

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis hubungan polimorfisme gen OPRM1 A118G, COMT G158A dan kadar IL-4 dan IL-6 dengan sensitivitas nyeri pasca operasi pada etnik Minangkabau. Subjek penelitian adalah pasien yang menjalani operasi dengan anestesi umum. Pada etnik Minangkabau, sedangkan sebagai pembandingnya adalah pasien yang juga menjalani anestesi umum pada etnik non Minangkabau. Populasi penelitian adalah pasien yang dioperasi di RS Dr. M. Djamil Padang dan RSP Universitas Andalas semenjak 1 November 2021 – 31 Januari 2022. Pada penelitian ini didapatkan sampel dari Etnik Minangkabau sebanyak 60 orang dan non-Minangkabau sebanyak 30 orang yang dipilih secara *consecutive sampling*. Terhadap responden dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, penilaian derajat nyeri dan pengambilan darah vena untuk pemeriksaan polimorfisme gen OPRM1 A118G, COMT G158A.

5.1 Karakteristik Responden Penelitian

Karakteristik demografis dan klinis subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin, umur, komorbid dan ASA terlihat pada tabel 5.1. Hasil tes menunjukkan bahwa perempuan merupakan pasien terbanyak pada Etnik Minangkabau maupun non Minangkabau 66,7% dan 60%. Sedangkan usia terbanyak pada kelompok Etnik Minangkabau adalah usia 46-55 tahun dan 56-65 tahun (26,7%) dan pada kelompok non Minangkabau usia terbanyak berada pada rentang 56-65 tahun (30%). Komorbid terbanyak pada etnik minangabau maupun non Minangkabau adalah hipertensi (13,3%) dan (16,7%). ASA pada Etnik Minangkabau maupun non Minangkabau dominan adalah ASA 2 (88,3%) dan (93.3). Homogenitas data antara kedua etnik yang kaitannya dengan beberapa variabel menggunakan analisa Non Parametrik dan didapatkan hasil $p \geq 0,05$. Tidak terdapat perbedaan jenis kelamin, umur, komorbid dan status fisik ASA antara Etnik Minangkabau dan non Minangkabau.

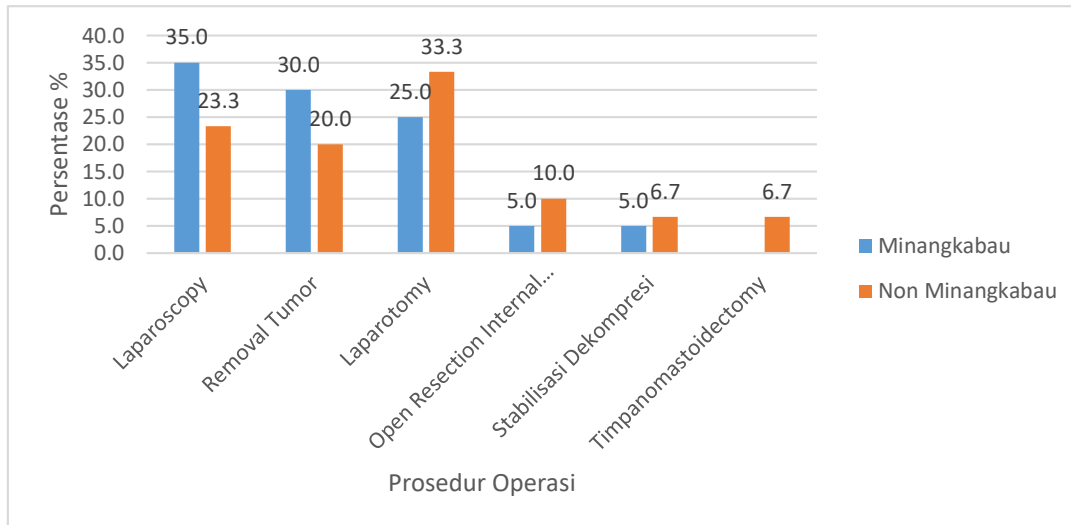
Tabel 5. 1 Karakteristik Responden Penelitian

Karakteristik	Minangkabau n (%)	Non Minangkabau n (%)	p
Jenis Kelamin			
Laki-laki	20 (33,3)	12 (40)	0,53
Perempuan	40 (66,7)	18(60)	
Umur (tahun), Rerata±SD			
16-25	10 (16,7)	4 (13,3)	0,67
26-35	8 (13,3)	5 (16,7)	
36-45	10 (16,7)	4 (13,3)	
46-55	16 (26,7)	8 (26,7)	
56-65	16 (26,7)	9 (30)	
66-75	16 (26,7)	9 (30)	
Komorbid			
Hipertensi	8 (13,3)	5 (16,7)	0,71
DM tipe 2	4 (6,7)	2 (6,7)	
Obesitas	1 (1,7)	2 (6,7)	
Asma	1 (1,7)	0	
Status Fisik ASA			
1	1 (1,7)	0	0,66
2	53 (88,3)	28 (93.3)	
3	6 (10)	2 (6.7)	

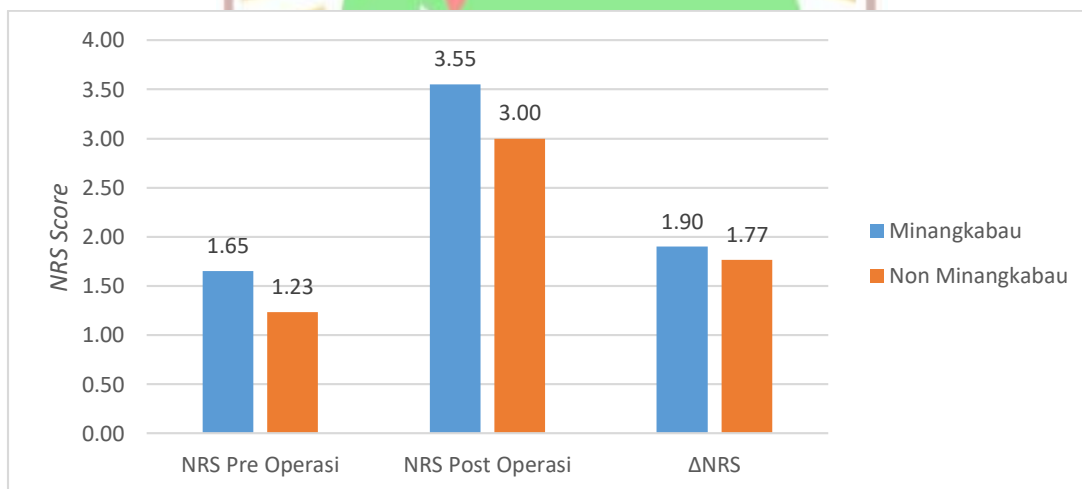
ASA : *American Society of Anesthesiologists*

Perbedaan jenis operasi dan skor *Numeric Rating Scale* (NRS) dapat dilihat pada gambar 5.1 dan gambar 5.2. Jenis operasi terbanyak yang dilakukan pada Etnik Minangkabau adalah operasi *laparoscopy* (35%) dan pada Etnik non Minangkabau adalah *laparotomy* (33,3%). Rerata

skor Δ NRS pada Etnik Minangkabau adalah (1,65 sebelum operasi dan 3,55 sesudah operasi) sedangkan pada Etnik non Minangkabau adalah (1,23 sebelum operasi dan 3 setelah operasi).



Gambar 5.1 Distribusi Frekuensi Tindakan Operasi pasien Minangkabau dan non Minangkabau



Gambar 5.2 Rerata Skor NRS Sebelum Operasi, Sesudah Operasi dan Δ NRS pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

5.2 Analisis gen OPRM1 A118G

5.2.1 Isolasi DNA darah pengkode gen OPRM1 A118G

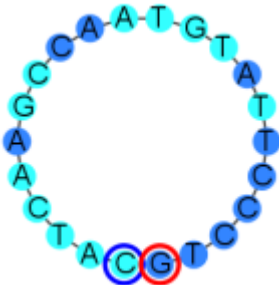
DNA OPRM1 diisolasi dari sampel plasma sebanyak 200 μ l menggunakan *QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen, Hilden, Malaysia)*, Isolasi DNA dilakukan sesuai dengan

prosedur kit yang secara garis besar terdiri atas tahap preparasi sampel, tahap lisis sel, tahap pengikatan DNA, tahap pencucian dan tahap elusi DNA. Hasil isolasi DNA diuji keberhasilan dengan nanodrop. Hasil isolasi DNA ini selanjutnya disimpan dalam freezer pada suhu -20⁰C dan siap digunakan pada reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) metode *real time quantitative* untuk menentukan load DNA OPRM1.

