

617-14

WIN

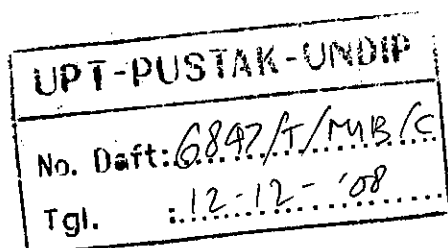
P

2005

**PERBANDINGAN SEKRESI IL – 10 DI JARINGAN
SEKITAR LUKA DENGAN DAN TANPA INFILTRASI
LEVOBUPIVACAIN PADA NYERI PASCA INSISI
Studi Immunohistokimia pada Tikus Wistar**

**COMPARISON OF IL-10 SECRETION OF LEVOBUPIVACAIN AND
NON LEVOBUPIVACAIN TREATED TISSUE SURROUND WOUND
AFTER INCISION PAIN**

Immunohistochemistry Study on Wistar rats



Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar derajat sarjana S-2
dan PPDS I Ilmu Anestesi

Winarto

**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ANESTESIOLOGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2005**

TESIS

**PERBANDINGAN SEKRESI IL - 10 DI JARINGAN
SEKITAR LUKA DENGAN DAN TANPA INFILTRASI
LEVOBUPIVAKAIN PADA NYERI PASCA INSISI
Studi Imunohistokimia pada Tikus Wistar**

Disusun oleh
dr. Winarto

telah dipertahankan depan Tim Penguji
pada tanggal 13 Desember 2005
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama,



dr. M Sofyan H. SpAn
NIP. 140 322 823

Pembimbing Kedua,



dr. Edi Dharmana, PhD, SpPark
NIP. 130.529.451


Mengetahui,

Ketua Progam Studi Anestesiologi
Fakultas Kedokteran UNDIP



dr. Uripno Budiono, SpAn
NIP. 140 098 893

Ketua Progam Studi
Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran UNDIP



Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)
NIP. 130.352.549

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 13 Desember 2005

Penulis

RIWAYAT HIDUP SINGKAT

A. Identitas

Nama : dr. Winarto
NIM Magister Biomedik : G4A001025
NIM PPDS I Anestesiologi : G3F001075
Tempat / Tgl lahir : Tegal, 29-10-1966
Agama : Islam
Jenis kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Pekauman Kulon 23 Kab.Tegal : Lulus tahun 1979
2. SMPN III Kodya Tegal : Lulus tahun 1982
3. SMAN I Kodya Tegal : Lulus tahun 1985
4. FK UNDIP Semarang : Lulus tahun 1997
5. Spesialisasi Anestesi UNDIP Semarang Jawa Tengah
6. Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang Jawa Tengah

C. Riwayat Pekerjaan

Tahun 1998 – 2001 : Dokter I Puskesmas Bangungalih Kab.Tegal

D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang tua Ayah : Sadjat S (Alm).

Ibu : Tarmoetri.

2. Nama Istri : Ir. Siti Solichati

3. Nama Anak : 1. M Ghimnastiar Ulsak

2. M Nabel Safa.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat **Allah SWT**, yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNYA kepada kita semua, sehingga saya dapat menyelesaikan tugas saya dalam rangka mengikuti spesialisasi di Bagian / SMF Ilmu Anestesi dan reanimasi FK UNDIP / RSUP Dr. Kariadi serta Program Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Tesis ini dibuat dalam rangka menyelesaikan pendidikan spesialisasi dan magister yang kami tempuh. Dengan judul tesis “ Perbandingan Sekresi IL-10 di Jaringan Sekitar Luka Dengan Dan Tanpa Infiltrasi Levobupivakain Pada Nyeri Pasca Insisi. Studi Imunohistokimia Pada Tikus Wistar”.

Dengan tesis ini saya harapkan dapat memberikan sumbangan pengetahuan mengenai pengaruh anestesi lokal terhadap penyembuhan luka.

Pada kesempatan ini, saya ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. **dr. Hariyo Satoto, SpAn(K)**. sebagai Kepala Bagian / SMF Ilmu Anestesi dan Reanimasi FK UNDIP RSUP Dr. Kariadi Semarang.
2. **dr. Uripno Budiono, SpAn**. sebagai Ketua Program Studi Ilmu Anestesi dan Reanimasi FK UNDIP RSUP Dr. Kariadi Semarang.
3. **Prof. DR. dr. Socharjo Hadisaputro, SpPD** selaku direktur Program Pascasarjana UNDIP.
4. **Prof. dr. H. Soebowo, SpPA(K)** selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana UNDIP.

5. **Prof. DR. dr. Tjahjono, SpPA, FIAC** selaku pengelola Program Studi Magister Ilmu Biomedik kelas khusus PPDS Program Pascasarjana UNDIP
6. **dr. M Sofyan H. SpAn dan dr. Edi Dharmana, PhD, SpParK** selaku pembimbing materi dalam penelitian ini.
7. **Prof.DR.dr.Ign Riwanto, SpBD, dan dr. Widiastuti, SpS (K), MSc** serta **drg Henry S** selaku pembimbing metodologi dan statistika.
8. **Prof.DR.dr. Ambar Mudigdo, SpPA(K) dan Dra. Dyah Ratna Budiani, MSi** staf pengajar PA / Biomedik FK UNS Surakarta.
9. **dr Gatot Suharto Mkes.** Direktur RSUP Dr. Kariadi.
10. Guru-guru Staf Pengajar Ilmu Anestesi dan Reanimasi FK UNDIP.
11. Guru-guru Program Sudi Magister Ilmu Biomedik.

Ucapan terima kasih khususnya kepada isteri tercinta, orang tua saya serta kedua mertua saya, kakak dan adik saya yang selama ini memberikan dorongan moril maupun materiil untuk keberhasilan studi saya.

Saya sadari dalam penulisan tesis ini jauh dari sempurna, untuk itu saya harapkan saran dan kritik dari semua pembaca, agar tesis ini dapat lebih sempurna.

Semoga Allah selalu melindungi kita semua Amin.

Semarang, 13 Desember 2005

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|----------------------------------|---------|
| LEMBAR PENGESAHAN..... | i |
| PERNYATAAN..... | ii |
| RIWAYAT HIDUP..... | iii |
| KATA PENGANTAR..... | vi |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiii |
| ABSTRAK..... | iv |
| ABSTRACT..... | xv |
| | |
| BAB 1 PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 4 |
| | |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Sitokin..... | 5 |
| 2.1.1 IL-10..... | 7 |
| 2.2 Levobupivakain..... | 9 |
| 2.3 Patofisiologi Nyeri..... | 10 |
| 2.3.1 Transduksi..... | 11 |
| 2.3.2 Transmisi..... | 12 |
| 2.3.3 Modulasi..... | 12 |
| 2.3.4 Persepsi..... | 13 |
| 2.4 Proses Penyembuhan Luka..... | 13 |
| 2.4.1 Fase Inflamasi..... | 15 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 2.4.2. | Fase Proliferasi..... | 17 |
| 2.4.3 | Fase Maturasi..... | 18 |
| 2.5 | Pengaruh Obat Anestesi Lokal Pada Penyembuhan Luka | 20 |
| BAB 3 | KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS | 23 |
| 3.1 | Kerangka Teori..... | 23 |
| 3.2 | Kerangka Konsep..... | 24 |
| 3.3 | Hipotesis Penelitian..... | 24 |
| BAB 4 | METODOLOGI PENELITIAN..... | 25 |
| 4.1 | Rancangan Penelitian..... | 25 |
| 4.2 | Sampel Penelitian..... | 26 |
| 4.3 | Waktu dan Lokasi Penelitian..... | 27 |
| 4.4 | Variabel Penelitian..... | 27 |
| 4.4.1 | Variabel bebas..... | 27 |
| 4.4.2 | Variabel tergantung..... | 27 |
| 4.5 | Definisi Operasional..... | 28 |
| 4.6 | Bahan dan Alat Penelitian..... | 29 |
| 4.6.1 | Bahan Untuk Perlakuan..... | 29 |
| 4.6.2 | Bahan Untuk Eksisi Biopsi..... | 29 |
| 4.6.3 | Bahan Untuk Pemeriksaan Imunohistokimia..... | 29 |
| 4.7 | Pelaksanaan Penelitian..... | 30 |
| 4.7.1 | Cara perlakuan..... | 30 |
| 4.8 | Alur Kerja..... | 32 |
| 4.9 | Prosedur Pemeriksaan..... | 33 |
| 4.9.1 | Prosedur Eksisi-biopsi..... | 33 |
| 4.9.2 | Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi | 33 |
| 4.9.3 | Prosedur Pembuatan Preparat Imunohistokimia..... | 34 |
| 4.9.4 | Prosedur pembacaan preparat..... | 35 |
| 4.10 | Analisis Data..... | 36 |

| | | |
|-------|--|----|
| BAB 5 | HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA | 37 |
| 5.1 | Hasil Penelitian..... | 37 |
| 5.2 | Analisa Data..... | 41 |
| 5.2.1 | Uji Homogenitas..... | 41 |
| 5.2.2 | Uji Normalitas..... | 41 |
| 5.2.3 | Uji Beda Ekspresi IL-10..... | 42 |
| BAB 6 | PEMBAHASAN..... | 44 |
| BAB 7 | SIMPULAN DAN SARAN..... | 48 |
| 7.1 | Kesimpulan..... | 48 |
| 7.2 | Saran..... | 48 |
| | DAFTAR PUSTAKA..... | 49 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka | 20 |
| Tabel 2. Hasil pengamatan rerata skor histologi IL-10..... | 40 |
| Tabel 3. Hasil uji berat badan hewan coba | 41 |
| Tabel 4. Uji normalitas data skor histologi | 42 |
| Tabel 5. Hasil uji <i>Kruskal Wallis Test</i> skor histologi IL-10 | 42 |
| Tabel 6. Hasil uji Mann-Whitney U..... | 43 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 1. Fase penyembuhan luka | 15 |
| Gambar 2. Contoh foto IL-10..... | 37 |
| Gambar 3. Contoh hasil <i>cropping</i> | 38 |
| Gambar 4. Grafik rerata skor histologi IL-10..... | 40 |
| Gambar 5. Aktifitas Peneliti saat infiltrasi levobupivakain..... | 61 |
| Gambar 6. Mikroskop olympus seri BX 41 yang dilengkapi kamera digital DP-70 dan memakai <i>software olysa</i> dengan seperangkat alat komputer..... | 62 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Daftar singkatan..... | 54 |
| Lampiran 2. Prosedur pengecatan imunohistokimia | 55 |
| Lampiran 3. Skor histologi tiap lapangan pandang..... | 57 |
| Lampiran 4. Diskripsi skor histologi IL-10..... | 58 |
| Lampiran 5. Tabel berat badan Tikus Wistar..... | 59 |
| Lampiran 6. Kruskal –Wallis Test (uji homogenitas berat badan)..... | 60 |
| Lampiran 7. Foto tikus wistar dan infiltrasi levobupivakain..... | 61 |
| Lampiran 8. Foto mikroskop Olympus serta seperangkat komputer.. | 62 |
| Lampiran 9. Data luas area dan intensitas tiap lapang pandang serta cara perhitungan skor histologi | 63 |

ABSTRAK

PERBANDINGAN SEKRESI IL-10 DI JARINGAN SEKITAR LUKA DENGAN DAN TANPA INFILTRASI LEVOBUPIVAKAIN PADA NYERI PASCA INSISI Studi Imunohistokimia pada Tikus Wistar

Latar belakang : Nyeri menyebabkan peningkatan hormon glukokortikoid yang memperlama penyembuhan luka. Transmisi nyeri dapat dihambat dengan obat anestesi lokal levobupivakain. Terapi ini akan mengurangi supresi imunitas seluler sehingga fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T tidak terhambat. Aktivasi sel T ini diduga akan meningkatkan sekresi IL-10.

