memberikan pertahanan penting terhadap toksisitas superoksida radikal, sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan.

Tujuan: Mengetahui efek dexmedetomidine intravena terhadap kadar *SOD-1* ginjal kelinci dengan *renal ischemic reperfusion injury model*.

Metode: Penelitian eksperimental *Randomize Post Test Only Control Group Design* menggunakan 16 kelinci New Zealand. 8 kelinci diberikan perlakuan dengan pemberian dexmedetomidine 0,5 mcg/kgbb/jam dan dilakukan oklusi pada arteri renalis. 8 kelinci yang tidak mengalami perlakuan juga dilakukan oklusi arteri renalis dan dilakukan pemeriksaan SOD-1 sebagai kontrol. Uji normalitas dengan *Saphiro Wilk* dilanjutkan uji parametrik menggunakan *Mann Whitney*.

Hasil: Kadar rerata SOD-1 pada kelompok kontrol 0,8 dan nilai P 0,389 (normal) dan kadar rerata SOD-1 pada kelompok perlakuan 1,21 dan nilai P 0,014 (tidak normal).

PENDAHULUAN

Perubahan hemodinamik selama operasi dapat menyebabkan hipoperfusi organ yang berakibat pada kegagalan organ ginjal. *Ischemic Reperfusion Injury (IRI)* adalah penyebab utama dari kegagalan ginjal akut, dan dapat berakibat pada peningkatan morbiditas dan angka kematian.¹

Kejadian gagal ginjal akut masih tinggi, yang akhirnya dapat berakibat pada berkembangnya penyakit ginjal kronik. Pada penelitian yang lama sekitar 4 bulan sampai 6 tahun pada tahun 2015 oleh Nathalie melaporkan bahwa antara 35-71% yang menderita gagal ginjal akut dapat bertahan tetapi mengalami pemulihan fungsi ginjal yang tidak sempurna.²

IRI adalah kerusakan jaringan yang disebabkan aliran darah balik ke jaringan setelah suatu periode

iskemik atau kekurangan oksigen (anoksia, hipoksia). Ketiadaan oksigen dari darah selama periode iskemik menyebabkan suatu kondisi yang berakibat pada kerusakan oksidasi dan inflamasi.³

Inflamasi bertindak sebagai perantara bagi kerusakan atau cedera reperfusi darah. Sel darah putih, dibawa ke daerah tersebut oleh darah yang baru kembali menghasilkan sejumlah faktor inflamasi seperti Interleukin, juga radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan jaringan. Aliran darah yang membawa kembali oksigen kedalam sel mengakibatkan kerusakan sel protein, DNA, dan membran plasma. Kerusakan membran sel pada akhirnya menyebabkan pelepasan radikal bebas yang lebih banyak lagi.³

Kondisi stres menyebabkan jumlah radikal bebas berlebih dan dapat

menimbulkan kerusakan sel. Tubuh secara normal mempunyai mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas yaitu antioksidan. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas. Superoksida dismutase (SOD) adalah salah satu enzim antioksidan intrasel yang melindungi sel dari serangan radikal bebas. SOD ada 3 bentuk. SOD 1 lokasinya di sitoplasma, SOD 2 di mitokondria, dan SOD 3 di ekstraseluler. Enzim ini melindungi sel selama metabolisme oksigen, secara aman menangkap radikal bebas berbahaya menjadi unsur seimbang seperti H₂O.^{4,5}

Dexmedetomidine adalah α -2-reseptor agonist dan memiliki peranan pada IRI pada banyak sistem organ. Dexmedetomidine juga digunakan sebagai adjuvan anestesi selama pembedahan untuk mencapai stabilitas hemodinamik selama operasi. Dexmedetomidine mengurangi stres oksidasi di serum, hati, dan organ lain termasuk paru dan ginjal. Aktivasi di otak dan spinal cord menghambat fungsi neuronal, menyebabkan hipotensi, bradikardi, sedasi dan analgesi. Respon aktivasi reseptor di area yang lain meliputi penurunan salivasi, penurunan sekresi, dan penurunan motilitas usus pada traktus gastrointestinal.⁶ Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh *dexmedetomidine* intravena terhadap kadar SOD-1 pada *renal* IRI.