5.2.2 Konstruksi Primer untuk gen OPRM1 A118G

Primer untuk mengenali polimorfisme gen OPRM1 A118G dikonstruksi sendiri menggunakan perangkat lunak Geneious 11.1.2. Metode yang digunakan untuk mengenali polimorfisme tersebut adalah PCR sekuensing. Primer yang digunakan untuk amplifikasi OPRM1 A118G adalah primer forward: 5'- CATCAAGCCAATGTATTCCCTG – 3' dan primer reverse: 5' – GGGAGTTAGGTGTCTCTTTGTA – 3', untuk mengamplifikasi DNA dengan ukuran amplicon 894 bp. Hasil konstruksi primer dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Konstruksi Primer gen OPRM1 A118G

No	Karakteristik Primer	DNA Fold	Ukuran
1	<p>OPRM1-1 fwd Sequence (5' to 3'): CATCAAGCCAATGTATTCCCTG</p> <p>Type: Primer Length: 22 %GC: 45.5 Hairpin Tm: None Self Dimer Tm: None Tm: 57.4 created by: primer3</p>		894 bp

2

OPRM1-1 rev

Sequence (5' to 3'):

GGGAGTTAGGTGTCTCTT
TGTA

Type: Primer

Length: 22

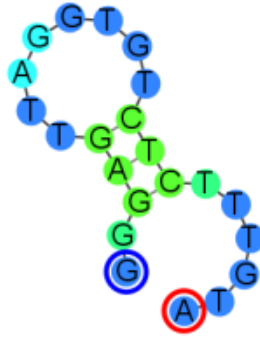
%GC: 45.5

Hairpin Tm: None

Self Dimer Tm: None

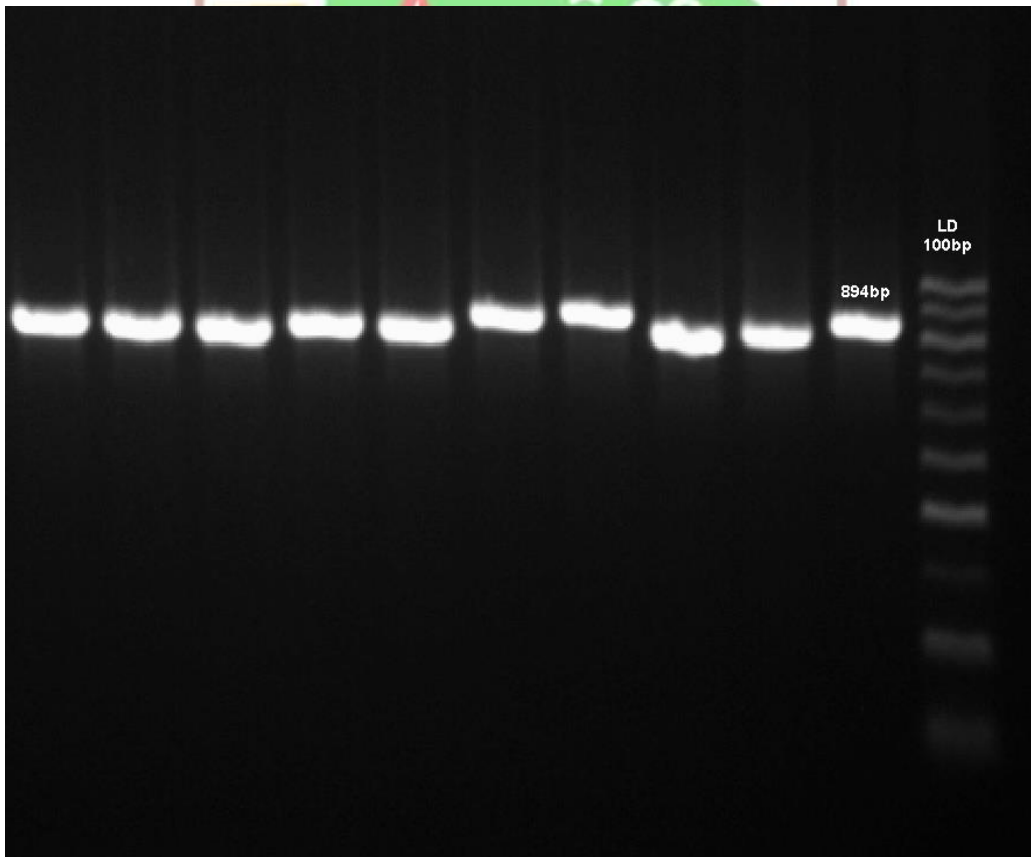
Tm: 56.8

created by: primer3



5.2.3 PCR Sequencing gen target OPRM1 A118G

Setelah dilakukan isolasi DNA dan konstruksi primer, selanjutnya dilakukan PCR, hasil PCR dapat dilihat pada gambar 5.3

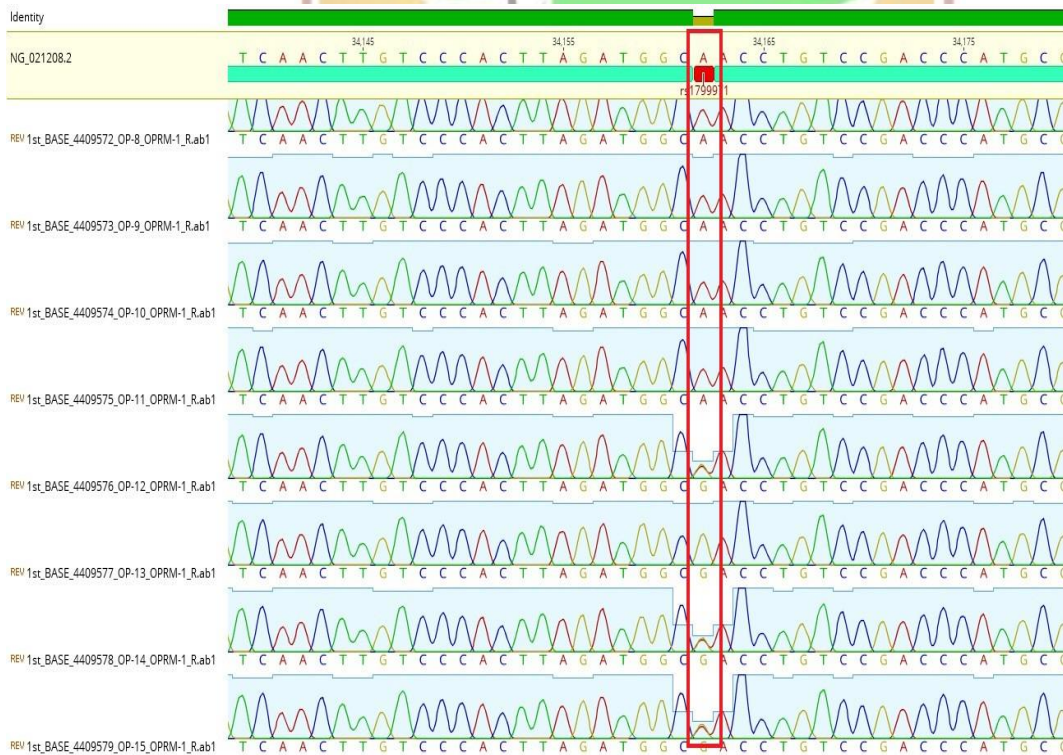


Gambar 5. 3 Elektroferogram gen OPRM1 A118G hasil amplifikasi PCR

Terlihat keberhasilan PCR, tampak pita hasil amplifikasi dengan ukuran amplicon ± 894 bp, PCR merupakan rangkaian proses denaturasi awal, denaturasi lanjut, *annealing*, elongasi/ekstensi dan elongasi akhir yang ditunjukkan oleh Gambar 5.3.

Semua sampel produk PCR dilakukan sekuensing di 1stBASE, Malaysia. Hasil data sekuensing kemudian diolah dengan *software* *Genious 11.1.2*. Pada individu yang memiliki genotipe OPRM1 yang tidak mengalami polimorfisme, tidak ditemukan adanya perubahan pada basa AA disebut sebagai *wild type*, sementara yang mengalami perubahan dari AA ke AG disebut sebagai mutan heterozigot dan yang mengalami perubahan dari AA menjadi GG disebut sebagai mutan homozigot.

Hasil sekuensing kemudian diselaraskan dengan gen referensi (rs1799971) seperti terlihat pada gambar 5.4.



Gambar 5.4 Penyelarasan hasil sekuensing beberapa sampel dengan referensi gen OPRM1 rs1799971

Pada gambar 5.4 terlihat adanya polimorfisme gen OPRM1 rs1799971 mutan heterozigot dan homozigot. Mutan heterozigot ditandai dengan perubahan basa AA menjadi AG yang ditunjukkan oleh sampel OP14 dan OP15. Mutan homozigot ditandai dengan perubahan basa AA menjadi GG yang ditunjukkan oleh sampel OP13.