Tujuan : Membandingkan sekresi IL-10 di jaringan sekitar luka dengan dan tanpa infiltrasi levobupivakain.

Metode : Dilakukan penelitian eksperimental laboratorik dengan disain "*Randomized Post test only control group design*", pada tigapuluh lima ekor tikus Wistar. Kelompok penelitian dibagi menjadi tiga kelompok secara acak, Kelompok Kontrol (K) lima ekor, Perlakuan 1 (P1) dan Perlakuan 2 (P2) masing-masing limabelas ekor. Kelompok Kontrol, tikus tanpa insisi dan tanpa infiltrasi. Kelompok P1, tikus yang dilakukan insisi 2 cm, tanpa diberikan infiltrasi levobupivakain, Kelompok P2, tikus yang dilakukan insisi 2 cm, diberikan infiltrasi levobupivakain tiap 8 jam selama 24 jam. Ekspresi IL-10 di sekitar luka insisi dinilai dengan skor histologi dari preparat dengan menggunakan pengecatan secara imunohistokimia, yang diambil dari biopsi jaringan pada hari ke 1,2 dan 3. Metode perhitungan statistik menggunakan *Kruskal Wallis Test* dilanjutkan *Mann-Whitney Test*.

Hasil : Dari hasil penelitian menunjukkan pada jaringan insisi rerata skor histologi IL-10 pada kelompok levobupivakain lebih tinggi (5.36 ± 1.25) dibanding kelompok tanpa levobupivakain (3.00 ± 2.11) pada hari ke dua. Perhitungan statistik antara kedua kelompok tanpa levobupivakain dan dengan kelompok levobupivakain berbeda bermakna ($p=0.023$; $p<0.05$).

Kesimpulan : Sekresi IL-10 di jaringan sekitar luka dengan infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibanding tanpa levobupivakain pada hari kedua.

Kata kunci: Sekresi IL-10, infiltrasi levobupivakain, nyeri pasca insisi.

ABSTRACT

COMPARISON OF IL-10 SECRETION OF LEVOBUPIVACAIN AND NON LEVOBUPIVACAIN TREATED TISSUE SURROUND WOUND AFTER INCISION PAIN

Immunohistochemistry Study on Wistar rats

Background : The acute pain occurs after wound could depress the immune function that leads to the inhibition of the wound healing processes. Local anesthetic which has a long duration effect such as levobupivacain could be used to relief the pain so that protect the depression of immune function. Activation of macrophage can promote the T cell to produce IL-10.

Objective : To compare the IL-10 secretion between levobupivacain treated and non levobupivacain on the tissue surround the wound.

Method : This laboratoric experimental study was designed with randomized post test only control group method. Thirty five female rats were randomly divided in to three groups. Control group (K), Non-Levobupivacain infiltration group (P1) and Levobupivacain infiltration group (P2). No incision and no infiltration in K group. Two cm of skin incision was performed to P1 and P2. After the incision, Levobupivacain infiltration were given every 8 hours for 24 hours to the P2 group. No levobupivacain was given to the first group. On day 1st, 2nd, 3th the rats were sacrificed and the tissue surround the wound were taken for immunohistochemistry staining. The IL-10 secretion were analyzed for histologic scoring. Kruskal Wallis Test, Mann-Whitney Test were used for statistic analysis.

Result : It was demonstrated in this study that the histologic score of IL-10 of the levobupivacain treated group (group 2) was significantly higher than group 1 (without levobupivacain) in 2nd day (mean 5.36 ± 1.25 vs 3.00 ± 2.11 respectively, $p=0,023$; $p<0,05$).

Conclusion : The IL-10 secretion was significantly higher in levobupivacain treated group than non levobupivacain group on the tissue surround the wound

Key word : IL-10 secretion, Levobupivacain infiltration, after incision pain

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang masalah

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan dinamis dari perbaikan struktur sel dan jaringan. Penyembuhan luka melibatkan berbagai proses dengan urutan : hemostasis, inflamasi akut, regenerasi sel parenkim, migrasi dan proliferasi sel parenkim, sintesis protein ECM, remodeling jaringan ikat dan komponen parenkim, kolagenasi dan akuisisi kekuatan luka.^{1,2} Pembagian secara garis besar meliputi fase inflamasi, proliferasi dan remodeling.³

Terdapat faktor sistemik dan lokal yang mempengaruhi penyembuhan luka. Salah satu faktor sistemik yang berperan adalah hormon glukokortikoid. Hormon ini mempunyai efek anti inflamasi, supresi netrofil, menghambat pembentukan fibroblas dan mengganggu sintesis kolagen.¹ Elenkov dkk melaporkan bahwa glukokortikoid, katekolamin, histamin akan menyebabkan supresi imunitas seluler dan respon imun humoral.⁴

Terjadinya proses penyembuhan luka tidak terlepas dari peran sitokin dan faktor pertumbuhan yaitu : PDGF, FGF, TGF- β , VEGF, Angiopoetin, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ , makrofag yang diproduksi oleh limfosit dan leukosit pada tahap sintesis kolagen.^{1,2}

IL-10 adalah salah satu sitokin anti inflamasi, berfungsi menghambat produksi beberapa jenis sitokin lain (TNF, IL-1, *chemokine*, dan IL-12), dan menghambat

fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T. Dampak akhir dari aktivasi IL-10 adalah hambatan reaksi inflamasi non spesifik maupun spesifik yang diperantarai oleh sel T.⁵

Sato Y dkk, mengemukakan bahwa kadar IL-10 mencapai puncak 3 jam setelah insisi kulit tikus, lalu menurun normal sampai 24 jam, dan meningkat lagi serta mencapai puncak kedua pada 72 jam.⁶

Pembedahan menimbulkan respon stres berupa peningkatan sekresi hormon katabolik yaitu glukokortikoid, hipermetabolisme, aktivasi sistem otonom, peningkatan kerja jantung, rasa nyeri, gangguan terhadap paru, saluran cerna, gangguan sistem koagulasi, fibrinolitik dan imunosupresi.⁷

Pedersen mengurangi respon stres pembedahan dengan teknik pembedahan non invasif, penggunaan analgetik opioid dan blok saraf. Cara ini mampu menurunkan katabolisme protein, gangguan paru, mengurangi pelepasan katekolamin, kortisol dan glukosa.⁷ Bardram melaporkan teknik laparoskopi, anestesi ekstradural, nutrisi dini, mobilisasi dini, dan analgetik adekuat terbukti mampu mengurangi respon stres.⁵

Infiltrasi bupivakain 0,25 % dosis tunggal dapat mengurangi nyeri selama 24 jam pasca operasi.⁸ Penggunaan konsentrasi 0,25 % lebih efektif dibandingkan 0,5 %, namun berbeda tidak bermakna dengan 0,125 %.^{8,9} Penggunaan infiltrasi bupivakain pada dosis berulang dengan menyisipkan kateter subkutan pada ujung luka terbukti efektif mengurangi nyeri, tanpa komplikasi infeksi dan inflamasi lokal.^{9,10}

Infiltrasi levobupivakain dapat mengurangi intensitas nyeri, menurunkan respon stres⁶ sehingga menurunkan sekresi hormon glukokortikoid.^{1,2}

Berdasar teori tersebut, penurunan hormon glukokortikoid ini akan mengurangi supresi imunitas seluler sehingga fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T tidak terhambat. Aktivasi sel T ini diduga akan meningkatkan sekresi IL-10.

Semakin berkembangnya ilmu biologi molekuler memungkinkan identifikasi sekresi IL-10 pada jaringan, sehingga penelitian guna mengetahui perbedaan sekresi IL-10 pada penanggulangan nyeri incisi dengan infiltrasi obat anestesi lokal dan tanpa infiltrasi levobupivakain perlu dilaksanakan.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- Bagaimanakah skor histologi IL-10 pada infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain di bandingkan dengan tanpa infiltrasi levobupivakain dalam proses penyembuhan luka pada binatang percobaan.

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Mencari perbedaan skor histologi IL-10 antara infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain di bandingkan dengan tanpa infiltrasi levobupivakain dalam proses penyembuhan luka pada binatang percobaan.

1.3.2. Tujuan khusus

- Membuktikan peningkatan skor histologi IL-10 pada kelompok yang diberikan infiltrasi levobupivakain di sekitar daerah luka dibandingkan kelompok tanpa levobupivakain.

1.4. Manfaat penelitian

- Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan teori tentang mekanisme penyembuhan luka akibat pemberian infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain.
- Aplikasi klinis berupa pemberian infiltrasi levobupivakain di sekitar luka dapat menjadi alternatif dalam mempercepat proses penyembuhan luka.
- Sebagai landasan penelitian selanjutnya baik dalam penelitian terhadap obat anestesi lokal, profil histologi maupun hubungan keduanya dalam proses penyembuhan luka, juga dapat dijadikan landasan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sitokin

Sitokin adalah polipeptida yang diproduksi sebagai respon terhadap mikroba dan antigen lain, yang berfungsi sebagai media dan pengatur imun dan reaksi inflamasi.

Pada reaksi inflamasi banyak substansi serupa hormon yang dilepaskan oleh limfosit T dan B maupun oleh sel-sel lain, yang berfungsi sebagai sinyal interseluler yang mengatur respon inflamasi lokal maupun sistemik terhadap rangsang dari luar. Sitokin berperan dalam pengendalian hemopoesis maupun limfopoiesis dan juga berfungsi dalam mengendalikan respon imun dan reaksi inflamasi dengan cara mengatur pertumbuhan, serta mobilitas dan diferensiasi leukosit maupun sel-sel lain.¹¹

Sifat-sifat umum sitokin :

1. Sekresi sitokin pada umumnya terjadi singkat dan membatasi diri, tidak pernah disimpan sebagai molekul yang *preformed* dan sintesis sitokin biasanya diawali dengan transkripsi gen yang terjadi akibat stimuli.
2. Setiap jenis sitokin biasanya diproduksi oleh lebih dari satu jenis sel, dan memberikan dampak yang berbeda pada berbagai sel sasaran dan sebaliknya

sitokin memberikan dampak yang berbeda pada satu jenis sel sasaran yang sama.

3. Sitokin sering mempengaruhi sintesis dan aktifitas sitokin lainnya yang memungkinkan terjadinya suatu kaskade.
4. Aktifitas sitokin dapat lokal maupun sistemik. Sebagian besar beraksi dekat dengan tempat diproduksi.
5. Sitokin merupakan mediator respon imun yang sangat poten dan mampu beriteraksi dengan reseptor pada permukaan sel.

Karakteristik sitokin adalah :

1. Berupa protein dengan berat molekul < 80 kDa.
2. Berperan dalam imunitas dan inflamasi, dengan mengatur kekuatan dan lamanya respon. Sekresi sitokin adalah singkat, sesuai dengan kejadian.
3. Sitokin sangat poten, beraksi sangat umum pada konsentrasi pikomolar.
4. Biasanya dengan hormone polipeptida, memulai aksinya dengan mengikat reseptor spesifik pada permukaan sel sasaran. Sitokin cenderung dalam bentuk parakrin atau autokrin, dan lebih sedikit dalam bentuk endokrin.
5. Mengaktifasi reseptor permukaan yang pada akhirnya mengubah pola *ribonucleic acid* (RNA) dan sintesis protein serta mengubah perangai sel.
6. Beraksi pada beberapa sel yang berbeda - *pleotropism*.
7. Sering mengubah sintesis dan aksi sitokin lain.
8. Sering mempunyai beberapa efek pada sel yang sama.

