



**PENGARUH PEMBERIAN KETAMIN DOSIS  
INDUKSI DAN ANALGESI TERHADAP KAPASITAS  
FAGOSITOSIS MAKROFAG INTRA PERITONEAL  
MENCIT BALB/C YANG TERPAPAR  
LIPOPOLISAKARIDA**

**Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah  
Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran**

**Disusun oleh  
DEDI WINARTO  
G2A 005 052**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui oleh dosen pembimbing Laporan Hasil Penelitian dari :

Nama : Dedi Winarto  
NIM : G2A005052  
Fakultas : Kedokteran Umum  
Universitas : Diponegoro  
Judul : Pengaruh Pemberian Ketamin Dosis Induksi dan Analgesi terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal Mencit Balb/c yang Terpapar Lipopolisakarida  
Bidang Ilmu : Anestesi  
Pembimbing : dr. Jati Listiyanto Pujo, Sp An, KIC  
Diajukan tanggal : 21 Agustus 2009  
Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran.

Semarang, 21 agustus 2009

Dosen Pembimbing

dr. Jati Listiyanto Pujo, Sp An, KIC  
NIP : 140 243 846

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis haturkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Laporan Hasil Penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ketamin Dosis Induksi dan Analgesi Terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal Mencit Balb/c yang Terpapar Lipopolisakarida”. Keberhasilan penulis dalam menyusun Laporan Hasil Penelitian ini atas bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada :

1. Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, M.Si Med, Sp And, Rektor Universitas Diponegoro Semarang.
2. dr. Soejoto, Sp KK, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
3. dr. Jati Listiyanto Pujo, Sp An, KIC, Dosen Pembimbing yang telah berjasa dalam memberikan bimbingan, petunjuk, dan saran-saran dengan penuh bijaksana dan tanggung jawab sehingga penyusunan Laporan Hasil Penelitian ini dapat terselesaikan.
4. dr. Witjaksono, Sp An, M.Kes, selaku ketua penguji Laporan Hasil Penelitian.
5. dr. Uripno Budiono, Sp An (K), selaku reviewer Laporan Hasil Penelitian.
6. dr. Sulung Prastyo Hutomo, yang telah banyak membantu dalam pembuatan Laporan Hasil Penelitian dan pelaksanaan penelitiannya.

7. Staf Laboratorium Cebior FK Undip, atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Cebior FK Undip.
8. Keluargaku tercinta atas segala perhatian, doa, serta dukungannya.
9. Seluruh pihak yang telah membantu penyusunan Laporan Hasil Penelitian ini dan pelaksanaan penelitiannya.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
ABSTRAK .....	x
ABSTRACT .....	xi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum .....	4
1.3.2. Tujuan Khusus .....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Lipopolisakarida.....	5
2.1.1. Hubungan LPS dengan Produksi Sitokin .....	6
2.2. Makrofag .....	8
2.2.1. Fagositosis .....	10
2.2.2. Peran Makrofag Dalam Sepsis.....	11
2.2.3. Hubungan Produksi Makrofag Dengan LPS .....	12

2.3.	Ketamin .....	13
2.3.1.	Hubungan Aktivitas Struktur .....	14
2.3.2.	Mekanisme Kerja .....	15
2.3.3.	Farmakokinetik .....	16
2.3.4.	Metabolisme .....	17
2.3.5.	Penggunaan Klinis .....	19
2.3.6.	Efek Ketamin Pada Sepsis dan Mediator Inflamasi .....	20
2.3.7.	Efek Ketamin Terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag .....	21
2.4.	Kerangka Teori.....	22
2.5.	Kerangka Konsep .....	23
2.6.	Hipotesis .....	23

### BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1.	Rancangan Penelitian .....	24
3.1.1.	Skema Alur Penelitian .....	25
3.2.	Ruang Lingkup Penelitian .....	26
3.2.1.	Subyek Penelitian.....	26
3.2.2.	Waktu dan Tempat Penelitian . .....	26
3.3.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	26
3.3.1.	Kriteria Inklusi .....	26
3.3.2.	Kriteria Eksklusi .....	26
3.4.	Randomisasi .....	26
3.5.	Variabel Penelitian .....	27
3.5.1.	Variabel Bebas .....	27
3.5.2.	Variabel Tergantung .....	27
3.6.	Kerangka Kerja Penelitian.....	27
3.7.	Definisi Operasional .....	28
3.8.	Bahan, Alat Penelitian dan Cara Pengambilan Sampel Makrofag Intraperitoneal .....	28
3.8.1.	Bahan untuk Pengambilan .....	28

3.8.2.	Alat yang Dibutuhkan .....	29
3.8.3.	Cara Kerja .....	29
3.9.	Bahan, Alat Penelitian, dan Cara Pemeriksaan	
	Fagositosis Makrofag Dengan Latex Beads .....	30
3.9.1.	Bahan dan Alat .....	30
3.9.2.	Prosedur Pemeriksaan Fagositosis Makrofag Dengan Latex Beads .....	31
3.10.	Cara Pengumpulan Data .....	32
3.10.	Analisis Data .....	32
BAB 4	HASIL PENELITIAN	
4.1.	Uji Normalitas .....	34
4.2	Uji Homogenitas .....	35
4.3.	Uji Beda .....	35
BAB 5	PEMBAHASAN .....	38
BAB 6	SIMPULAN DAN SARAN	
6.1.	Simpulan.....	42
6.2.	Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	.....	43
LAMPIRAN	.....	45

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Komponen Membran Luar Gram Negatif (LPS) .....	5
Gambar 2. Respon Terhadap Paparan LPS Sistemik .....	7
Gambar 3. Mekanisme Terjadinya Sepsis Oleh LPS .....	7
Gambar 4. Mekanisme LPS Mengaktifkan NFkB .....	12
Gambar 5. Rumus Bangun Ketamin .....	15
Gambar 6. Metabolisme Ketamin .....	18
Gambar 7. Grafik rerata jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag .....	34



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Data Penghitungan kapasitas fagositosis makrofag	
intraperitoneal .....	33
Tabel 2. Hasil uji normalitas kapasitas fagositosis makrofag	
intraperitoneal .....	35
Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas kapasitas fagositosis makrofag	
Intraperitoneal .....	35
Tabel 4. Hasil uji beda kapasitas fagositosis makrofag	
intraperitoneal .....	36
Tabel 5. Hasil uji <i>Post Hoc</i> kapasitas fagositosis makrofag	
intraperitoneal .....	36

# **Pengaruh Pemberian Ketamin Dosis Induksi dan Analgesi Terhadap Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal Mencit Balb/c yang Terpapar lipopolisakarida**

Dedi Winarto<sup>1</sup> Jati Listiyanto Pujo<sup>2</sup>

## **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Ketamin suatu antagonis dari reseptor *N*-methyl-D-aspartat, sering digunakan sebagai obat anestesi karena mempunyai efek sedasi dan analgesi kuat. Penelitian terbaru menunjukkan ketamin dapat menurunkan kapasitas fagositosis makrofag lewat jalur supresi langsung terhadap sitokin TNF- $\alpha$  dimana sitokin TNF- $\alpha$  berperan besar sebagai aktivator makrofag. Selain itu ketamin dapat menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B melalui penekanan degradasi I $\kappa$ B- $\alpha$  dan translokasi NF- $\kappa$ B pada sel makrofag. NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi yang akan memicu produksi sitokin proinflamasi.

**Tujuan :** untuk mengetahui pengaruh pemberian ketamin 0,1, 0,2 dan 0,4 mg/kgBB intravena pada mencit yang disuntik LPS intraperitoneal terhadap penurunan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal.

**Metode :** Jenis penelitian eksperimental dengan desain *the post test only control group*. Sampel penelitian 20 ekor mencit balb/c jantan. Mencit dibagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok Kontrol (tidak diberi ketamin), kelompok Perlakuan 1,2,3 berturut-turut diberi ketamin 0,1 mg intravena; 0,2 mg intravena; dan 0,4 mg intravena. Sebelum penyuntikan ketamin, masing-masing kelompok disuntikkan Lipopolisakarida 20 mg/kgBB intraperitoneal.

**Hasil :** rerata kapasitas fagositosis makrofag untuk masing-masing kelompok : Kontrol = 33,20; Perlakuan 1 = 19,80; Perlakuan 2 = 13,20; Perlakuan 3 = 11,20. Hasil uji statistik antar kelompok didapatkan perbedaan yang bermakna antara seluruh kelompok ( $p < 0,001$ ). Uji beda antar kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna adalah : K-P1 ( $p < 0,001$ ), K-P2 ( $p < 0,001$ ), K-P3 ( $p < 0,001$ ), P1- P2 ( $p = 0,028$ ), P1-P3 ( $p = 0,006$ ). Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antara P2-P3 ( $p = 0,475$ ).

**Kesimpulan :** Pemberian ketamin dosis 0,1 mg, 0,2 mg dan 0,4 mg intravena menunjukkan perbedaan bermakna pada kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal dibanding kontrol pada mencit yang diberi Lipopolisakarida. Pada penelitian ini juga disimpulkan bahwa pemberian ketamin dosis 0,2 mg intravena merupakan dosis yang efektif untuk menurunkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada mencit yang diberi Lipopolisakarida.

**Kata kunci :** Ketamin, lipopolisakarida, fagositosis makrofag

<sup>1</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

<sup>2</sup> Staf Pengajar Bagian Anestesi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

# ***The Effect of Ketamin in induction and analgesic dose to Intraperitoneal Macrophage's Phagocytosis Capacity of Mice Balb/c which is Administered Lipopolysaccharide***

Dedi Winarto<sup>1</sup> Jati Listiyanto Puj<sup>2</sup>

## **ABSTRACT**

**Background :** Ketamin is an antagonist of N-methyl-D-aspartat receptor, is used as an anesthetic agent because of its strong effect in seduction and analgesia. The present study showed that ketamin could decrease phagocytosis capacity of macrophage through direct way of suppression to sitokin TNF- $\alpha$  , which has a great role as a macrophage activator. Ketamin can also inhibit NF- $\kappa$ B activation by pressing I $\kappa$ B- $\alpha$  degradation and translocation of NF- $\kappa$ B on macrophage cell. NF- $\kappa$ B is a transcription factor, which will promote production of cytokine proinflammation.

**Objectives :** To know the effect of ketamin 0,1, 0,2, and 0,4 mg intravenous to mice, which was injected Lipopolysaccharide, to the decrease of intraperitoneal macrophage's phagocytosis capacity.

**Methods :** This study was an experimental laboratory research with post test only control group design. The object of the study were 20 male Balb/c mice. They were divided into 4 groups : K as control group. P 1,2,3 as experimental groups, which were given 0,1;0,2; and 0,4 mg intravenous of ketamin. All of the groups have been injected with lipopolysaccharide 20 mg/kgBW intraperitoneal before.

**Result :** Means of macrophage's phagocytosis capacity : K = 33,20; P1 = 19,80; P2 = 13,20; P3 = 11,20. The statistic result test among all groups show significant differences ( $p=0,000$ ). The comparation of groups that have significant outcome are : K-P1 ( $p=0,000$ ), K-P2 ( $p=0,000$ ), K-P3 ( $p=0,000$ ), P1-P2 ( $p=0,028$ ), P1-P3 ( $p=0,006$ ). There is no significant difference between P2-P3 ( $p=0,0475$ ).

**Conclusion :** Administered of ketamin 0,1, 0,2, 0,4 mg intravenous show significant differ/ence to intraperitoneal macrophage's phagocytosis capacity which is compared to Control, a group of mice which given lipopolisacharide. From this research ,we can also conclude that administering ketamin in 0,2 mg dose is the effective dose to lowering intraperitoneal macrophage's phagocytosis capacity to mice, which given lipopolysaccharide.

