

**PERBANDINGAN EFEK ANESTETIKA NEMBUTAL DAN KOMBINASI
SILAZIN-NEMBUTAL TERHADAP KADAR GLUTATION
REDUKTASE PADA ANJING**

Dhirgo Aji¹

Abstrak

Agen anestesi, disamping kegunaannya, juga menyebabkan efek yang merugikan, karena agen anestesi mampu merubah proses-proses biokimiawi normal dalam tubuh, termasuk perubahan enzim, yang kesemuanya dihubungkan dengan sifat agen anestesi sebagai salah satu sumber biologis radikal bebas. Glutation reduktase, adalah enzim yang memiliki peran utama dalam reaksi oksidasi-reduksi dan dapat melindungi sel terhadap toksisitas obat. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan kadar glutation reduktase plasma sebagai akibat pemberian anestetika nembutal dan kombinasi silazin-nembutal pada anjing. Lima belas ekor anjing jantan sehat, berumur 1,5 tahun dipergunakan dalam penelitian ini. Anjing dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing 5 ekor. Sebelum perlakuan, hewan dipuasakan selama 12 jam, kemudian kelompok I diinjeksi dengan antikolinergik atropin sulfat 0,04 mg/kg BB secara subkutan. Kelompok II, diinjeksi dengan atropin sulfat 0,04 mg/kg BB secara subkutan diikuti injeksi nembutal secara intravena dengan dosis 25 mg/kg BB. Kelompok III, diinjeksi dengan atropin sulfat 0,04 mg/kg BB secara subkutan diikuti dengan injeksi silazin sebagai agen premedikasi dengan dosis 2,2 mg/kg BB secara intramuskuler dan 10 menit kemudian diinjeksi kembali dengan agen anestesi nembutal 25 mg/kg BB secara intravena. Lima menit setelah anjing terbius, diambil sampel darah untuk pengukuran kadar hemoglobin, jumlah total sel darah merah dan kadar enzim glutation reduktase. Pengukuran hemoglobin dan sel darah merah menggunakan standar yang dipergunakan oleh Poliklinik Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan UGM, sedangkan pengukuran kadar glutation reduktase dilakukan dengan metoda spektrofotometrik menggunakan kit yang diproduksi oleh laboratorium Randox. Berdasarkan analisis statistik dari semua data yang diperoleh menggunakan analisis varians pola searah dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dari semua variabel terukur di antara kelompok perlakuan ($P > 0,05$).

Kata-kata kunci : Nembutal, Silazin, Glutation Reduktase

1) Bagian Bedah dan Radiologi, FKH-UGM

COMPARISON EFFECT OF NEMBUTAL AND COMBINATION OF SILAZIN-NEMBUTAL ON THE GLUTATHIONE REDUCTASE CONCENTRATION IN DOG

Dhirgo Aji

Abstract

Several biochemical factors are known to be changed in surgical patients after administration anaesthetic agent, and all phenomenon then connected with anaesthetic agent as a biological source of free radicals. Glutathione reductase appears to play a major role in oxidation-reduction reactions and protecting cell against free radicals toxicity. Determination of glutathione reductase concentrations in this research was for studying the effect of both nembutal and silazin-nembutal anaesthetics in the relationships of oxidation-reduction reaction in dog red blood cells. Fifteen healthy male dogs, 1.5 years of age were used in this research. All dogs were then divided into 3 groups of five each. Group I (control) was injected using atropine sulphate 0.04 mg/kg BW (subcutaneous) as anticholinergic agent; group II was injected using atropine sulphate as anticholinergic agent (subcutaneous) and nembutal 25 mg/kg BW (intravenous) as anaesthetic agent. Group III was injected using atropine sulphate as anticholinergic agent (subcutaneous), premedication agent xylazine 2.2 mg/kg BW and nembutal 25 mg/kg BW as anaesthetic agent 10 minutes after injected using premedication agent. The blood were collected 5 minutes after all dogs anaesthetized and used for analysing total red blood cells count; as well as haemoglobine and glutathione reductase concentrations. The haemoglobine concentration and red blood cell count were measured using standard method in Veterinary Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Gadjah Mada University, and glutathione reductase concentration were measured spectrophotometrically using available kit produced by Randox laboratorium. Based on statistical analyses of all the data using one way analyses of variance, can be concluded that there were no significance differences in all variables measured among group I, II and III.