9. Beraksi sebagai regulator pada beberapa sel target, seperti faktor-faktor pertumbuhan.
10. Respon sel akibat sitokin tergantung pada konsentrasi local sitokin, tipe sel dan sel regulator lainnya.¹²

Beberapa sitokin dibuat terlebih dahulu (*presynthesized*) dan disimpan dalam granula sitoplasma, sehingga tersedia sitokin saat terjadi kerusakan / perbaikan jaringan dengan cepat. Misalnya *transforming growth factor beta-1* (TGF- β 1) disimpan di granula alfa platelet dan dilepaskan dengan stimulasi trombin.¹²

Dalam fungsi regulator inflamasi, sitokin mengaktifkan respon sel-sel inflamasi non spesifik, termasuk dalam hal ini yaitu *interferon gamma* (IFN- γ), *macrophage activating factor* (MAF), *granulocyte-macrophage stimulating factor* (GM-CSF), dan lebih sedikit pada *interleukin-1* (IL-1) dan *tumor necrosis factor* (TNF).

Reseptor-reseptor sitokin terkenal sebagai protein *transmembrane*. Daerah ekstrasel mengikat sitokin, dengan demikian sinyal ekstrasel terdeteksi dan daerah intrasel terjadi aktifitas enzimasi, mengikat molekul lain atau digunakan sebagai sistim *second messenger*.¹²

Respon sitokin akibat pembedahan yaitu inflamasi non-spesifik, respon imun spesifik, hematopoesis dan perbaikan jaringan.

2.1.1. IL-10

IL-10 mempunyai struktur empat heliks domain globuler yang terikat pada reseptor sitokin tipe II. Diproduksi oleh sel-sel Th (Th2 dan hampir tidak terdapat

pada sel Th1)¹¹ karena aktivasi makrofag. Fungsi utama IL-10 adalah menghambat aktifitas makrofag (merupakan mekanisme umpan balik negatif) dan memainkan peran penting dalam homeostasis yang diperantarai sel-sel imun¹³ serta memiliki kemampuan untuk menghambat sitokin yang diproduksi oleh sel Th1.¹¹

Tidak jelas apakah stimulus yang lain dapat merangsang produksi IL-10 atau efektor sitokin seperti TNF, IL-12 atau stimulus yang sama menekan produksi dari sitokin-sitokin tadi dengan cara yang berbeda. Selain Limfosit T, IL-10 juga diproduksi oleh sel non-limfosit seperti Keratinosit, Monosit dan Limfosit B¹⁴

Aksi biologi IL-10 :¹³

1. Menghambat produksi IL-12 dan TNF dengan cara mengaktifasi makrofag.

Mekanisme hambatan ini tidak jelas.

2. IL-10 menghambat kostimulator dan MHC kelas II pada makrofag.

Karena aksi ini, IL-10 maka terjadi inhibisi aktivasi limfosit T dan mengakhiri reaksi imunitas seluler.

3. Pada kultur, IL-10 merangsang proliferasi dari limfosit B.

Mekanisme rangsangan ini juga belum diketahui.

IL-10 juga memegang peran penting pada fase infiltrasi neutrofil dan makrofag yaitu dapat menghambat infiltrasi neutrofil dan makrofag ke jaringan yang rusak. Secara *in vivo*, IL-10 menghambat ekspresi kemokin (*monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1 alpha*) dan sitokin proinflamasi (IL-1, IL-1 β , TNF- α).⁶

Dampak akhir dari aktivasi IL-10 adalah hambatan reaksi inflamasi non spesifik maupun spesifik yang diperantarai oleh sel T, karena itu IL-10 juga disebut *cytokine synthesis inhibitory factor* dan sitokin anti inflamasi.¹¹

2.2. Levobupivakain

Levobupivakain adalah obat anestetik lokal golongan amida (CONH-) dengan atom karbon asimetrik dan isomer Levo(-). Levobupivakain memiliki pKa 8,1. Peningkatan pH akan meningkatkan molekul basa bebas, molekul bebas melintasi membran akson dengan mudah dan beraksi lebih cepat. Sebaliknya pada pH rendah sedikit molekul basa bebas melintasi membran akson dengan aksi farmakologis lebih lambat, contoh pada infeksi lokal. Ikatan dengan protein lebih dari 97% terutama pada asam α 1 glikoprotein dibandingkan pada albumin. Pada pasien hipoproteinemi, sindrom nefrotik, kurang kalori protein, bayi baru lahir dengan sedikit kadar protein, menyebabkan kadar obat bebas dalam plasma tinggi sehingga efek toksik terlihat pada dosis rendah.^{15,16} Metabolisme obat terjadi di hepar oleh enzim sitokrom P450. Bersihan obat dalam plasma akan menurun bila terjadi gangguan fungsi hepar.¹⁵

Mekanisme aksi sama dengan bupivakain atau obat anestetik lokal lain. Apabila *minimum local analgesic concentration* (MLAC) tercapai, obat akan melingkupi membran akson, menutup kanal natrium berakibat hambatan permeabilitas kanal natrium, sehingga tidak tercapai ambang aksi potensial dan menghambat depolarisasi. Terjadi hambatan transmisi impuls saraf.^{15,17} Levobupivakain menimbulkan depresi jantung

lebih sedikit dibandingkan bupivakain dan ropivakain. Gejala toksisitas sistem saraf pusat pada bupivacain terjadi pada dosis lebih rendah dibandingkan levobupivakain.¹⁶

Levobupivakain dapat digunakan untuk epidural, subaraknoid, blok saraf perifer, infiltrasi lokal, analgesi obstetri, pengelolaan nyeri setelah operasi. Dosis tunggal maksimum yang digunakan 2 mg/kg bb dan 5,7 mg/kg bb (400 mg) dalam 24 jam.^{15,17} Dosis infiltrasi maksimal 175 mg dosis tunggal. Efek samping obat diantaranya hipotensi, bradikardi, mual, muntah, gatal, nyeri kepala, pusing, telinga berdenging, gangguan buang air besar dan kejang.¹⁷

2.3. Patofisiologi nyeri

Nyeri merupakan gejala umum dari penyakit, bersifat subyektif dengan gejala psikologis bervariasi. Nyeri merupakan suatu pengalaman hidup kompleks, menyatu dengan emosi dan pikiran yang berproses menghasilkan pengalaman nyeri.¹⁸ Nyeri merupakan sensasi tidak nyaman,¹⁹ pengalaman sensorik dan emosional tidak menyenangkan akibat terjadinya kerusakan jaringan.²⁰

Luka irisan bedah menimbulkan nyeri klinis akibat kerusakan jaringan. Proses inflamasi terlokalisir, serta hilang bila inflamasi jaringan sembuh. Nyeri merupakan reaksi sensoris sistem nosiseptif mendadak dan merupakan sinyal mekanisme pertahanan tubuh.²¹ Kerusakan di jaringan kulit atau jaringan perifer menyebabkan terlepasnya mediator kimiawi dan mensensitisasi nosiseptor sehingga terjadi penurunan nilai ambang nyeri. Mediator bradikinin, substansi P turut mempengaruhi dalam proses terjadinya impuls nosiseptif.²¹

Tahap proses terjadinya nyeri sebagai berikut :

2.3.1 Transduksi

Kerusakan jaringan menyebabkan terlepasnya substansi kimiawi endogen yaitu : bradikinin, substansi P, serotonin, histamin, ion H, ion K, prostaglandin.. Kerusakan membran sel akan melepaskan senyawa phospholipid yang mengandung asam arakhidonat dan akibat pengaruh *prostaglandin endoperoxide synthase* akan membentuk mediator inflamasi sekaligus mediator nyeri yaitu tromboksan, prostaglandin, prostasiklin. Kombinasi senyawa ini menimbulkan vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler lokal. Stimulasi dan sensitisasi terus menerus menyebabkan hiperalgesia, alodina dan berakhir sesudah terjadi penyembuhan. Lekotrien D4 melepas substansi P, lekosit *polymorphonuclear* (PMN) melepaskan lekotrien B4. Keduanya berperan dalam sensitisasi nosiseptor. Pada inflamasi, sistem imun akan melepaskan sitokin proinflamasi yaitu : IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , yang akan berinteraksi dengan saraf perifer melalui mediator. Platelet dan sel mast melepas serotonin yang langsung mengaktifkan atau mensensitisasi nosiseptor dan menimbulkan hiperalgesia. Proses transduksi dapat dihambat oleh obat anti inflamasi non steroid. ^{22,23,24}

2.3.2. Transmisi

Impuls akan ditransmisi oleh serabut aferen nosiseptif primer lewat radiks posterior menuju kornu posterior medula spinalis. Serabut perifer terdiri dari serabut sensorik, motorik somatik, motorik otonomik. Serabut aferen primer nosiseptif

khusus yang menghantarkan impuls nosiseptif terdapat di kulit, periosteum, sendi, ligamen, otot dan visera. Serabut yang menghantarkan impuls nosiseptif hanya serabut A dan C, yang tidak bermielin atau bermielin halus. Stimulus yang dapat direspon adalah stimulus mekanik, mekanotermal dan polimodal. Impuls di neuron aferen primer melewati radiks posterior menuju medula spinalis pada berbagai tingkat dan membentuk badan sel dalam ganglia radiks posterior. Serabut aferen primer berakhir pada lamina I, substansia gelatinosa (lamina II, III), lamina V dan lamina IV. Impuls ditransmisi ke neuron sekunder dan masuk ke traktus spinothalamikus lateralis. Korno posterior berfungsi sebagai jalur masuk desendens dari otak untuk melakukan modulasi impuls dari perifer. Impuls selanjutnya disalurkan ke daerah somatosensorik di korteks serebri. Proses transmisi dapat dihambat oleh obat anestesi lokal.^{24,25}

2.3.3. Modulasi

Impuls setelah mencapai korno posterior medula spinalis akan mengalami penyaringan intensitas. Sistem pengendali modulasi ini adalah sistem gerbang kendali spinal atau *the gate control theory of pain*.. Apabila impuls melebihi ambang maka akan melewati sistem kendali gerbang spinal dan diteruskan ke pusat supraspinal di korteks somatosensoris. Substansi yang bekerja sebagai modulator penghambat nyeri di medula spinalis yaitu dinorfin, enkefalin, noradrenalin, dopamin, serotonin dan *gamma amino butyric acid* (GABA). Sedangkan substansi yang meningkatkan nyeri yaitu substansi P, *adenosin triphosphate* (ATP) dan asam amino eksitatori.^{22,24,25}

2.3.4. Persepsi

Hasil proses integrasi pada pusat kognisi, afeksi dan impuls nyeri yang dirasakan individu dan bagaimana cara individu menghadapinya.^{22,24,25}

Nyeri sebagai mekanisme protektif bersifat subyektif dalam derajat, kualitas nyeri, individu dan periode.²⁵ Pengelolaan nyeri tidak adekuat akan berakibat : penurunan gerak pernapasan, kemampuan batuk, ketakutan mobilisasi, kecemasan, peningkatan pelepasan katekolamin. Katekolamin yang tinggi berefek terutama terhadap pemanjangan fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortikoid dan resistensi insulin.²⁶