METODE

Penelitian eksperimental dengan

desain *Randomized post test only controlled group*. Dalam penelitian ini digunakan 16 ekor kelinci jantan, umur 1-2 tahun, berat 1,5 – 2,5 kilogram, sehat dan tidak tampak cacat secara anatomi. Kelinci dibagi dalam 2 kelompok, sehingga total jumlah sampel 16 ekor kelinci. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasikan dengan dikandangkan per kelompok dan diberi pakan standar serta minum yang sama selama 1 minggu. Sampel dibagi menjadi 2, yaitu kelompok kontrol (KK), kelompok perlakuan (KP)

Kelinci dibius dengan Ketamin 35 mg/kgbb intramuskular, ditrakeostomi. Pemeliharaan anestesi dengan Ketamin 35mg/kgbb/jam intravena dan dipasang *pulse oxymetry*. Setelah dibersihkan bulunya dan didisinfeksi dengan alkohol 70%, dilakukan *laparotomi* untuk eksplorasi ginjal. Identifikasi *arteri renalis*, oklusi dengan benang bedah selama 60 menit, iskemia ditandai dengan warna pucat. Oklusi dihentikan dengan mengendurkan benang bedah dan reperfusi ditandai dengan hiperemia reaktif pada permukaan daerah iskemik. Ditunggu selama 1 jam sejak terjadi reperfusi, kemudian dilakukan oklusi kedua pada *arteri renalis* sambil disuntikkan *methylen blue* 10% intravena 5 ml sampai mata kelinci berwarna biru. Akan tampak area ginjal yang mengalami IRI yaitu yang tidak terwarnai *methylene blue* 10 %, kemudian diambil jaringan ginjal pada area tersebut. Dosis dexmedetomidine

intravena 0,5 mcg/kg/jam secara kontinyu diberikan pada kelompok perlakuan sejak awal sampai akhir prosedur, sedangkan kelompok kontrol diberikan *normal saline* 0,1 ml/kg/jam dari awal sampai akhir prosedur. Setelah ditunggu selama 1 jam sejak terjadinya reperfusi kemudian dilakukan pengambilan jaringan ginjal. Jaringan ginjal yang diambil lalu diekstrak supernatannya kemudian diperiksa SOD jaringan dengan metode ELISA.

HASIL

Hasil dari pemeriksaan kadar SOD 1 dapat dilihat pada tabel 1. Uji normalitas data pada kedua kelompok didapatkan nilai $p < 0,05$ atau terdistribusi tidak normal pada kelompok perlakuan sehingga untuk uji beda digunakan uji Mann Whitney. Dari hasil uji Mann Whitney didapatkan nilai $p = 0,016 (< 0,05)$ sehingga ada perbedaan bermakna.

PEMBAHASAN

Ischemic Reperfusion Injury adalah rusaknya jaringan yang disebabkan oleh kembalinya perfusi darah ke jaringan, setelah jaringan mengalami iskemia atau kekurangan oksigen untuk beberapa saat. Ketiadaan oksigen dan nutrisi dalam darah selama masa iskemia menyebabkan kondisi dimana perbaikan sistem kardiovaskular justru menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi dan kerusakan oksidasi akibat stres oksidatif

2,3

Mitokondria memproduksi radikal anion superoksidadan hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam keadaan normal. Reperfusi setelah iskemik menyebabkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebih pada mitokondria. ROS dapat secara langsung terlibat dengan makromolekul seluler seperti lipid, protein dan asam nukleat pada jaringan iskemik, yang akhirnya dapat menyebabkan kematian sel.²

Penyebab distribusi merata kadar SOD-1 tidak normal kemungkinan adalah keragaman variasi biologi seperti usia, status kesehatan dan nutrisi, serta berat tubuh dan luas permukaan tubuh.

Dexmedetomidine dapat meningkatkan kadar SOD-1 dengan cara menghasilkan peningkatan aktivitas enzim antioksidan, dan dalam pemeriksaan histologis, memiliki peranan penting untuk mengurangi kerusakan karena IRI. Reperfusi organ yang mengalami iskemik, sering mengakibatkan kerusakan jaringan yang lebih parah daripada periode iskemik itu sendiri. Dalam beberapa penelitian, setelah reoksigenasi meskipun terjadi peningkatan dalam jumlah spesies oksigen reaktif (ROS), antioksidan sistem pertahanan dapat menyebabkan ketidakmampuan untuk merusak jaringan. Reperfusi jaringan iskemik lebih lanjut meningkatkan reaksi inflamasi. Hal ini terjadi karena peningkatan pelepasan radikal bebas dan kumulasi mediator inflamasi dan

sel-sel kekebalan tubuh memberikan kerusakan.^{7,8}

SOD memiliki antioksidan yang kuat dan aktivitas fisik dan berfungsi sebagai radikal bebas utama tubuh. Superoksida adalah salah satu dari ROS di sel dan memegang peranan penting sebagai antioksidan. Dexmedetomidine mempunyai efek protektif pada organ melalui mekanisme anti nekrotik dan anti apoptotic melalui kemampuannya mengatur protein pro dan anti apoptosis.^{9,10}