Hubungan karakteristik seluruh sampel dengan gen OPRM1 A118G ditunjukkan oleh tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hubungan Karakteristik Sampel dengan Polimorfisme Gen OPRM1 A118G

Karakteristik Sampel	Wild Type (AA) (median (min-max))	Mutan Heterozygot (AG) (median (min-max))	Mutan Homozygot (GG) (median (min-max))	p
Umur (tahun)	49,5 (17-61)	46 (16-65)	48 (17-65)	0,80
Jenis Kelamin (L/P)	22 (8/14)	25(7/18)	43 (17/26)	0,62
BMI (Kg m ⁻²)	23,03 (16-33)	21,87 (14-36)	22,76 (18-34)	0,21
Pre IL-4 (pg/ml)	3,54 (3,06-15,7)	3,69 (3-15,09)	3,61 (3,16-7,31)	0,37
Post IL 4 (pg/ml)	3,34 (2,98-35,78)	3,96 (2,84-19,6)	4 (3,11-6,97)	0,46
Δ IL 4 (pg/ml)	-0,02(-1,78-29)	0,13 (-3-5)	0,14 (-1-2)	0,62
Pre IL 6 (pg/ml)	180 (86-500,76)	146 (66,7-965,9)	117 (69,1-795,6)	0,51
Post IL-6 (pg/ml)	279 (85-1031,2)	188 (70,3-2146)	439 (65-2216)	0,53
Δ IL 6 (pg/ml)	95,13 (-23-1793)	53,84 (-98-1910)	58,21 (-294-2010,45)	0,75
Total dosis Fentanyl (mg)	200 (100-450)	200 (100-500)	200 (100-400)	0,67

Min : Nilai minimum, Max : Nilai Maksimum BMI : *Body Mass Index*, Pre : Sebelum operasi, Post : Setelah operasi, Δ IL-4 : delta Interleukin 4, Δ IL-6 : delta Interleukin 6

Pada pengujian uji normalitas menggunakan uji *kolmogorov-smirnov* didapatkan data variabel umur, BMI, kadar IL-4, kadar IL-6 dan total dosis fentanil tidak terdistribusi normal (p=0,003; p=0,034; p=0,000; p=0,000; p=0,000 secara berurutan). Hubungan beberapa

karakteristik sampel dengan polimorfisme gen OPRM A118G dianalisa dengan uji *Kruskal Wallis* untuk umur, jenis kelamin, BMI, kadar IL-4, kadar IL-6 dan total dosis fentanil. Sedangkan hubungan jenis kelamin dengan polimorfisme gen OPRM1 A118G menggunakan analisa *Chi Square* karena memenuhi syarat uji *chi-square*. Pada tabel 5.3 terlihat bahwa polimorfisme gen OPRM1 rs1799971 ditemukan pada semua sampel dengan mutasi berbentuk mutan homozigot maupun heterozigot. Tidak terdapat perbedaan variabel-variabel tersebut dengan polimorfisme gen OPRM1 A118G dengan nilai $P \geq 0,05$. Sehingga dapat dikatakan bahwa karakteristik dari sampel yang diteliti tidak mempengaruhi terhadap polimorfisme gen OPRM A118G.

Tabel 5.4 Hubungan Etnisitas dengan Polimorfisme Gen OPRM A118G

Etnik	Polimorfisme OPRM A118G			Total	p
	Wild Type (AA)	Mutant Heterozygot (AG)	Mutant Homozygot (GG)		
Minangkabau	12 (20%)	31 (51,7%)	17 (28,3%)	60 (100%)	0,36
Non Minangkabau	10 (33,3%)	12 (40%)	8 (26,7%)	30 (100%)	

Pengujian hubungan etnisitas dengan polimorfisme menggunakan uji analisa *Chi Square* karena setiap sel memiliki nilai lebih dari 5. Pada tabel 5.4 terlihat bahwa polimorfisme gen OPRM1 rs1799971 tidak dipengaruhi oleh etnisitas. Terlihat kecenderungan bahwa Etnik Minangkabau lebih tinggi nilai mutasinya, tetapi nilai ini tidak bermakna secara statistik.

5.2.4 Hubungan polimorfisme gen OPRM1 A118G dengan derajat nyeri pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Hubungan Polimorfisme OPRM1 (rs1799971) dengan sensitivitas nyeri dapat dilihat pada tabel 5.5 dan tabel 5.6

Tabel 5.5 Hubungan Polimorfisme Gen OPRM1 A118G dengan Perubahan Sensitivitas Nyeri pada Etnik Minangkabau

Genotip OPRM1	NRS Sebelum Operasi (median (min-max))	P	NRS Sesudah Operasi (median (min-max))	p	Δ NRS (median (min-max))	p
<i>Wild Type (AA)</i>	1 (0-3)	0,44	3 (1-5)	0,45	2 (0-5)	0,57
<i>Mutant Heterozygot (AG)</i>	2 (0-3)		3 (1-6)		2 (0-5)	
<i>Mutan Homozygot (GG)</i>	2 (0-3)		3 (1-7)		2 (0-5)	

Min : nilai minimum, Max : nilai maksimum, NRS : *Numeric Rating Scale*

Pada pengujian uji normalitas menggunakan uji *kolmogorov-smirnov* didapatkan sebaran data NRS sebelum operasi, NRS sesudah operasi dan Δ NRS berdistribusi tidak normal dengan ketiga variabel memiliki nilai $p=0,001$. Sehingga hubungan Polimorfisme Gen OPRM1 A118G dengan sensitivitas nyeri pada Etnik Minangkabau menggunakan analisa *kruskal wallis*.

Pada tabel 5.5 ditemukan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen OPRM1 A118G dengan perubahan sensitivitas nyeri pada Etnik Minangkabau.

Tabel 5.6 Hubungan Polimorfisme Gen OPRM1 A118G dengan Perubahan Sensitivitas Nyeri pada Etnik non Minangkabau

Genotip OPRM1	NRS Sebelum Operasi (median (min-max))	P	NRS Sesudah Operasi (median (min-max))	p	Δ NRS (median (min-max))	p
<i>Wild Type (AA)</i>	1 (0-2)	0,74	3 (1-5)	0,13	1,5 (0-5)	0,26
<i>Mutant Heterozygot (AG)</i>	1 (0-3)		3 (2-6)		2 (0-5)	
<i>Mutan Homozygot (GG)</i>	1 (0-2)		2 (1-4)		1 (0-3)	

Min : nilai minimum, Max : nilai maksimum, NRS : *Numeric Rating Scale*

Pada pengujian uji normalitas menggunakan uji *shapiro wilk* didapatkan sebaran data NRS sebelum operasi, NRS sesudah operasi dan Δ NRS berdistribusi tidak normal dengan ketiga

variabel memiliki nilai $p=0,001$. Sehingga hubungan Polimorfisme Gen OPRM1 A118G dengan sensitivitas nyeri pada Etnik non Minangkabau menggunakan analisa *kruskal wallis* .

Pada tabel 5.6 ditemukan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen OPRM1 A118G dengan perubahan sensitivitas nyeri pada Etnik non Minangkabau.

5.3 Analisis gen COMT G158A

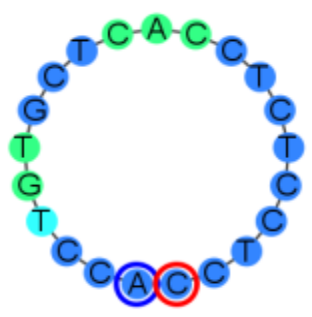
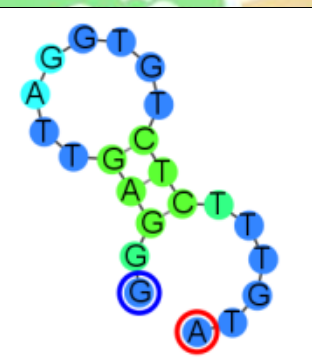
5.3.1 Isolasi DNA darah pengkode gen COMT G158A

DNA COMT diisolasi dari sampel plasma sebanyak 200 μ l menggunakan *QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen, Hilden, Malaysia)*, Isolasi DNA dilakukan sesuai dengan prosedur kit yang secara garis besar terdiri atas tahap preparasi sampel, tahap lisis sel, tahap pengikatan DNA, tahap pencucian dan tahap elusi DNA. Hasil isolasi DNA diuji keberhasilan dengan nanodrop. Hasil isolasi DNA ini selanjutnya disimpan dalam freezer pada suhu -20°C dan siap digunakan pada reaksi *Polymerase Chain Reaction (PCR)* metode *real time quantitative* untuk menentukan load DNA COMT. Primer yang digunakan untuk amplifikasi OPRM1 A118G adalah primer forward: 5'- ACCTGTGCTCACCTCTCCTCC - 3' dan primer reverse: 5' - CACCTCCAAGAGAAGCGTGTCC - 3', untuk mengamplifikasi DNA dengan ukuran amplicon 776 bp. (Tabel 5.7)



