

PERBEDAAN JUMLAH FIBROBLAS DI SEKITAR LUKA INSISI
PADA TIKUS YANG DIBERI INFILTRASI PENGHILANG NYERI
LEVOBUPIVAKAIN DAN YANG TIDAK DIBERI LEVOBUPIVAKAIN
Suatu Studi Histokimia



Tesis :

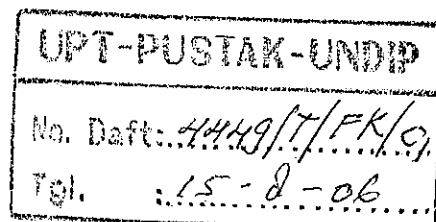
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat dokter Spesialis Anestesi
Mencapai derajat sarjana S 2

Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi
Magister Ilmu Biomedik

Yudhi Prabakti
NIM : G3F001077
NIM : G4A001017

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2005



Lembar Pengesahan

Tesis

PERBEDAAN JUMLAH FIBROBLAS DI SEKITAR LUKA INSISI PADA TIKUS
YANG DIBERI INFILTRASI PENGHILANG NYERI LEVOBUPIVAKAIN DAN
YANG TIDAK DIBERI LEVOBUPIVAKAIN
Suatu Studi Histokimia

Oleh

Yudhi Prabakti

G4A001017

telah disetujui

oleh

Pembimbing Utama

Tanggal :

Pembimbing Anggota

Tanggal :

dr. Hariyo Satoto, SpAn(K)

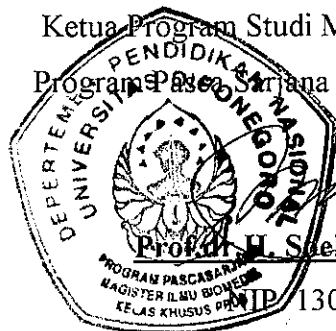
NIP. 140 096 999

Prof.Dr.dr. H. Tjahyono,SpPA(K), FIAC

NIP. 130 368 076

Mengetahui:

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro



Prof. H. Saebowo, SpPA(K)

NIP. 130 352 249

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : dr. Yudhi Prabakti
NIM / NIP : G4A001017
Tempat / Tanggal lahir : Brebes , 13 Oktober 1973
Jenis Kelamin : Laki – laki
Alamat : Jl. Puspwarno Tengah V no 6, Semarang

Riwayat Pendidikan

1. SD : 1982
2. SMP : 1989
3. SMA : 1992
4. FK UNDIP : 1999

Riwayat Pekerjaan

1. Dokter RSUD dr. Koesma Tuban : Tahun 1999 – 2001

Riwayat Keluarga

Nama Isteri : dr. Anna T.R Ritonga
Nama Orang Tua Ayah : dr. Zainul Arifin, SpA.
Ibu : Endang Wintarti
Nama Anak : 1. Justin Aditya Putra Prabakti

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Swt atas anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Perbedaan jumlah fibroblast di sekitar luka insisi pada tikus yang diberi infiltrasi penghilang nyeri levobupivakain dan yang tidak diberi levobupivakain. Suatu studi histokimia “, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh derajat sarjana S₂ di bidang Ilmu Biomedik, Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini tidak akan mampu penulis selesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Khusus kepada dr. Hariyo Satoto, SpAn(K) sebagai dosen pembimbing utama dan Prof.Dr.dr. H Tjahyono,SpPA K, FIAC sebagai dosen pembimbing kedua, penulis mengucapkan terima kasih atas segala bimbingan, sumbangan pikiran, waktu serta dorongan semangat dalam penulisan tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih setulus-tulusnya kepada :

1. Rektor Universitas Diponegoro di Semarang yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di bidang Anestesiologi dan Program Pasca Sarjana program studi Ilmu Biomedik.
2. dr. Kabul Rachman,SpKK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberi kesempatan mengikuti Pendidikan Dokter Spesialis dan Program Pasca Sarjana program studi Ilmu Biomedik.
3. dr. Hariyo Satoto, SpAn (K), selaku Kepala Bagian Anestesiologi FK UNDIP / RS.dr. Kariadi Semarang yang memberikan dukungan dan semangat selama penulis mengikuti pendidikan dokter spesialis.

4. Prof.dr. H. Soebowo,SpPA (K), selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan kesempatan mengikuti Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik.
5. dr.Uripno Budiono, SpAn (K), Ketua Program Studi Anestesiologi FK UNDIP / RS.dr.Kariadi Semarang yang telah memberi dukungan dan dorongan semangat selama penulis mengikuti program pendidikan dokter spesialis anestesiologi dan program pasca sarjana ilmu biomedik.
6. dr. Soeharsono,SpOG, Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis FK UNDIP yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan dokter spesialis.
7. Dra. Dyah Retno Budiani, Msi, Staf pengajar Patologi Anatomi FK UNS Surakarta yang dengan sabar dan telaten membimbing serta memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biomedik FK UNS Surakarta.
8. dr. Hardian, yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam analisis statistik dan metodologi penelitian.
9. Tim penguji dan nara sumber proposal dan penguji tesis yang telah berkenan memberi masukan dan arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
10. Pimpinan Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan Kepala Bagian Patologi Anatomi FK UNS Surakarta, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.
11. Isteri, ibu dan ayah, mertua serta anakku tercinta yang dengan penuh pengertian, kesabaran serta senantiasa mendoakan dan memberikan dorongan semangat agar penulis dapat menyelesaikan pendidikan spesialis dan pendidikan magister.

12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan andil yang besar dalam penulisan tesis ini.

Akhir kata, penulis yakin bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kesempurnaan, karenanya sangat diharapkan saran serta kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Penulis berharap agar penelitian ini secara luas dapat berguna bagi pembaca, masyarakat dan berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran serta menjadi wacana untuk penelitian lebih lanjut.

Semarang, Oktober 2005

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman judul.....	i
Halaman pengesahan	ii
Daftar riwayat hidup	iii
Kata pengantar	iv
Daftar isi	vii
Daftar tabel	ix
Daftar singkatan	x
Daftar gambar	xi
Abstrak	xii
BAB I : PENDAHULUAN	
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Rumusan Masalah	2
I.3. Tujuan Penelitian	2
I.4. Manfaat Penelitian	2
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	
II.1. Levobupivakain	3
II.2. Patofisiologi nyeri	6
II.3. Penyembuhan luka	11
II.4. Pengaruh faktor sistemik dan lokal dalam proses penyembuhan	12
II.5. Pengaruh anestesi lokal terhadap penyembuhan luka operasi	13
BAB III : KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
III.1. Kerangka teori	14
III.2. Kerangka konsep	15
III.3. Hipotesis	15
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	
IV.1. Rancangan penelitian	16
IV.2. Sampel penelitian	17

IV.3.	Waktu dan lokasi penelitian	17
IV.4.	Variabel penelitian	17
IV.5.	Definisi operasional	18
IV.6.	Bahan dan alat penelitian	18
IV.7.	Pelaksanaan Penelitian	19
IV.8.	Prosedur pemeriksaan	22
IV.9.	Cara pengumpulan data	23
IV.10.	Analisa data	23
BAB V. : HASIL DAN PEMBAHASAN		
V.1.	Hasil penelitian	24
V.2.	Pembahasan	30
BAB VI: KESIMPULAN DAN SARAN		33
DAFTAR PUSTAKA		34
LAMPIRAN		36