Usia dan jenis kelamin berpengaruh pada hasil percobaan karena pada usia yang tepat pada fase hidup hewan tersebut, efek farmakologis yang dihasilkan akan lebih baik, jenis kelamin juga berpengaruh dilihat dari literatur bobot badan hewan akan berbeda. Hal ini berpengaruh pada dosis yang akan digunakan pada hewan percobaan tersebut. Begitu juga dengan ras dan sifat genetik yang berbeda-beda, maka hasil percobaan juga akan berbeda. Hal ini karena gen pada setiap individu berbeda, dengan gen yang berbeda-beda karakteristik yang berbeda pula, maka masing-masing memiliki perbedaan dalam perilaku, kemampuan imunologis, infeksi penyakit, kemampuan dalam reaksi terhadap obat, kemampuan reproduksi dan lain sebagainya. Status kesehatan dan nutrisi berpengaruh terhadap hasil percobaan karena efek yang dihasilkan dalam dosis akan cepat diserap oleh tubuh dan berlangsung cepat efek yang dihasilkan. Bobot dan luas permukaan

tubuh hewan yang besar akan lebih membutuhkan lebih banyak dosis untuk mendapatkan data kuantitatif yang akurat pada efek farmakologis yang terjadi.¹¹

Faktor eksternal yang dapat mempengaruhi hasil percobaan antara lain adalah pemeliharaan lingkungan fisiologik (keadaan kandang, suasana asing atau baru, pengalaman hewan dalam penerimaan obat, keadaan ruangan hidup seperti suhu, kelembaban udara, ventilasi, cahaya, kebisingan, serta penempatan hewan), suplai oksigen, pemeliharaan keutuhan struktur ketika menyiapkan jaringan atau organ hewan percobaan.¹¹

SIMPULAN

Pemberian dexmedetomidine akan meningkatkan kadar SOD-1 ginjal kelinci pada *renal ischemic reperfusion injury*.

Tabel 1. Kadar SOD 1 (ng/mL)

Sampel	KelompokKontrol	KelompokPerlakuan
1	1.3893	2.8358
2	1.0263	3.7410
3	0.7433	3.7788
4	0.7456	1.2556
5	0.7852	0.8348
6	0.4828	1.1601
7	0.8881	0.9335
8	0.8297	0.9786
Rerata	0,80	1,21

Tabel 2. Hasil uji normalitas rerata pada 2 kelompok

Kelompok	Shapiro-Wilk	Keterangan
Kontrol	0,389	Normal
Perlakuan	0,014	Tidak Normal

Tabel 3. Uji Mann Whitney rerata kadar SOD-1

Kelompok	Median (min – maks)	P
Kontrol	0,80 (0,48 – 1,39)	0,016
Perlakuan	1,21 (0,83 – 3,78)	

DAFTAR PUSTAKA

1. Leemans JC. Renal-associated TLR2 mediates ischemia/ reperfusion injury in the kidney. Nedherland: Nedherland Association : 2016. 1-10
2. Sun P. Human endometrial regenerative cells attenuate renal ischemia reperfusion injury in mice. Journal of Translational Medicine[internet]. 2016 [cited 2016 May 3]:3(9):1-17. Available from : <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502011000300008>
3. Collard E. Vascular Ischemia and Reperfusion Injury. British medical bulletin. 2014 Oct :70(2):71-76
4. Charles S. Pathophysiology, Clinical Manifestation, and Prevention of Ischemia-reperfusion Injury. American Society Of Anesthesiologist. 2001 June : 94(3):1133-38
5. Wicheat J, Judson W. Current Approaches to Prevention and Management of Reperfusion Injury. London. 2012 Oct :10(3): 215-31
6. Terzi H. Beneficial Effect of Dexmedetomidine on Testicular Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. University of Medicine in Wroclaw. 2008 May: 513-18
7. Budi A. Hubungan antara Reactive Oxygen Species (ROS), Superoxide Dismutase (SOD) dengan Protein A-Sinuklein Larut Air pada Batang Otak Tikus yang Diinduksi Rotenon. UNISBA. 2016 : 1
8. Hausenloy D. Time to Take Myocardial Reperfusion Injury Seriously. New England Journal of Medicine Editorial. 2008: 518-20
9. Romao S. Therapeutic Value of Oral Supplementation with Melon Superoxide Dismutase and Wheat Gliadin Combination. Nutrition. 2015: 430-6
10. Sofyan M. Peran Deksmetomidine Sebagai Protektor Otak yang Dinilai dengan Kadar IL-6 dan COX-2 pada Tikus Model Cedera Otak Traumatik. Jurnal Anestesiologi Indonesia. Volume VII, Nomor 3. 2015
11. Sulaksono ME. Peranan, Pengelolaan dan Pengembangan Hewan Percobaan. Biomedis. Jakarta. 1992