5.3.2 Konstruksi Primer untuk gen COMT G158A

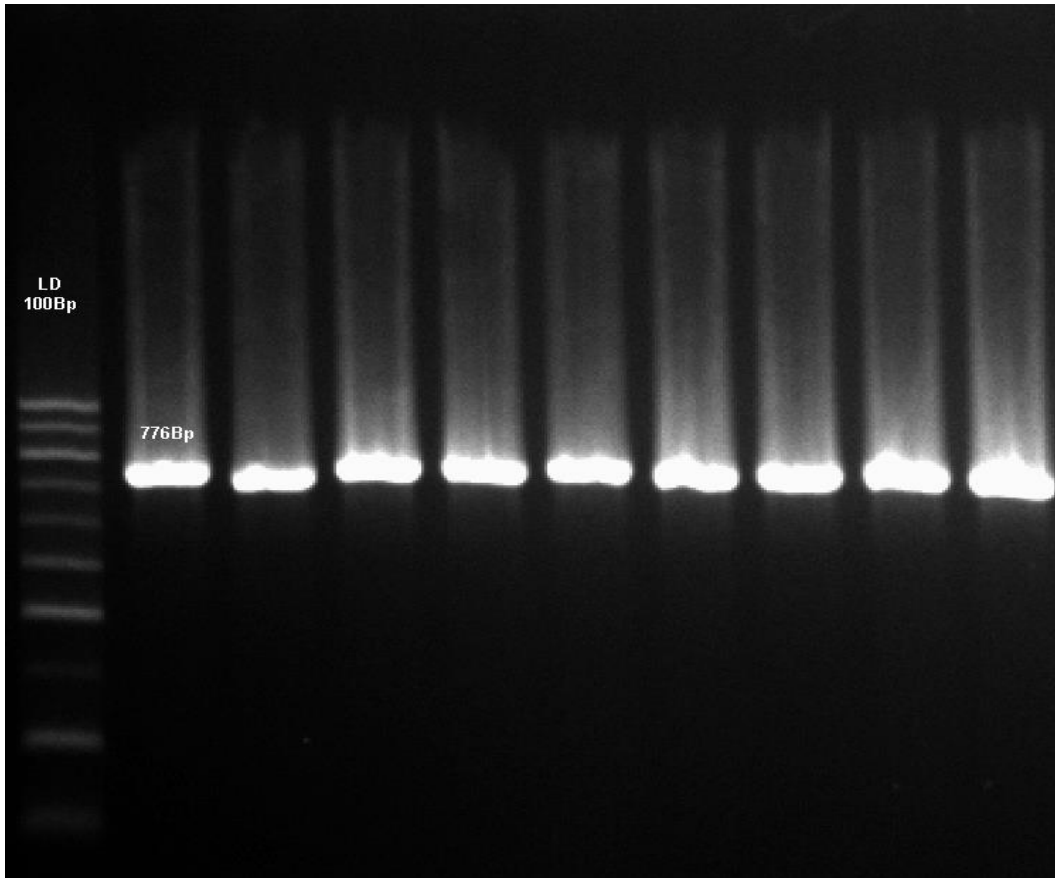
Tabel 5.7 Konstruksi Primer COMT G158A

No	Karakteristik Primer	DNA Fold	Ukuran
1	<p>COMT-F Sequence (5' to 3'): ACCTGTGCTCACCTCTCCTCC</p> <p>Type: Primer Length: 21 %GC: 61.9 Hairpin Tm: None Self Dimer Tm: None Tm: 63.3 created by: primer3</p>		776 bp
2	<p>COMT-R Sequence (5' to 3'): CACCTCCAAGAGAAGCGT GTCC</p> <p>Type: Primer Length: 22 %GC: 59.1 Hairpin Tm: None Self Dimer Tm: None Tm: 63.1 created by: primer3</p>		

5.3.3 PCR Sequencing gen target COMT G158A

Setelah dilakukan isolasi DNA dan konstruksi primer, selanjutnya dilakukan PCR, hasil PCR dapat dilihat pada gambar 5.5.

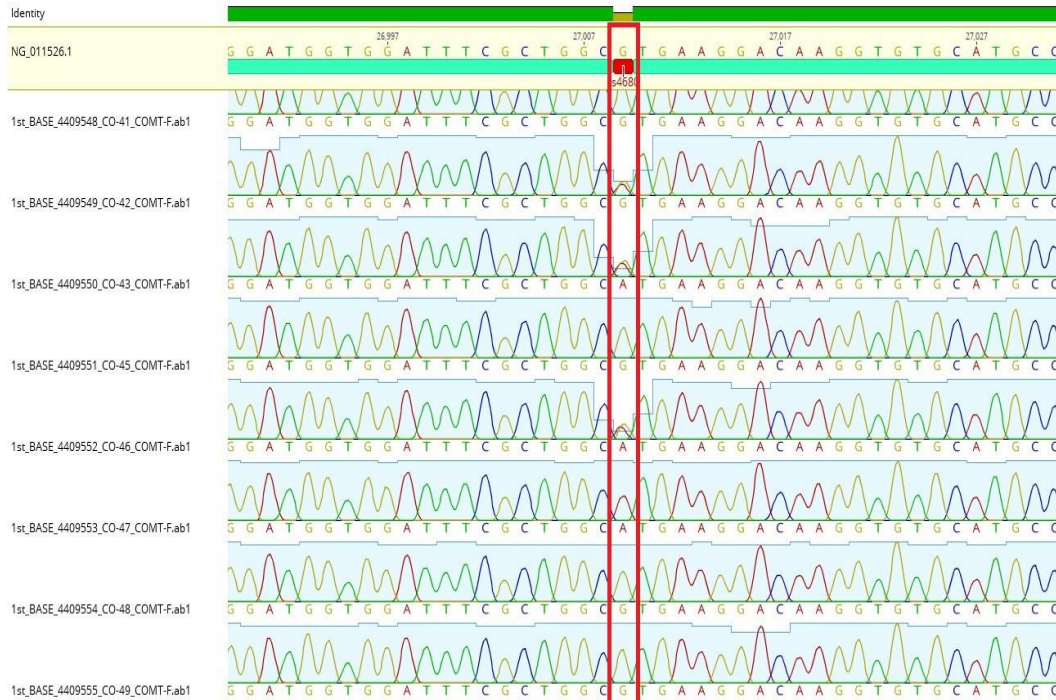
Pada gambar 5.5 Terlihat keberhasilan PCR, tampak pita hasil amplifikasi dengan ukuran ampikon \pm 776 bp, PCR merupakan rangkaian proses denaturasi awal, denaturasi lanjut, *annealing*, elongasi/ ekstensi dan elongasi akhir



Gambar 5. 5 Elektroferogram gen COMT G158A hasil amplifikasi PCR

Semua sampel produk PCR dilakukan sekuensing di 1stBASE, Malaysia. Hasil data sekuensing kemudian diolah dengan *software* *Genious 11.1.2*. Pada individu yang memiliki genotipe COMT yang tidak mengalami polimorfisme, tidak ditemukan adanya perubahan pada basa GG disebut sebagai *wild type*, sementara yang mengalami perubahan dari GG ke GA disebut sebagai mutan heterozigot dan yang mengalami perubahan dari GG menjadi AA disebut sebagai mutan homozigot.

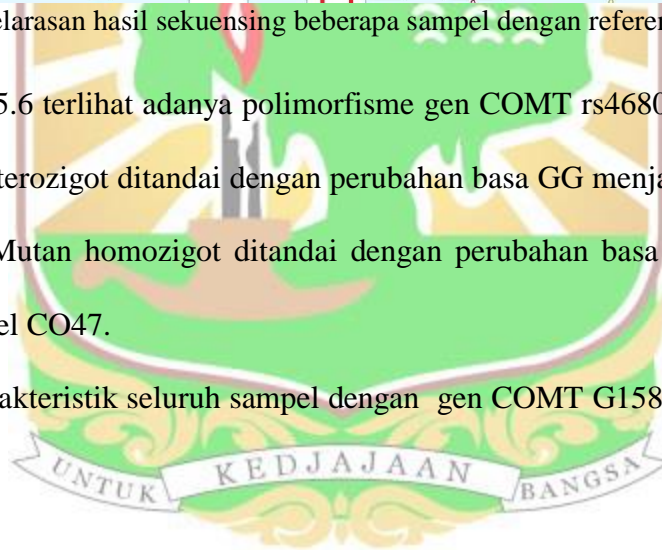
Hasil sekuensing kemudian diselaraskan dengan gen referensi seperti terlihat pada gambar



Gambar 5. 6 Penyelarasan hasil sekuensing beberapa sampel dengan referensi gen COMT rs4680

Pada gambar 5.6 terlihat adanya polimorfisme gen COMT rs4680 mutan heterozigot dan homozigot. Mutan heterozigot ditandai dengan perubahan basa GG menjadi GA yang ditunjukkan oleh sampel CO46. Mutan homozigot ditandai dengan perubahan basa GG menjadi AA yang ditunjukkan oleh sampel CO47.

Hubungan karakteristik seluruh sampel dengan gen COMT G158A ditunjukkan oleh tabel 5.7.