**Keywords :** Ketamin, Lipopolysaccharide, phagocytosis macrophage

<sup>1</sup> Student of Medical faculty of Diponegoro University Semarang

<sup>2</sup> Lecturer in Department of anesthesiology Medical faculty of Diponegoro university

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Angka mortalitas yang masih tinggi menyebabkan sepsis sebagai masalah kesehatan dunia. Sepsis menimbulkan angka kematian yang cukup tinggi hampir di semua ICU. Di USA lebih dari 500.000 penderita tiap tahun terus meningkat serta menyebabkan lebih dari 175.000 pasien meninggal tiap tahunnya. Diperkirakan 750.000 orang menderita sepsis berat di Eropa dengan angka kematian sekitar 30% sampai 35%. Syok sepsis dan kegagalan multiorgan menghasilkan *outcome* yang buruk. Patofisiologi syok septik sudah banyak diketahui tetapi terapi masih terbatas dan mortalitas pasien syok masih tinggi. Dari data-data penelitian terapi inovatif dan *clinical trial* belum menghasilkan perbaikan yang signifikan dalam 40 tahun terakhir.<sup>1-3</sup>

Penyebab terbesar sepsis adalah bakteri gram negatif dengan persentase hampir 60%. Di USA sekitar 20-60% angka kejadian bakteriemia disebabkan oleh bakteri gram negatif dan rata-rata 20% berkembang menjadi sepsis dengan angka kematian 40% tiap tahunnya. Bakteri gram negatif akan menghasilkan produk yang dapat menstimulasi sel imun. Sel tersebut akan terpacu untuk melepaskan mediator inflamasi. Produk yang berperan besar terhadap sepsis adalah lipopolisakarida. Lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin glikoprotein kompleks adalah komponen utama membran terluar dari bakteri gram negatif sebagai yang merupakan salah satu faktor patogenik pada sepsis dan dinyatakan sebagai penyebab sepsis terbanyak.<sup>3-5</sup>

Respons sistemik terhadap sepsis akibat LPS akan menyebabkan adanya produksi mediator-mediator inflamasi atau sitokin proinflamasi *tumor necrosis factor* (TNF- $\alpha$ ), *interleukin* (IL- $\beta$ ), *interferon* (IFN- $\gamma$ ) dan meningkatkan ekspresi *nitric oxide* (NO) dalam jumlah besar, sehingga dapat mengakibatkan hipotensi sistemik dan proses apoptosis yang mengarah pada kegagalan organ atau disebut juga *multiple organ system failure* (MOSF).<sup>1,2,4</sup>

Beberapa sitokin yang dihasilkan oleh sel sebagai pertahanan melawan infeksi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 mempunyai efek sinergis dengan IFN- $\gamma$  dan berefek terhadap sel endotel pembuluh darah untuk menghasilkan NO. peningkatan NO akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dan vasodilatasi pembuluh darah arteri dan penurunan resistensi vaskuler sistemik yang akan menyebabkan terjadinya syok septik.<sup>6,7,8,9</sup>

NO suatu molekul biologi yang terdapat di seluruh tubuh, dihasilkan oleh sejumlah tipe sel yang berhubungan dengan luasnya proses penyakit akan memberikan efek merugikan dan menguntungkan di tingkat seluler dan vaskuler. NO merupakan suatu mediator seluler, dan diproduksi oleh salah satu dari tiga NO sintase: neuronal *nitric oxide synthase* (nNOS), endothelial NOS (eNOS), dan *inducible* NOS (iNOS). iNOS diekspresikan sejumlah tipe sel dan merupakan mediator kunci dari beberapa respons imunologi. iNOS berperan dalam pelepasan NO memegang peranan penting dalam patogenesis syok septik.<sup>2,5,6,7,9</sup>

Pengelolaan analgesi dan sedasi merupakan hal penting untuk pasien dalam kondisi sakit kritis di ruang rawat intensif (ICU). Ketamin suatu antagonis dari reseptor *N-methyl-D-aspartat*, sering digunakan karena mempunyai efek sedasi dan analgesi

kuat. Ketamin adalah obat anestesi yang mempunyai efek stimulasi terhadap kardiovaskuler, meningkatkan *cardiac output* dan *systemic vaskuler resistance* melalui stimulasi pada system saraf simpatis, menghasilkan pelepasan dari katekolamin.<sup>10</sup>

Pada penelitian ini paparan LPS dilakukan terhadap mencit dengan penyuntikan intraperitoneal karena pada intraperitoneal terdapat banyak makrofag yang merupakan tipe sel spesifik untuk iNOS yang dipicu oleh LPS. LPS yang disuntikkan akan merangsang makrofag untuk menghasilkan sitokin proinflamasi seperti TNF, IL-1, dan IL-6 yang pada akhirnya sitokin ini akan menghasilkan NO yang akan menyebabkan syok septik. TNF alfa, IL-1 dan IL-6 juga akan berefek *autocrine*, yaitu sebagai stimulator untuk meningkatkan proliferasi dan aktivitas makrofag. Dosis yang diberikan sesuai dengan dosis sedasi, analgesi dan induksi maksimal.<sup>9,11</sup>

Yi chang et al (2005) dalam penelitiannya menemukan bahwa pemberian ketamin 100  $\mu\text{M}$  dapat menurunkan fungsi fagositosis makrofag, kemampuan oksidasinya, serta produksi sitokin inflamatori.<sup>12</sup> Penelitian lain, Schmidt et al (1995) menunjukkan bahwa ketamin (10 mg/kgbb) juga menghambat *endotoxin-induced leukocyte adherence* karena penurunan produksi TNF- $\alpha$ . Takashi Kawasaki et al.(1999) juga melaporkan bahwa pemberian ketamin 73  $\mu\text{M}$  menekan produksi LPS-induced TNF- $\alpha$  dan pemberian ketamin dosis 365  $\mu\text{M}$  mempunyai efek poten dalam menekan produksi IL-6 dan IL-8.<sup>13</sup> Studi tersebut memberi kesan bahwa terdapat efek protektif ketamin dalam pasien sepsis karena adanya penekanan pada produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan dan penurunan kapasitas fagositosis makrofag.

## **I.2. Rumusan masalah**

Apakah pemberian ketamin 0,1, 0,2 dan 0,4 mg intravena akan menurunkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada mencit yang disuntik LPS intraperitoneal ?

## **1.3. Tujuan penelitian**

### **1.3.1. Tujuan umum:**

Membuktikan efek pemberian ketamin 0,1, 0,2 dan 0,4 mg intravena pada mencit yang disuntik LPS intraperitoneal terhadap penurunan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal.

### **1.3.2. Tujuan khusus:**

Menilai adanya perbedaan penurunan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal antara mencit yang terpapar LPS yang mendapat ketamin 0,1, 0,2 dan 0,4 mg dengan yang tidak mendapat ketamin intravena.

## **1.4. Manfaat penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat praktis antara lain :

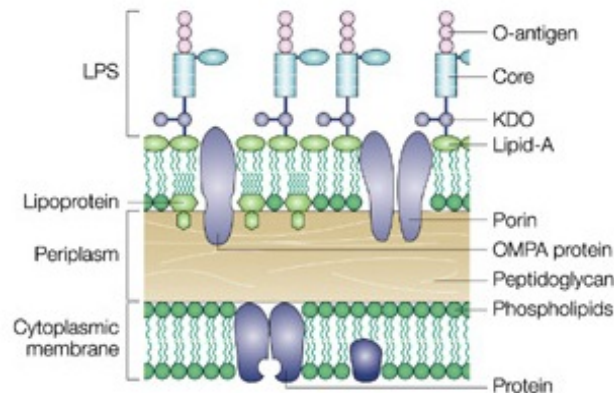
1. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sumbangan teori dalam upaya menerangkan pengaruh pemberian ketamin terhadap kejadian SIRS/sepsis.
2. Sebagai bahan informasi akan peranan ketamin sebagai supresor fungsi kapasitas fagositosis makrofag sehingga akan menurunkan produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan.
3. Penelitian ini dapat menjadi landasan teoritik untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Lipopolisakarida

Endotoksin ialah *lipopolysaccharide* (LPS) yang terdapat di membran luar bakteri negatif Gram. Komposisi endotoksin terdiri atas rantai polisakarida (rantai O), yang di berbagai spesies bervariasi dan tidak toksik melapisi luar membran. Pemberian injeksi endotoksin murni atau lipid pada hewan coba dapat menimbulkan gejala syok sepsis. Beberapa mediator pejamu secara tidak langsung menyebabkan sepsis, endotoksin bakteri gram negatif mengikat larutan *LPS-binding protein* atau membran luar sel mononukleus. Pengaruh interaksi antara monosit, makrofag dan netrofil melepas mediator inflamasi seperti interleukin (IL), interferon (IF), *platelet activating factor* (PAF), dan *tumor necrosis factor*.<sup>14</sup>



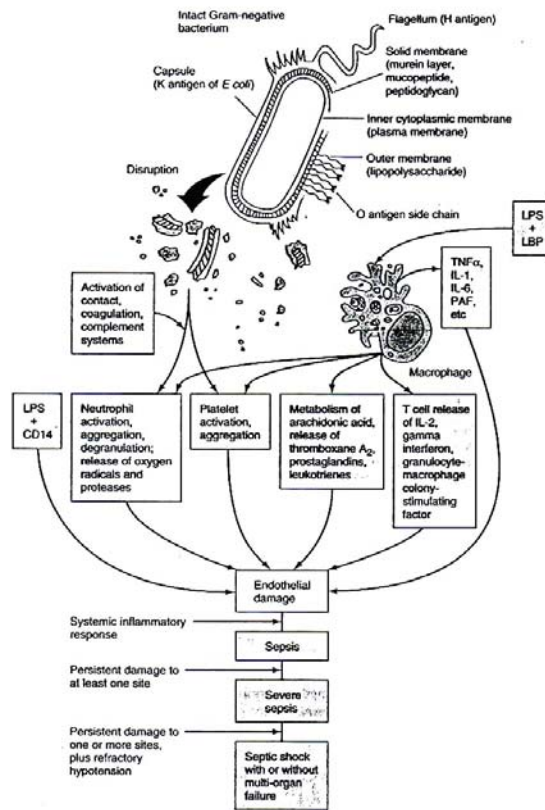
Gambar 1. Komponen membran luar gram negatif (LPS)  
Dikutip dari <http://textbookofbacteriology.net/structure.html>



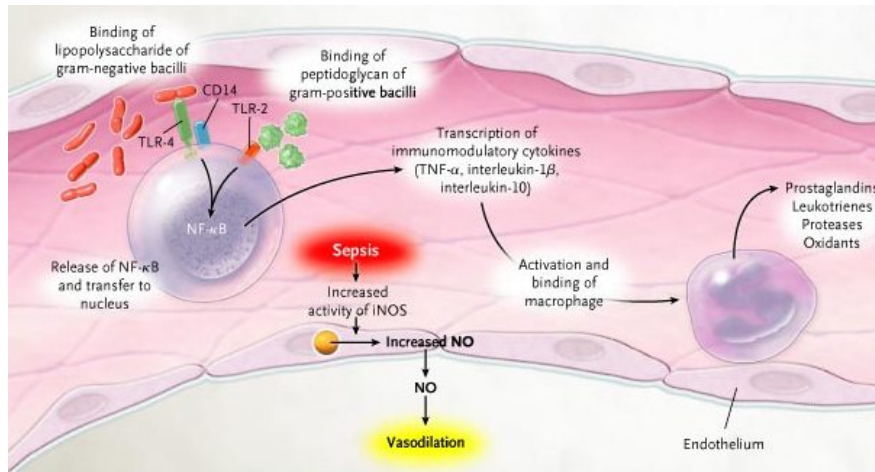
Toleransi terhadap endotoksin terjadi setelah pemberian berulang dosis kecil pada binatang dan ditandai oleh penurunan efek terhadap endotoksin dosis tinggi. Mekanisme dasar toleransi endotoksin kurang dimengerti tetapi toleransi endotoksin terjadi melalui dua fase. Toleransi fase awal terjadi dalam beberapa jam setelah terpapar endotoksin dan mekanismenya belum jelas. Toleransi fase lambat terjadi beberapa minggu setelah paparan awal terhadap endotoksin dan dihubungkan dengan produksi antigen-antibodi endotoksin.<sup>14,15</sup>

### **2.1.1. Hubungan LPS dengan produksi sitokin**

Lipopolisakarida (LPS) merupakan faktor patogenik utama pada sepsis gram-negatif, yang ditandai dengan syok, koagulopati, dan disfungsi multiorgan. Respons terhadap paparan LPS sistemik, sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$ , dan interferon- $\gamma$  diproduksi oleh *host*. Produksi sitokin proinflamasi dan induksi mediator yang lebih distal seperti *nitric oxide*, *platelet activation factor* (PAF), dan prostaglandin menyebabkan hipotensi, perfusi organ inadekuat, dan kematian sel yang berhubungan dengan MODS. Status proinflamasi ini didefinisikan sebagai *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS). Induksi sistem imunitas *innate* secara besar-besaran ini dapat dan seringkali menimbulkan efek katastrofik pada pasien dengan sindroma sepsis.<sup>1,6,15</sup>



Gambar 2. Respons terhadap paparan LPS sistemik  
 Dikutip dari Lorente AJ, Landin L, Esteban A.<sup>16</sup>



Gambar 3. Mekanisme terjadinya sepsis oleh karena LPS  
 Dikutip dari Jonathan Cohen.<sup>16</sup>

## 2.2. Makrofage

Mekanisme pertahanan *host* terdiri dari imunitas alami dan imunitas adaptif. Imunitas alami merupakan pertahanan yang paling pertama. Komponen imunitas alami atau *innate immunity* terdiri dari barier epitel, fagosit, sel NK, sistem komplemen, dll. Selain imunitas alami, juga terdapat sistem imunitas adaptif. Sistem imunitas adaptif ini terdapat dua tipe, yaitu *cell mediated immunity* dan *humoral mediated immunity*.