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rerata dan Simpang Baku jumlah fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi

Tabel 2. Peran sel pada fase penyembuhan luka

DAFTAR SINGKATAN

ADH	: Antidiuretic Hormone
ECM	: Extra Cellular Matrix
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblast Growth Factor
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta
IL-1/-4 /-6/-8	: Interleukin -1 / -4/ -6 / -8
Ig G1	: Immunoglobulin G 1
IFN- γ	: Interferon gamma
TNF α	: Tumor Necrosis Factor α
TH1/2/3	: T Helper 1 / 2 / 3
CD4 ⁺	: Cluster of Differentiation 4 ⁺
CRH	: Corticotropic Releasing Hormone
ACTH	: Adreno Corticotropic Hormone
PVN	: Paraventricularis Nucleus
HPA	: Hipotalamus Pituitaria Adrenal
PMN	: Polimorphonuclear
bFGF	: basic Fibroblast Growth Factor
aFGF	: acidic Fibroblast Growth Factor
eFGF	: epidermal Fibroblast Growth Factor
EGF	: Epidermic Growth Factor
m RNA	: messenger Ribonucleid Acid
ICAM	: Intracellular Adhesion Molecule

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 1. Fase penyembuhan luka
2. Diagram *box-plot* jumlah sel fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi
3. Gambar 3 & 4. Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta
4. Gambar 5 & 6. Kandang tikus tunggal
5. Gambar 7. Pemberian infiltrasi levobupivakain setelah dilakukan insisi
6. Gambar 8. Pembedahan tikus dengan ether sebelum dilakukan insisi
7. Gambar 9. Pengambilan jaringan biopsi
8. Gambar 10. Luka bekas pengambilan jaringan insisi
9. Gambar 11. Jaringan biopsi
10. Gambar 12. Mikrotom
11. Gambar 13. Pengecatan dengan Van Giesson
12. Gambar 14. Pembacaan hasil dengan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi kamera digital DP-70 memakai software OLYSIA

ABSTRAK

Latar belakang : Respon normal terhadap trauma jaringan adalah proses perbaikan untuk mengembalikan susunan anatomi dan fisiologi. Interaksi antara faktor pertumbuhan dan sel yang terlibat dalam proses perbaikan jaringan, salah satunya adalah fibroblas, memegang peran penting dalam penyembuhan luka. Nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun dan mensupresi makrofag. Hal ini menyebabkan sitokin yang dilepaskan makrofag seperti $TNF\ \alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, TGF β aktivitasnya ikut menurun. TGF β mempunyai peran menstimulasi fibroblas, meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi untuk proses penyembuhan luka.

Metode : Dilakukan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain "*Randomized Post test only control group design*" yang menggunakan binatang percobaan sebagai obyek penelitian. Sampel dibagi dalam tiga kelompok, kelompok kontrol yaitu tikus sehat yang tidak diberikan perlakuan sama sekali, kelompok P₁ yaitu kelompok yang setelah diinsisi tidak diberikan infiltrasi levobupivakain, dan kelompok P₂ yaitu kelompok yang setelah dilakukan insisi diberikan infiltrasi levobupivakain setiap 8 jam dalam 24 jam pertama dengan keluaran (*outcome*) berupa jumlah fibroblas. Data dianalisa dengan uji *One Way Anova* dan uji *Bonferoni* dengan derajat kemaknaan $p < 0.05$.

Hasil : Jumlah fibroblast pada Kelompok Perlakuan 2 yaitu 106,96 (SD=10,059) adalah lebih tinggi dibanding Kelompok Kontrol yaitu 80,76 (SD=3,035) dan kelompok perlakuan 2 yaitu 42,96 (SD=11.159).

Simpulan : Jumlah fibroblas pada kelompok yang diberi infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi infiltrasi levobupivakain.

Kata kunci : levobupivakain, fibroblas, penyembuhan luka

ABSTRACT

Background : Normal response to tissue injury is reparative process that results in sustained restoration of anatomical and functional integrity. The interaction of growth factors and cells involved in the process of tissue repair (i.e., fibroblasts), plays an important role in wound healing. Pain and anxiety directly can give stress to immune system and suppress macrofag. Cytokines which are released by macrofag (i.e TGF β) become lower. TGF β has important role to stimulates fibroblasts and raise extracellular matriks (ECM) for wound healing process.

Methods : This study is laboratoric experimental study with randomized Post test only control group design, which is using animal test as research object. Samples are divided into three groups, control group is healthy mice which do not get any treatment at all, P1 group is a group of mice which do not get levobupivacain after incision, and group P2 is a group of mice which get levobupivacain every 8 hours in first 24 hours after incision with fibroblas number as the outcome. Data is analized with One Way Anova test and Bonferoni test with significance level $p < 0.05$.

Result : Fibroblast number in group P1 is 106,96 (SD=10.059), higher than fibroblast number in control group which is 80,76 (SD=3.3035) and control group which is 42,96 (SD=11.159).

Conclusion : Fibroblast number in group which get levobupivacain infiltration is higher than groups which do not get levobupivacain infiltration.

Keywords : Levobupivacain, fibroblast, wound healing process.

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang masalah

Penyembuhan luka adalah suatu proses koordinasi yang melibatkan hubungan yang rumit antara faktor seluler, humoral dan unsur jaringan ikat. Respon *host* terhadap penyembuhan luka pada umumnya dibagi atas beberapa fase yang masing-masing saling tumpang tindih yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi.^{1,2}

Diantara sel sel jaringan ikat yang sangat penting dalam *remodelling* dan penyembuhan dari jaringan yang rusak adalah fibroblas. Fibroblas adalah komponen seluler primer dari jaringan ikat dan sumber sintesis utama dari matrik protein misalnya kolagen. Kolagen yang dihasilkan fibroblas akan membentuk struktur protein utama pada jaringan ikat yang memberikan daya regang (*tensile strenght*) pada penyembuhan luka.^{2,3}

Nyeri merupakan salah satu faktor yang dapat menghambat penyembuhan luka. Apabila nyeri tidak dikelola dengan tepat, akan berakibat memperpanjang fase katabolik, berupa peningkatan glukagon, kortikoid dan resistensi insulin. Peningkatan hormon glukokortikoid mempengaruhi proses anti inflamasi, menghambat pembentukan fibroblas, mengganggu sintesis kolagen sehingga menghambat penyembuhan luka.⁴

Dalam keadaan nyeri, kadar β endorfin yang dilepas pituitaria akan meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag, sehingga produksi juga menurun. Penurunan beberapa faktor pertumbuhan ini akan berakibat terjadinya hambatan kesembuhan luka.⁵

Infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain dapat mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri, sehingga menurunkan sekresi hormon glukokortikoid dan menghilangkan salah satu faktor penghambat penyembuhan luka^{6,7}.

Dari uraian tersebut diatas peneliti terdorong untuk melakukan penelitian tentang pengaruh infiltrasi levobupivakain sebagai obat anestesi lokal melalui proses hambatan rangsang nyeri, terhadap perubahan jumlah fibroblas yang merupakan faktor yang penting dalam proses penyembuhan luka. Mulyata St (2002) dalam penelitian pada tikus yang mendapatkan rangsang stres, terbukti mengalami perpanjangan masa penyembuhan luka^{8,9}.