Key Words : Nembutal, Xylazine, Glutathion Reductase

Pendahuluan

Krisis ekonomi yang melanda negara Indonesia akhir-akhir ini dirasakan sangat berpengaruh pada dunia kedokteran hewan pada khususnya maupun dunia kedokteran pada umumnya. Mahalnya harga obat dan terbatasnya jumlah obat-obatan terutama yang diperlukan di Bagian Bedah yaitu obat-obatan jenis anestetika menyebabkan adanya gangguan operasional sehari-hari terutama di Poliklinik Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada. Beberapa jenis obat-obatan golongan barbiturat yang sudah biasa dipergunakan dalam setiap operasi tidak tersedia lagi dan direncanakan untuk diganti dengan golongan anestetika yang lain. Permasalahannya, penggunaan agen anestesi tanpa dikombinasikan dengan agen premedikan akan merugikan dan kerja dari agen anestesi secara tunggal tidak akan maksimal. Kombinasi agen anestesi nambutal dengan premedikan silazin merupakan suatu gagasan baru yang perlu dilakukan, namun masih perlu diteliti terlebih dahulu mengingat pemakaian kombinasi nambutal dengan silazin juga belum pernah ada di literatur-literatur anestesiologi veteriner. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh penggunaan silazin-nambutal pada anjing terhadap jumlah total sel darah merah, kadar hemoglobin serta proses oksidasi-reduksi dalam tubuh yang dilihat melalui pengukuran kadar enzim glutation reduktase (GSH). Pengukuran kadar enzim ini dikaitkan dengan adanya kenyataan bahwa beberapa macam obat-obatan seperti antibiotika jenis tertentu, senyawa antineoplastik antirasiklik termasuk agen anestesi secara luas diketahui sebagai agen yang mampu merusak kehidupan sel, karena agen-agen tersebut memicu keluarnya radikal bebas yang bersifat sitotoksik melalui baik reaksi Fenton maupun Haber Weiss (Freeman dan Crapo, 1982; Liu dkk, 1992). Beberapa jalur pertahanan sel untuk menangkal proses perusakan sel melalui reaksi peroksidasi lipid diketahui antara lain vitamin E, asam askorbat, urat. Glutation reduktase merupakan pemakan (*scavenger*) radikal bebas primer, sedangkan superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutation peroksidase dari jalur yang berbeda juga mampu menghentikan aktivasi spesies radikal oksigen dengan mereduksi beberapa elektron oksigen (Wendell dkk, 1988). Sistem pertahanan tersebut biasanya melalui mekanisme yang berlainan, namun dengan tujuan yang sama yaitu

menghentikan proses perusakan sel lebih lanjut (Aruoma, 1994). Glutation pada khususnya, secara spontan dengan bantuan enzim transferase konjugat elektrofili akan menghambat metabolit reaktif, dan konjugat yang dihasilkan lebih lanjut akan dimetabolisme menjadi sisteinil konjugat yang membuang glutamin dan glisin. Konjugat sistein diasetilasi dan produk yang terbentuk akan dibatasi berupa asam merkapturat (*mercapturic acid*) yang akan dikeluarkan melalui urin (Haschek & Rousseaux, 1991). Namun demikian, sintesis glutation dalam hati sendiri sangat dibatasi oleh kemampuan sistein dan sering lebih lambat dari konjugasi, sehingga glutation menjadi rendah kadarnya selama konjugasi, dan mengakibatkan ketidakmampuan secara temporer menjadi konjugat elektrofili. Glutation selanjutnya akan kehilangan kemampuannya dalam mereduksi dan kemampuannya dalam menghentikan peroksidasi melalui glutation peroksidase (Wendell dkk, 1988).

Glutation reduktase bertugas menghambat enzim yang berpotensi menyebabkan kematian sel karena stres oksidatif, sehingga penurunan glutation reduktase akan menyebabkan glutation oksidase (GSSG) tidak dapat direduksi, dan dapat memicu proses perusakan lebih lanjut karena glutation oksidase mampu berubah menjadi radikal bebas dalam bentuk lain (Haschek & Rousseaux, 1991). Berdasarkan hasil studi pada hewan dan manusia, pada umumnya senyawa anestesi apabila diberikan akan menyebabkan perubahan biokimiawi dalam tubuh dan melalui reaksi hipersensitivitas selanjutnya akan menyebabkan kerusakan sel (Agar & Lewis, 1980). Pemberian senyawa anestesi ini didalam studi ilmiah menghasilkan suatu dugaan bahwa perbedaan senyawa anestesi yang diberikan, menyebabkan kadar glutation reduktase kadang-kadang tetap, kadang-kadang naik bahkan kadang-kadang turun. Beberapa dugaan yang muncul adalah karena masing-masing senyawa anestesi yang mempunyai jalur perusakan terhadap sel yang juga berbeda (Agar & Lewis, 1980). Dari beberapa hasil penelitian yang ada antara lain yang juga dilakukan oleh Agar & Lewis (1980), diketahui bahwa pemberian kloroform akan mengakibatkan penurunan kadar glutation, namun pemberian halothan tidak menyebabkan penurunan kadar glutation.