Sistem imunitas alami yang berperan melawan mikroba yang masuk menembus epitel ialah sistem fagosit. Sistem fagosit yang bersirkulasi dalam darah terdapat dua tipe, yaitu neutrofil dan monosit. Kedua sel tersebut bekerja pada tempat yang terinfeksi, dimana mereka mengenal dan mencerna mikroba. Neutrofil (juga disebut Leukosit polymorfonuklear) yang berjumlah 4000 – 10.000 per  $\text{mm}^3$  ialah jenis leukosit yang terbanyak di dalam darah. Dalam respon terhadap infeksi, produksi neutrofil dari sumsum tulang meningkat cepat sampai melewati angka 20.000 per  $\text{mm}^3$ . Produksi dari neutrofil dirangsang oleh sitokin, yaitu mediator yang diproduksi oleh berbagai macam tipe sel sebagai respon terhadap infeksi. Neutrofil ialah tipe sel pertama yang merespon infeksi, baik infeksi bakteri maupun fungi. Sel neutrofil mencerna mikroba dalam sirkulasi, dan sel neutrofil dengan cepat masuk ke dalam jaringan ekstravaskuler pada sisi infeksi, dimana sel ini juga mencerna mikroba dan mati setelah beberapa jam.

Tipe sel kedua dalam sistem fagosit ialah sel monosit. Sel tersebut berjumlah 500 – 1000 per  $\text{mm}^3$  darah, lebih sedikit dibandingkan jumlah sel neutrofil. Sel

monosit mencerna mikroba dalam darah dan jaringan. Tidak seperti neutrofil, monosit dapat masuk ke dalam jaringan ekstrasvaskuler dan bertahan di sana dalam waktu yang relatif lebih lama. Sel monosit akan berdiferensiasi menjadi sel makrofag di dalam jaringan. Sel monosit darah dan sel makrofag ialah dua sel yang sejenis, dimana kedua sel tersebut dinamakan sistem fagosit mononuklear.

Neutrofil dan monosit bermigrasi ke tempat ekstrasvaskuler dari infeksi dengan mengikat molekul adhesi endotel dan memproduksi kemokin untuk menghadapi mikroba. Jika mikroba infeksius menembus epitel dan masuk jaringan subepitel, makrofag mengenal mikroba dan meresponnya dengan memproduksi protein terlarut yaitu sitokin. Kedua sitokin itu ialah *tumor necrosis faktor* (TNF) dan *interleukin-1* (IL-1), beraksi pada endotel pembuluh darah kecil pada tempat infeksi. Sitokin itu merangsang sel endotel untuk mengekspresikan dua molekul adhesi, yaitu *E-selectin* dan *P-selectin*. Neutrofil dan monosit yang bersirkulasi mengekspresikan karbohidrat permukaan yang terikat lemah pada selectin. Neutrofil menempel pada endotel, aliran darah mengganggu ikatan ini, dan pada akhirnya leukosit menggelinding pada permukaan endotel. Leukosit mengekspresikan molekul adhesi lainnya, yaitu *integrin*. *Integrin* ini mengintegrasikan sinyal ekstrinsik ke dalam perubahan sitoskeletal. Selain *selectin* dan *integrin*, *macrophage-derived TNF* and *IL-1* juga memproduksi kemokin. Kemokin terikat pada permukaan luminal sel endotel dan dengan pada akhirnya akan meningkatkan afinitas integrin leukosit terhadap ligan endotel. Bersamaan dengan itu, TNF dan IL-1 beraksi pada endotel untuk merangsang ekspresi dari ligan integrin. Ikatan integrin dengan ligannya menghambat penggelindingan leukosit pada endotel. Sitoskeleton leukosit ditata kembali dan sel

menyebarkan pada permukaan endotel. Rangkaian *selectin mediated rolling*, *integrin mediated firm adhesion*, dan *chemokine mediated motility* mengakibatkan migrasi leukosit ke ekstrasvaskuler pada tempat infeksi dalam beberapa menit setelah infeksi. Akumulasi leukosit pada sisi infeksi, dengan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskuler dinamakan inflamasi.<sup>14</sup>

### **2.2.1 Fagositosis**

Fagositosis merupakan proses penelanan yang dilanjutkan dengan pencernaan seluler terhadap bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh dengan maksud mengganggu sistem homeostasis tubuh.

Proses fagositosis secara garis besar dapat dibedakan dalam 3 tahap :

1. Pengenalan dan pengikatan bahan asing.
2. Penelanan (*ingestion*)
3. Pencernaan.

Fagositosis sebagian besar diperankan oleh makrofag sebab kemampuan fagositosisnya jauh lebih kuat dibandingkan dengan sel fagosit yang yang lain. Segera setelah menelan bahan asing tersebut, membran makrofag akan menutup. Kemudian partikel tersebut digerakkan ke dalam sitoplasma seldan terbentuk vakuol fagosit. Lisosom adalah kantung-kantung dengan enzim, bersatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Pada keadaan ini dimulailah proses pencernaan intraseluler dan pembentukan zat bakterisidal jika lisosom gagal menerima bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh. Makrofag jaringan mempunyai kemampuan serupa makrofag mobile yang mampu mengembara ke seluruh jaringan, yaitu memfagosit bahan-bahan asing

infeksius. Jika makrofag jaringan terpapar rangsangan antigen yang sesuai, ia akan melepaskan diri dari jaringan sebagai makrofag mobile dan bereaksi terhadap antigen dengan memproduksi sitokin proinflamasi untuk reaksi inflamasi.<sup>14</sup>

### **2.2.2 Peran makrofage dalam sepsis**

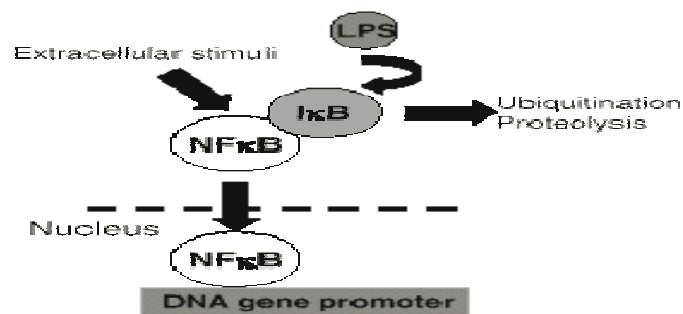
Sebagai respon terhadap mikroba, makrofag dan sel lainnya mensekresi protein yaitu sitokin yang memperantarai banyak reaksi seluler dalam imunitas alami. Sitokin ialah protein terlarut yang memperantarai imunitas dan reaksi inflamasi. Dalam imunitas alami, sumber utama dari sitokin ialah makrofag yang teraktivasi oleh adanya mikroba. Semua sitokin diproduksi dalam jumlah kecil sebagai respon terhadap stimulus eksternal, seperti mikroba. Sitokin mengikat reseptor pada sel target dengan afinitas tinggi. Sebagian besar sitokin beraksi pada sel yang memproduksinya ( *autocrine actions* ) atau pada sel yang berdekatan ( *paracrine actions* ). Dalam reaksi imun alami melawan infeksi, makrofag dapat diaktivasi dalam jumlah besar oleh sitokin yang diproduksi.

Sitokin dari imunitas alami melayani berbagai macam fungsi dalam pertahanan tubuh. Sitokin terlibat dalam perekrutan neutrofil darah dan monosit pada tempat infeksi. Pada konsentrasi tinggi, TNF meningkatkan trombosis darah dan menurunkan tekanan darah. Selain itu, TNF juga menurunkan kontraktilitas miokardium dan mengakibatkan vasodilatasi. Penyebaran infeksi bakteri gram negatif yang berat potensial memberikan sindrom klinik yang dinamakan syok septik. Karakteristik dari syok septik ini ialah penurunan tekanan darah (syok), *disseminated intravascular*

*coagulation (DIC)*, dan gangguan metabolik.<sup>14</sup>

### 2.2.3 Hubungan produksi Makrofag dengan LPS

TNF alfa dan IL-1 diproduksi dalam jumlah besar oleh leukosit mononuklear sebagai respon terhadap lipopolisakarida. TNF alfa dan IL-1 menyebabkan peningkatan sintesis dan merangsang produksi IL-6, IL-8, dan IL-10. TNF alfa dan IL-1 memproduksi demam, mengaktifkan penjendalan darah dan memperantarai inflamasi melalui produksi IL-8 dan dengan merangsang ekspresi dari molekul adhesi. IL-6 merangsang produksi protein fase akut dari hepar dan beraksi menghambat produksi TNF alfa dan IL-1. Ada beberapa tipe reseptor yang berbeda yang dapat ditemukan pada molekul mikroba. *Toll-like receptors* (TLRs) ialah komponen mikroba yang berbeda secara spesifik. Dalam hal ini TLRs 4 cukup esensial bagi makrofag sebagai respon terhadap lipopolisakarida / endotoksin. Pembangkitan sinyal oleh TLRs4 mengaktifkan faktor transkripsi yang dinamakan *nuclear factor kappa B* (NFkB), dimana faktor ini merangsang produksi dari sitokin, enzim, dan protein lain yang terlibat sebagai antimikroba.<sup>14</sup>



Gambar 4. Mekanisme LPS mengaktifkan NFkB  
Dikutip dari R.L.Paterson<sup>2</sup>

### 2.3. Ketamin

Ketamin telah dikenal lebih dari 30 tahun, namun baru dalam beberapa tahun belakangan dapat diterima secara luas dalam praktek anastesi. Ketamin ditemukan oleh Steven dari Detroit dan dicobakan pada sukarelawan di penjara Michican pada tahun 1964. Ketamin mulai digunakan untuk anastesi pada tahun 1965 oleh Domino dan Corssen.<sup>17,18,19</sup>

Ketamin atau *2-0-chlorophenyl-2-metylaminocyclohexanone hydrochloride* adalah derivat *phencyclidine*, yang menimbulkan “*dissociative anesthesia*,” yang ditandai oleh bukti pada electroencephalogram (EEG) tentang disosiasi antara thalamocortical dan sistem limbic. Dissociative anesthesia menyerupai suatu keadaan kataleptik di mana mata membuka dengan suatu tatapan nystagmus lambat, pasien tidak komunikatif, walaupun nampak seperti sadar, terjadi berbagai derajat gerakan otot skelet hipertonus yang sering terjadi tanpa tergantung dari stimulasi bedah dan pasien tersebut mengalami amnesia serta analgesi yang kuat.<sup>19,20</sup>

Ketamin telah terbukti dapat dipakai pada berbagai kasus gawat darurat dan dianjurkan untuk pasien dengan sepsis atau pasien dengan sakit parah, hal ini karena efek stimulasi ketamin terhadap kardiovaskuler. Ketamin akan meningkatkan *cardiac output* dan *systemic vascular resistance* lewat stimulasi pada system saraf simpatis akibat pelapasan dari katekolamin.<sup>17</sup>

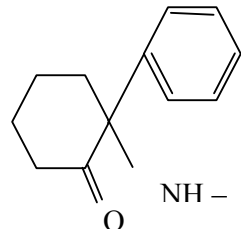
Penggunaan ketamin dalam anesthesia sangat bervariasi. Ketamin dapat diunakan untuk premedikasi, sedasi, induksi dan rumatan anesthesi umum. Selain



itu penderita dengan resiko tinggi gangguan respirasi dan hemodinamik merupakan indikasi penggunaan ketamin. Hal ini oleh karena beberapa sifat ketamin seperti indeks terapeutik yang tinggi, mempertahankan fungsi kardiovaskuler, kecukupan ventilasi spontan dan tetap utuhnya reflek-reflek laryngeal dan faringeal.<sup>17</sup>