I.2. Rumusan masalah

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

- Apakah terdapat perbedaan jumlah fibroblas di sekitar luka insisi pada tikus yang diberi infiltrasi penghilang nyeri Levobupivakain dengan yang tidak diberi Levobupivakain.

I.3. Tujuan penelitian

I.3.1. Tujuan umum

- Membuktikan pengaruh pemberian infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain terhadap jumlah fibroblas pada binatang percobaan.

I.3.2. Tujuan khusus

1. Mengukur secara histologis adanya perbedaan jumlah fibroblas pada kelompok pada kelompok K (kelompok kontrol tanpa insisi), kelompok P₁ (kelompok perlakuan yang dilakukan insisi tanpa diberi infiltrasi levobupivakain) dan kelompok P₂ (kelompok perlakuan yang dilakukan insisi dan diberi infiltrasi levobupivakain)
2. Membandingkan jumlah fibroblas antara kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P₁), dan kelompok perlakuan 2 (P₂).

I.4. Manfaat penelitian

Apabila hipotesis penelitian ini terbukti, maka diharapkan :

1. Penelitian ini dapat menjadikan sumbangan teori untuk mengungkap mekanisme kesembuhan luka akibat pemberian infiltrasi anestesi lokal levobupivakain
2. Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat dipertimbangkan dalam penggunaannya baik sebagai penghilang rangsang nyeri pasca bedah yang sekaligus membantu proses penyembuhan luka.
3. Penelitian ini dapat dijadikan landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai kecepatan penyembuhan luka dengan mengikuti dari awal sampai berakhirnya proses penyembuhan luka.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. LEVOBUPIVAKAIN

II.1.1 Sifat kimia

Levobupivakain adalah obat anestesi lokal dengan durasi lama. Termasuk golongan amid (CONH-) yang memiliki atom karbon asimetrik dan isomer Levo(-). Levobupivakain memiliki pKa 8,1 , pKa berarti pH pada saat 50% molekul basa bebas dan 50% molekul dengan muatan ion positif. Bila ditambahkan bikarbonat pH akan meningkat sebanding dengan molekul basa bebas, molekul akan bebas melintasi membran akson dengan mudah dan secara farmakologis beraksi lebih cepat. Sebaliknya pada pH rendah atau asam akan lebih 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, sedangkan ikatan protein dengan bupivakain 95%. Hal ini berarti kurang dari 3% obat berada bebas dalam plasma. Fraksi konsentrasi yang kecil ini dapat berefek pada jaringan lain yang menyebabkan efek samping dan manifestasi toksik. 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.^{7,9}

II.1.2 Farmakokinetik

Metabolisme obat terjadi di hepar oleh enzim sitokrom P 450 terutama CYP1A2 dan CYP3A4 *isoforms*. Cara pemberian melalui epidural , spinal, blok saraf perifer dan infiltrasi. Penggunaan intravena sangat terbatas karena beresiko toksik. Bersihan obat dalam plasma akan menurun bila terjadi gangguan fungsi hepar.^{7,9}

II.1.3 Farmakodinamik

Mekanisme aksi sama dengan bupivakain atau obat anestesi lokal lain. Apabila MLAC (*minimum local analgesic concentration*) tercapai, obat akan melingkupi membran akson sehingga memblok kanal natrium dan akan menghentikan transmisi impuls saraf. Konsentrasi untuk menimbulkan efek toksik pada jantung dan saraf lebih besar pada levobupivakain dari pada bupivakain. Batas keamanan 1,3 berarti efek toksik tidak akan terlihat sampai konsentrasi 30%.^{7,9}

II.1.4 Efek toksik

Levobupivakain menimbulkan depresi kardiak lebih sedikit dibandingkan bupivakain dan ropivakain. Gejala toksisitas sistem saraf pusat pada bupivacain lebih rendah rata rata 47,1 mg dibandingkan levobuvikain 56.1 mg.^{7,9}

II.1.5 Aplikasi klinik

Levobupivakain dapat digunakan untuk epidural, subaraknoid , blok pleksus brakialis, blok supra dan infra klavikuler, blok interkostal dan interskalen, blok saraf perifer, blok peribulber dan retrobulber, infiltrasi lokal, analgesi obstetri, pengelolaan nyeri setelah operasi, pengelokaan nyeri akut dan kronis. Dosis tunggal maksimum yang digunakan 2 mg /kg bb dan 5,7 mg/kg bb (400 mg) dalam 24 jam.^{7,9}

II.1.6 Efek samping

Sama dengan efek samping obat anestesi lainnya, diantaranya hipotensi, bradikardi, mual, muntah, gatal, nyeri kepala, pusing, telinga berdenging, gangguan buang air besar dan kejang.^{7,9}

II.2. PATOFISIOLOGI NYERI

Nyeri merupakan gejala umum dari hampir setiap penyakit, bersifat subyektif, dan disertai konsekuensi psikologis bervariasi. Hal ini menyebabkan nyeri memiliki bermacam-macam definisi. Nyeri merupakan suatu pengalaman hidup kompleks, sinyal neurologis yang berasal dari jaringan tubuh terluka akan menyatu dengan emosi dan pikiran yang berproses menghasilkan pengalaman nyeri. Nyeri juga merupakan suatu sensasi tidak nyaman yang dirasakan timbul dari bagian tubuh tertentu, yang disebabkan proses yang merusak atau berpotensi merusak jaringan tubuh . Nyeri berarti pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan atau yang cenderung merusak jaringan.¹⁰

Luka irisan bedah termasuk nyeri klinis. Pada nyeri klinis terjadi perubahan kepekaan sistem saraf terhadap rangsang nyeri, sebagai akibat kerusakan jaringan yang disertai proses inflamasi, terlokalisir, yang akan hilang apabila inflamasi dan jaringan sembuh. Nyeri klinis termasuk nyeri akut, yaitu reaksi sensoris sistem nosiseptif mendadak yang merupakan sinyal mekanisme pertahanan tubuh. Nyeri akut dipicu oleh kerusakan somatik atau viseral dengan lama berlangsungnya bersamaan dengan penyembuhan luka.¹¹

Menurut McCance (1994) nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamik, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem otak dan sistem imun antara lain CRF, ACTH, β endorfin, substansi P. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh PVN dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dan beberapa perubahan yang diinduksi stres. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA dan aksis SAM (*Sympathetic Adrenal Medullary*).^{13, 14}

Dalam keadaan stres dan nyeri berat, kadar β endorfin yang disekresi pituitaria meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag, sehingga aktivitas makrofag yang dipengaruhi IFN γ lebih menurun lagi. Penurunan aktivitas makrofag akan berakibat aktivitas sitokin yang dilepaskan makrofag yaitu TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β ikut menurun. Aktivitas sel TH₃ yang didiferensiasi dari CD4+, karena pengaruh supresi kortisol juga menurun sehingga jumlah dan aktivitas TGF β yang diproduksi TH₃ juga ikut menurun. TGF β mempunyai peran meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi, sehingga apabila TGF β menurun, kadar sitokin yang mempunyai peran penyembuhan luka ikut menurun, sehingga berakibat terjadi hambatan penyembuhan luka^{11, 12, 13, 14}