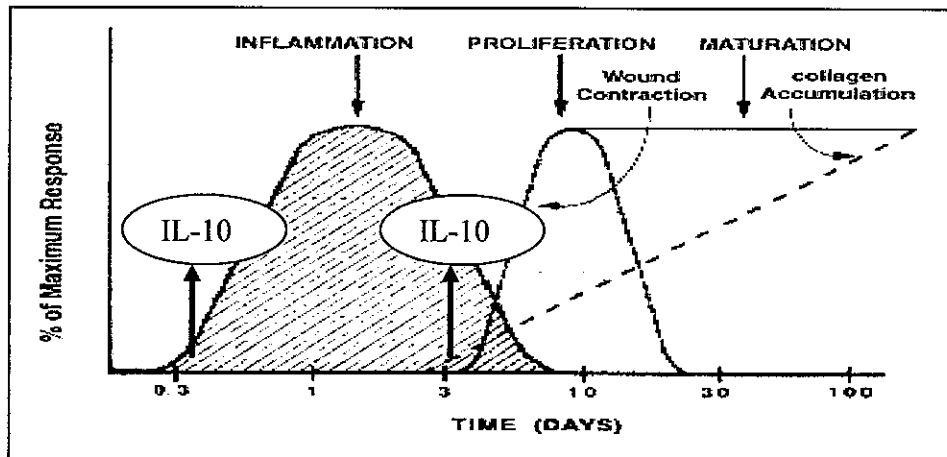
2. 4. Proses penyembuhan luka

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan dinamis dari perbaikan struktur sel dan jaringan. Penyembuhan luka melibatkan berbagai proses dengan urutan : hemostasis, inflamasi akut, regenerasi sel parenkim, migrasi dan proliferasi sel parenkim, sintesis protein ECM, remodeling jaringan ikat dan komponen parenkim, kolagenasi dan akuisisi kekuatan luka.^{1,2} Pembagian secara garis besar meliputi fase inflamasi, proliferasi dan remodeling.³

Terdapat faktor sistemik dan lokal yang mempengaruhi penyembuhan luka. Salah satu faktor sistemik yang berperan adalah hormon glukokortikoid. Hormon ini mempunyai efek anti inflamasi, supresi netrofil, menghambat pembentukan fibroblas dan mengganggu sintesis kolagen.¹ Elenkov dkk melaporkan bahwa glukokortikoid, katekolamin, histamin akan menyebabkan supresi imunitas seluler dan respon imun humoral.⁴

Sitokin bersama faktor pertumbuhan seperti *platelet derived growth factor* (PDGF), *fibroblast growth factor* (FGF) aktif berperan melaksanakan proses penyembuhan. Beberapa macam sitokin terlibat dalam proses penyembuhan yaitu : TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 dan TGF- β 1. TGF- β juga menstimulasi kemotaksis fibroblas, inhibisi produksi kolagen dan fibronectin, menghambat degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis TGF- β terlibat dalam pertumbuhan fibrosis.^{1,27}

Pada deposisi matrik ekstraseluler, sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yaitu PDGF, FGF, TGF- β dan IL-1, IL-4, *immunoglobulin G1* (IgGI) yang diproduksi oleh leukosit dan limfosit pada saat sintesis kolagen. Pada proses remodeling jaringan faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF, TGF- β 1 dan IL-1, TNF akan menstimulasi sintesis kolagen, memodulasi sintesis dan aktivasi *metalloproteinase*, suatu enzim yang berfungsi untuk degradasi komponen *extra cellular matrix* (ECM). Hasil sintesis dan degradasi ECM merupakan remodeling kerangka jaringan ikat. Proses degradasi kolagen dan protein ECM lain dilaksanakan oleh *metallopreteinase* yang terdiri atas kolagenase, gelatinase, yang diproduksi oleh : fibroblas, makrofag, netrofil, sel sinovial dan sel epitel.^{1,3}



Gambar 1 : Skema fase penyembuhan luka (dari kepustakaan no 3)

2.4.1. Fase inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada hari 0 – 5. Kerusakan sel memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat dengan pembuluh darah. Reaksi ini berguna sebagai proteksi terhadap jaringan yang mengalami kerusakan untuk tidak mengalami infeksi dan meluas tak terkendali. Proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Inflamasi dan penyembuhan luka cenderung menimbulkan nyeri. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan dan luka akan tetap menjadi sumber nyeri.¹ Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadi luka. Luka mengakibatkan kerusakan struktur jaringan dan perdarahan. Darah akan mengisi jaringan cedera dan terjadi degranulasi trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Terjadi pengaktifan komplemen kinin, kaskade pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadan ini memperkuat sinyal dari daerah terluka, yang tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan

prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dari pembuluh darah . Hal ini menyebabkan edema dan menimbulkan pembengkakan dan nyeri. Sel PMN terutama netrofil adalah sel pertama yang menuju ke daerah luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncak pada 24–48 jam. Netrofil memfagositosis dan mencerna organisme patologis dan sisa jaringan. Bila tidak terjadi infeksi, netrofil berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ketiga.^{3,5}

Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini turunan dari monosit yang bersirkulasi, terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. Muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke 3 . Makrofag berumur dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Makrofag dan limfosit T penting keberadaannya pada penyembuhan luka normal. Makrofag memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga melepas zat biologis aktif. Zat ini mempermudah terbentuknya sel inflamasi tambahan yang membantu makrofag dalam dekontaminasi dan membersihkan sisa jaringan. Makrofag melepas faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan jaringan granulasi.²⁸

2.4.2.Fase proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3 – 14. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen

seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi, bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronektin dan asam hialuronik. Fibroblas muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblas pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Fibroblas ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural. Fibroblas juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Proses proliferasi fibroblas dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia.^{1,3}

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 sel endotelial pembuluh darah mulai bermigrasi sebagai respon stimulasi angiogenik. Proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi. Sitokin merupakan stimulan potensial pada neovaskularisasi, termasuk *acidic fibroblast growth factor* (a-FGF), TGF- β dan *epidermal FGF* (e-FGF).^{1,3,5}

Pada permukaan luka juga terjadi pembentukan epitel beberapa jam setelah luka. Sel epitel tumbuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Ikatan

sel basal dari dermis di dekatnya menjadi longgar. Sel basal membesar dan bermigrasi ke permukaan luka. Sel basal membelah cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel berubah bentuk menjadi lebih kolumnar dan meningkat aktifitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna terjadi kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. Stimulator reepitelisasi ini belum diketahui secara lengkap. Faktor yang diduga berperan adalah EGF, TGF- β , b-FGF, PDGF dan IGF- λ .^{1,3,5}

2.4.3. Fase maturasi

Fase ini berlangsung dari hari ke 7 sampai dengan 1 tahun. Segera setelah matriks ekstrasel terbentuk dimulailah reorganisasi. Pada mulanya matriks ekstrasel kaya akan fibronektin. Terjadi migrasi sel substratum dan pertumbuhan sel ke dalam, penumpukan kolagen oleh fibroblas. Terbentuk asam hialuronidase dan proteoglikan dengan berat molekul besar berperan dalam pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matriks. Serabut kolagen pada permulaan terdistribusi acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi bundel fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Sesudah 5 hari periode jeda, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks sebagian besar tersusun dari fibronektin dan asam hialuronidase, terjadi peningkatan cepat dari kekuatan

tahanan luka karena fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Bagaimanapun, kekuatan akhir luka tetap lebih lemah dibanding dengan kulit utuh, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh. ^{1,3}

Pengembalian kekuatan tegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus menerus, remodeling serabut kolagen membentuk bundel kolagen lebih besar dan perubahan dari *cross linking* inter molekuler. Remodeling kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase. Kecepatan sintesis kolagen mengembalikan luka ke jaringan normal terjadi dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun. Remodeling aktif jaringan parut akan terus berlangsung sampai 1 tahun dan tetap berjalan dengan lambat seumur hidup.^{1,5} Pada proses remodeling terjadi reduksi secara perlahan pada vaskularisasi dan selularitas jaringan yang mengalami perbaikan sehingga terbentuk jaringan parut kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler. ^{1,3}

Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka

| Fase | Sel-sel yang berperan |
|-----------------------------------|--|
| Proses koagulasi | Platelet |
| Inflamasi | Platelet Neutrofil |
| Migrasi / proliferasi / granulasi | Makrofag Limfosit Fibroblas Sel epitelial Sel endotel |
| Maturasi / remodeling | Fibroblas |

2. 5. Pengaruh pemakaian anestetik lokal pada penyembuhan luka

Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri. Infiltrasi bupivakain 0,25% dosis tunggal di sekitar luka irisan dapat mengurangi nyeri pasien yang menjalani seksio sesaria 24 jam pasca operasi.⁵ Infiltrasi bupivakain 0,25% dosis tunggal di sekitar luka telah terbukti mampu mengurangi nyeri pasca operasi dan mengurangi kebutuhan analgetik opioid. Penggunaan konsentrasi 0,25% lebih efektif dibandingkan 0,5%, namun berbeda tidak bermakna dengan 0,125%,^{8,9} pada penelitian ini melibatkan beberapa variabel yaitu :⁹

1. Kontrol nyeri, dengan menggunakan *visual analoge pain score*.
2. Kebutuhan opioid lain.
3. Kepuasan pasien.
4. Lama rawat inap di rumah sakit.
5. Biaya perawatan di rumah sakit.

Penggunaan infiltrasi bupivakain pada dosis berulang dengan menyisipkan kateter epidural di bawah luka, efektif mengurangi nyeri, tanpa komplikasi infeksi, inflamasi lokal dan efek samping mual muntah.⁸

Nyeri secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamus, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem, otak dan sistem imun, adalah CRH, *Adreno Corticotropine Hormone* (ACTH), β -endorfin, substansi P, dan lain-lain. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRH yang dilakukan oleh *Paraventricularis Nucleus* (PVN), dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dari beberapa perubahan yang diinduksi nyeri. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA dan aksis SAM. Pada nyeri hebat sinyal berjalan melewati aksis HPA, menimbulkan disregulasi sistem imun sehingga terjadi penurunan ketahanan tubuh. Sinyal tersebut juga melewati aksis *sympatetic adrenal medulary* (SAM), menimbulkan gejala patofisiologis berupa respon otonom, yaitu suatu respon biologis yang diekspresikan dalam bentuk peningkatan tekanan darah, nadi, respirasi, keringat dingin dan spasme otot. Respon ini disebut sebagai respon darurat.¹

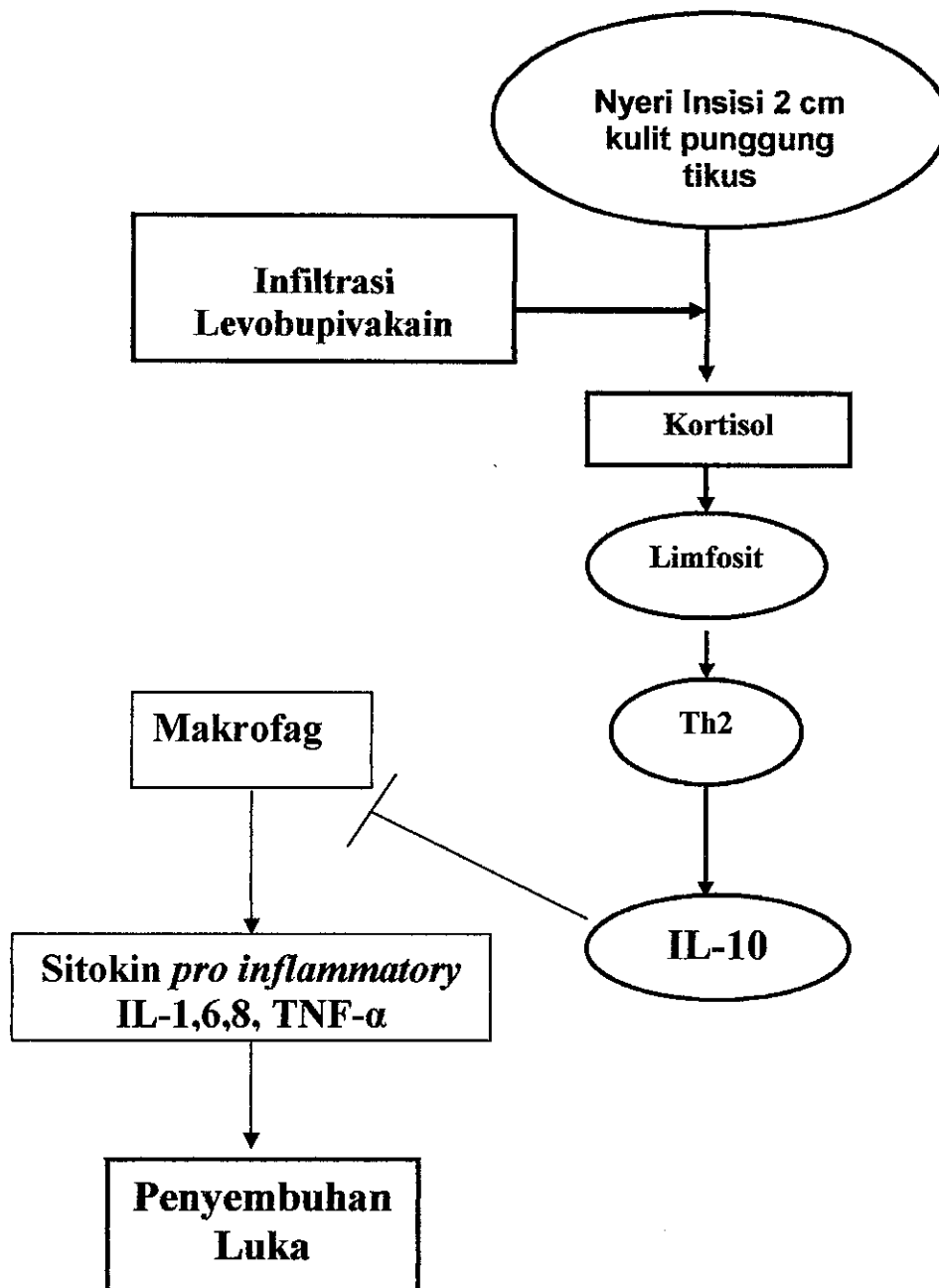
Impuls nyeri yang dihambat oleh anestetik lokal pada jalur transmisi bersifat lebih terkendali, tidak bersifat darurat. Otak akan memproyeksikan impuls ini dan memberikan sinyal ke hipokampus, amigdala, dan hipotalamus. Dalam sel PVN hipotalamus terjadi aktivasi dan berespon dengan melepaskan CRH yang tidak bersifat darurat. Selanjutnya CRH mengaktifkan kelenjar pituitari untuk melepaskan