### **2.3.1 Hubungan aktivitas struktur**

Ketamin adalah suatu molekul dapat larut dalam air yang dari sudut bangunannya menyerupai *phencyclidine*, adanya suatu atom karbon yang tidak simetris mengakibatkan keberadaan dua isomer optis ketamin, yaitu isomer S (+) dan R (-). Hanya campuran yang *racemic* berisi sejumlah sama dua ketamin isometri yang tersedia untuk penggunaan secara klinis. Ketika dipelajari secara terpisah, isometri yang positif (S) menghasilkan (1) analgesia yang lebih baik, (2) kesadaran lebih cepat, dan (3) lebih rendahnya insiden reaksi terbangun dibandingkan isomer negatif (R). Kedua isometri ketamin mampu menghalangi pengambilan kembali katekolamin ke saraf simpatik postganglion (suatu efek seperti kokain). Pada percobaan secara *in vivo* ditunjukkan bahwa isomer S (+) ketamin 2 – 3 kali lebih poten dari pada isomer R (-) ketamin dalam analgesia. Pada faktanya bahwa isomer optis ketamin oleh para ahli farmakologis dinyatakan bahwa obat ini saling berhubungan dengan rangsangan yang spesifik.<sup>18</sup>



Gambar 7. Rumus bangun ketamin

Dikutip dari Stoelting, Hiller.<sup>18</sup>

### 2.3.2 Mekanisme kerja

Ketamin adalah suatu obat penghilang sakit kuat pada konsentrasi plasma subanestetik, dan efek anestetik dan analgesia mungkin diperantarai oleh mekanisme yang berbeda. Yang secara rinci, analgesia mungkin dalam kaitan dengan suatu interaksi antara ketamin dan opioid reseptor di dalam sistem saraf pusat. Ketamin dan campuran seperti *phencyclidin* telah memperlihatkan blok nonkompetitif eksitasi neural induksi dengan asam *amin N-methyl-D-aspartate* (NMDA).<sup>17</sup>

Ketamin dapat menyebabkan peningkatan tekanan darah sistolik dan diastolik yang ringan. Efek terhadap kardiovaskuler adalah peningkatan tekanan darah arteri paru dan sistemik, laju jantung dan kebutuhan oksigen jantung. Ketamin dapat pula meningkatkan isi semenit jantung pada menit ke 5 – 15 sejak induksi. *Cardiac index* (CI) akan meningkat dari 3,1 liter/menit/m<sup>2</sup> menjadi 3,5 liter/menit/m<sup>2</sup>. Ketamin tidak menyebabkan pengeluaran histamin.<sup>18</sup>

Ketamin dilaporkan berinteraksi dengan mu ( $\mu$ ), delta ( $\delta$ ) dan kappa ( $\kappa$ ) reseptor dari opioid. Interaksi dengan opioid reseptor ini pada berbagai studi

menduga bahwa ketamin sebagai antagonis pada  $\mu$  reseptor dan agonis pada  $\kappa$  reseptor.

*N-methyl-D-aspartate* adalah suatu asam amino yang bekerja sebagai reseptor dan merupakan subgrup dari opioid reseptor. Ketamin bekerja sebagai suatu antagonist reseptor untuk memblok spinal nociceptive refleksi<sup>6</sup>. Toleransi silang antara ketamin dan opioids suatu reseptor umum untuk induksi analgesia ketamin. Suatu opioid reseptor teori akan lebih lanjut didukung oleh pembalikan efek ketamin dengan *naloxone*. Sampai saat ini, pembahasan efek *naloxone* atau respon ketamin belum selesai.<sup>18</sup>

Dalam klinik dilaporkan ketamin tidak hanya digunakan dalam general anestesi tetapi juga regional anestesi. Neuronal system mungkin melibatkan kerja antinosiseptif dari ketamin, blokade norepinefrin dan serotonin reseptor merupakan kerja ketamin sebagai analgesia. Dari berbagai data menduga bahwa aksi antinosiseptif dari ketamin mungkin menghambat jalur monoaminergik pain. Ketamin juga saling berhubungan dengan reseptor kolinergik muskarinik dalam sistem saraf pusat, yang berpusat pada kerja agen antikolinesterase seperti *physostigmine* mungkin menjelaskan anestesi dari ketamin<sup>18,19</sup>.

### **2.3.3 Farmakokinetik**

Farmakokinetik ketamin menyerupai tiopental dalam onset yang cepat, durasi yang singkat, dan daya larut tinggi dalam lemak (Tabel 1-1). Ketamin mempunyai suatu pKa 7,5 pada pH fisiologis. Konsentrasi plasma puncak ketamin

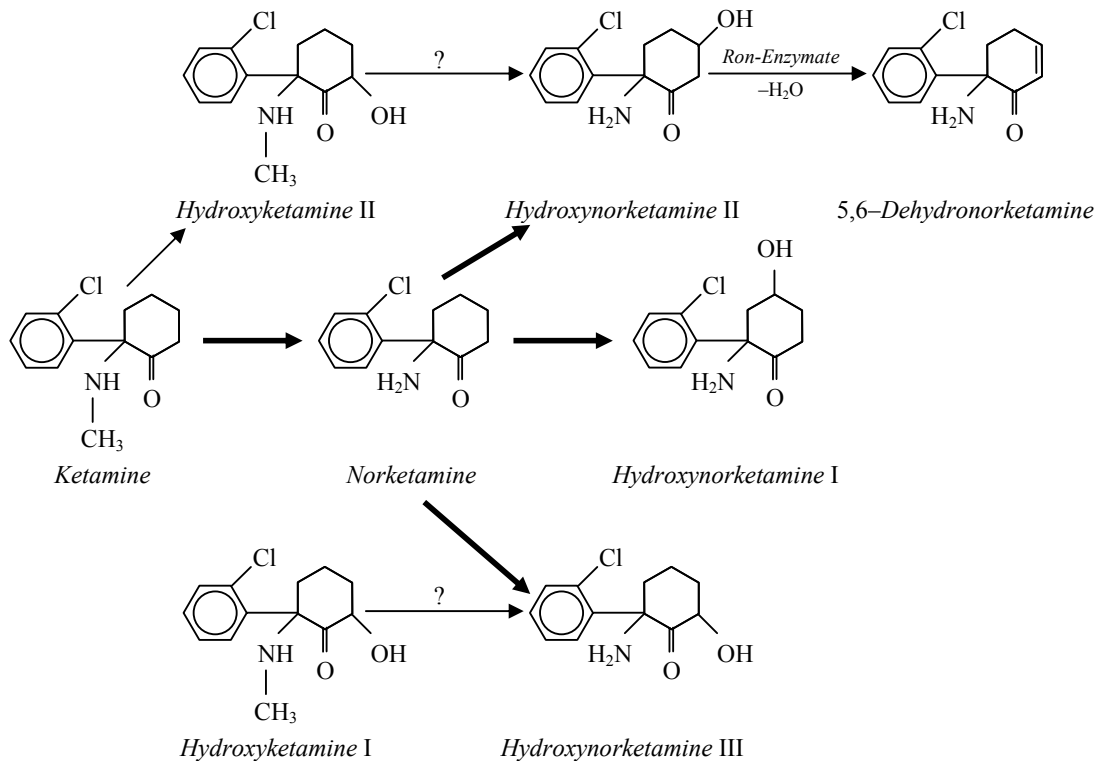
terjadi dalam 1 menit pada pemberian IV dan dalam 5 menit pada suntikan IM. Ketamin tidaklah harus signifikan menempel ke protein plasma dan meninggalkan darah dengan cepat dan didistribusikan ke dalam jaringan. Pada awalnya, ketamin didistribusikan ke jaringan yang perfusinya tinggi seperti otak, di mana puncak konsentrasi mungkin empat sampai lima kali di dalam plasma. Daya larut ketamin dalam lemak (5 – 10 kali dari tiopental) memastikan perpindahan yang cepat dalam sawar darah otak. Lagipula, induksi ketamin dapat meningkatkan tekanan darah cerebral bisa memudahkan penyerapan obat dan dengan demikian meningkatkan kecepatan tercapainya konsentrasi yang tinggi dalam otak. Sesudah itu, ketamin didistribusikan lagi dari otak dan jaringan lain yang perfusinya tinggi ke lebih sedikit jaringan yang perfusinya baik. Waktu paruh ketamin adalah 1 – 2 jam.<sup>17</sup>

Kegagalan fungsi ginjal atau enzim tidak mengubah durasi dari dosis tunggal ketamin yang mempengaruhi distribusi kembali obat dari otak ke lokasi jaringan non-aktif. Metabolisme hepar, seperti halnya dengan tiopental, adalah penting untuk bersihan ketamin dari tubuh. Ketamin tersimpan dalam jaringan dimana dapat berperan pada efek kumulatif obat dengan pengulangan atau pemakaian yang kontinyu.<sup>17</sup>

#### **2.3.4 Metabolisme**

Metabolisme ketamin secara ekstensif oleh microsomal enzim hepatic. Suatu jalur metabolisme yang penting adalah demethylation ketamin oleh

sitokrom P-450. Enzim dapat membentuk norketamin (gambar 2)<sup>3</sup>. Pada binatang percobaan, norketamin adalah seperlima sampai sepertiga sama kuat seperti ketamin. Metabolit yang aktif ini dapat berperan untuk ketamin yang diperpanjang. Norketamin adalah *hydroxylated* dan kemudian menghubungkan ke glucuronide metabolit yang non-aktif dan dapat larut dalam air. Pada pemberian secara intra vena (IV), kurang dari 4% dosis ketamin dapat ditemukan dalam air seni tanpa perubahan. *Fecal* kotoran badan meliputi kurang dari 5% dari dosis ketamin injeksi. Halotan atau diazepam memperlambat metabolisme dari ketamin dan memperpanjang efek obat tersebut.<sup>17</sup>



Gambar 8. Metabolisme ketamin

Dikutip dari Stoelting, Hiller.<sup>18</sup>

### 2.3.5 Penggunaan klinis ketamin

Ketamin adalah suatu obat yang unik yang menimbulkan analgesia kuat pada dosis subanestetik dan memproduksi induksi anesthesia yang cepat melalui intra vena pada dosis lebih tinggi. Pemberian dari suatu *antisialogogue* dalam pengobatan preoperatif sering direkomendasikan untuk menghindari batuk dan laryngospasme oleh karena ketamin berhubungan dengan pengeluaran ludah. Glikopirolat mungkin lebih baik, seperti atropin atau skopolamin bisa secara teoritis meningkatkan timbulnya kegawatan delirium.<sup>17-19</sup>

Analgesia kuat dapat dicapai dengan dosis ketamin subanestetik, 0,2 sampai 0,5 mg kg<sup>-1</sup> IV. Analgesia ditujukan lebih baik untuk nyeri somatik dibanding untuk nyeri viseral. Analgesia dapat dilakukan selama kehamilan tanpa berhubungan dengan depresi Neonatal. *Neonatal neurobehavioral score* bayi yang dilahirkan lewat pervaginal dengan ketamin analgesia adalah lebih rendah dari pada bayi mereka yang lahir dengan epidural atau spinal anesthesia, tetapi lebih tinggi dibanding skor bayi dengan tiopental-nitrous oksida.<sup>19</sup>

Ketamin digunakan sebagai induksi anestesi dengan dosis, 1 – 2 mg kg<sup>-1</sup> IV atau 5 – 10 mg kg<sup>-1</sup> IM. Suntikan ketamin melalui intra vena tidak menimbulkan nyeri atau iritasi pembuluh darah. Kebutuhan untuk intramuskular dengan dosis besar mencerminkan suatu efek metabolisme di hepar yang signifikan untuk ketamin. Kesadaran hilang 30 sampai 60 detik setelah penggunaan intravena dan 2 sampai 4 menit setelah suntikan intramuscular. Kesadaran hilang dihubungkan dengan pemeliharaan normal atau hanya refleks

berkenaan dengan depresi faringeal dan laringeal. Kembalinya kesadaran pada umumnya terjadi 10 sampai 15 menit yang mengikuti suatu dosis induksi ketamin intravena, tetapi kesadaran yang komplisit dapat tertunda lama. Amnesia dapat menetap untuk sekitar 1 jam setelah kembalinya kesadaran, tetapi ketamin tidak menyebabkan amnesia retrograd.<sup>19</sup>