Tabel 5.8 Hubungan Karakteristik Sampel dengan Polimorfisme Gen COMT G158A

Karakteristik Sampel	<i>Wild Type</i> (GG) (median (min-max))	<i>Mutan Heterozygot</i> (GA) (median (min-max))	<i>Mutan Homozygot</i> (AA) (median (min-max))	p
Umur (tahun)	47 (16-64)	49 (16-65)	38 (24-61)	0,23
Jenis Kelamin (L/P)	50 (20/30)	32 (11/21)	8 (1/7)	0,31
BMI (Kg m ⁻²)	22,67 (15,62-34,15)	22,43 (14,12-35,67)	24,38 (16-30)	0,36
Pre IL 4	3,58(2,5-37,9)	3,6 (3-7,3)	4,4 (3,4-11)	0,08
Post IL 4	3,8 (3,1-34,7)	3,5 (2,8-6,9)	3,7 (3,3-35,7)	0,20
Δ IL 4 (pg/ml)	0,14 (-3,23-10,84)	0,04 (-0,85-0,94)	0,00 (-1,78-28,94)	0,31
Pre IL 6	131 (89-965)	145 (66,7-795,6)	284 (86-444,8)	0,89
Post IL 6	197 (85,4-2215,9)	248 (65-2058,5)	354(156-1031,2)	0,92
Δ IL 6 (pg/ml)	58,04 (-294-2010)	79,17 (-10,7-1910)	37,22 (9,35-618)	0,88
Total dosis Fentanyl (mg)	200 (100-450)	200 (100-500)	200 (100-350)	0,19

Min : Nilai minimum, Max : Nilai Maksimum BMI : *Body Mass Index*, Δ IL-4 : delta Interleukin 4, Δ IL-6 : delta Interleukin 6

Hubungan beberapa karakteristik sampel seperti umur, jenis kelamin, BMI, kadar IL-4, kadar IL-6, dan total dosis fentanil dengan polimorfisme gen COMT G158A dianalisa dengan uji *Kruskal Wallis*, sedangkan *Chi Square* untuk jenis kelamin. Pada tabel 5.8 terlihat bahwa polimorfisme gen COMT G158A ditemukan pada semua sampel dengan bentuk *wild type*, mutan homozigot maupun heterozigot. Ditemukan bahwa karakteristik dari seluruh sampel yang diteliti tidak mempengaruhi terhadap polimorfisme gen COMT, dengan nilai $p > 0,05$. Tidak terdapat perbedaan variabel-variabel tersebut dengan polimorfisme gen COMT G158A dengan nilai $P = > 0,05$. Sehingga dapat dikatakan bahwa karakteristik dari sampel yang diteliti tidak mempengaruhi terhadap polimorfisme gen COMT G158A.

Tabel 5.9 Hubungan Etnisitas dengan Polimorfisme Gen COMT G158A
Polimorfisme COMT G158A

Etnik	<i>Wild Type</i>	<i>Mutant</i>	<i>Mutant</i>	Total	p
	(GG)	<i>Heterozygot</i> (GA)	<i>Homozygot</i> (AA)		
Minangkabau	28 (46,7%)	26 (43,3%)	6 (10%)	60 (100%)	0,53
non-Minangkabau	22 (73,3%)	6 (20%)	2 (6,7%)	30 (100%)	

Pengujian hubungan etnik dengan polimorfisme COMT G158A menggunakan uji analisa *Chi Square*. Pada tabel 5.8 terlihat bahwa polimorfisme gen COMT G158A tidak dipengaruhi oleh etnisitas.

5.3.4 Hubungan polimorfisme gen COMT G158A dengan derajat nyeri pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Hubungan Polimorfisme COMT (rs4680) dengan Δ NRS dapat dilihat pada tabel 5.10 dan 5.11, ditemukan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen COMT G158A pada Etnik Minangkabau dan Non Minangkabau dengan Δ NRS.

Tabel 5.10 Hubungan Polimorfisme Gen COMT G158A dengan Perubahan Sensitivitas Nyeri pada Etnik Minangkabau

Genotip COMT	NRS	p	NRS	p	Δ NRS	p
	Sebelum Operasi (median (min-max))		Sesudah Operasi (median (min-max))			
<i>Wild Type</i> (GG)	1 (0-3)	0,31	3 (1-7)	0,77	2 (0-5)	0,65
<i>Mutant Heterozygot</i> (GA)	2 (0-3)		3 (1-6)		2 (0-4)	
<i>Mutan Homozygot</i> (AA)	1,5 (0-2)		3,5 (2-5)		2 (1-3)	

Min : nilai minimum, Max : nilai maksimum, NRS : *Numeric Rating Scale*

Pada tabel 5.10 ditemukan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen COMT G158A dengan perubahan sensitivitas nyeri pada Etnik Minangkabau.

Tabel 5.11 Hubungan Polimorfisme Gen COMT G158A dengan Perubahan Sensitivitas Nyeri pada Etnik non Minangkabau

Genotip COMT	NRS Sebelum Operasi (median (min-max))	p	NRS Sesudah Operasi (median (min-max))	p	Δ NRS (median (min- max))	p
<i>Wild Type</i> (GG)	1 (0-3)	0,60	3 (1-6)	0,85	1,5 (0-5)	0,90
<i>Mutant Heterozygot</i> (GA)	1,5 (0-3)		3 (2-6)		2 (1-3)	
<i>Mutan Homozygot</i> (AA)	1,5 (1-2)		3 (3-3)		1,5 (1-2)	

Min : nilai minimum, Max : nilai maksimum, NRS : *Numeric Rating Scale*

Pada tabel 5.11 terlihat bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen COMT G158A dengan perubahan sensitivitas nyeri pada Etnik non Minangkabau.

5.4 Polimorfisme di Titik Lain pada Pita Hasil Amplifikasi Gen OPRM1 A118G

Pada analisa lebih lanjut gen OPRM1 ditemukan adanya titik mutasi lain di sepanjang pita hasil sequencing. Merujuk pada database dbSNP dari database NCBI, ditemukan adanya polimorfisme lain yang berdekatan dengan OPRM1 A1185 rs 1799971 yaitunya OPRM1 rs 6912029. Pada polimorfisme OPRM1 rs6912029, tidak ditemukan adanya perubahan basa GG disebut sebagai *wild type*, sementara yang mengalami perubahan dari GG ke GT disebut sebagai mutan heterozigot dan yang mengalami perubahan dari GG menjadi TT disebut sebagai mutan homozigot. Perubahan ini terjadi pada ekson 1 namun diluar area *Coding DNA Sequence* (CDS). Area CDS merupakan area yang akan ditranlasikan untuk menjadi mRNA. Sehingga adapun perubahan yang terjadi pada OPRM1 rs6912029 tidak mempengaruhi terhadap jenis protein yang dihasilkan.

5.5 Polimorfisme di Titik Lain pada Pita Hasil Amplifikasi Gen COMT G158A

Pada analisa gen COMT ditemukan adanya titik mutasi lain di sepanjang pita hasil sequencing. Merujuk pada database dbSNP dari database NCBI, ditemukan adanya polimorfisme lain yang berdekatan dengan COMT rs4860 yaitu COMT rs4818. Pada titik polimorfisme baru ini apabila tidak ditemukan adanya perubahan basa CC disebut sebagai *wild type*, sementara yang mengalami perubahan dari CC ke CG disebut sebagai mutan heterozigot dan yang mengalami perubahan dari CC menjadi GG disebut sebagai mutan homozigot. Titik polimorfisme ini sama-sama berada di ekson 4, namun pada polimorfisme rs4818 akibat perubahan basa C menjadi G tidak menghasilkan protein yang berbeda. Hasil akhir dari polimorfisme COMT rs4818 adalah tetap protein leusin.

5.6 Analisis kadar IL-4 dan IL-6

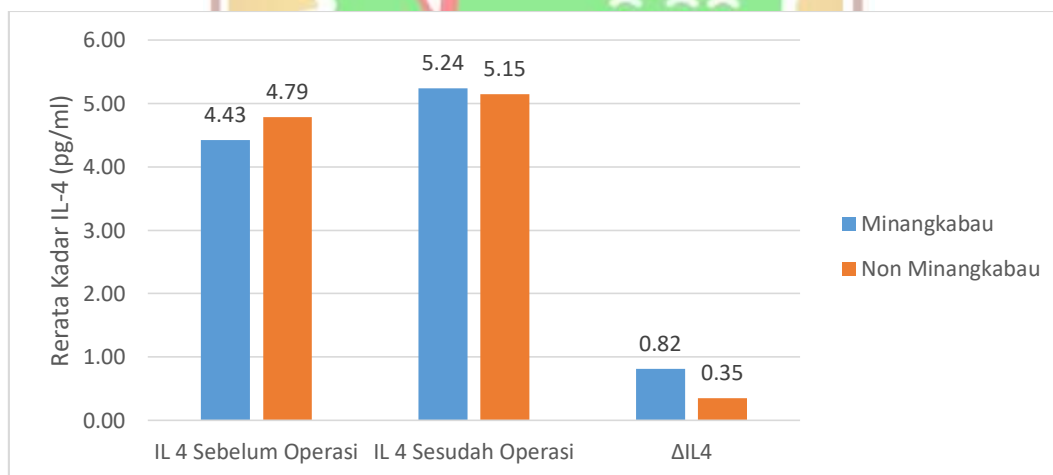
5.6.1 Ekstraksi IL-4 dan IL-6

Kadar IL-4 dan IL-6 didapatkan dari sampel plasma darah sebanyak 100 µl menggunakan Kit ELISA dengan metode Sandwich-ELISA. Plat ELISA mikro dalam kit ini telah dilapisi dengan antibodi khusus untuk IL-4 dan IL-6 manusia. Prosedur pemeriksaan dilakukan sesuai dengan prosedur standar kit yang setelah sampel dimasukan kemudian antibodi deteksi biotinil khusus untuk konjugat Human IL-6 atau IL-4 dan Avidin-Horseradish Peroksidase (HRP) ditambahkan secara berturut-turut ke setiap sumur pelat mikro dan diinkubasi. Komponen yang bebas dicuci. Larutan substrat ditambahkan ke setiap lubang. Hanya sumur-sumur yang mengandung IL-6 atau IL-4 manusia, antibodi deteksi biotinil dan konjugat Avidin-HRP yang akan tampak berwarna biru. Reaksi enzim-substrat diakhiri dengan penambahan larutan stop dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Densitas optik (OD) diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 450