Kerusakan di jaringan kulit atau jaringan perifer menyebabkan terlepasnya mediator kimiawi dan mensensitisasi nosiseptor sehingga terjadi penurunan nilai ambang. Mediator lain : bradikinin, substansi P, turut berpengaruh dan timbul impuls nosiseptif. Terjadilah proses transmisi, yang mengantar impuls nosiseptif melalui serabut aferen primer nosiseptif dari perifer lewat radiks posterior menuju kornu posterior medula spinalis. Dalam kornu posterior terdapat sistem modulasi impuls nosiseptif yang disebut gerbang kendali nyeri (*gate control theory of pain*). Gerbang kendali nyeri berperan sebagai modulator terhadap semua impuls nosiseptif yang masuk, dengan memperbesar atau menghambat impuls. Serabut fasikulus desendens keluar dari otak berjalan menuju gerbang kendali nyeri menuju setiap segmen medula spinalis. Serabut ini berfungsi membantu menghambat impuls nosiseptif yang berjalan dari perifer menuju sentral dan melewati gerbang kendali nyeri. Apabila intensitas impuls nosiseptif melampaui ambang sel transmisi T, maka impuls nosiseptif akan berjalan mengikuti sistem aksi menuju pusat supraspinal untuk dipersepsi di pusat somatosensoris sebagai pengalaman nyeri.^{11, 12, 13, 14}

II.3. PENYEMBUHAN LUKA

Rangsang eksogen dan endogen dapat menimbulkan kerusakan sel, dan selanjutnya memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang mengandung pembuluh darah. Reaksi inflamasi berguna sebagai proteksi terhadap jaringan yang mengalami kerusakan untuk tidak mengalami infeksi dan meluas tak terkendali. Proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan luka, luka akan tetap menjadi sumber nyeri.^{1, 15, 16}

Proses inflamasi terjadi pada jaringan ikat dengan pembuluh darah yang mengandung plasma, sel yang bersirkulasi, elemen seluler dan ekstra seluler jaringan pengikat. Komponen seluler adalah eritrosit, leukosit (netrofil, eosinofil, basofil) , monosit, limfosit, trombosit, sedangkan sel jaringan pengikat adalah sel mast, fibroblast, monosit, makrofag dan limfosit. Elemen ekstra seluler a.l. kolagen, elatin, glikoprotein adesif (fibronektin, laminin, kolagen non fibril, tenasin, proteoglikan)^{16, 17}

Proses penyembuhan luka terjadi pada awal inflamasi, selanjutnya akan bersamaan. Dalam proses inflamasi terjadi perusakan, pelarutan dan penghancuran sel atau agen penyebab kerusakan sel. Pada saat yang sama terjadi proses reparasi, proses pembentukan kembali jaringan rusak atau proses penyembuhan jaringan rusak. Proses ini baru selesai sempurna sesudah agen penyebab kerusakan sel dinetralkan. Selama proses reparasi berlangsung, jaringan rusak diganti oleh regenerasi sel parenkimal asli dengan cara mengisi bagian yang rusak dengan jaringan fibroblast (proses *scarring*).^{15, 16}

Penyembuhan luka merupakan proses terus menerus dari peradangan dan perbaikan, dimana sel-sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblas keluar secara bersamaan dari tempatnya semula dan berinteraksi untuk memperbaiki kerusakan. Kerusakan jaringan akan diikuti reaksi kompleks dalam jaringan pengikat yang mempunyai pembuluh darah. Sel dalam jaringan rusak akan melepaskan mediator kimiawi yaitu kemoatraktan dan sitokin, yang mempunyai daya kemotaktik, mampu menarik leukosit dalam sirkulasi kapiler. Netrofil akan tertarik dan terjadi akumulasi mendekati sel endotel dinding venula. Proses ini disebut *marginasi*. Akumulasi netrofil akan menempel pada permukaan endotel karena adanya molekul adesi yang dilepaskan oleh endotel akibat pengaruh IL-1 yang diproduksi netrofil.⁸

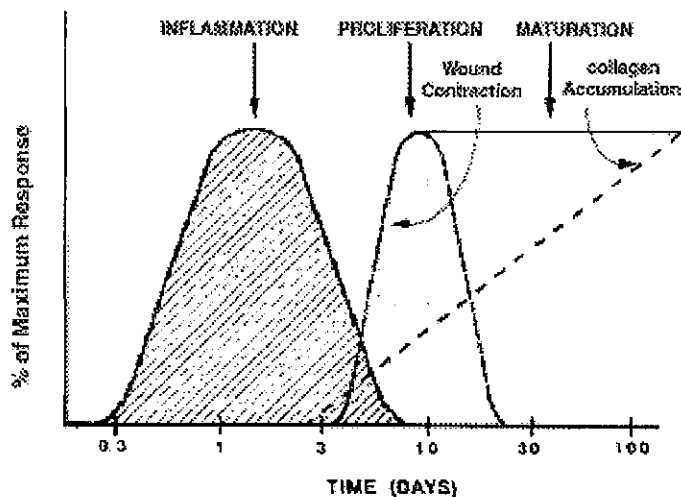
Molekul adhesi tersebut antara lain E-selektin, ICAM 1, ICAM 2. Selanjutnya netrofil akan bergerak menggelinding pada permukaan endotel akibat daya dorong aliran

plasma. Perlekatan netrofil pada endotel makin kuat dan bergerak aktif secara *diapedesis*, kemudian berhenti dan mengeluarkan *pseudopodia*, mengerutkan diri menyisip lewat celah antar membran basalis sel endotel untuk keluar *ekstravasasi* dan transmigrasi meninggalkan kapiler menuju jaringan interstitial yang rusak.⁸

Aktifitas sel dari intravaskuler, ber transmigrasi ke tempat tujuan juga terjadi pada eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Di jaringan target sel tersebut aktif mematikan dan menghancurkan mikroba sesuai dengan cara masing-masing. Pada saat yang sama terjadi proses penyembuhan.¹⁶

Sitokin (TNF α , IL 1, IL 6, IL 8 dan TGF β) bersama faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF aktif berperan dalam proses penyembuhan. Setelah disekresi oleh sel T, sel B, makrofag, trombosit, sel endotel, fibroblas, plasenta, tulang dan ginjal, sitokin dan faktor pertumbuhan melepas dimer biologis aktif dari komponen molekul laten. Ini berfungsi bisa sebagai faktor inhibitor atau stimulator.⁸

II.3.1. Fase penyembuhan luka



Gambar 1. Fase penyembuhan luka

II.3.1.1. Fase inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada hari 0 – 5. Proses penyembuhan terjadi akibat luka. Luka karena trauma atau luka karena pembedahan menimbulkan kerusakan pada struktur jaringan dan mengakibatkan perdarahan. Pada awalnya darah akan mengisi jaringan yang cedera dan paparan darah terhadap kolagen akan mengakibatkan terjadinya degranulasi

trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Kemudian akan memicu sistem biologis lain seperti pengaktifan komplemen kinin, kaskade pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadaan ini memperkuat sinyal dari daerah luka, yang tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi akumulasi beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah di daerah luka. Hal ini menyebabkan edema dan kemudian menimbulkan pembengkakan dan nyeri pada awal terjadinya luka. Polimorfonuklear (PMN) adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya pada 24 – 48 jam. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk. Pada penyembuhan luka normal, kehadiran sel-sel ini tidak begitu penting sebab penyembuhan luka dapat terjadi tanpa keberadaan sel-sel ini. Terdapatnya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. Apabila tidak terjadi infeksi sel-sel PMN berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ketiga.^{1,2}