ACTH dan β -endorfin masuk ke sirkulasi darah. Hormon CRH melalui serabut preganglioner simpatis mengaktifkan medula adrenal untuk melepaskan katekolamin dalam kadar normal sehingga tidak menimbulkan respon stres berlebihan. Hormon ACTH sampai ke adrenal, mengaktifkan korteks adrenal dan melepaskan glukokortikoid (kortisol) dalam dosis tidak tinggi. Kadar kortisol yang tidak tinggi tersebut tidak lagi menimbulkan supresi atau inhibisi tetapi berubah menimbulkan stimulasi atau eksitasi.^{1,31=1,29} *Cluster Differentiation* (CD4) akan terstimulasi kortisol menjadi lebih banyak dan aktif, begitu pula *T Helper* (TH1), TH2 dan TH3, semuanya menjadi lebih aktif. Peningkatan aktivitas sel B dibantu juga oleh TH2 yang mendapat stimulasi dari TH1 karena TH2 mengandung IL-2R dan berkaitan dengan IL-2 yang disekresi oleh TH1. IFN- γ yang disekresi TH1 jumlah dan aktivitasnya juga meningkat, sitokin ini bekerja dalam sel B dan aktif menginduksi perubahan *immunoglobulin* (Ig) menjadi *immunoglobulin G1* (IgG1), suatu isotipe Ig yang berikatan erat dengan reseptor dari permukaan makrofag, sehingga dapat bekerja sebagai opsonin yang poten.^{1,29} Peran TH3 selain mengaktifkan pertahanan mukosa, juga lebih menonjol peran biologis TGF- β yaitu meningkatkan ECM, meningkatkan kolagenasi dan mempercepat remodeling untuk penyembuhan luka. Pada saat yang sama makrofag aktif melepaskan beberapa sitokin untuk pertahanan tubuh dan penyembuhan jaringan yang rusak.²⁹

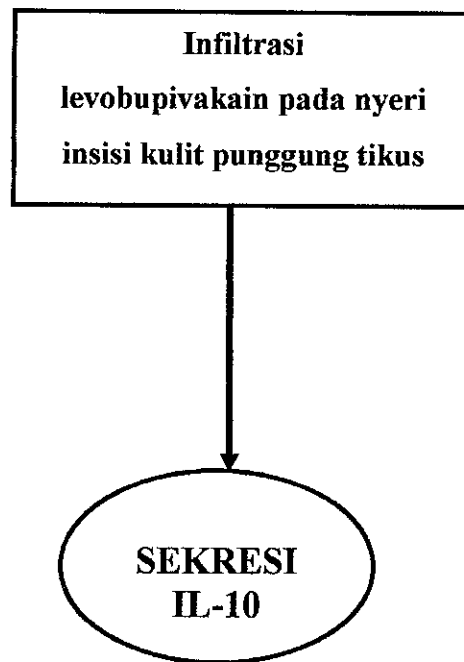
BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka teori



3.2. Kerangka konsep



Hipotesis

Sekresi IL-10 di jaringan sekitar luka pada kelompok dengan infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi levobupivakain.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan disain "*Randomized Post test only control group design*". Kelompok penelitian dibagi menjadi tiga yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2), penjelasan sebagai berikut :

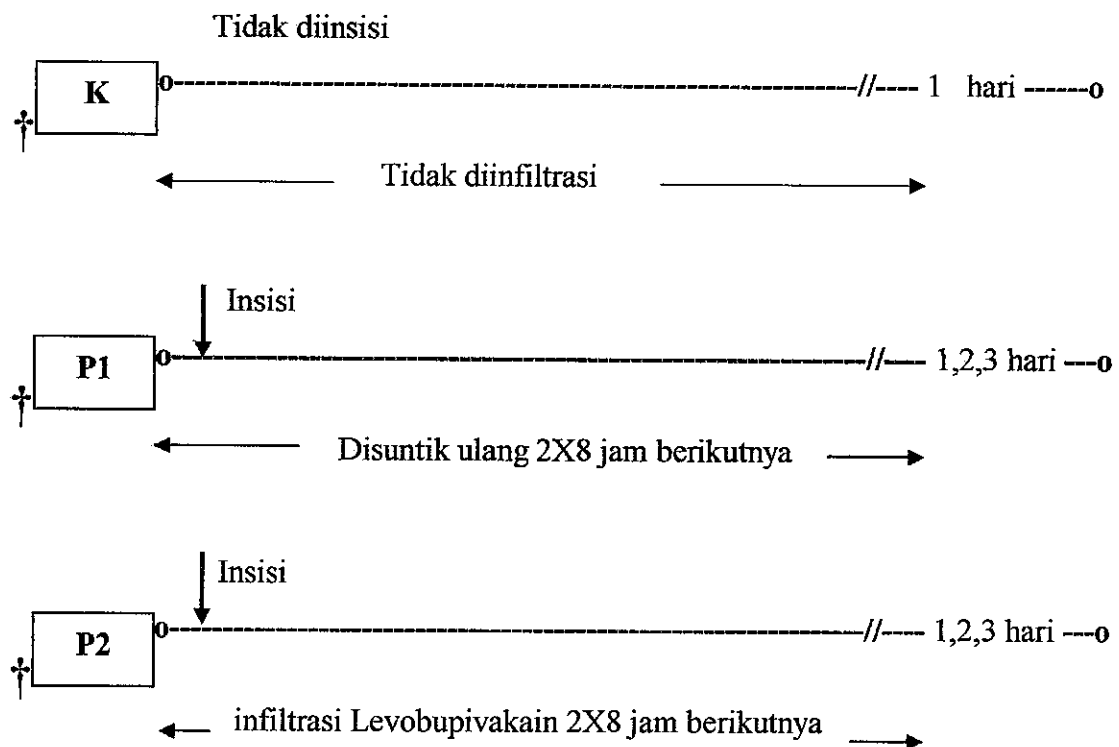
K : Kelompok Kontrol, tikus Wistar yang tidak dilakukan insisi dan tidak diinfiltrasi.

P1 : Kelompok perlakuan 1, tikus Wistar yang dilakukan insisi sepanjang 2 cm,

Disuntik ulang tanpa obat 2x setiap 8 jam berikutnya.

P2 : Kelompok Perlakuan 2, tikus Wistar yang dilakukan insisi sepanjang 2 cm, diberikan infiltrasi levobupivakain di sekitar luka, diinfiltrasi ulang 2X setiap 8 jam berikutnya.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:



4.2. Sampel penelitian

Hewan coba adalah tikus jenis Wistar yang diperoleh dari Fakultas Peternakan UGM, Yogyakarta.

Kriteria inklusi:

- Tikus Wistar
- Keturunan murni
- Umur dua sampai dua setengah bulan
- Berat badan 250-300 gram.
- Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak

Kriteria eksklusi:

- Sakit (gerakan tidak aktif) selama masa adaptasi 7 hari
- Mati selama perlakuan berlangsung (*drop out*).

Besar sampel : menurut rumus WHO tiap kelompok minimal 5 ekor. Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan 35 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok.

Randomisasi : 35 tikus dikelompokkan secara random menjadi tiga kelompok yaitu:

- Kelompok kontrol (K) : 5 ekor
- Kelompok perlakuan 1 (P1) : 15 ekor
- Kelompok perlakuan 2 (P2) : 15 ekor

4.3. Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 6 bulan. Perlakuan dan proses pengambilan jaringan pada tikus dilakukan di Unit Pemeliharaan Hewan Coba Bagian Histologi Universitas Diponegoro Semarang, fiksasi dan proses pewarnaan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Serta interpretasi hasil dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

4.4. Variabel penelitian

4.4.1. Variabel bebas

Infiltrasi levobupivakain 0,25%.

4.4.2. Variabel tergantung

Skor histologi IL-10

4.5. Definisi operasional

1. Levobupivakain adalah obat anestesi lokal yang mempunyai masa kerja panjang. Sediaan berupa Chirokain 0,5% yang diencerkan dengan aquades dengan volume sama banyak sehingga menjadi larutan 0,25%.
2. Infiltrasi levobupivakain adalah pemberian suntikan Chirokain 0,25% di sekitar luka $\pm 0,5$ cm dari tepi luka dengan spuit tuberkulin sepanjang luka insisi sampai kedalaman subkutan dengan dosis 12,6 $\mu\text{g}/\text{gram}$ BB tikus.
3. Luka insisi yaitu irisan pada punggung tikus regio lumbalis sepanjang 2 cm dengan kedalaman sampai subkutan. Dilakukan jahitan sebanyak 5 jahitan tunggal sederhana setiap $\pm 0,5$ cm untuk menghilangkan celah antar luka dengan benang side 000 dan jarum traumatik.
4. Pemeriksaan imunohistokimia IL-10 menggunakan standar yang ada di Laboratorium Patologi Anatomi UNS. Deteksi dilaksanakan secara kromogenik berdasarkan pada intensitas warna dan luas area yang timbul setelah slide direaksikan dengan SA-HRP dan DAB (*diaminobenzidine*) dan H_2O_2 sebagai substrat enzim peroksidase. Pengamatan dengan mikroskop cahaya pembesaran 400X, yang dilengkapi dengan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 dan kamera digital DP-70 dan memakai *software* OLYSIA, intensitas warna dan area IL-10 dapat diketahui sebagai nilai semi kuantitatif. Dipilih lima lapang pandang yang paling banyak area

positifnya searah jarum jam. Setiap lapang pandang dihitung nilai skor histologi untuk memperoleh sekresi IL-10.

4.6. Bahan dan alat penelitian

4.6.1. Bahan untuk perlakuan

Hewan coba adalah tikus Wistar dengan umur 2,5 sampai 3 bulan dan berat 250-300 gram. Tikus Wistar adalah salah satu galur ratus-ratus, hidup di benua Amerika. Banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian di bidang kedokteran, pengobatan, dan kedokteran hewan (Ensik.Nas.Ind.1991 hal. 308).