$\text{nm} \pm 2 \text{ nm}$. Nilai OD sebanding dengan konsentrasi IL-6/ IL-4 manusia. Konsentrasi IL-6 atau IL-4 manusia dalam sampel dapat dihitung dengan membandingkan OD sampel dengan kurva standar

5.6.2 Konsentrasi kadar IL-4 pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Pada penelitian ini digunakan sampel darah pada pasien sebelum dan sesudah operasi. Tujuan dari pengukuran ini supaya dapat ditemukan berapa perubahan kadar interleukin akibat dari pemberian stres pada pasien akibat prosedur operasi. Pada Etnik Minangkabau didapatkan rerata kadar IL-4 sebelum dan sesudah operasi sebesar 4,43 dan 5,24. Sedangkan pada Etnik non Minangkabau kadar IL-4 sebelum dan sesudah operasi sebesar 4,79 dan 5,15. Perubahan kadar IL-4 ditunjukkan oleh $\Delta\text{IL-4}$ dengan rerata 0,82 pada Etnik Minangkabau dan 0,35 pada etnik non Minangkabau. (gambar 5.7)



Gambar 5. 7 Rerata Kadar IL-4 Sebelum dan Sesudah Operasi pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

5.6.3 Hubungan konsentrasi kadar IL-4 dengan derajat nyeri pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Pada pengujian normalitas data IL-4 dan NRS menggunakan uji *kollmogorov smirnov* pada Etnik Minangkabau dan *shapiro wilk* pada Etnik non Minangkabau didapatkan distribusi data tidak

normal sehingga analisa dilakukan dengan uji non parametrik *spearman*. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 5.12

Tabel 5. 12 Hubungan antara Δ IL-4, IL-4 sebelum dan sesudah operasi dengan NRS sesudah operasi dan Δ NRS pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

	Minangkabau		Non Minangkabau	
	NRS Post Operasi	Δ NRS	NRS Post Operasi	Δ NRS
Δ IL-4 (pg/ml)	r	0,054	-0,115	0,126
	p	0,682	0,382	0,506
IL-4 Pre Operasi (pg/ml)	r	0,078	0,119	0,059
	p	0,552	0,366	0,755
IL-4 Post Operasi (pg/ml)	r	-0,002	-0,053	0,105
	p	0,990	0,687	0,579

NRS : *Numeric Rating Scale*, IL : *Interleukin* r= *Correlation Coeficient*, Pre : Sebelum operasi, Post : Sesudah operasi

Pada Tabel 5.12 terlihat bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara Δ IL-4, IL-4 sebelum dan sesudah operasi dengan nilai Δ NRS dan NRS sesudah operasi pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau. Nilai Koefisien korelasi menunjukkan kekuatan hubungan yang sangat lemah pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau.

Tabel 5.13 Hubungan antara Δ IL-4, IL-4 sebelum dan sesudah operasi dengan Etnisitas

Interleukin 4 (pg/ml)	Etnik Minangkabau (median (min-max))	Etnik non Minangkabau (median (min-max))	p
Δ IL 4	0,13 (-1,78-28,9)	0,07 (-3,23-10,8)	0,797
Pre IL 4	3,67 (3,01-15,7)	3,56 (2,53-37,9)	0,178
Post IL 4	3,78 (2,84-35,7)	3,67 (3,16-34,7)	0,426

Pre : Sebelum operasi, Post : Sesudah operasi, Min : Nilai minimum, Max : Nilai Maksimum

Distribusi data IL-4 bersifat tidak normal sehingga analisa IL-4 dengan etnisitas menggunakan uji non parametrik *Mann-Whitney*. Pada tabel 5.13 terlihat bahwa kadar Δ IL-4, IL-4 sebelum dan sesudah operasi tidak berhubungan dengan etnisitas.

Pada pengujian komparatif untuk membandingkan nilai IL-4 sebelum operasi dan setelah operasi dilakukan dengan uji *wilcoxon*.

Tabel 5.14 Hubungan perbandingan kadar IL-4 sebelum operasi dan sesudah operasi pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Minangkabau			Non Minangkabau		
IL-4 Sebelum operasi Median (min-max)	IL-4 Sesudah Operasi Median (min-max)	p	IL-4 Sebelum operasi Median (min-max)	IL-4 Sesudah operasi Median (min-max)	p
3,67 (3,0-15,7)	3,78 (2,8-35,7)	0,054	3,56 (2,5-37,9)	3,67 (3,1-34,7)	0,469

Post : Sesudah Operasi, Pre : Sebelum Operasi, n = Jumlah

Pada tabel 5.14 terlihat tidak terdapat perubahan yang bermakna antara kadar IL-4 sebelum operasi dan IL-4 sesudah operasi di kedua etnik ($p=0,001$ dan $p=0,001$ secara berurutan)

Tabel 5.15 Hubungan antara Δ NRS, NRS sebelum dan sesudah operasi dengan Etnisitas.

NRS	Etnik Minangkabau (median (min-max))	Etnik non Minangkabau (median (min-max))	p
Δ NRS	2 (0-5)	2 (0-5)	0,510
Pre NRS	2 (0-3)	1 (0-3)	0,052
Post NRS	4 (1-7)	3 (1-6)	0,066

NRS : Numeric rating scale Pre : Sebelum operasi, Post : Sesudah operasi, Min : Nilai minimum, Max : Nilai Maksimum

Distribusi data NRS bersifat tidak normal sehingga analisa NRS dengan etnisitas menggunakan uji non parametrik *Mann-Whitney*. Pada tabel 5.15 terlihat bahwa nilai Δ NRS, NRS sebelum dan sesudah operasi tidak berhubungan dengan etnisitas.

Pada uji komparatif untuk membandingkan nilai NRS sebelum operasi dan setelah operasi dilakukan dengan uji *wilcoxon*.

Tabel 5.16 Hubungan perbandingan nilai NRS sebelum operasi dan sesudah operasi pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

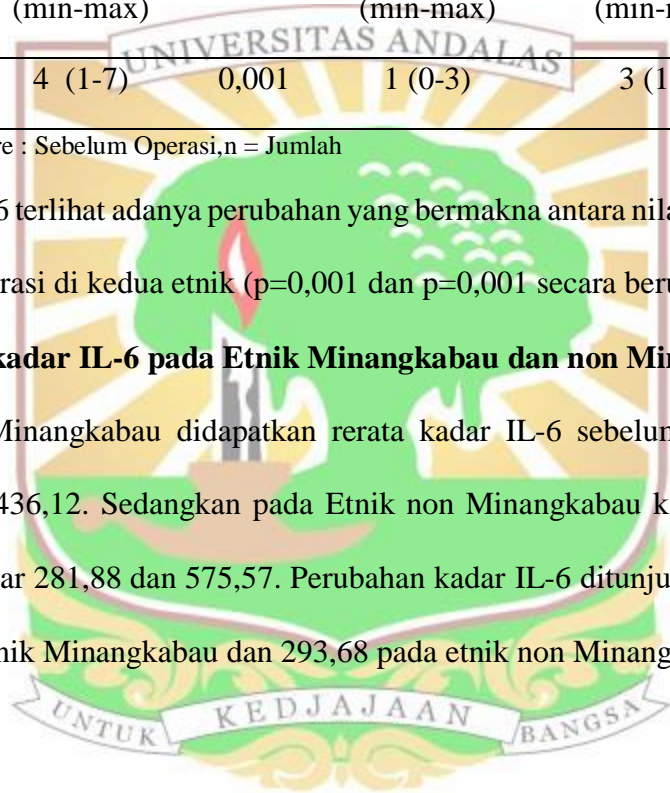
Minangkabau			Non Minangkabau		
NRS Sebelum operasi Median (min-max)	NRS Sesudah Operasi Median (min-max)	p	NRS Sebelum operasi Median (min-max)	NRS Sesudah operasi Median (min-max)	p
2 (0-3)	4 (1-7)	0,001	1 (0-3)	3 (1-6)	0,001