Materi dan Metode

Lima belas ekor anjing jantan diperiksa kesehatannya, diperiksa darahnya dengan pemeriksaan darah rutin, diberi obat cacung untuk memastikan bahwa semua hewan percobaan dalam keadaan sehat bebas penyakit dan cacung. Mereka kemudian ditempatkan dalam kandang individu untuk diadaptasikan selama 10 hari dengan diberikan pakan standard (*dog food*) dan air minum secara *ad libitum*. Setelah masa adaptasi selesai, anjing secara acak dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 5 ekor anjing. Kelompok I adalah kelompok anjing yang dipergunakan sebagai kontrol, hanya diinjeksi dengan atropin sulfat 0,04 mg/kg BB secara subkutan; kelompok II adalah kelompok anjing yang dianestesi dengan cara diinjeksi menggunakan Nembutal dengan dosis 25 mg/kg BB (Anderson, 1983) secara intravena dan injeksi atropin sulfat 0,04 mg/kg BB secara subkutan; sedangkan kelompok III adalah kelompok anjing yang diinjeksi dengan antikolinergik atropin sulfat 0,04 mg/kg BB secara subkutan dan kombinasi anestetika Silazin 2,2 mg/kg BB (Anderson, 1983) secara intramuskuler dan Nembutal 25 mg/kg BB secara intravena. Sebelum perlakuan diberikan, semua anjing diambil darahnya untuk pemeriksaan hemoglobin, jumlah sel darah merah dan kadar glutatation reduktase. Sebelum perlakuan dimulai, semua anjing dipuasakan selama 12 jam. Lima menit setelah hewan teranestesi, hewan diambil darahnya kembali, untuk pemeriksaan hemoglobin, jumlah sel darah merah dan kadar glutatation reduktase. Pemeriksaan kadar glutatation reduktase dilakukan dengan metode spektrofotometrik menggunakan kit yang tersedia secara komersial produksi Randox. Keseluruhan data yang diperoleh, dianalisis secara statistik menggunakan analisis varians pola searah. Perbedaan dianggap bermakna pada tingkat kepercayaan ($p \leq 0,05$).

Hasil dan Pembahasan

Hasil yang diperoleh dari pengukuran kadar hemoglobin (Tabel I) menunjukkan angka perubahan yang tidak nyata ($P > 0,05$). Perubahan yang hanya sedikit tersebut dapat disebabkan karena (a) kondisi fisik anjing cukup sehat untuk menerima pemberian agen anestesi, atau (b) agen anestesi nembutal secara tunggal maupun yang dikombinasikan dengan premedikan silazin tidak menyebabkan penurunan kadar hemoglobin secara nyata. Hasil ini didukung oleh pendapat dari Anderson (1983) dan Lumb & Jones

(1984) yang mengatakan bahwa perubahan yang terjadi sebagai akibat pemberian nembutal khususnya pada sistem kardiovaskuler disamping penurunan tekanan darah, vasodilatasi perifer, vasodilatasi lien juga turunya jumlah sel darah merah maupun sel darah putih. Kadar hemoglobin pada pemberian nembutal tidak menyebabkan penurunan maupun peningkatan kadar hemoglobin.

Sebaliknya, jumlah sel darah merah yang tertulis pada Tabel 2, berlawanan dengan hasil yang diperoleh oleh Lumb dan Jones (1984). Secara statistik, hasil analisis pada data Tabel 2 menggunakan analisis varians tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari kelompok kontrol, kelompok II maupun kelompok III ($P > 0,05$). Penurunan jumlah sel darah merah tersebut sebenarnya tetap terjadi, namun secara statistik tidak menunjukkan adanya penurunan yang signifikan. Stabilitasnya jumlah sel darah merah dapat disebabkan karena kondisi hewan yang sehat saat penelitian dan kecilnya pengaruh pemberian agen anestesi nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal pada dosis normal, namun pemberian dengan dosis yang sedikit berlebih atau pemberian berulang kemungkinan akan menyebabkan penurunan jumlah sel darah merah yang lebih nyata.