### **2.3.6 Efek ketamin pada sepsis dan mediator proinflamasi**

Paparan LPS yang akan menyebabkan terjadinya sepsis digambarkan dengan adanya pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 yang berhubungan dengan kerusakan endotel dan jaringan. Efek paparan LPS menyebabkan pelepasan beberapa sitokin (TNF, NF $\kappa$ B, IL-1, IL-8, NO) sebagai pertahanan terhadap benda asing yang memiliki dampak positif dan negatif terhadap tubuh. Dampak yang timbul akibat pelepasan sitokin menyebabkan efek inflamasi.<sup>9,14</sup>

Faktor transkripsi NF- $\kappa$ B mempunyai peranan krusial pada proses inflamasi. Aktivasi NF- $\kappa$ B dapat menuju kearah transkripsi dari protein-protein proinflamasi. Ketamin menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B melalui penekanan degradasi I $\kappa$ B- $\alpha$  dan translokasi NF- $\kappa$ B sehingga akan menghambat produksi sitokain proinflamasi. Ketamin mensupresi produksi LPS-induced TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-8 dan rhTNF-induced IL-6 and IL-8 dalam darah manusia. TNF- $\alpha$  adalah sitokin pertama yang timbul setelah stimulasi LPS, yang kemudian menstimulasi sekresi IL-6 and IL-8 dari makrofag monosit, neutrofil, dan sel endotel . Supresi ketamin

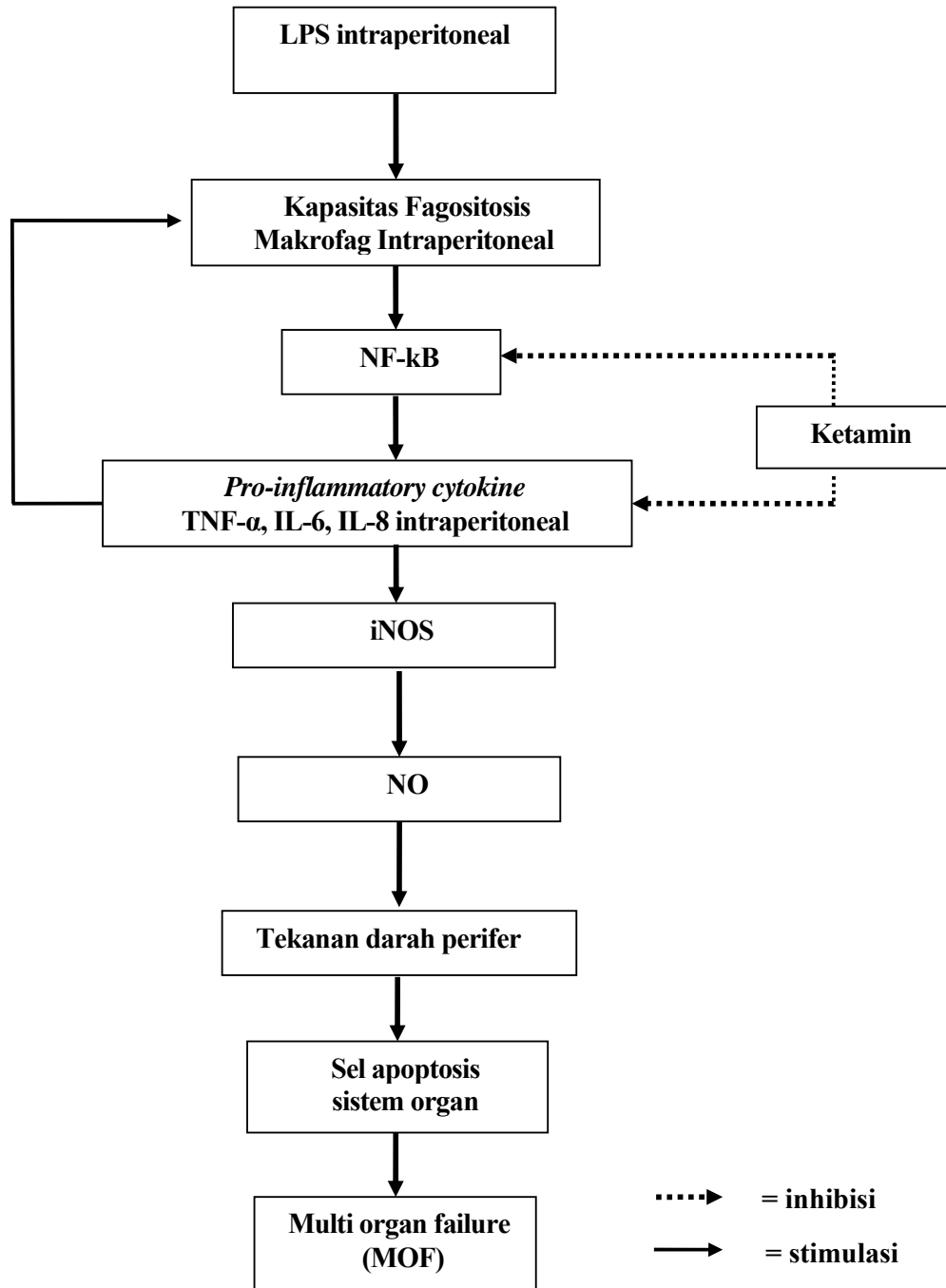
pada produksi LPS *induced* IL-6 and IL-8 disebabkan efek inhibisi ketamin pada produksi LPS-*induced* TNF- $\alpha$ .<sup>9,12,13</sup>

### **2.3.7 Efek ketamin terhadap kapasitas fagositosis makrofage**

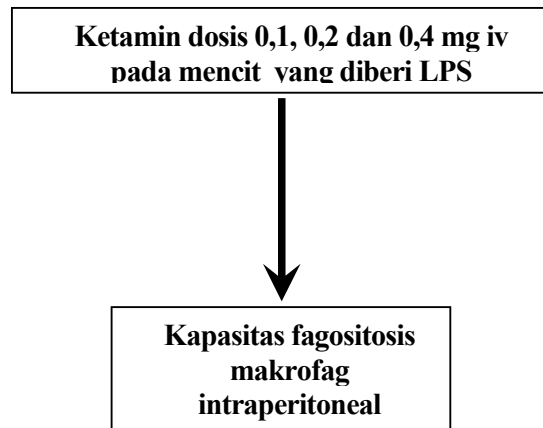
Ketamin menghambat aktivasi NF-kB melalui penekanan degradasi I $\kappa$ B- $\alpha$  dan translokasi NF-kB sehingga akan menghambat produksi sitokain proinflamasi. Ketamin juga mensupresi produksi LPS-*induced* TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-8 dan rhTNF-*induced* IL-6 and IL-8 dalam darah manusia. TNF- $\alpha$  adalah sitokin pertama yang timbul setelah stimulasi LPS, yang kemudian menstimulasi sekresi IL-6 and IL-8 dari makrofag monosit, neutrofil, dan sel endotel. TNF- $\alpha$  ialah sitokin yang berfungsi meningkatkan stimulasi aktivitas fagositosis makrofag. Efek supresi ketamin terhadap produksi LPS-*induced* TNF- $\alpha$  akan menyebabkan penurunan stimulasi TNF- $\alpha$  dalam merangsang aktivitas fagositosis makrofag.<sup>9,10,12</sup>



## 2.4. Kerangka teori



## 2.5. Kerangka Konsep



## 2.6. Hipotesis

Pemberian ketamin 0,1, 0,2 dan 0,4 mg intravena akan menurunkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada mencit yang diberi lipopolisakarida intraperitoneal.

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental murni dengan pendekatan *the post test only control group design* yang menggunakan mencit sebagai obyek penelitian. Sampel penelitian 20 ekor mencit Balb/c jantan, umur 8-10 minggu, berat 20 – 30 gram, sehat dan tidak tampak cacat secara anatomi, yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Penentuan besar sampel menurut rumus WHO yaitu, jumlah sampel 5 ekor per kelompok.<sup>21</sup> Mencit dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, sehingga total jumlah sampel 20 ekor mencit balb/c. Sampel yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasikan dengan dikandangkan per kelompok dan diberi pakan standar serta minum yang sama selama 1 minggu secara *ad libitum*. Pembagian 4 kelompok tersebut yaitu :

- Kontrol (K) : mencit yang disuntik LPS intraperitoneal
- Perlakuan 1 (P1) : mencit yang disuntik LPS intraperitoneal, mendapat ketamin 0,5 mg/kgBB intravena
- Perlakuan 2 (P2) : mencit yang disuntik LPS intraperitoneal, mendapat Ketamin 1 mg/kgBB intravena
- Perlakuan 3(P3) : mencit yang disuntik LPS intraperitoneal, mendapat Ketamin 2 mg/kgBB intravena.

Dosis obat yang diberikan disetarakan dengan dosis pada manusia dengan berat

badan 70 kg dikalikan konstanta uji terapi pada hewan coba (mencit) yaitu 0,0026.

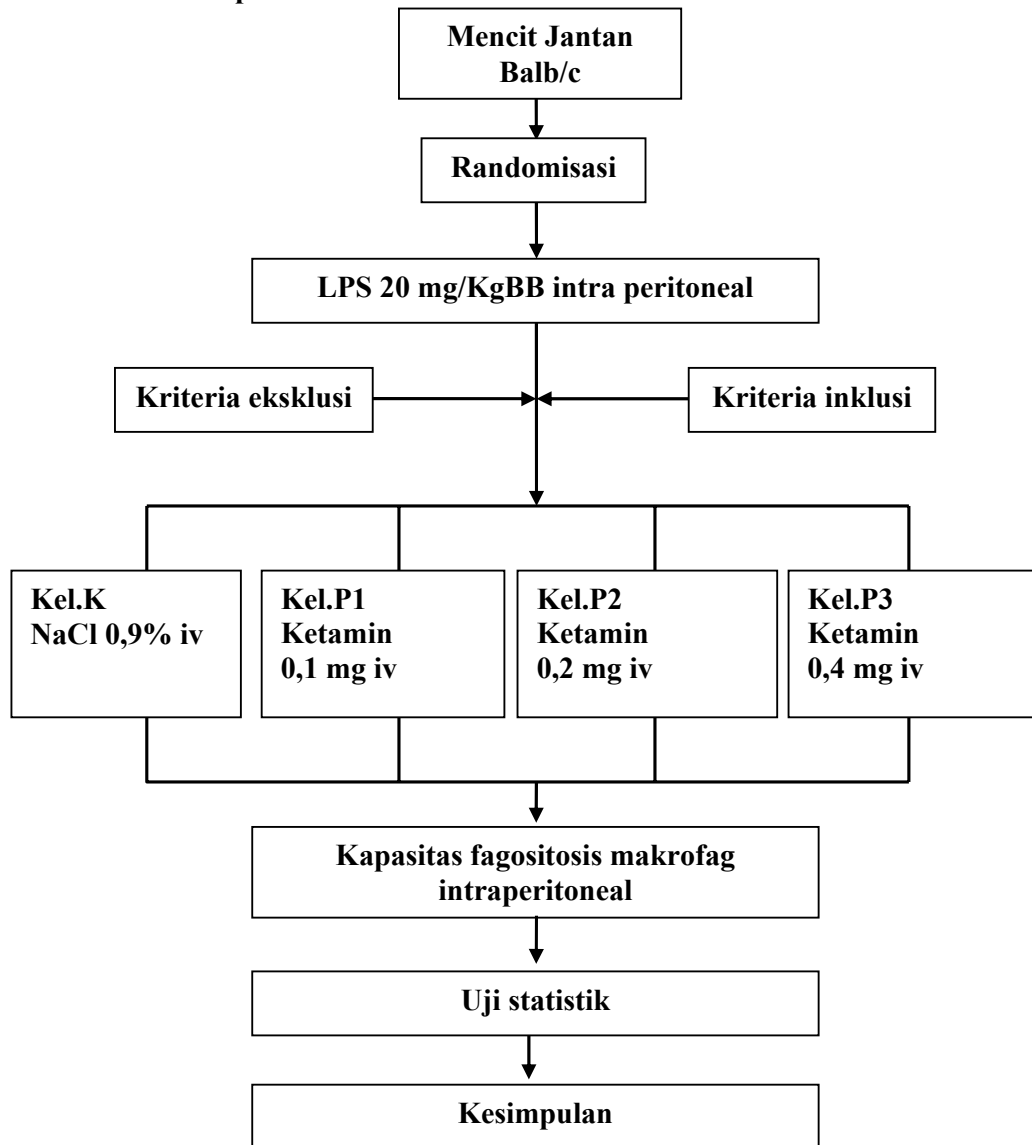
Jadi dosis yang diberikan pada masing-masing kelompok:

$$0,5 \text{ mg/kgBB} \rightarrow 0,5 \text{ mg/kgBB} \times 70 \text{ kg} \times 0,0026 = 0,1 \text{ mg}$$

$$1 \text{ mg/kgBB} \rightarrow 1 \text{ mg/kgBB} \times 70 \text{ kg} \times 0,0026 = 0,2 \text{ mg}$$

$$2 \text{ mg/kgBB} \rightarrow 2 \text{ mg/kgBB} \times 70 \text{ kg} \times 0,0026 = 0,4 \text{ mg}$$

### 3.1.1 Skema alur penelitian



### **3.2. Ruang lingkup penelitian**

#### **3.2.1. Subyek penelitian**

Populasi : Mencit Balb/c jantan  
Sampel : Makrofag intraperitoneal mencit  
Balb/c jantan

#### **3.2.2. Waktu dan Tempat penelitian**

Waktu penelitian : 30 hari  
Tempat pemeliharaan : Laboratorium Biokimia Universitas  
Diponegoro  
Tempat penelitian : Laboratorium Cebior FK UNDIP  
Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang

### **3.3. Kriteria inklusi dan eksklusi**

#### **3.3.1. Kriteria inklusi**

Mencit Balb/c jantan.  
Umur 8-10 minggu  
Berat badan 20 - 30 gram.  
Sehat dan tak tampak cacat anatomi

#### **3.3.2. Kriteria eksklusi**

Mencit sakit selama masa adaptasi 7 hari (gerakan tidak aktif).  
Mencit mati selama perlakuan berlangsung.