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 lebih panjang dibanding dengan sel PMN 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. Keberadaan makrofag dan limfosit T sangat penting pada penyembuhan luka normal. Makrofag seperti halnya netrofil, 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 juga melepas faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan formasi jaringan granulasi. Zat yang berfungsi sebagai transmitter interseluler ini secara keseluruhan disebut sitokin.⁵

II.3.1.2 Fase proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3 – 14. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak berguna, dimulailah fase proliferasi. Fase

proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi, yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronectin 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, terutama yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi makrofag dan limfosit. Fibroblas merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. Fibroblas juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka 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. Penumpukan kolagen pada saat awal terjadi berlebihan kemudian fibril kolagen mengalami reorganisasi sehingga terbentuk jaringan reguler sepanjang luka. Fibroblas juga menyebabkan matriks fibronectin, asam hialuronik dan glikosaminoglikan. Proses proliferasi fibroblas dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia.⁵

Revaskularisasi daerah luka terjadi bersamaan dengan fibroplasia. Tunas-tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 setelah luka sel-sel endotelial dari venulae mulai bermigrasi sebagai respon stimulasi angiogenik. Tunas-tunas kapiler ini bercabang di ujungnya kemudian bersatu membentuk lengkung kapiler dimana darah kemudian mengalir. Tunas-tunas baru muncul dari lengkung kapiler membentuk pleksus kapiler. Faktor-faktor terlarut yang menyebabkan angiogenesis ini masih belum diketahui. Tampaknya proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi. Mediator pertumbuhan sel endotelial ini dan kemotaksis termasuk sitokin yang dihasilkan trombosit, makrofag dan limfosit pada luka, tekanan oksigen yang rendah, asam laktat dan amin biogenik. Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *acidic FGF* (aFGF), *transforming growth factor α β* (TGF α β) dan *epidermal growth factor* (eFGF). FGF pada percobaan *invivo* merupakan substansi poten dalam neovaskularisasi.⁵

Proses tersebut terjadi dalam luka, sementara itu pada permukaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi 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. Sel basal marginal pada tepi luka menjadi longgar ikatannya dari dermis di dekatnya, membesar dan bermigrasi ke permukaan luka yang sudah mulai terisi matriks sebelumnya. Sel basal pada daerah dekat luka mengalami pembelahan yang cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel yang bermigrasi berubah bentuk menjadi lebih kolomner dan meningkat aktifitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna 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 faktor yang diduga berperan adalah EGF, TGF β , bFGF, PDGF dan *insulin like growth factor* (IGF λ).⁵

II.3.1.3. 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. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel substratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan 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-bundel fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Sesudah 5 hari periode jeda, 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 penyembuhan luka tetap kurang dibanding dengan kulit yang tidak pernah terluka, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh.⁵

Pengembalian kekuatan tegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus menerus, remodeling serabut kolagen membentuk bundel-bundel kolagen lebih besar dan perubahan dari *cross linking* inter molekuler. Remodeling kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen yang berkesinambungan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase . Kecepatan tinggi sintesis kolagen mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun. Remodeling aktif jaringan parut akan terus berlangsung sampai 1 tahun dan tetap berjalan dengan lambat seumur hidup.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. Hal ini tampak pada eritema berkurang dan reduksi jaringan parut yang terbentuk. Gambaran tersebut merupakan gambaran normal dari penyembuhan. Pada beberapa kasus terjadi pengerutan jaringan parut yang menyebabkan penurunan mobilitas kulit seperti pada kontraktur. Pengerutan luka yang terjadi karena pergerakan ke dalam dari tepi luka juga merupakan faktor berpengaruh dalam penyembuhan luka dan harus dibedakan dengan kontraktur.⁵

II.4. PENGARUH FAKTOR SISTEMIK DAN LOKAL DALAM PROSES PENYEMBUHAN

Proses inflamasi dan proses perbaikannya (*repair*) berjalan bersamaan, hanya arahnya yang berlawanan . Terdapat sejumlah faktor sistemik dan faktor lokal yang dapat mengganggu proses penyembuhan luka.⁵

Faktor-faktor tersebut antara lain, faktor sistemik :

1. Nutrisi, pengaruhnya sangat menonjol. Defisiensi protein dan vitamin C mengganggu sintesis kolagen dan memperlama penyembuhan
2. Status metabolik, misalnya diabetes melitus
3. Status sirkulasi darah
4. Hormon glukokortikoid mempunyai pengaruh anti inflamasi, dapat mempengaruhi komponen inflamasi dan fibroplasia, sehingga dapat mengganggu sintesis kolagen

Faktor lokal

1. Infeksi, merupakan penyebab tunggal keterlambatan penyembuhan
2. Faktor mekanik misal mobilisasi awal, memperlambat penyembuhan luka
3. Benda asing seperti benang jahitan yang tidak teresorpsi, fragmen baja, pecahan tulang, merupakan halangan untuk penyembuhan luka
4. Macam, lokasi dan ukuran besarnya luka, mempengaruhi penyembuhan

Perluasan di wajah lebih cepat sembuh daripada di kaki, karena wajah kaya vaskularisasi. Luka kecil karena trauma tumpul lebih cepat sembuh daripada yang besar. Komplikasi penyembuhan luka timbul karena beberapa penyebab antara lain ¹⁰:

1. Pembentukan jaringan parut tidak cukup
2. Pembentukan komponen perbaikan berlebihan
3. Terjadinya kontraktur

II.5. PENGARUH ANESTESI LOKAL TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA OPERASI

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 CRF (*Corticotrophin Releasing Factor*), ACTH, β endorfin, substansi P, dan lain-lain. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh PVN (*Paraventricularis Nukleus*), dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dari beberapa perubahan yang diinduksi nyeri. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA (*Hipotalamus-Pituitaria-Adrenal*) dan aksis SAM (*Simpatetik Adrenal Medulary*). Pada nyeri hebat sinyal berjalan melewati aksis HPA, menimbulkan disregulasi sistem imun sehingga terjadi penurunan ketahanan tubuh. Sinyal tersebut juga melewati aksis 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. ^{18, 19, 20}