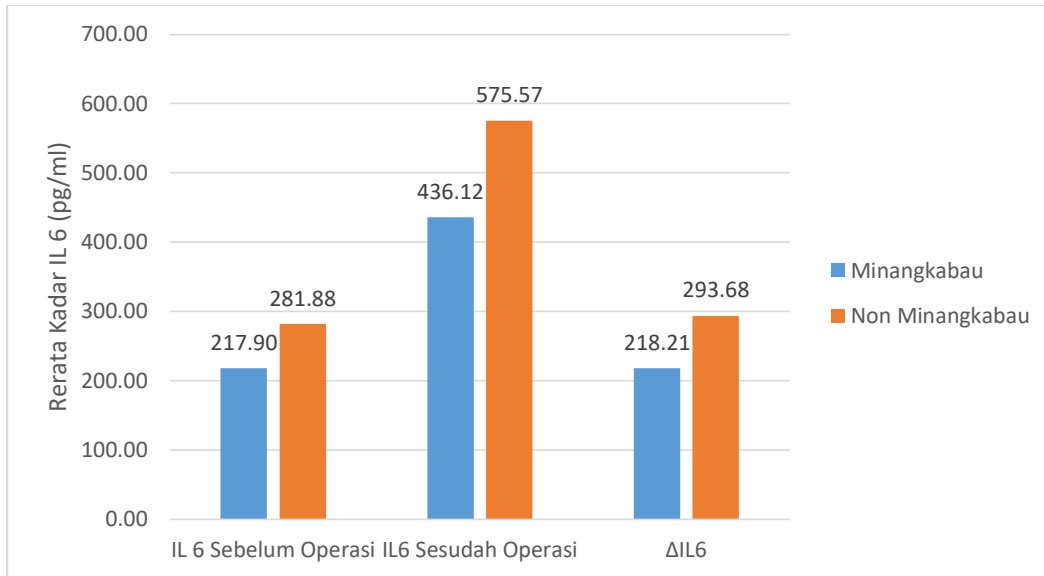
Post : Sesudah Operasi, Pre : Sebelum Operasi, n = Jumlah

Pada tabel 5.16 terlihat adanya perubahan yang bermakna antara nilai NRS sebelum operasi dan NRS sesudah operasi di kedua etnik ($p=0,001$ dan $p=0,001$ secara berurutan)

5.6.4 Konsentrasi kadar IL-6 pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Pada Etnik Minangkabau didapatkan rerata kadar IL-6 sebelum dan sesudah operasi sebesar 217,90 dan 436,12. Sedangkan pada Etnik non Minangkabau kadar IL-6 sebelum dan sesudah operasi sebesar 281,88 dan 575,57. Perubahan kadar IL-6 ditunjukkan oleh Δ IL-6 dengan rerata 218,21 pada Etnik Minangkabau dan 293,68 pada etnik non Minangkabau. (gambar 5.8)





Gambar 5.8 Rerata Kadar IL-6 Sebelum dan Sesudah Operasi pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

5.6.5 Hubungan konsentrasi kadar IL-6 dengan derajat nyeri pada Etnik Minangkabau

Pada pengujian normalitas data IL-6 menggunakan uji *kollmogorov smirnov* pada Etnik Minangkabau dan *shapiro wilk* pada Etnik non Minangkabau didapatkan distribusi data tidak normal sehingga analisa dilakukan dengan uji non parametrik *spearman*.

Tabel 5.17 Hubungan antara ΔIL-6, IL-6 sebelum dan sesudah operasi, NRS sesudah operasi, dan ΔNRS, pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

	Minangkabau		Non Minangkabau	
	NRS Post Operasi	ΔNRS	NRS Post Operasi	ΔNRS
ΔIL-6 (pg/ml)	r	0,367	0,408	0,295
	p	0,004	0,001	0,113
IL-6 Pre Operasi (pg/ml)	r	0,191	0,164	0,336
	p	0,143	0,211	0,069
IL-6 Post Operasi (pg/ml)	r	0,319	0,354	0,322
	p	0,013	0,006	0,082

NRS : *Numeric Rating Scale*, IL : *Interleukin* r = *Correlation Coefficient*, Pre : *Sebelum operasi*, Post : *Sesudah operasi*

Pada Tabel 5.17 terlihat bahwa pada Etnik Minangkabau terdapat hubungan yang bermakna antara IL-6 sesudah operasi dengan nilai NRS sesudah operasi dan Δ NRS ($p=0,013$ dan $p=0,006$ secara berurutan). Hubungan bermakna pada Etnik Minangkabau juga terlihat antara Δ IL-6 dengan nilai NRS sesudah operasi dan Δ NRS ($p=0,004$ dan $p=0,001$ secara berurutan). Sedangkan pada Etnik non Minangkabau hubungan bermakna hanya terlihat antara hubungan IL-6 sesudah operasi dengan Δ NRS ($p=0,006$) dan hubungan antara Δ IL-6 dengan Δ NRS ($p=0,008$).

Tabel 5. 18 Hubungan antara Δ IL-6, IL-6 sebelum dan sesudah operasi dengan etnisitas

Interleukin 6 (pg/ml)	Etnik Minangkabau (median (min-max))	Etnik non Minangkabau (median (min-max))	p
Δ IL 6	49,2 (-25,8-2010,4)	66 (-294,1-1793,1)	0,251
Pre IL 6	143,1 (66,7-965,9)	157,1 (67,2-1255,4)	0,507
Post IL 6	221,2 (65,1-2215,9)	240 (81,1-2246,4)	0,424

Pre : Sebelum operasi, Post : Sesudah operasi, Min : Nilai minimum, Max : Nilai Maksimum

Distribusi data IL-6 bersifat tidak normal sehingga analisa IL-6 dengan etnisitas menggunakan uji non parametrik *mann-whitney*. Pada tabel 5.18 terlihat bahwa kadar Δ IL-6, IL 6 sebelum dan sesudah operasi tidak berhubungan dengan etnisitas.

Pada uji komparatif untuk membandingkan nilai IL-6 sebelum operasi dan setelah operasi dilakukan dengan uji *wilcoxon*.

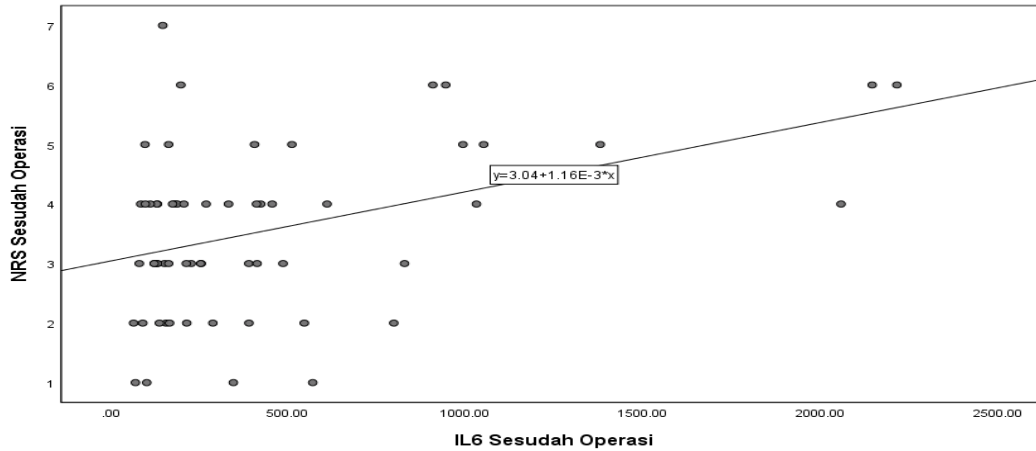
Tabel 5.19 Hubungan perbandingan nilai IL-6 sebelum operasi dan sesudah operasi pada Etnik Minangkabau dan non Minangkabau

Minangkabau			Non Minangkabau		
IL-6 Sebelum operasi Median (min-max)	IL-6 Sesudah Operasi Median (min-max)	p	IL-6 Sebelum operasi Median (min-max)	IL-6 Sesudah operasi Median (min-max)	p
143,0	221,19	0,001	157,1	240,03	0,001

(66,73-965,93) (65,15-2215,9) (67,22-1255,45) (81,1-2246,43)

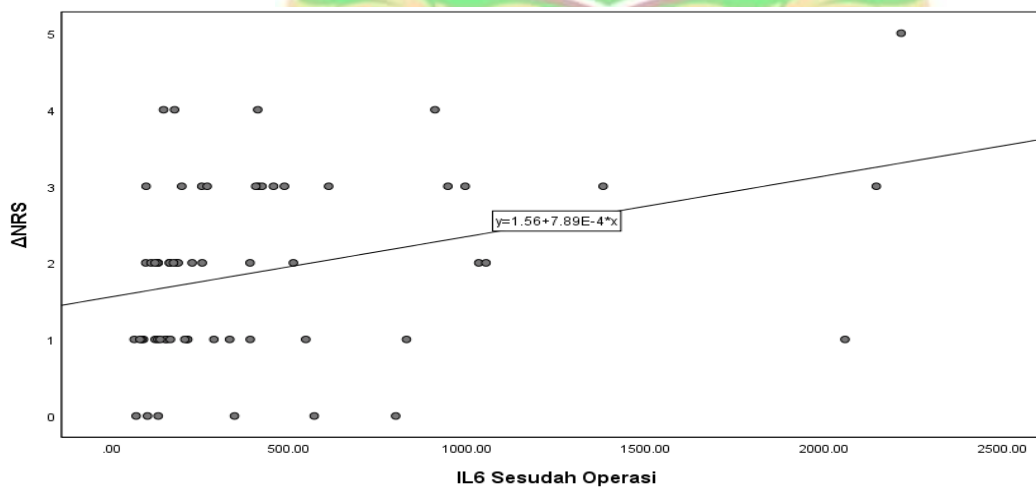
Post : Sesudah Operasi, Pre : Sebelum Operasi, n = Jumlah