### **3.4. Randomisasi**

Besar sampel sebanyak 20 mencit berdasarkan *Research Guidelines For Evaluation The safety and Efficacy of Herbal Medicines* dari WHO <sup>21</sup>,

kemudian sampel dikelompokkan secara random menjadi 4 kelompok yaitu:

Kelompok K : 5 mencit

Kelompok P1 : 5 mencit

Kelompok P2 : 5 mencit

Kelompok P3 : 5 mencit.

### 3.5. Variabel penelitian

#### 3.5.1. Variabel bebas

Pemberian Ketamin

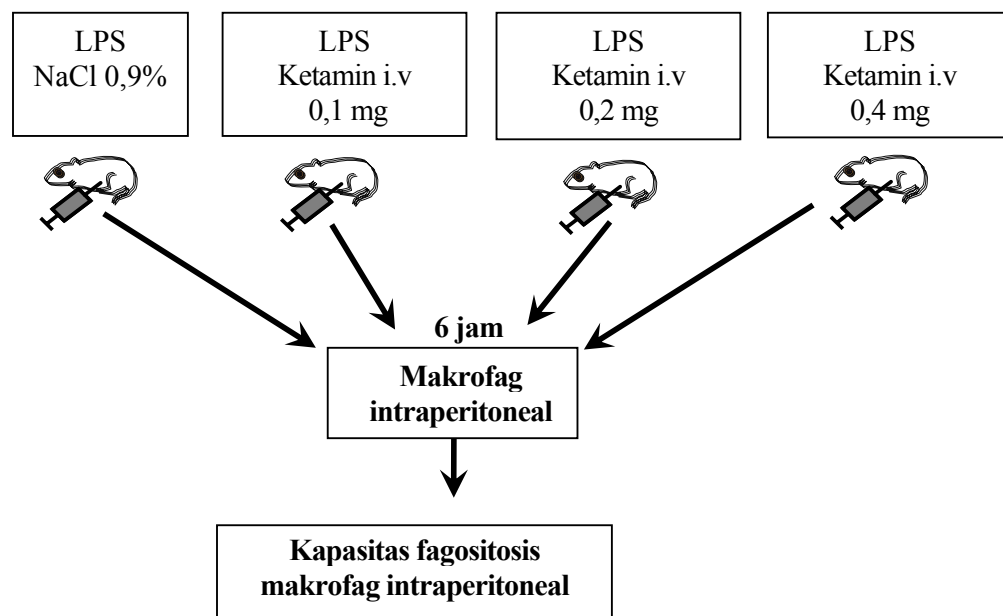
Skala : nominal

#### 3.5.2. Variabel tergantung

Kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal

Skala : rasio

### 3.6. Kerangka kerja penelitian



### 3.7. Definisi operasional

- Lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin adalah suatu komponen membran luar dari bakteri gram negatif yang merupakan salah satu pemicu awal terjadinya endotoksemia yang disuntikkan intraperitoneal dengan dosis 20 mg/kgBB.
- Ketamin atau 2-(2-chlorophenyl)-2-methylaminocyclohexanone hydrochloride adalah derivat phencyclidine merupakan obat anestesi yang diberikan intravena.
- Kapasitas fagositosis makrofag adalah kemampuan makrofag intraperitoneal dalam memfagosit partikel asing. Untuk mengetahui kemampuan fagositosis makrofag dipergunakan jumlah partikel latex yang difagositosis makrofag dalam 100 makrofag pada cairan peritoneum mencit.

### 3.8. Bahan, alat penelitian dan cara pengambilan sampel makrofag intraperitoneal dari hewan percobaan

#### 3.8.1. Bahan

1. *Chloroform*
2. Alkohol 70%
3. Asam acetat 3% + *crystal violet* 1mg/100 ml
4. *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI)-1640 yang mengandung L-glutamin (1mM), *Fetal Bovine Serum* (FBS)5% dan antibiotik Penisillin 50 unit dan Streptomisin 50µg/ml

### **3.8.2. Alat yang dibutuhkan**

1. Gunting dan Pinset
2. Semprit 10 ml dengan jarum ukuran 18 atau 20 gauge
3. tabung sentrifuse 50 ml steril
4. pipet pasteur steril
5. tabung berlapis silikon.

### **3.8.3. Cara kerja**

1. Mencit dibunuh dengan dislokasi leher setelah dinarkose menggunakan kloroform, dibaringkan terlentang dan seluruh permukaan perut disiram dengan alkohol 70%
2. Buat irisan kecil pada kulit menggunakan gunting pada medial perut. Robek kulit menggunakan 2 pinset kearah kepala dan ekor mencit, sehingga kulit terkelupas dan tampak peritoneum. Basahi peritoneum dengan alkohol 70% untuk menyingkirkan bulu-bulu yang rontok.
3. Suntikkan 10 ml medium RPMI yang mengandung 2% FBS kedalam rongga peritoneum, tunggu 2 menit sambil ditekan-tekan secara perlahan.
4. Cairan peritoneal diaspirasi dari rongga peritoneum dengan cara menekan organ dalam dengan 2 jari, cairan diaspirasi dengan spuit injeksi. Aspirat yang didapat ditampung dalam tabung sentrifus.
5. Aspirat yang didapat kemudian disentrifus pada 400xg, 4°C selama 10



menit

6. Supernatan dibuang, cuci 2X dengan RPMI yang mengandung 2%FBS
7. Kemudian ditambahkan 2 ml medium RPMI 1640 yang mengandung L-glutamin (1mM), *Fetal Bovine Serum* (FBS)5% dan antibiotik Penisillin 50 unit dan Streptomisin 50µg/ml, kemudian disentrifus pada 400xg, 4°C selama 10 menit
8. buang supernatan, bila perlu larutkan dengan 3% asam asetat dalam PBS untuk melisiskan sel darah merah, kemudian disentrifus pada 400xg, 4°C selama 10 menit
9. Cuci dengan RPMI yang mengandung 2% FBS.
10. Resuspensikan dengan medium komplet.
11. Jumlah sel yang didapat, dihitung dengan menggunakan bilik hitung Neubauer setelah diwarnai dengan Tripan Blue sehingga didapatkan suspensi sel dengan kepadatan  $5 \times 10^5$ / ml.
12. Untuk pemeriksaan fagositosis dengan latex beads, diambil 200 µL untuk tiap sumuran (microplate 24 well).

### **3.9. Bahan, alat penelitian, dan cara pemeriksaan fagositosis makrofag dengan**

#### **latex beads**

##### **3.9.1. Bahan dan alat**

1. Makrofag
2. Latex beads 3 µm (Sigma Cat.L30)
3. *Phosphat Buffer Saline* (PBS)

4. *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI)

5. *Microplate* 24 well

6. Coverslip

7. Object glass

8. Inkubator CO<sub>2</sub>

9. Mikroskop cahaya dan kamera foto

### **3.9.2. Prosedur pemeriksaan fagositosis makrofag dengan latex beads**

1. Suspensi makrofag yang telah dikultur pada microplate 24 well yang telah diberi coverslips bulat, setiap sumuran 200 µl ( $5 \times 10^5$  sel), inkubasikan dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37<sup>0</sup> C selama 30 menit.
2. Tambahkan medium komplet 1 ml/sumuran, inkubasikan selama 2 jam.
3. Sel dicuci dengan RPMI 2x, kemudian tambahkan medium komplet 1 ml/ sumuran, inkubasikan sampai 24 jam.
4. Makrofag peritoneum yang dikultur sehari sebelumnya, dicuci 2x dengan RPMI.
5. Latex beads diresuspensikan sehingga mendapat konsentrasi  $2,5 \times 10^7$ /ml.
6. Tambahkan suspensi latex 200 µl/sumuran, inkubasi selama 60 menit pada suhu 37<sup>0</sup>, CO<sub>2</sub>.
7. Cuci 3x dengan PBS untuk menghilangkan partikel yang tak difagosit.
8. Keringkan pada suhu ruang, fiksasi dengan metanol absolut, setelah kering coverslips dipulas dengan Giemsa 20% selama 30 menit.
9. Cuci dengan aquadest, angkat dari sumuran kultur dan keringkan pada

suhu kamar.

10. Setelah kering, dimounting pada object glass.
11. Hitung jumlah partikel latex yang difagositosis dalam 100 makrofag, diperiksa dengan mikroskop cahaya, dengan replikasi penghitungan 3x.

### **3.10. Cara pengumpulan data**

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil pemeriksaan kapasitas fagositosis makrofag yang dinyatakan dengan jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag yang diperiksa dengan mikroskop cahaya.<sup>22</sup>

### **3.11. Analisis data**

Setelah data terkumpul dilakukan data *cleaning*, *coding* dan tabulasi. Data dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan program komputer *SPSS 15.0 for windows* dan analisa data meliputi analisis deskriptif dalam bentuk rerata, *standart deviation* dan grafik. Pada variabel bebas didapatkan skala pengukuran nominal yaitu diberi ketamin dan tidak diberi ketamin sedang pada variabel terikat untuk kapasitas fagositosi makrofag intraperitoneal didapatkan skala pengukuran rasio. Kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk test* untuk mengetahui sebaran data. Karena data terdistribusi normal dan varians data sama, maka syarat uji ANOVA terpenuhi. Setelah dilakuakan uji beda dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji post hoc untuk melihat beda antara kelompok P1, P2, dan P3 dengan kelompok K.

## BAB 4

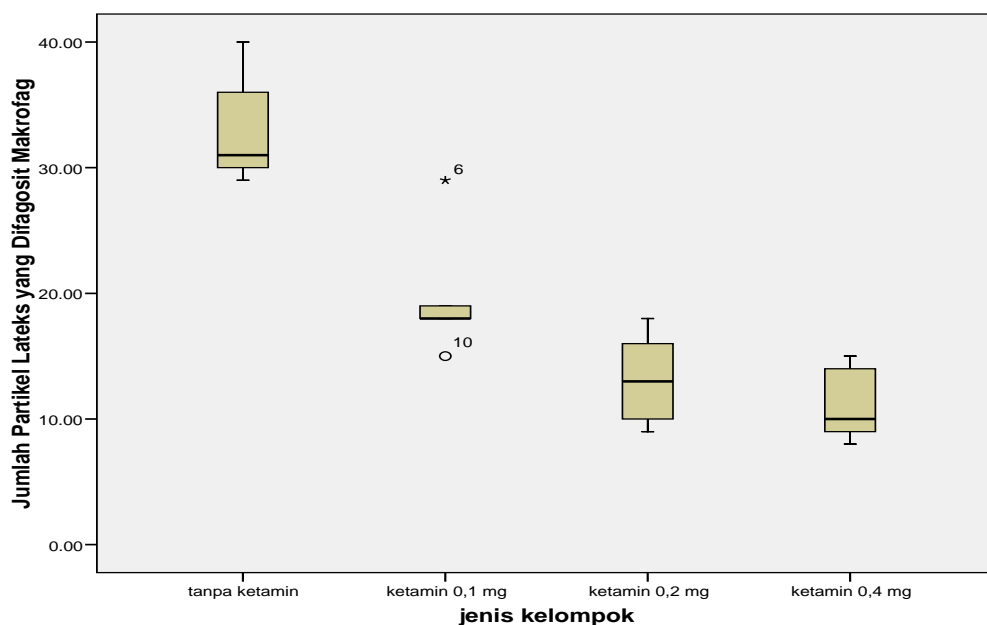
### HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit Balb/c jantan, dari keturunan murni berumur 8-10 minggu dan berat badan 20-30 gram. Penelitian menggunakan 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K) terdiri dari 5 ekor mencit yang diberikan perlakuan LPS intraperitoneal 20 mg/kgBB. Kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3) masing-masing terdiri 5 ekor mencit mendapatkan perlakuan LPS intraperitoneal 20 mg/kgBB dan ketamin intravena (0,1 mg, 0,2mg dan 0,4 mg).