Tikus diperoleh dari Fakultas Peternakan UGM. Selama percobaan, hewan coba ditempatkan pada kandang dan diberi pakan standar dan minum secukupnya.

4.6.2. Bahan untuk eksisi-biopsi

- Inkubator 56⁰ C
- Mikrotom
- Kaca obyek dan penutup

4.6.3. Bahan untuk pemeriksaan imunohistokimia

- a) Antibodi primer : *Mouse monoclonal antibody (MoAb) anti IL-10.*
- b) *Novocastra detection kit.*
- c) Pensil DAKO.
- d) *Waterbath.*
- e) Tempat pewarnaan dan cucian.
- f) Pipet mikro.
- g) *Tissue.*

- h) *Freezer.*
- i) *Timer.*
- j) Tabung plastik dan pipet .
- k) Mikroskop Olympus dengan kamera DP-70 dilengkapi *software olysia.*
- l) *Staining jar.*
- m) *Poly-L-Lysine slide.*
- n) Deck glass.

4.7. Pelaksanaan penelitian

4.7.1. Cara perlakuan

Sejumlah 35 ekor tikus Wistar dilakukan adaptasi di laboratorium dengan dikandangkan secara individual dan diberi pakan standar secukupnya selama 7 hari. Tikus dibagi menjadi tiga kelompok yang dilakukan secara acak masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus untuk Kelompok Kontrol, 15 ekor tikus untuk Kelompok Perlakuan 1 dan 15 ekor tikus untuk Kelompok Perlakuan 2. Perlakuan yang diberikan adalah:

K : Kelompok Kontrol, tikus tidak dilakukan insisi, tidak disuntik.

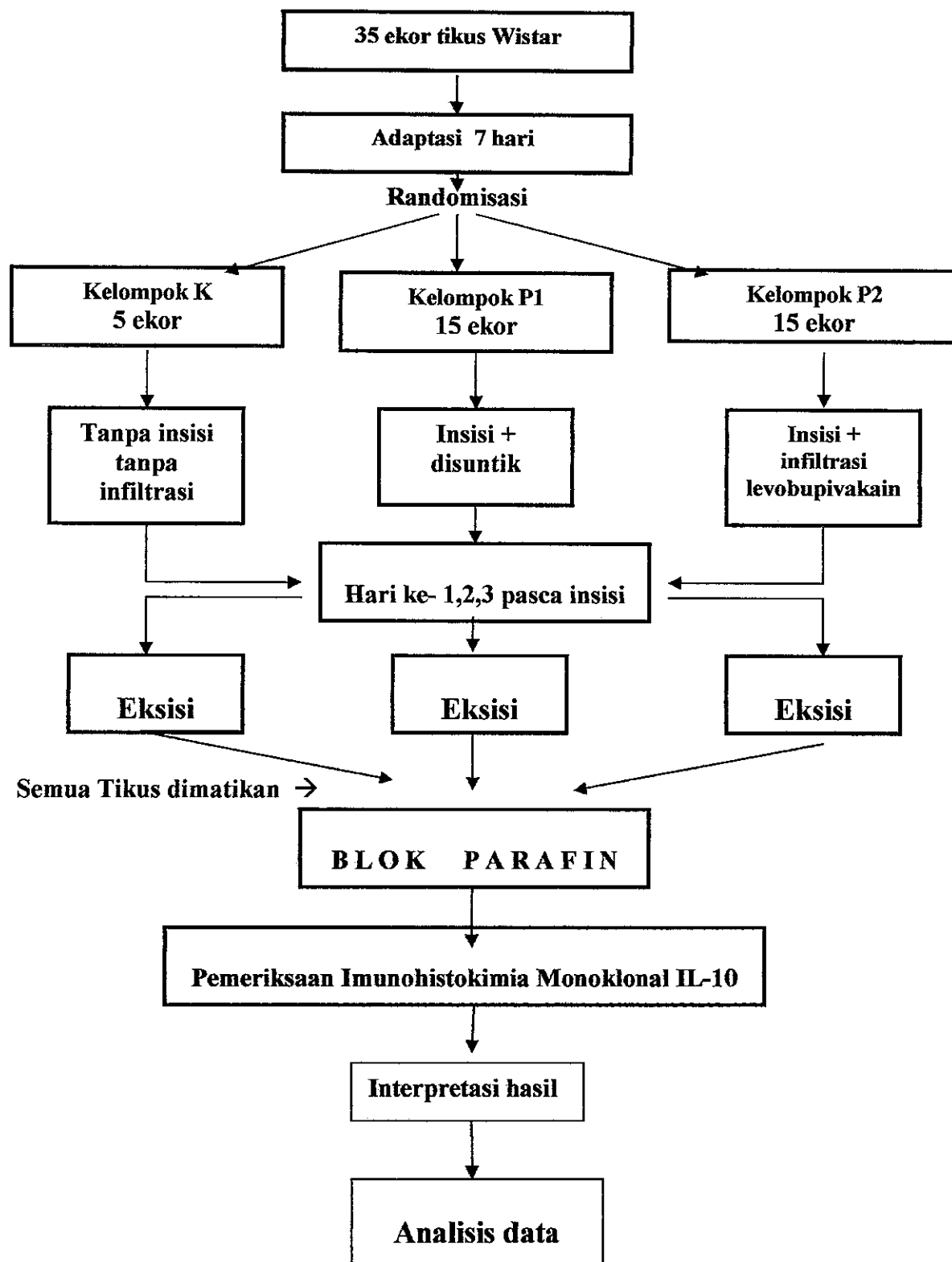
P1 : Kelompok Perlakuan 1, tikus yang dilakukan insisi, disuntik ulang 2x setiap 8 jam berikutnya.

P2 : Kelompok Perlakuan2, tikus yang dilakukan insisi, diberikan infiltrasi levobupivakain di sekitar luka, diinfiltresi ulang 2X setiap 8 jam berikutnya.

Setelah adaptasi selama 7 hari , tikus-tikus dari kelompok perlakuan maupun kontrol dibius dengan menggunakan eter. Sesudah terbius, bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadine. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutan. Luka irisan dibersihkan dan dioles larutan betadin, kemudian luka ditutup dengan 5 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang side. Infiltrasi dilakukan pada kelompok P2 berupa larutan levobupivacain 0,25% memakai spuit tuberkulin di sekitar luka irisan. Sedangkan pada kelompok P1 suntikan dengan spuit tuberkulin tanpa obat. Selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadine dan dirawat. Pasca bedah diberikan *penicillin oil* 15 mg, intra muskular. Pengulangan penyuntikan baik dengan atau tanpa levobupivacain dilakukan sebanyak dua kali dengan tenggang waktu 8 jam.

Pada hari ke 1, 2 dan 3 pasca perlakuan, pada ketiga kelompok masing-masing diambil 5 ekor. Dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Setelah tikus terbius kemudian dibuat eksisi-biopsi. Jaringan biopsi diproses menjadi preparat histologik setelah dibuat dengan blok parafin. Dilakukan pengecatan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal anti IL-10. Interpretasi hasil dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UNS Surakarta.

4.8. Alur kerja



4.9. Prosedur pemeriksaan

4.9.1. Prosedur eksisi-biopsi

Pada hari ke 1,2,3 pasca perlakuan, pada kedua kelompok masing-masing diambil 5 ekor. Dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Setelah tikus terbius kemudian pada jaringan bekas irisan diusap dengan alkohol 70% lalu dibuat eksisi-biopsi kira-kira 0,5 cm persegi melintasi garis irisan pada bagian tengah dan tepi. Jaringan biopsi diproses menjadi preparat histologik setelah dibuat dengan blok parafin.

4.9.2. Prosedur pembuatan preparat histopatologi

a. Fiksasi

Jaringan eksisi-biopsi dimasukkan kedalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam buffer Natrium asetat sampai mencapai pH 7,0). Waktu fiksasi jaringan 18 – 24 jam. Setelah fiksasi selesai, jaringan dimasukkan dalam larutan aquadest selama 1 jam untuk proses penghilangan larutan fiksasi.

b. Dehidrasi

Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat. Jaringan menjadi lebih jernih dan transparan. Jaringan kemudian dimasukkan dalam larutan alkohol-xylol selama 1 jam dan kemudian larutan xylol murni selama 2x2jam.

c. Impregnasi

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2x2jam

d. Embedding

Jaringan ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58⁰ C, ditunggu sampai parafin padat. Jaringan dalam parafin dipotong setebal 4 µm dengan mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca obyek yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat. Jaringan pada kaca obyek dipanaskan dalam inkubator suhu 56-58⁰ C sampai parafin mencair.

4.9.3 Prosedur pembuatan preparat imunohistokimia

Merupakan metode pemeriksaan pewarnaan jaringan berdasar kerja imunoenzym untuk memeriksa adanya antigen atau mencari lokasi antigen dalam spesimen.³² Imunohistokimia dilaksanakan berdasarkan pada interaksi antigen-antibodi yang terjadi antara marker IL-10 dengan antibodi primer. Deteksi yang digunakan adalah deteksi kromogenik berdasarkan warna yang timbul sebagai akibat reaksi ensimatis yang terjadi antara enzim HRP dengan substratnya. Sistem deteksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Novocasta.

Fiksasi sediaan dilaksanakan dengan tehnik presipitasi menggunakan etanol dan dengan pengikatan silang menggunakan *paraformaldehyde* 2%. *Pretreatment* sediaan sesudah deparafinisasi dan rehidrasi. Langkah ini dilaksanakan dengan inaktivasi enzim peroksidase endogenous dengan menggunakan 3% H₂O₂ dalam metanol atau PBS selama 30 menit. *Blocking* dilakukan dengan menggunakan bufer *blocking* TNB selama 30 menit pada temperatur kamar. Pemberian antibodi primer dilakukan pada suhu kamar selama 30 menit. Pencucian slide dilaksanakan dengan bufer PBS pH = 7,4 selama 3X5 menit pada temperatur kamar. Slibe selanjutnya direaksikan dengan

antibodi skunder yang berlabel Biotin. Deteksi dilaksanakan secara kromogenik berdasarkan pada intensitas warna yang timbul setelah slide direaksikan dengan SA-HRP dan DAB (*diaminobenzidine*) dan H₂O₂ sebagai substrat enzim peroksidase.

Prosedur lengkap ada pada lampiran 2.

4.9.4 Prosedur pembacaan preparat.

Pengamatan dilaksanakan dengan mikroskop cahaya dalam skala pembesaran 400X. Dipilih lapang pandang yang paling banyak area positifnya, selanjutnya dihitung (dilakukan *cropping*) jumlah area positif pada lima lapang pandang searah jarum jam. Dengan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai *software* OLYSIA, intensitas warna dan area IL-10 dapat diketahui. Tingkat ekspresi ditentukan secara kuantitatif sebagai nilai rata-rata pengamatan. Masing masing sediaan diteliti sebanyak lima lapang pandang dan nilai dari setiap lapang pandang akan dihitung sebagai nilai skor histologi untuk memperoleh ekspresi IL-10 secara kuantitas.

Sistem perhitungan skor histologi adalah sebagai berikut:³⁰

Penilaian skor histologi IL-10 berdasar presentasi dan intensitas.

Jika Persentasi : 0 : tidak ada area positif

1 : area positif 1 – 25%

2 : area positif 26 – 50%

3 : area positif 51 – 75%

4 : area positif 76 – 100%

Intensitas : 0 : tidak terwarnai / negatif.

1 : positif lemah.

2 : positif sedang.

3 : positif kuat.

Nilai ekspresi IL-10 ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Skor} = (\text{IK} \times \text{PK}) + (\text{IS} \times \text{PS}) + (\text{IL} \times \text{PL}) + (\text{IN} \times \text{PN})$$

I = Intensitas.