Pada tabel 5.19 terlihat adanya perubahan yang bermakna antara kadar IL-6 sebelum operasi dan IL-6 sesudah operasi di kedua etnik ($p=0,001$ dan $p=0,001$ secara berurutan)



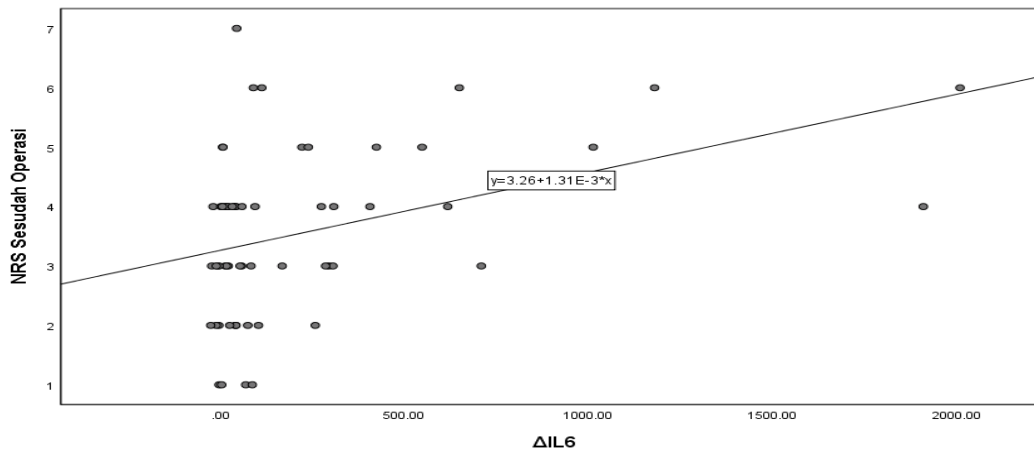
Gambar 5.9 Hubungan IL-6 sesudah operasi dan NRS sesudah operasi pada Etnik Minangkabau

Pada gambar 5.9 terlihat bahwa terdapat kecenderungan semakin tinggi kadar IL-6 sesudah operasi maka semakin tinggi nilai NRS sesudah operasi dengan kekuatan hubungan cukup kuat. Terdapat hubungan antara kadar IL-6 sesudah operasi dengan nilai NRS sesudah operasi pada Etnik Minangkabau ($r = +0,319$ $p = 0,013$).



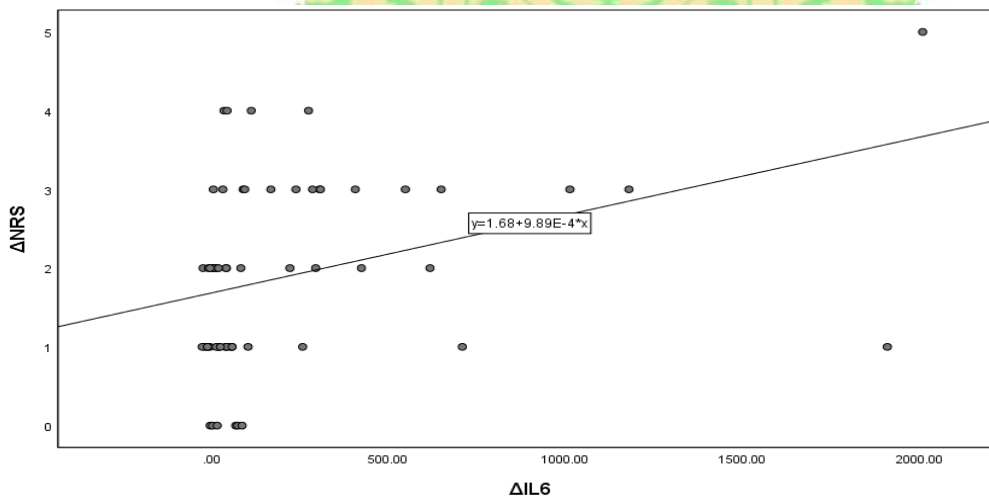
Gambar 5.10 Hubungan IL-6 sesudah operasi dan Δ NRS pada Etnik Minangkabau

Pada gambar 5.10 terlihat bahwa terdapat kecenderungan semakin tinggi kadar IL-6 sesudah operasi maka semakin tinggi nilai Δ NRS dengan kekuatan hubungan cukup kuat. Terdapat hubungan antara kadar IL-6 sesudah operasi dengan nilai Δ NRS pada Etnik Minangkabau ($r=+0,354$ $p=0,006$).



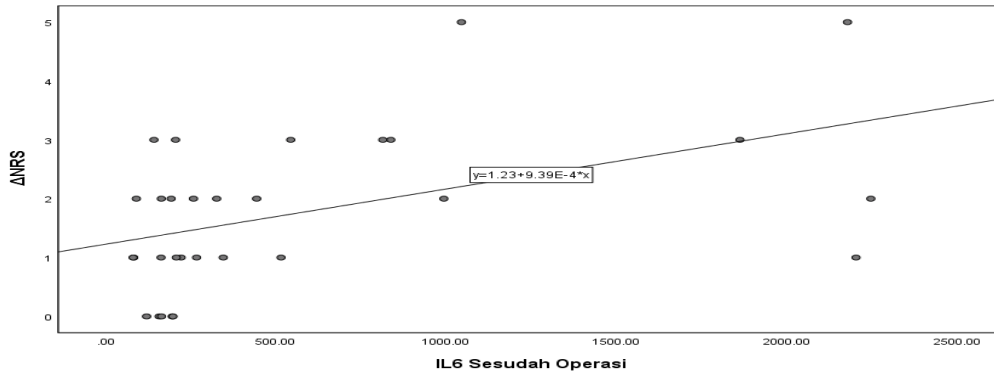
Gambar 5. 11 Hubungan Δ IL-6 dan NRS sesudah operasi pada Etnik Minangkabau

Pada gambar 5.11 terlihat bahwa terdapat kecenderungan semakin tinggi kadar Δ IL-6 maka semakin tinggi nilai NRS sesudah operasi dengan kekuatan hubungan cukup kuat. Terdapat hubungan antara kadar IL-6 sesudah operasi dengan nilai Δ NRS pada Etnik Minangkabau ($r=+0,367$ $p=0,004$).



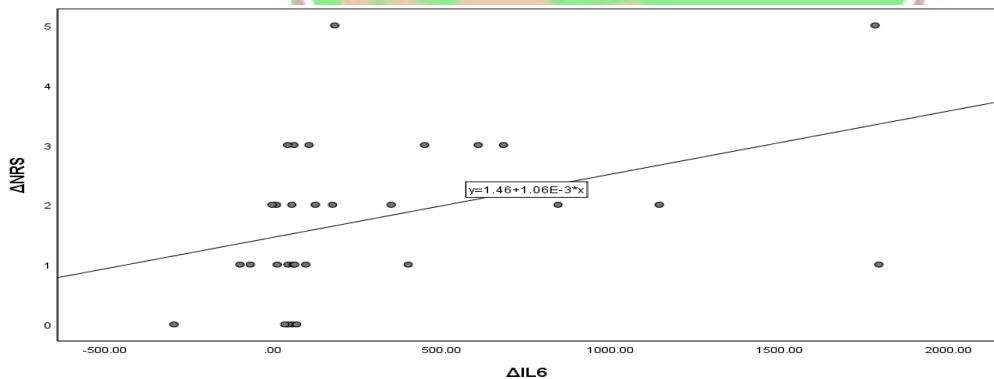
Gambar 5. 12 Hubungan Δ IL-6 dan Δ NRS pada Etnik Minangkabau

Pada gambar 5.12 terlihat bahwa terdapat kecenderungan semakin tinggi kadar Δ IL-6 maka semakin tinggi nilai Δ NRS dengan kekuatan hubungan cukup kuat. Terdapat hubungan antara kadar Δ IL-6 dengan nilai Δ NRS pada Etnik Minangkabau ($r= +0,408$ $p=0,001$).



Gambar 5. 13 Hubungan IL-6 sesudah operasi dan Δ NRS pada Etnik non Minangkabau

Pada gambar 5.13 terlihat bahwa terdapat kecenderungan semakin tinggi kadar IL-6 sesudah operasi maka semakin tinggi nilai Δ NRS dengan kekuatan hubungan cukup kuat. Terdapat hubungan antara kadar IL-6 sesudah operasi dengan nilai Δ NRS pada Etnik non Minangkabau ($r= +0,496$ $p=0,006$).



Gambar 5. 14 Hubungan Δ IL-6 dan Δ NRS sesudah operasi pada Etnik non Minangkabau

Pada gambar 5.14 terlihat bahwa terdapat kecenderungan semakin tinggi kadar Δ IL-6 maka semakin tinggi nilai Δ NRS dengan kekuatan hubungan cukup kuat. Terdapat hubungan antara kadar Δ IL-6 dengan nilai Δ NRS pada Etnik non Minangkabau ($r= +0,474$ $p=0,008$).