Kapasitas fagositosis makrofag yang dihitung dengan jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag dianalisa dengan program *SPSS 15.0 for windows*. Hasil jumlah jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag masing – masing kelompok dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 7.

Tabel 1. Data Penghitungan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal

<b>Kelompok</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>
<b>Kontrol</b>	<b>5</b>	<b>33,20</b>	<b>2,08</b>
<b>Perlakuan 1</b>	<b>5</b>	<b>19,80</b>	<b>2,40</b>
<b>Perlakuan 2</b>	<b>5</b>	<b>13,20</b>	<b>1,71</b>
<b>Perlakuan 3</b>	<b>5</b>	<b>11,20</b>	<b>1,39</b>



Gambar 7 : Grafik rerata jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag

Data pada tabel 1 dan gambar 7 menunjukkan rerata jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag yang tertinggi adalah pada kelompok Kontrol : 33,20; kemudian diikuti kelompok Perlakuan 1 : 19,80; kelompok Perlakuan 2 : 13,20; dan terendah adalah kelompok Perlakuan 3 : 11,20.

#### 4.1. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data parameter klinis atau laboratoris terdistribusi normal. Karena jumlah sampel kurang dari 50 buah, maka dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal ini terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji normalitas kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal

kelompok perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol	.884	5	.327
Ketamin 0,1 mg	.794	5	.072
Ketamin 0,2 mg	.939	5	.658
Ketamin 0,4 mg	.885	5	.332

Dari uji ini didapatkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3) sebaran datanya terdistribusi normal yaitu  $p > 0,05$  (tabel 2).

#### 4.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui apakah kelompok data tersebut mempunyai varians yang sama atau tidak. Hasil uji homogenitas kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas kapasitas fagositosis makrofag Intraperitoneal

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,327	3	16	,806

Uji homogenitas varians (*lavenne test*) didapatkan nilai signifikansi  $p = 0,806$  ( $p > 0,05$ ) (tabel 3) sehingga dapat disimpulkan bahwa data dari populasi tersebut homogen. Karena populasi mempunyai varians yang homogen dan sebaran data normal maka syarat untuk uji statistik *Anova* terpenuhi.

#### 4.3. Uji Beda

Uji beda dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna

kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3). Uji beda ini dilakukan dengan menggunakan Uji Statistik Parametrik *ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji hipotesis. Hasil uji beda kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada keempat kelompok terlihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji beda kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal terhadap K (kontrol) menggunakan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1481,350	3	493,783	26,406	.000
Within Groups	299,200	16	18,700		
Total	1780,550	19			

Hasil uji statistik tersebut didapatkan perbedaan dengan  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ). Dari uji statistik *Anova* (tabel 4) dapat diinterpretasikan bahwa paling tidak terdapat perbedaan bermakna dari dua kelompok penelitian. Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antara masing – masing kelompok dilanjutkan uji *Post Hoc* dengan LSD seperti tampak pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji *Post Hoc* kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal

	P1 ketamin 0,1 mg	P2 ketamin 0,2 mg	P3 ketamin 0,4 mg
Kontrol (K)	$p = 0,000^*$	$p = 0,000^*$	$p = 0,000^*$
P1		$P = 0,028^*$	$P = 0,006^*$
P2			$P = 0,475$

\* $p<0,05$  : terdapat perbedaan yang bermakna

Data pada tabel 5 menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok K (kontrol) dengan

masing-masing kelompok perlakuan P1,P2,dan P3 ( $p = 0,000$ ). Terdapat perbedaan yang bermakna antara kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok perlakuan P1 dibandingkan kelompok perlakuan P2 ( $p = 0,028$ ) dan kelompok perlakuan P1 dibandingkan kelompok perlakuan P3 ( $p = 0,006$ ), sedangkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada kelompok perlakuan P2 dibandingkan kelompok perlakuan P3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p=0,475$  ( $p > 0,05$ ).



## BAB 5

### PEMBAHASAN

Endotoksin atau LPS adalah suatu komponen membran luar dari bakteri gram negatif yang dapat menginduksi sepsis. Patofisiologi sepsis sudah banyak diketahui tetapi terapi masih terbatas dan mortalitasnya masih tinggi.<sup>1-3</sup> Sebagai respon terhadap paparan LPS, makrofag dan sel lainnya mensekresi protein yaitu sitokin yang memperantarai banyak reaksi seluler dalam imunitas alami. Sitokin ialah protein terlarut yang memperantarai imunitas dan reaksi inflamasi. Dalam imunitas alami, sumber utama dari sitokin ialah makrofag yang teraktivasi oleh adanya paparan LPS. Semua sitokin diproduksi dalam jumlah kecil sebagai respon terhadap stimulus eksternal, seperti LPS. Sebagian besar sitokin beraksi pada sel yang memproduksinya ( *autocrine actions* ) atau pada sel yang berdekatan ( *paracrine actions* ). Dalam reaksi imun alami melawan infeksi, makrofag dapat diaktivasi dalam jumlah besar oleh sitokin yang diproduksi. Makrofag merupakan komponen penting dari respon fagositosis dan respons inflamasi terhadap injuri jaringan dan merupakan tipe sel spesifik untuk pemeriksaan kapasitas fagositosis.<sup>7</sup>

Hasil penelitian didapatkan terdapat penurunan Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal yang bermakna pada pemberian ketamin baik pada dosis 0,1 mg intravena; 0,2 mg intravena maupun pada pemberian ketamin dosis 0,4 mg intravena dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi ketamin (Kontrol) dengan  $p=0,000$ . Pada kelompok Perlakuan 1 dengan diberi ketamin 0,1 mg intravena yang dibandingkan dengan kelompok Perlakuan 2 yang diberi ketamin 0,2

mg intravena juga menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,028$ ). Demikian juga kelompok Perlakuan 1 menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,006$ ) dibandingkan dengan kelompok Perlakuan 3 yang diberi ketamin 0,4 mg intravena.

Hal tersebut di atas disebabkan 2 faktor. Pertama, karena ketamin menghambat langsung produksi sitokin proinflamasi TNF alfa, IL-6, dan IL-8 yang diinduksi oleh lipopolisakarida. Menurut penelitian Kawasaki dkk. (1999) menyatakan bahwa ketamin menekan TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-8 yang diinduksi oleh LPS. Dimana TNF- $\alpha$  merupakan sitokin pertama yang terinduksi setelah stimulasi LPS yang kemudian juga akan menstimulasi IL-1 dan IL-6 pada makrofag, monosit, neutrofil dan sel endotel. Efek supresi ketamin terhadap IL-6 dan IL-8 dapat secara langsung maupun melalui penghambatan pelepasan TNF- $\alpha$  yang diinduksi oleh LPS. Pada penelitian ini terdapat efek supresi ketamin terhadap TNF- $\alpha$  serta IL-6 dan IL-8. TNF alfa yang tersupresi kemudian akan menyebabkan penurunan Kapasitas Fagositosis makrofag intraperitoneal.<sup>12,13</sup> Kedua, Faktor transkripsi NF- $\kappa$ B mempunyai peranan krusial pada proses inflamasi. NF- $\kappa$ B merupakan faktor transkripsi yang akan memicu produksi sitokin. Pemberian LPS akan mengaktifkan NF- $\kappa$ B yang akan meningkatkan produksi mediator inflamasi seperti IL-8, TNF- $\alpha$ , *intercellular adhesion molecule* (ICAM) dan cyclooxygenase-2. Danielle PK dkk.(2004) menyatakan dalam penelitiannya bahwa ketamin menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B melalui penekanan degradasi I $\kappa$ B- $\alpha$  dan translokasi NF- $\kappa$ B pada sel makrofag meskipun pada dosis subanestesi, sehingga ketamin secara signifikan akan menurunkan konsentrasi TNF- $\alpha$  dan IL-6. Penurunan konsentrasi TNF- $\alpha$  memberikan efek supresi terhadap fungsi fagositosis, sehingga terjadi penurunan

kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal.<sup>9</sup>

Pada penelitian ini didapatkan juga hasil bahwa ketamin pada dosis 0,4 mg pada mencit yang setara dengan pemberian dosis ketamin 2 mg/kgBB pada manusia tidak menurunkan Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal secara signifikan dibandingkan dengan ketamin dosis 0,2 mg pada mencit yang setara dengan pemberian ketamin 1 mg/kgBB pada manusia ( $p=0,475$ ). Penelitian yang telah dilakukan mendapatkan bahwa ketamin dosis 0,2 mg pada mencit yang setara dengan 1 mg/kgBB pada manusia merupakan dosis yang efektif dalam menekan Kapasitas Fagositosis Makrofag Intraperitoneal.

Sarton dkk (2001) ketamin dalam kadar yang besar pada susunan saraf pusat akan menyebabkan terjadinya depresi nafas. Hal tersebut diakibatkan mekanisme kerja ketamin pada reseptor opioid  $\mu$  ( $\mu$ ). Dimana opioid endogen memiliki peran dalam pengaturan ritme nafas. Ketamin juga bekerja dengan menghambat NMDA yang mempunyai peran dipusat kemoreseptor  $\text{CO}_2$  dan juga mengatur irama pernafasan. Pada pemberian ketamin 0,4 mg pada mencit dapat menyebabkan penurunan frekuensi nafas yang dapat menyebabkan hipoksia. Bila proses hipoksia terus berlanjut akan mengakibatkan iskemik jaringan.<sup>23</sup>

Di sisi lain pemberian ketamin pada dosis besar akan menyebabkan peningkatan stimulasi pada sistem simpatis, akan terjadi vasokonstriksi pembuluh darah serta peningkatan oksigenasi jaringan. Efek iskemia adalah reversibel jika iskemia terjadi dalam waktu singkat, dimana sel dapat kembali menjadi normal setelah adanya reoksigenasi. Jika iskemia berlangsung lama, maka sel akan mengalami iskemia yang ireversibel dan bila terjadi reperfusi, maka terjadi kerusakan

baru pada sel melalui peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS).<sup>23,24</sup> Produksi ROS terjadi dari disfungsi mitokondria, seperti yang klasik terjadi pada syok septik serta konversi xanthin dehidrogenase menjadi xanthin oksidase yang teraktivasi selama iskemia dan trauma reperfusi. ROS dapat memacu pelepasan sitokin dari sel imun, mengaktivasi kaskade inflamasi, dan meningkatkan ekspresi adhesi molekul, yang diperantarai melalui peningkatan ekspresi NF- $\kappa$ B sehingga respons inflamasi berlipat ganda serta memperparah kerusakan jaringan. Jalur dan lingkaran ini merupakan sentral yang mendasari patofisiologi penyakit kritis dengan respons inflamasi sistemik dan disfungsi multiorgan.<sup>6,25</sup>

Menurut Hutomo (2009), menyatakan bahwa Pemberian ketamin dosis 0,1 mg, 0,2 mg dan 0,4 mg intravena menunjukkan perbedaan bermakna pada kadar NO makrofag intraperitoneal dibanding kontrol pada mencit yang diberi LPS. Selain itu pemberian ketamin dosis 0,2 mg intravena menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna terhadap kadar NO makrofag intraperitoneal dibanding dengan pemberian ketamin dosis 0,4 mg intravena.<sup>26</sup> Dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa pemberian ketamin dosis 0,1; 0,2; dan 0,4 mg intravena menunjukkan hasil yang sebanding antara penurunan kapasitas makrofag dan penurunan kadar NO makrofag.