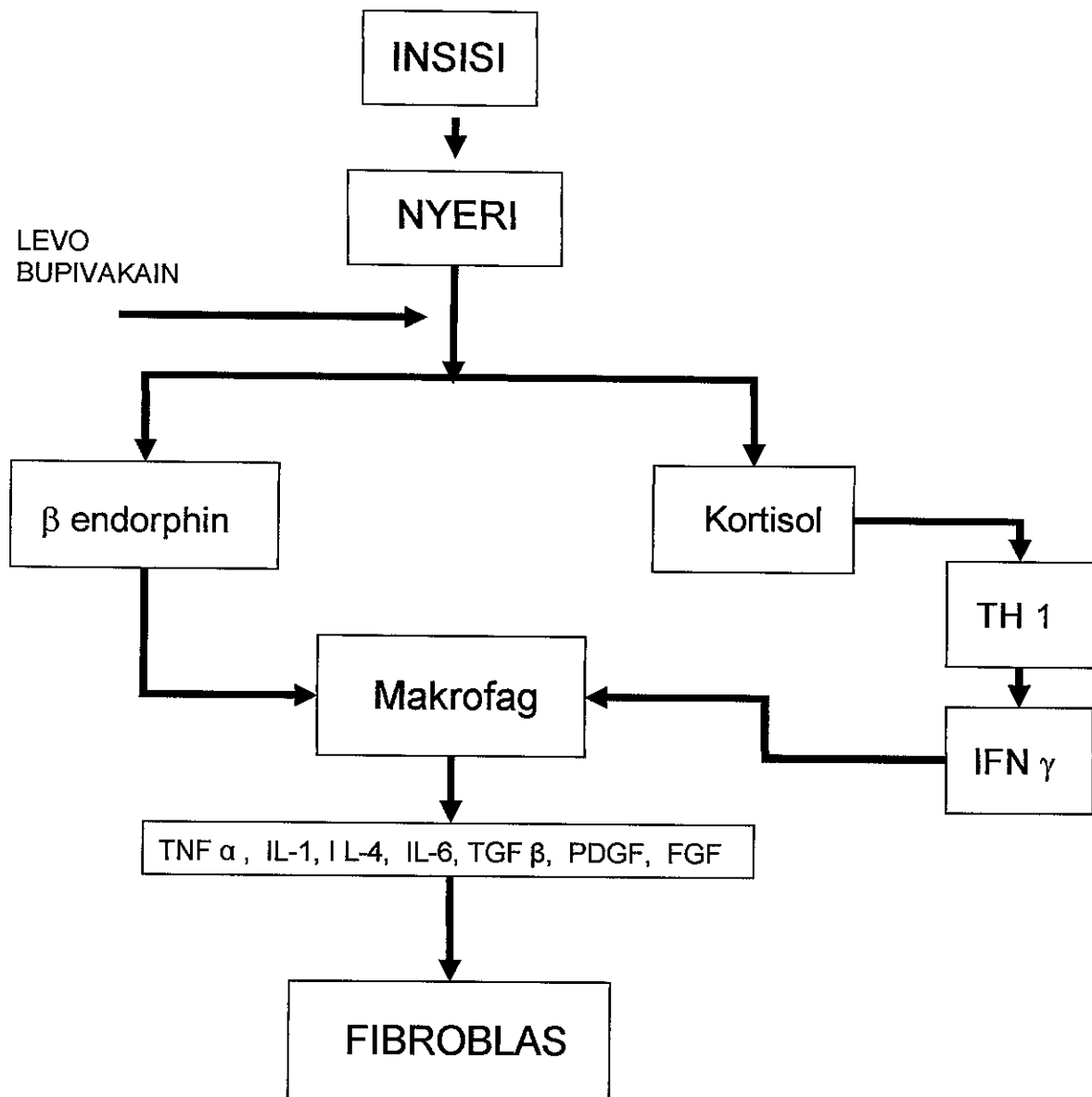
Telah dilaporkan beberapa efek anestesi lokal terhadap proses penyembuhan luka. Cassuto dkk melaporkan bahwa pemakaian anestesi lokal secara topikal dan sistemik pada luka bakar akan menghambat ekstrasvasasi plasma pada tikus. Sedangkan Brofeldt dkk

melaporkan penggunaan lidokain krim 5 % pada luka bakar parsial dengan konsentrasi yang dinaikkan sampai 2,25 mg/cm² berhubungan dengan berkurangnya nyeri, hilangnya komplikasi infeksi maupun alergi serta proses penyembuhan luka yang baik. Schimidt dan Rosenktanz melaporkan bahwa lidokain 2 % menghambat pertumbuhan semua bakteri patogen kecuali *streptococcus aureus* dan *pseudomonas aeruginosa*. De Amici dkk melaporkan bahwa bupivakain menghambat replikasi virus, sedang Rossenberg PH dkk melaporkan adanya efek bakteriostatik dan antimikroba bupivakain. Vintar dkk melaporkan penggunaan anestesi lokal bupivakain lewat kateter pada luka efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia inguinalis dan penyembuhan lukanya lebih baik.^{21, 22, 23, 24}

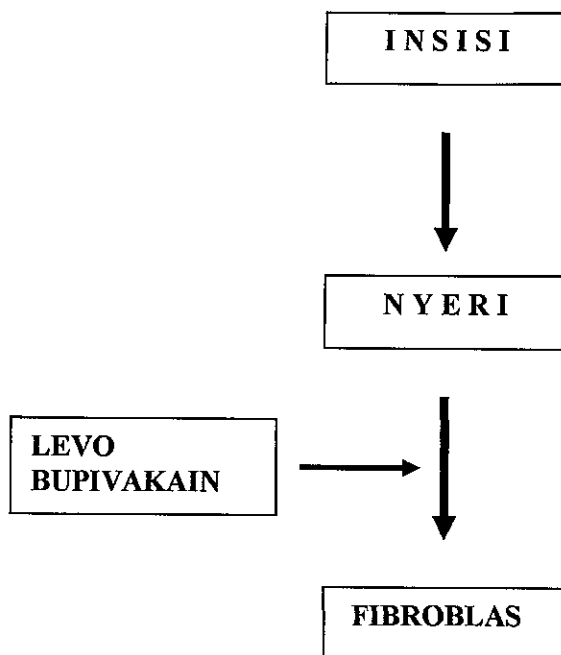
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

III.1. Kerangka teori



III.2. Kerangka Konsep



III.3. HIPOTESIS

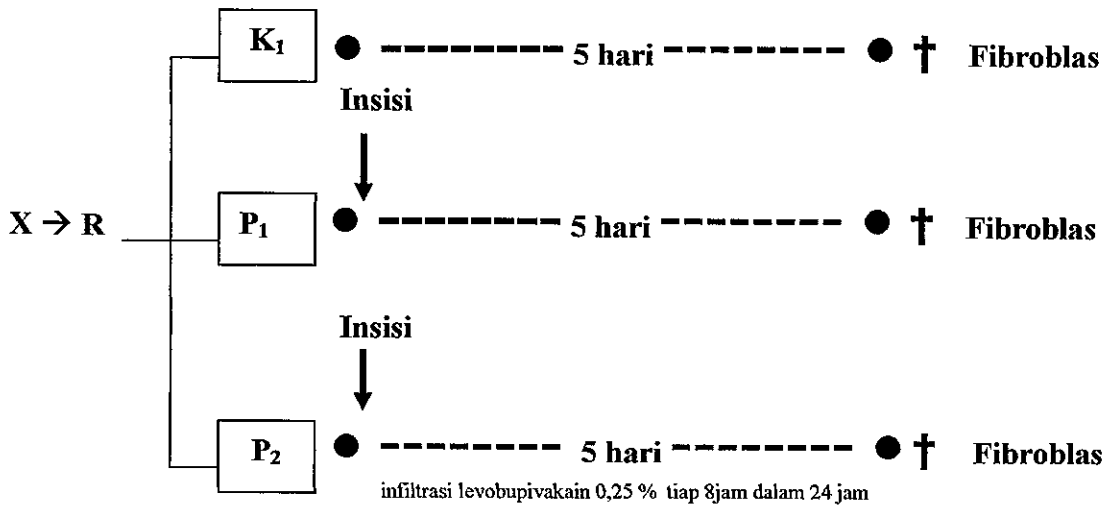
Terdapat perbedaan jumlah fibroblas di sekitar luka insisi pada tikus yang diberi infiltrasi penghilang nyeri Levobupivakain dengan yang tidak diberi Levobupivakain.