Kadar enzim glutatation reduktase diukur secara statistik juga tidak menunjukkan adanya perubahan yang nyata ($P > 0,05$). Namun demikian dalam data yang terkoleksi (Tabel 3), rata-rata kadar enzim glutatation reduktase tetap menunjukkan adanya perbedaan. Perbedaan yang kecil ini tetap menunjukkan adanya bukti bahwa pemberian agen anestesi nembutal secara tunggal maupun yang dikombinasikan dengan silazin menyebabkan suatu perubahan reaksi oksidasi dan reduksi dalam tubuh hewan percobaan. Secara jelas, kondisi seperti ini sebenarnya belum diketahui mekanismenya, namun dapat dimungkinkan pula bahwa nembutal memang tidak menyebabkan perubahan pada kadar glutatation reduktase. Hal ini dapat dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Agar & Lewis (1980) yang membuktikan adanya penurunan kadar glutatation reduktase akibat agen anestesi kloroform, namun pemberian agen anestesi halotan tidak menunjukkan adanya perubahan kadar glutatation reduktase. Dari hasil penelitian tersebut, dapat dimungkinkan jalur nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal dalam tubuh mirip dengan agen anestesi halotan, namun berbeda dengan kloroform.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh, disimpulkan bahwa dibawah kondisi tubuh yang sehat, pemberian anestetika nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal tidak menyebabkan perubahan kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah maupun kadar enzim glutation reduktase. Penggunaan nembutal secara tunggal maupun dikombinasikan dengan silazin tetap baik dan aman dipergunakan sebagai agen anestesi pada anjing yang sehat. Perubahan fisiologis yang mungkin terjadi pada anjing yang sehat akibat pemberian nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal tidak berarti bagi kesehatan anjing percobaan.

Ucapan terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, atas pembiayaan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga kami sampaikan kepada Kepala Jurusan Klinik Veteriner dan Kepala Bagian Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada atas pemberian ijin penggunaan fasilitas laboratorium untuk penelitian ini.

Daftar Pustaka

Agar, N.S. & Lewis, G.B.H. (1980). Effect of halothane and enflurane anaesthesia on the level of reduced glutathione in human red blood cells. *Journal of Anaesthesia Intensive Care*. Vol. 8. 356-8.

Anderson, I.L. (1983). *Veterinary Anaesthesia*. The Post Graduate Committee in Veterinary Science. The University of Sidney. 8.

Aruoma, O.I. (1994). *DNA and Free Radicals*. Ellis Horwood, New York, London, Toronto, Sidney, Tokyo, Singapore. 19-23.

Freeman, B.A and Crapo, J.D. (1982). *Biology Disease, Free Radicals and Tissue Injury*, Duke University Medical Center Division of Allergy and Respiratory Diseases, Durham, North California. 412.

Hascheck, W.M. and Rousseaux, C.G. (1991). *Handbook of Toxicologic Pathology*. Academic Press Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto. 56; 81-5.

Liu, P.T., Ioannides, C., Shavila, A.M., Symons, A.M. and Parker, D.V. (1992). Effects of ether anaesthesia and asting on various cytochromes P-450 of rat liver and kidney. *Journal of Biochemical Pharmacology*. Vol 45. Britain, 871.

Lumb, W.V. and Jones., E.W. (1984). *Veterinary Anaesthesia*. 2 ed. Lea & Febiger, Philadelphia. 288.

Wendell, A., Jaeschke, H. and Kleinwalchter, C. (1988). Xenobiotic Induced Lipid peroxidation and Glutathione Status in Mouse Liver. dalam *Lipid Peroxidation in Biological systems* edited by Alex Savanian. American Oil Chemist Society. Champain, Illinois: 71.

Tabel 1. Kadar hemoglobin (g/dl) dari anjing setelah diinjeksi dengan nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal.

No.	Kontrol (I)	Nembutal (II)	Silazin-Nembutal (III)
1	12,5	12	12,5
2	14	11	12
3	13,5	12,5	12,5
4	14,5	14	12,5
5	12,5	12,5	11,5
Σx	67	62	61
$x \pm SD$	13,4 \pm 1,136	12,4 \pm 1,083	12,2 \pm 0,45

Tabel 2. Jumlah sel darah merah ($10^6/\mu L$) dari anjing setelah diinjeksi dengan nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal.

No.	Kontrol (I)	Nembutal (II)	Silazin-Nembutal (III)
1	6,25	6,05	6,34
2	7	5,8	5,7
3	6,5	6	6,25
4	7,2	7	6,8
5	6,8	6,5	6,34
Σx	33,75	31,35	31,43
$x \pm SD$	6,75 \pm 0,38	6,27 \pm 0,481	6,286 \pm 0,408

Tabel 3. Kadar glutatation reduktase (U/l) dari anjing setelah diinjeksi dengan nembutal maupun kombinasi silazin-nembutal.

No.	Kontrol (I)	Nembutal (II)	Silazin-Nembutal (III)
1	12,5	12	12,5
2	14	11	12
3	13,5	12,5	12,5
4	14,5	14	12,5
5	12,5	12,5	11,5
Σx	67	62	61
$x \pm SD$	13,4 \pm 1,136	12,4 \pm 1,083	12,2 \pm 0,45