## **BAB 6**

### **SIMPULAN dan SARAN**

#### **6.1. Simpulan**

- 6.1.1. Pemberian ketamin dosis 0,1 mg, 0,2 mg dan 0,4 mg intravena menunjukkan perbedaan bermakna pada kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal dibanding kontrol pada mencit yang diberi Lipopolisakarida.
- 6.1.2. Pemberian ketamin dosis 0,2 mg intravena merupakan dosis yang efektif untuk menurunkan kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal pada mencit yang diberi Lipopolisakarida.

#### **6.2. Saran**

Agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis ketamin pada manusia terhadap penurunan kapasitas fagositosis makrofag dan peningkatan sistem imun pada kondisi sepsis, sehingga diharapkan akan didapat hasil penelitian yang lebih baik dan bermanfaat dalam pengelolaan sepsis.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Oberholzer C, Oberholzer A, Clare-salzler M, Moldawer LL. Apoptosis in sepsis: a new target for therapeutic exploration. *The FASEB Journal* 2001;15:879-892.
2. RL Paterson, NR Webster. Sepsis and the Systemic inflammatory Response Syndrome. *R.Coll.Surg.Edinb* 2000;178-182.
3. Hotchkiss SR, Karl EI. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. 2003;348:138-50.
4. Barash G, Paul MD. Septic shock. *Clinical Anesthesia* 4th edition: Lippincott Williams & Wilkins Publishers 2001; p1069-76
5. Karl IE. Pathogenesis of sepsis and multiorgan dysfunction. *J Cell Biochem* 1992;267:10931-44.
6. Hermawan AG. SIRS dan Sepsis (Imunologi, Diagnosis, Penatalaksanaan). Sebelas Maret University Press. Edisi pertama. Mei 2006.
7. Vincent JL, Zhang J, Szabo C, Preiser JC. Effect of Nitric Oxide in Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;16(1):1781-85.
8. Moncada S, Higgs A. The L-Arginine-Nitric oxide pathway. *NEJM* 1993;329:2002-12.
9. Danielle P K, Bull S, Duk P V, Gremmels J, Hellebrekers L. Ketamin inhibits LPS-Induce Tumor Necrosis Faktor-alpha and Interleukin-6 in an Equine Macrophage Cell Line. *Section Anesthesiologi and Intensive Care, Utrecht University; 2005: 257-62.*
10. Shimaoka M, Iida A, Ohara, Taenaka N, Mashimoto T, Honda T. Ketamin inhibisi nitric oxide production in mouse-activated macrophage-like cell. *British journal of Anesthesia* 1996; 77: 238-42
11. Yuan C, Cou C, Shung C, Ding Y, Yen M. Ketamin inhibits nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated rat alveolar macrophages. *Can J Anesthesia* 2001; 44(9):989-95
12. Yi Chang, TL Chen, JR Sheu, RM Chen. Effect of Ketamin to The Macrophage Function. *Toxicology and applied pharmacology* 2005;204 : 27-35.
13. Kawasaki C, Kawasaki T, Ogata M, Nandate K, Shigematsu A. Ketamin isomers suppress supernatigen-induced proinflammatory cytokine production in human whole blood. *Can J Anesthesia* 2001;48(8):819-23.
14. Abbas AK. *Cellular and Molecular Immunology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders Companies. p175-85.
15. Wright G, Singh IS, Hasday JD, Farrance IK, Hall G, Cross AS, and Rogers TB. Endotoxin stress-response in cardiomyocytes: NF- $\kappa$ B activation and tumor necrosis factor- $\alpha$  expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:872-79.
16. Lorente AJ, Landin L, Esteban A. Nitric Oxide in Critical Illness. In: Shoemaker, Ayres, Grenvik, Holbrook. *Textbook of Critical Care*. 4<sup>th</sup> Ed.

Philadelphia: WB Saunders; 2000: p630-39.

17. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ, Larson CP. Nonvolatile anesthetic agents. In : Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ, Larson CP. *Clinical Anesthesiology* 4<sup>th</sup> ed. New York : Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Edition, 2006 : p164.
18. Stoelting, Hiller. *Pharmacology and Physiology in Anesthetic Practice*. 4<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Williams and Wilkins; 2006: p141-54.
19. Reves GJ, Glass ASP, Lubarsky AD. Nonbarbiturate Intravenous Anesthetics. In: Miller DR. *Anesthesia*. 5<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000:p229-72.
20. Ladish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky S, Lawrence, Matsudaira P, Darnell J. *Molecular Cell Biology*. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Scientific American Books; 1996. p. 886–98,1247–70.
21. WHO. Research uidline for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. Manila :WHO Regional Office for The Western Pacific ;1993.3.
22. Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Stober W. *Current Protocol in Immunology*, Volume 2. New york : John Wiley & Sons Inc ; 1991. 14.6.2 – 14
23. Sarton E, Teppema LJ, Oliever C, Neuwenhuies, Matthes H, Kiffer BL, Dahan A. The Involvement of the Opioid Receptor in Ketamine-Induced Respiratory Depression and Antinociception. *Anesthesia and Analgesia journal* 2001;93:1495–500.
24. Jimi N, Segawa K, Minami K, Sata T, Shigemitsu A. Inhibitory Effect of the Intravenous Anesthetic, Ketamine, on Rat Mesangial Cell Proliferation. *Anesthesia and Analgesia journal* 1997;84:190-5.
25. Hogg N. Pro-oxidant and Antioxidant Effect of Nitric Oxide. In: Favier EA, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre LJ. *Analysis of Free Radicals in Biological Systems*. Switzerland; 2001:37-49
26. Hutomo SP. Pengaruh ketamin intravena terhadap kadar nitric oxide makrofag mencit balb/c yang diberi lipopolisakarida. *M Med Indones*; 2009.

## LAMPIRAN 1 :

1. Data Penghitungan jumlah jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag

Descriptives				Statistic	Std. Error
jumlah makrofag yang memfagosit lateks dalam 100 makrofag	jenis kelompok tanpa ketamin	Mean		33,2000	2,08327
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	27,4159	
			Upper Bound	38,9841	
		5% Trimmed Mean		33,0556	
		Median		31,0000	
		Variance		21,700	
		Std. Deviation		4,65833	
		Minimum		29,00	
		Maximum		40,00	
		Range		11,00	
		Interquartile Range		8,50	
		Skewness		,902	,913
		Kurtosis		-,994	2,000
		ketamin 0,1 mg		Mean	
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			13,1481	
	Upper Bound			26,4519	
5% Trimmed Mean				19,5556	
Median				18,0000	
Variance				28,700	
Std. Deviation				5,35724	
Minimum				15,00	
Maximum				29,00	
Range				14,00	
Interquartile Range				7,50	
Skewness				1,778	,913
Kurtosis				3,710	2,000
ketamin 0,2 mg				Mean	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8,4394	
			Upper Bound	17,9606	
		5% Trimmed Mean		13,1667	
		Median		13,0000	
		Variance		14,700	
		Std. Deviation		3,83406	
		Minimum		9,00	
		Maximum		18,00	
		Range		9,00	
		Interquartile Range		7,50	
		Skewness		,190	,913
		Kurtosis		-2,167	2,000
		ketamin 0,4 mg		Mean	
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			7,3329	
	Upper Bound			15,0671	
5% Trimmed Mean				11,1667	
Median				10,0000	
Variance				9,700	
Std. Deviation				3,11448	
Minimum				8,00	
Maximum				15,00	
Range				7,00	
Interquartile Range				6,00	
Skewness				,437	,913
Kurtosis				-2,681	2,000



2. Hasil uji normalitas data

**Tests of Normality**

jenis kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah lateks tanpa ketamin	,282	5	,200*	,884	5	,327
yang terfagosit ketamin 0,1mg	,359	5	,034	,794	5	,072
ketamin 0,2 mg	,198	5	,200*	,939	5	,658
ketamin 0,4 mg	,250	5	,200*	,885	5	,332

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

3. Hasil uji homogenitas varians

**Test of Homogeneity of Variances**

jumlah lateks yang terfagosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,327	3	16	,806

4. Hasil uji beda jumlah jumlah makrofag yang memfagosit partikel latex dalam 100 makrofag terhadap K (kontrol) menggunakan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA)

**ANOVA**

jumlah lateks yang terfagosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1481,350	3	493,783	26,406	,000
Within Groups	299,200	16	18,700		
Total	1780,550	19			

5. Hasil uji *Post Hoc* kapasitas fagositosis makrofag intraperitoneal

### Multiple Comparisons

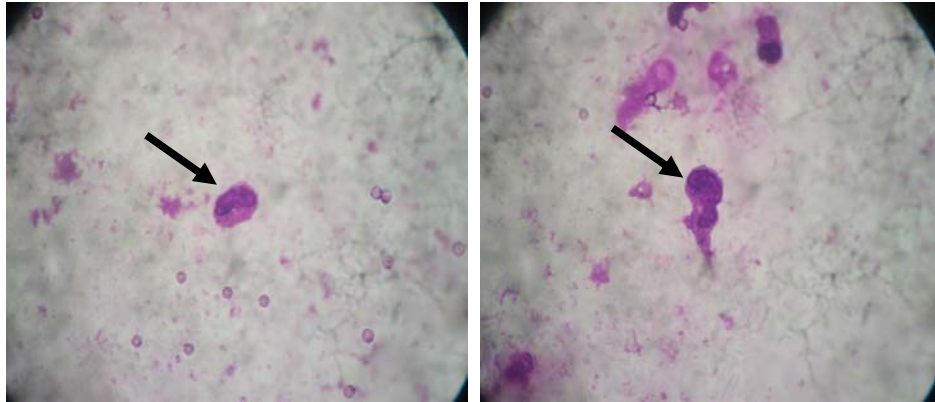
Dependent Variable: jumlah lateks yang terfagosit

LSD

(I) jenis kelompok	(J) jenis kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
tanpa ketamin	ketamin 0,1 mg	13,40000*	2,73496	,000	7,6021	19,1979
	ketamin 0,2 mg	20,00000*	2,73496	,000	14,2021	25,7979
	ketamin 0,4 mg	22,00000*	2,73496	,000	16,2021	27,7979
ketamin 0,1 mg	tanpa ketamin	-13,40000*	2,73496	,000	-19,1979	-7,6021
	ketamin 0,2 mg	6,60000*	2,73496	,028	,8021	12,3979
	ketamin 0,4 mg	8,60000*	2,73496	,006	2,8021	14,3979
ketamin 0,2 mg	tanpa ketamin	-20,00000*	2,73496	,000	-25,7979	-14,2021
	ketamin 0,1 mg	-6,60000*	2,73496	,028	-12,3979	-,8021
	ketamin 0,4 mg	2,00000	2,73496	,475	-3,7979	7,7979
ketamin 0,4 mg	tanpa ketamin	-22,00000*	2,73496	,000	-27,7979	-16,2021
	ketamin 0,1 mg	-8,60000*	2,73496	,006	-14,3979	-2,8021
	ketamin 0,2 mg	-2,00000	2,73496	,475	-7,7979	3,7979

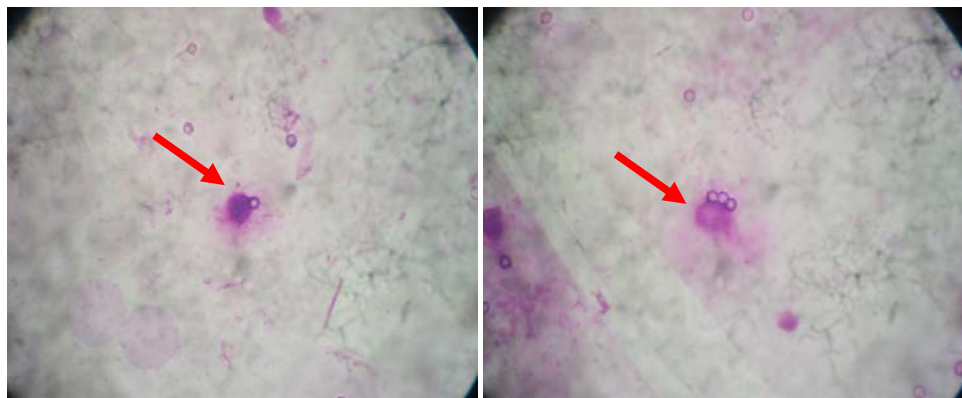
\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**LAMPIRAN 2**  
**FOTO KAPASITAS FAGOSITOSIS MAKROFAG MENCIT Balb/c**



**Pembesaran 1000x**

**Panah Hitam : Makrofag yang tidak memfagosit lateks**



**Pembesaran 1000x**

**Panah Merah : Makrofag memfagosit lateks**