BAB IV
METODE PENELITIAN

IV.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain “*Randomized Post test only control group design*” yang menggunakan binatang percobaan sebagai obyek penelitian. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian infiltrasi obat anestesi lokal levobupivakain dengan keluaran (*outcome*) berupa jumlah fibroblas.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut:



Keterangan :

X → R : Masa adaptasi 7 hari

R : Randomisasi

K₁ : Kelompok kontrol , sebagai pembanding jumlah fibroblas tikus wistar tanpa dilakukan insisi

P₁ : Kelompok perlakuan I, tikus wistar yang dilakukan insisi tanpa diberikan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25%

P₂ : Tikus yang diberi perlakuan setelah dilakukan insisi kemudian diberi infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25 % setiap 8 jam pada 24 jam pertama

† : Tikus dimatikan

IV.2. Sampel penelitian

Hewan coba adalah tikus Wistar yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Kriteria inklusi:

- a. Keturunan murni
- b. Umur dua sampai dua setengah bulan
- c. Berat badan 250-300 gram.
- d. Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak

Kriteria eksklusi:

- a. Sakit selama masa adaptasi 7 hari
- b. Infeksi selama perlakuan berlangsung
- c. Mati selama perlakuan berlangsung.

Besar sampel menurut WHO adalah 5 ekor³⁶. Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan 15 ekor, tiap kelompok 5 ekor.

Randomisasi: 15 tikus dikelompokkan secara random menjadi 3 kelompok yaitu:

Kelompok Kontrol (K) : 5 tikus

Kelompok Perlakuan (P₁) : 5 tikus

Kelompok Perlakuan (P₂) : 5 tikus

IV.3. Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 6 bulan. Perlakuan pada tikus sampai tindakan eksisi biopsi dilakukan di Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Proses blok parafin, pewarnaan dengan metode Van Gieson dan interpretasi hasil pemeriksaan jumlah fibroblas dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Laboratorium Biomedik FK UNS Surakarta .

IV.4. Variabel penelitian

IV.4.1. Variabel bebas

Pemberian infiltrasi levobupivakain 0,25%

IV.4.2. Variabel tergantung

Hasil pemeriksaan jumlah fibroblas

Jumlah fibroblas didapatkan dengan menghitung jumlah fibroblas yang tampak pada lima lapang pandang dari setiap preparat dengan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri BX41 yang dilengkapi dengan kamera digital dan memakai software OLYSIA. Hasil pengamatan jumlah fibroblas pada lima lapang pandang dari masing-masing sampel kemudian dirata-rata.

IV.5. Definisi operasional

- Infiltrasi levobupivakain adalah pemberian suntikan suatu obat anestesi lokal yang mempunyai masa kerja panjang berupa larutan 0,5% Chirokain yang diencerkan menjadi larutan 0,25% di sekitar luka \pm 0,5 cm dari tepi luka dengan spuit tuberkulin sepanjang luka insisi dengan dosis 0,0126 mg/kgBB
- Pemeriksaan histokimia adalah suatu metode pemeriksaan pewarnaan jaringan berdasarkan reaksi kimia yang terjadi antara jaringan dan zat kimia yang terdapat pada bahan pewarna. Pada penelitian ini menggunakan pewarnaan Van Gieson. Jumlah fibroblas didapatkan menghitung jumlah dengan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai software OLYSIA dengan pembesaran 400 kali dimana setiap sediaan diperiksa pada luas pandang 5 area.

IV.6. Bahan dan alat penelitian

V.6.1. Bahan untuk perlakuan

Hewan coba adalah tikus Wistar dengan umur 2 sampai 2,5 bulan dan berat 250-300 gram. Tikus Wistar adalah salah satu galur ratus-ratus, berasal dari 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 Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Selama percobaan, hewan coba ditempatkan pada kandang dan diberi pakan standar dan minum secukupnya. Pakan standar yang diberikan dibuat oleh Laboratorium Pangan dan Gizi UGM (Wuryastuti *cit* Mulyata. St, 2002)

IV.6.2. Bahan dan alat untuk insisi

Perangkat operasi minor :

- Pisau scalpel
- Pinset *chirurgis*
- Gunting
- Benang sutera dan cat-gut No.000
- Tang pemegang jarum
- Doek steril

IV.6.3. Bahan dan alat untuk infiltrasi

- a. Disposable syringe 1cc
- b. Larutan bupivakain 0,25%

V.6.4. Bahan dan alat untuk pemeriksaan histokimia

- a) Formalin buffer 10%.
- b) Alkohol 50% , 70 % , 80%, 96%, absolut.
- c) Xylol.
- d) Parafin cair (Histoplast).
- e) Bahan pengecatan Van Gieson.
- f) Balsam Kanada .

(Larssol, 1991; Wasito,1991).

IV.7. Pelaksanaan penelitian

IV.7.1.Cara perlakuan

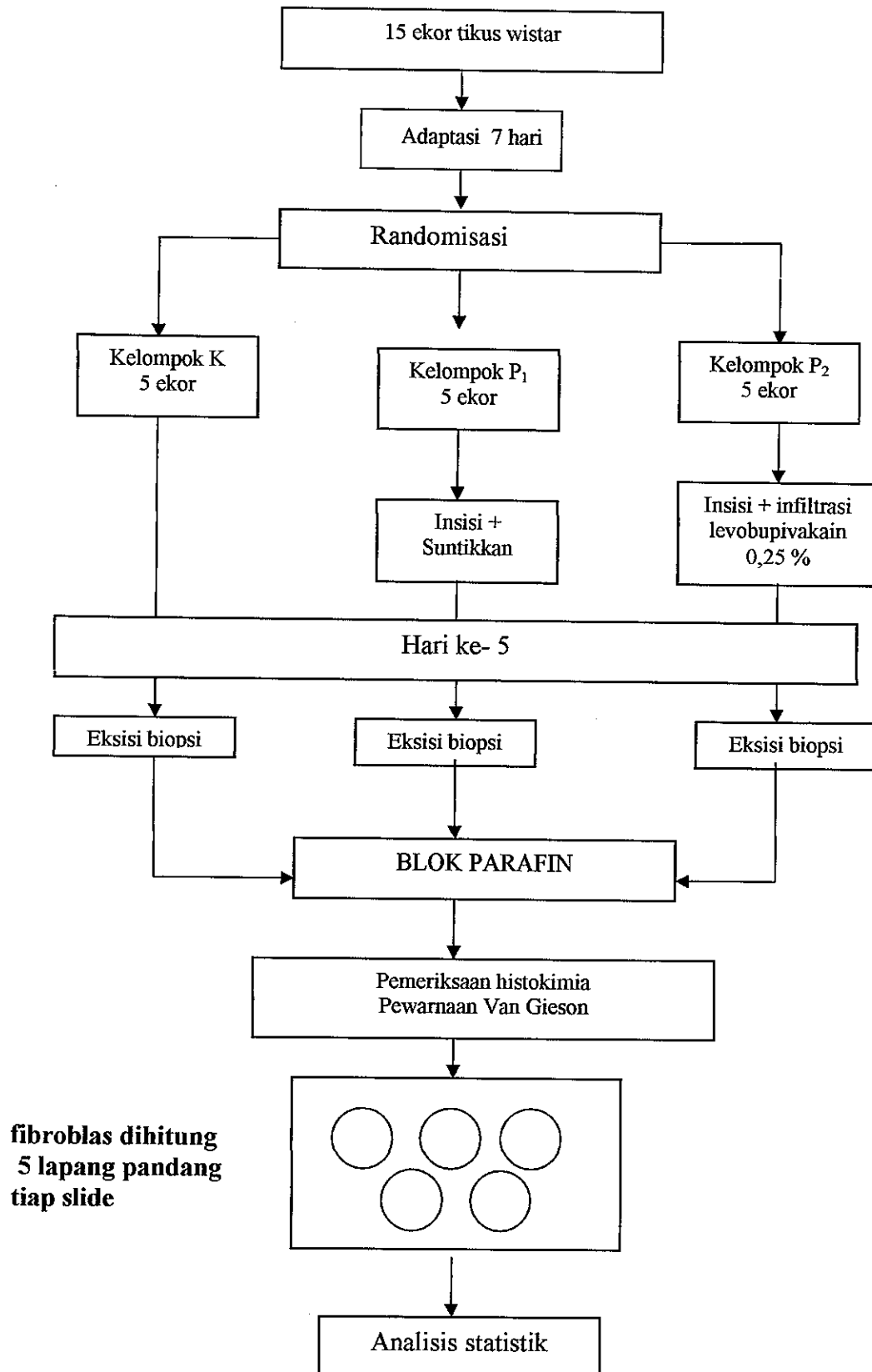
Sejumlah 15 ekor tikus Wistar betina dilakukan adaptasi di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar secukupnya selama 7 hari. Sesudah masa adaptasi 7 hari berakhir, tikus dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yang ditentukan secara acak, kemudian dipindahkan ke dalam kandang tunggal setiap kelompoknya.