P = Persentase (Luas Area dalam μm^2)

K = kuat

L = lemah

S = sedang

N= negatif

(Leake, *et al.* 2000)

Skor dari kelima lapang pandang kemudian dirata-rata untuk menentukan nilai ekspresi secara kuantitatif dari sediaan tersebut.

4.10. Analisis data

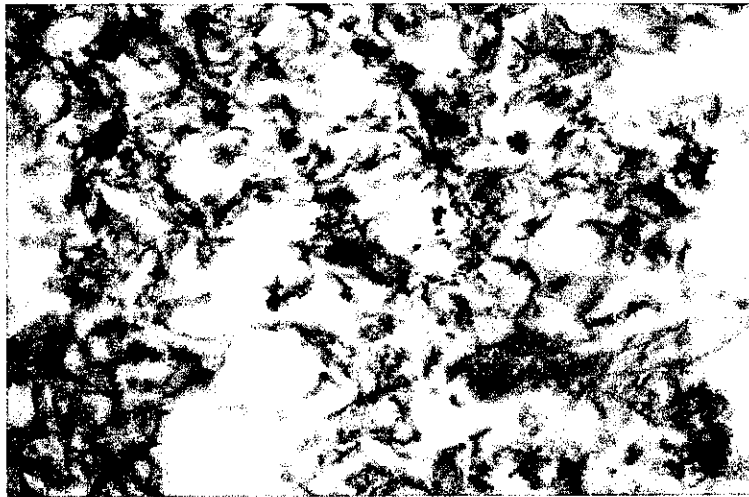
Data dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan komputer SPSS 13.0 *for windows* dan dinyatakan dalam rerata \pm simpang baku (*mean* \pm SD). Kemudian dilakukan uji beda skor histologi IL-10 antar kelompok dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Dengan batas derajat kemaknaan $p < 0.05$ dengan 95 % interval kepercayaan dan penyajian dalam bentuk tabel dan grafik.

BAB 5

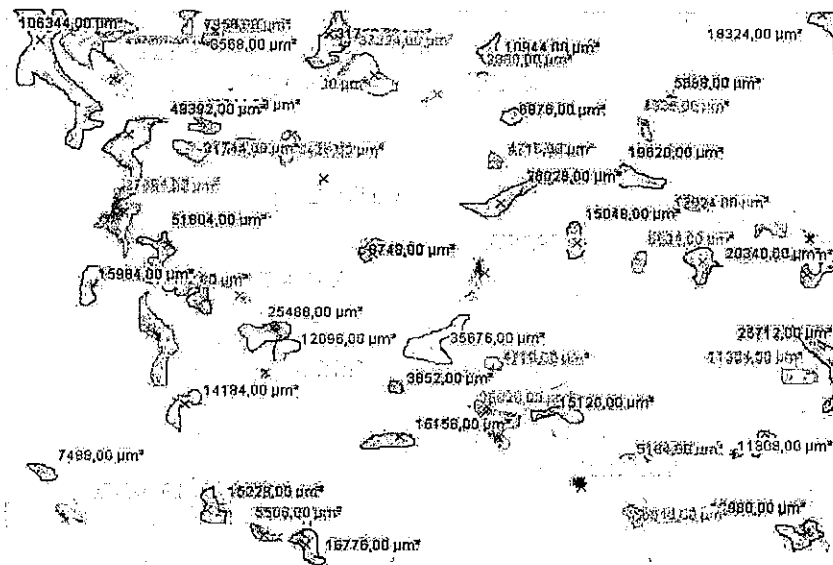
HASIL PENELITIAN

5.1. HASIL PENELITIAN

Telah dilakukan pengecatan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi monoklonal *mouse (MoAb) anti IL-10* terhadap 35 sediaan jaringan biopsi kulit tikus Wistar. Masing-masing kelompok diwakili 5 sediaan uji. Dengan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai *software* OLYSIA, intensitas warna dan area IL-10 dapat diketahui sebagai nilai kuantitatif.



Gambar 2. Contoh hasil foto hari ketiga kelompok tanpa levobupivakain (kode preparat 3P1.3D)



Gambar 3. Contoh hasil *cropping* dengan menggunakan *software* OLYSIA
Preparat dengan kode 3P2.1B.

Nilai intensitas warna dikelompokkan sebagai berikut:

- intensitas kuat : 45 - 85
- intensitas lemah : 86 - 125
- intensitas sedang : 126 - 165
- intensitas negatif : 166 - 206

Masing-masing sediaan dilihat 5 lapang pandang, dan nilai setiap lapang pandang akan dihitung sebagai nilai skor histologi guna menentukan nilai sekresi IL-10 secara semi kuantitatif.

Sistem perhitungan dengan penentuan skor histologis adalah sebagai

berikut: Jika presentasi luas area IL-10 adalah:

- 0 – 25 % diberi nilai 1
- 25 – 50 % diberi nilai 2
- 50 – 75 % diberi nilai 3
- 75 – 100 % diberi nilai 4

Intensitas ekspresi IL-10 dinilai sebagai:

- ☉ 0 = negatif
- ☉ 1 = positif lemah
- ☉ 2 = positif sedang
- ☉ 3 = positif kuat

Nilai skor histologis tampilan IL-10 ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Skor Histologis: } (IK \times PK) + (IS \times PS) + (IL \times PL) + (IN \times PN)$$

dengan: P = persentase. I = intensitas

K = intensitas positif kuat. S = intensitas positif sedang

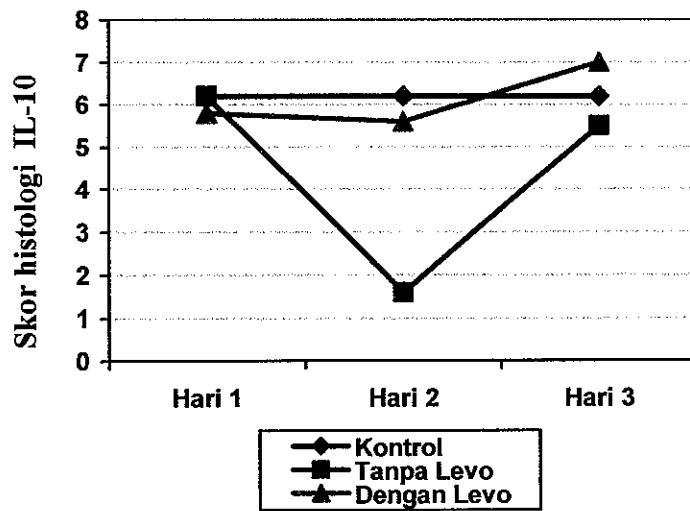
L = intensitas positif lemah. N = intensitas negatif. (Leake, *et al.*, 2000).

Skor histologis tampilan IL-10 dari kelima lapang pandang kemudian diambil rerata untuk menentukan ekspresi secara kuantitatif dari sediaan tersebut. Hasilnya adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil pengamatan rerata \pm SD (Median) skor histologi IL-10.

| NO | KODE SAMPEL | HARI KE 1 | HARI KE 2 | HARI KE 3 |
|----|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1. | Kontrol | 6,04 \pm 0,52 (6,20) | 6,04 \pm 0,52 (6,20) | 6,04 \pm 0,52 (6,20) |
| 2. | Tanpa Levo | 6,40 \pm 0,68 (6,20) | 3,00 \pm 2,11 (1,60) | 4,63 \pm 1,88 (5,50) |
| 3. | Dengan Levo | 5,48 \pm 2,72 (5,80) | 5,36 \pm 1,25 (5,60) | 6,40 \pm 0,82 (7,00) |

Keterangan : Satuan dalam skor histologi.



Gambar 4. Grafik rerata skor histologi IL-10.

Analisis Data

5.2.1. Uji Homogenitas

Uji homogenitas (uji beda) ditujukan untuk mengetahui apakah data parameter klinis atau laboratoris dari ketiga kelompok berasal dari populasi yang homogen.

Tabel 3. Hasil uji berat badan hewan coba dengan *Kruskal Wallis Test*.

| | BB rata2 |
|----------------|----------|
| X ² | .620 |
| Df | 2 |
| Nilai P | .733 |

Didapat bahwa berat badan dari hewan coba dari kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 berbeda tidak bermakna ($p=0,733$; $p>0,05$). Berarti ketiga kelompok berasal dari populasi yang homogen.

5.2.2. Uji Normalitas

Uji normalitas ditujukan untuk mengetahui apakah data parameter klinis atau laboratoris berdistribusi normal. Pengujian skor histologi IL-10 dilakukan dengan tehnik *Shapiro-Wilk*.

Tabel 4. Uji normalitas data skor histologi.

| | HARI | Uji statistik | | |
|----------------------|------|---------------------|----|-------------|
| | | <i>Shapiro-Wilk</i> | Df | Sig. |
| Kelompok Kontrol | 1 | .894 | 5 | .376 |
| | 2 | .672 | 5 | .005 |
| | 3 | .954 | 5 | .765 |
| Kelompok Tanpa Levo | 1 | .894 | 5 | .376 |
| | 2 | .754 | 5 | .033 |
| | 3 | .788 | 5 | .065 |
| Kelompok Dengan Levo | 1 | .894 | 5 | .376 |
| | 2 | .870 | 5 | .268 |
| | 3 | .722 | 5 | .016 |

Dari tabel 4 menunjukkan kelompok kontrol, kelompok tanpa levobupivakain dan kelompok dengan levobupivakain varian datanya tidak normal.

5.2.3. Uji beda Sekresi IL-10

Tabel 5. Hasil uji beda *Kruskal Wallis Test* skor histologi IL-10 antara kelompok tanpa levobupivakain dan kelompok dengan levobupivakain.

| | Hari 1 | Hari 2 | Hari 3 |
|-----------|--------|-------------|--------|
| X^2 | .513 | 7.552 | 3.432 |
| <i>df</i> | 2 | 2 | 2 |
| Nilai P | .774 | .023 | .180 |

Dari tabel 5 di atas menunjukkan pada hari pertama ($p=0.774$; $p>0.05$) dan pada hari ke tiga ($p=0.180$; $p>0.05$) berbeda tidak bermakna. Sedangkan pada hari ke 2, skor histologi IL-10 antara kelompok tanpa levobupivakain dan kelompok dengan

levobupivakain berbeda bermakna ($p=0.023$; $p<0.05$). Uji lebih lanjut dengan test Mann-Whitney U juga menunjukkan berbeda bermakna (tabel 6).

Hal ini menunjukkan bahwa pada luka insisi hewan coba dengan infiltrasi levobupivakain sekresi IL-10 pada hari ke 2 secara bermakna lebih banyak di banding pada hewan coba tanpa infiltrasi anestesi lokal levobupivakain.

Tabel 6. Hasil uji beda *Mann-Whitney U Test* skor histologi IL-10 antara Kelompok tanpa levo dan kelompok dengan levo pada hari kedua.

| | HARI ke 2 |
|-----------------------|-----------|
| <i>Mann-Whitney U</i> | 2.000 |
| <i>Wilcoxon W</i> | 17.000 |
| Z | -2.207 |
| Nilai P | .027 |

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Dalam penelitian ini dilakukan pada 35 ekor tikus betina galur Wistar dewasa yang dibuat insisi pada punggung, kemudian dilakukan infiltrasi anestesi lokal levobupivakain pada sekitar luka dan dilihat perbedaannya terhadap skor histologi IL-10 pada hari kesatu, kedua dan ketiga.

Untuk uji homogenitas kedua kelompok dengan variabel yang dapat diukur yaitu berat badan, hasil statistik menunjukkan berbeda tidak bermakna dengan $p=0.733$; $p>0.05$ (tabel 3). Berarti kedua kelompok berasal dari populasi yang homogen, pada umumnya tikus berasal dari satu indukan dimana mempunyai karakteristik yang mirip.

Pengambilan biopsi jaringan pada luka dilakukan pada hari satu, dua dan tiga, karena IL-10 berperan pada fase inflamasi proses penyembuhan luka sehingga pada pemeriksaan imunohistokimia diharapkan terdapat IL-10 dalam jumlah yang bermakna untuk dibandingkan antara yang diberi perlakuan dan tidak.

Menurut Constantinnides P, (1994) bahwa luka insisi akan menimbulkan nyeri. Nyeri akut bila tidak dikelola dengan tepat akan berakibat memperpanjang fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortikoid dan resistensi insulin. Nyeri akan merangsang kelenjar pituari melepaskan *adreno corticotropin hormon* (ACTH) yang selanjutnya akan mengaktifkan kelenjar adrenal sehingga melepas hormon steroid

(kortisol). Hormon steroid yang tinggi akan menimbulkan disregulasi sistem imun berakibat terjadi penurunan ketahanan tubuh yang dapat menurunkan sekresi IL-10, sehingga menghambat penyembuhan luka.

Dengan menghambat jalur nyeri menggunakan infiltrasi levobupivakain disekitar luka insisi, diharapkan sistem imun tidak terganggu sehingga skor histologi IL-10 tidak menurun dan penyembuhan luka dapat lebih baik. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Mulyata S, (2002) stres pada hewan coba menyebabkan hambatan kesembuhan luka pasca episiotomi. Hewan coba tidak stres, kesembuhan lukanya lebih cepat. Vintar N, (2002) melaporkan penggunaan lokal anestesi bupivakain lewat kateter dalam luka akan efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia iunguinalis dan penyembuhan luka lebih baik.

Penelitian ini, bertujuan membuktikan perbedaan sekresi IL-10 dengan dan tanpa infiltrasi levobupivakain pada nyeri pasca insisi disekitar luka. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hari kedua rerata dari kelompok dengan levobupivakain lebih tinggi (5.36 ± 1.25) dari kelompok tanpa levobupivakain (3.00 ± 2.11).

Analisis statistik skor histologi IL-10 pada jaringan sekitar luka dipengaruhi oleh pemberian infiltrasi anestesi lokal levobupivakain, perbedaannya bermakna $p=0,023$; $p<0.05$ pada hari kedua (tabel 5) yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney $p=0,027$; $p<0.05$ (tabel 6) , artinya terdapat perbedaan skor histologi IL-10 dengan infiltrasi levobupivakain dibanding tanpa infiltrasi levobupivakain hari kedua pada nyeri pasca insisi sekitar luka. Hal ini menunjukkan bahwa pada luka insisi hewan

coba yang diinfiltrasi anestesi lokal levobupivakain jumlah IL-10 secara bermakna lebih tinggi di banding pada hewan coba tanpa infiltrasi anestesi lokal levobupivakain pada hari kedua.

Sato Y (1999) mengemukakan bahwa kadar IL-10 pada luka akut akan meningkat 3 jam setelah insisi kemudian turun normal dan meningkat lagi pada 72 jam setelah insisi. Pola kurva yang terbentuk (pola huruf V) mirip dengan pola pada penelitian ini tanpa infiltrasi levobupivakain. Sedangkan pada kelompok dengan infiltrasi levobupivakain pola membentuk garis lurus mendatar, berarti sekresi IL-10 tetap dipertahankan untuk menekan agar fase inflamasi tidak memanjang.

IL-10 terutama diproduksi oleh Th2 akibat rangsangan aktivasi makrofag. Sedangkan makrofag muncul pertama 48 – 96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke 3. Adanya ekspresi IL-10 pada hari pertama baik kelompok kontrol, tanpa levobupivakain dan kelompok dengan levobupivakain karena IL-10 juga diproduksi oleh sel-sel B dan Keratinosit serta Neutrofil meskipun dalam jumlah yang sedikit.

Hollman (2000) mengemukakan bahwa makrofag tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Nyeri yang tak dikelola dengan baik menyebabkan kortisol tetap tinggi, hal ini mengakibatkan depresi pada Th2 sehingga produksi IL-10 akan menurun. Akibatnya tidak ada yang menahan makrofag dalam memproduksi sitokin pro-inflamasi sehingga fase inflamasi relatif menjadi lebih panjang .

Dengan infiltrasi levobupivakain menyebabkan blok/terputusnya transmisi nyeri sehingga respon akibat nyeri insisi tidak terjadi, seperti tampak pada gambar 2, sekresi IL-10 mendekati harga kontrol.

Setelah makrofag muncul (48 jam setelah insisi) mengakibatkan Th2 memproduksi IL-10, pada kelompok dengan levobupivakain mencapai harga sesuai kontrol pada hari kedua lebih, sedangkan pada kelompok tanpa levobupivakain pada hari ketiga belum mencapai harga sesuai kontrol (gambar 2). Dengan kata lain (onset) hambatan terhadap makrofag terjadi lebih cepat pada kelompok dengan levobupivakain dibandingkan tanpa levobupivakain. Percepatan hambatan ini akan mempersingkat fase inflamasi dan diharapkan proses penyembuhan menjadi lebih singkat.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Sekresi IL-10 di jaringan sekitar luka dengan infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibandingkan tanpa infiltrasi levobupivakain pada nyeri pasca insisi.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disarankan sebagai berikut:

1. Pada luka insisi operasi dilakukan infiltrasi anestesi lokal levobupivakain pada sekitar luka karena sekresi IL-10 akan tetap dipertahankan dibandingkan tanpa levobupivakain pada jaringan sekitar luka sehingga penyembuhan luka menjadi lebih baik.
2. Dilakukan penelitian dengan jangka waktu yang lebih lama untuk mengetahui lebih banyak mekanisme biomolekuler pengaruh infiltrasi levobupivakain terhadap penyembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. Philadelphia : WB Saunders Co, 1999 : 201-21.
2. Constantinnides P. General pathobiology. 1st ed. Norwalk Connecticut : Appleton and Lange, 1994 : 173-86.
3. Mast AB. Normal wound healing. In : Achauer BM, Eriksson E, eds. Plastic Surgery, Indications, Operations and Outcomes. Mosby : Mosby Inc, 2000 : 37-53
4. Elenkov IJ, Webster E, Torpy DJ, et al. Stress, corticotropin-releasing hormone, glucocorticoids, and the immune/inflammatory response : acute and cronic effects. Annals of the New York academy of sciences 1999 ; 876 : 1-13. [on line]: URL. <http://annalsnyas.org/cgi/876/1/1> .
5. Bardram L, Funch-Jensen P, Kehlet H. Recovery after laparoscopic colonic surgery with epidural analgesia and early oral nutrition and mobilisation. Lancet 1995 ; 345 : 763-4.
6. Sato Y, Ohshima T, Kondo T. Regulatory of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflamatory response of murine wound healing. Biochem Biophys Res Commun. 1999 Nov;265(1):194-9
7. Pedersen D. Accelerated surgical stay programe. Annals of Surgery 1994 ; 219 : 374-81.

8. Christie JM, Chen GW. Secondary hyperalgesia is not affected by wound infiltration with bupivacaine. *Can J of An* 1993 ; 40 : 1034-37.
9. Pettersson N, Berggren P, Larsson M, et al. Pain relief by wound infiltration with bupivacaine or high dose ropivacaine after inguinal hernia repair. *Reg Anesth Pain Med* 1999 ; 24 : 569-75
10. Bultmann M, Streich R, Risse A, et al. Postoperative analgesia in children after hernioplasty, wound infiltration with different concentrations of bupivacaine : a pilot study (German). *Anaesthesist* 1999 ; 48 : 439-43
11. Kresno SB. *Imunologi : Diagnosis dan prosedur laboratorium*. FKUI 2001; ed.4 : 7-12.
12. Sheran P, Ffarcsi GM, Hall MB. Cytokines in anaesthesia. Reviewarticle. *Br J Anaesth*. 1997;78:201-19 Vintar N, Pozlep G, Rawal N, et all. Incisional self-administration of bupivacaine or ropivacaine provides effective analgesia after inguinal hernia repair. *Can J Anaesth* 2002 ; 49: 481-6.
13. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 4th ed. Philadelphia : WB Saunders Co, 2000 : 251-3.
14. Schwacha MG, Schneider CP, Bland KI. Resistance of macrophage to the suppressive effect of interleukin-10 following thermal injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281: C1180-7.
15. Galindo MA. Levobupivacain, a long acting local anaesthetic, with less cardiac and neurotoxicity. [on line]: URL. <http://www.ndaa.ox.ac.uk/wfsa/html/u14/u1407-01.html> .

16. Doctor's guide. Chirocaine anesthetic use to post op pain management. Global edition. 2000. [on line]: URL. <http://www.pslgroup.com/dg/195B36.htm> .
17. Stoelting RK. Local Anesthetics. In : Stoelting RK. Pharmacology and physiology in anesthetic practice. 3rd ed. Philadelphia : JB Lippincott, 1999 : 45-67.
18. Field HL. Pain. 1st ed. New York : Mc Graw Hill book Co, 1987 : 41-51.
19. Devor M. Pain mechanism and pain syndrome. In : Champbell JN. Pain 1996 an update review. Seattle : IASP press, 1996 : 103-112
20. Raymond RG, William GB. Pain management. In: Morgans GE, Mikhail MS, eds. Clinical anesthesiology. 1st ed. New Jersey : Prentice hall int. Inc, 1992 : 269-73.
21. Melzacks R, Wall P. The gate control theory of pain. In : Melzacks R, Wall P. The challenge of pain. 1st ed. Penguin education, 1984 : 223-61.
22. Pleuvry BJ. The chemical modulation of nociceptive responses and pain. In : Healy TEJ, Cohen PJ, eds. A Practice of anesthesia. 6th ed. London : Edward Arnold, 1995 : 80-8.
23. Cervero F. Mechanism of visceral pain, past and present. In : Gebhart GF. ed. Visceral pain, progress in pain research and management. Seattle : IASP press, 1995 ; 5 : 469-88.
24. Bonica JJ. Anatomic and physiologic basis of pain, nociception and pain. In : Bonica JJ. ed. The management of pain. Pennsylvania : Lea and Febiger, 1990 : 12-28.

25. Notosoedirdjo M. Nyeri dan tatalaksana penanggulangannya. Makalah Pertemuan Klinik Ikatan Ahli Kesehatan Jiwa Cabang Surabaya. Malang, 1996.
26. Edward W, Hahn CEW, Adams AP. Principle and practice series patients controlled analgesia. London : BMJ Publ group, 1995 : 1-21.
27. Kresno SB. Imunologi, diagnosis dan prosedur laboratorium. 4th ed. Jakarta : Balai penerbit FK UI, 2003 : 4-32.
28. Hollmann, Markus W, Durieux E. Local anesthetics and the inflammatory response : A new therapeutic indication ?. *Anesthesiology* 2000 ; 93 : 858-75.
29. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Edisi 2. Jakarta : Sagung seto, 2002 : 247-9
30. Scheres H.M.E, Goei A.F.P.M, Rousch M.J.m. Quantification of oestrogen receptors in breast cancer: radiochemical assay on cytosols and cryostat sections compared with semiquantitative immunocytochemical analysis. *J Clin Pathol* 1988;41:623-632.
31. Mulyata S: Paket penyuluhan kognitif dan senam prapersalinan pada primigravida, mengurangi cemas dan nyeri persalinan, meningkatkan skor Apgar bayi, serta mempercepat penyembuhan luka persalinan . Disertasi S3 Universitas Airlangga Surabaya. 2002 : 120-124.
32. Wasito R. Imunohistokimia. Dalam : Pedoman kuliah imunohistopatologi. Depdikbud. Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama Antar

Universitas. Yogyakarta : PAU Bioteknologi – Universitas Gajah mada, 1991

: 36-80.