Tikus kelompok K tidak diberikan perlakuan, kelompok P₁ dan kelompok P₂ dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether . Pada tikus kelompok Perlakuan I (P₁), sesudah terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan

betadin. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutis. Luka irisan dibersihkan dan dioles larutan betadin, kemudian luka ditutup dengan 5 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang *nylon* steril nomor 0000. Selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadin dan dirawat. Pasca bedah diberikan penicillin oil 15 mg, intra muskular. Pada kelompok perlakuan II (P_2), sesudah tikus terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadin. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutis. Luka irisan dibersihkan dan dioles larutan betadin, kemudian jaringan subkutis diberikan infiltrasi levobupivakain 0,25% dengan dosis 0,0126mg/kgBB dan luka ditutup dengan 5 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang *nylon* steril nomor 0000. Selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadin dan dirawat. Pasca bedah diberikan penicillin oil 15 mg, intra muskular. Setelah 8 jam, tikus pada kelompok perlakuan II (P_2) diberikan infiltrasi ulang levobupivakain 0,25% pada jaringan subkutis kedua daerah luka insisi, sedangkan pada kelompok Perlakuan I (P_1) dilakukan tusukan dengan jarum suntik. Hal ini dilakukan selama 24 jam pertama.

Pada hari ke 5 ketiga kelompok masing-masing diambil 5 ekor. Dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Setelah tikus terbius kemudian dilakukan biopsi-eksisi pada jaringan bekas luka irisan 3 cm persegi dengan kedalaman sampai subkutis. Dari masing masing kelompok (kelompok K, P_1 dan kelompok P_2) diambil 5 jaringan eksisi biopsi dan dilakukan blok parafin kemudian dibuat preparat histokimia dengan pewarnaan Van Gieson. Kemudian tiap sediaan diperiksa dibawah mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai software OLYSIA dengan pembesaran 400 kali dari satu sediaan histokimia diamati 5 area, dengan cara memberi tanda pada fibroblas, software secara otomatis akan menghitung jumlahnya. Kemudian hasil penghitungan jumlah fibroblas dari ketiga kelompok sampel dianalisis.

IV.7.2. Alur kerja



IV.8. Prosedur pemeriksaan

IV.8.1. Prosedur eksisi-biopsi

Tikus pada setiap kelompok dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Kelompok K, sesudah terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadin, kemudian diusap dengan alkohol 70% selanjutnya dibuat eksisi biopsi kira-kira 3 cm persegi. Pada kelompok P₁ dan Kelompok P₂, jaringan bekas irisan diusap dengan alkohol 70% lalu dibuat eksisi-biopsi kira-kira 3 cm persegi melintasi garis irisan dengan kedalaman sampai subkutis. Semua jaringan eksisi biopsi dibuat blok parafin kemudian dibuat preparat dan dipulas dengan pewarnaan Van Gieson.

IV.8.2. Prosedur pembuatan preparat histokimia

a. Fiksasi

Jaringan biopsi eksisi dimasukkan kedalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam Phospat Buffer Saline pada 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-xylool selama 1 jam dan kemudian larutan xylool murni selama 2x2 jam.

c. Impregnasi

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2 x 2 jam

d. Embedding

Jaringan ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58⁰ C, ditunggu sampai parafin padat. Jaringan dalam parafin dipotong setebal 4 mikron 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.

e. Pewarnaan dengan metode Van Gieson

Metode pewarnaan ini berdasar pada 3 warna (Trichrom) yaitu asam pikrat dan asam fuchsin dengan hematoksilin. Jaringan pada kaca obyek dilakukan deparafinisasi sampai alkohol 70%, kemudian diberi larutan Hematoksilin

WEIGERT (A dan B sama banyak) diamkan selama 5 menit, kemudian larutkan dalam air hangat 60°C agar berwarna biru kurang lebih selama 3- 10 menit. Bilas dengan aquabides dan bilas cepat dalam larutan C dengan cepat (1x celup). Kemudian dilakukan dehidrasi alkohol 96% 2x, absolut 2x, xylof 2x. Berikan Canada balsem dan tutup dengan kaca penutup.

V.9. Cara pengumpulan data

Dari masing masing kelompok pada hari ke-5 diambil 5 ekor kemudian dilakukan eksisi biopsi . Selanjutnya pada jaringan eksisi biopsi dilakukan fiksasi dengan blok parafin kemudian diwarnai dengan Van Gieson. Pembacaan hasil jumlah fibroblas menggunakan mikroskop OLYMPUS seri BX 41 yang dilengkapi dengan kamera digital DP-70 dan memakai software OLYSIA dengan pembesaran 400 kali dari satu sediaan diamati 5 area. Kemudian dibandingkan antara kelompok kontrol (K), kelompok Perlakuan I (P₁) dan kelompok perlakuan II (P₂). Data diambil dari hasil pembacaan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Biomedik FK UNS Surakarta

V.10. Analisis data

Sebelum dilakukan uji hipotesis, data yang terkumpul terlebih dahulu di-*edit*, di-*coding*, di-*entry* dalam file computer dan di-*cleaning*, setelah itu dilakukan analisis statistik deskriptif dan analitik.

Dalam analisis deskriptif, dihitung nilai kecenderungan sentral (*mean* dan *median*) dan sebaran (SD) dari variabel tergantung (jumlah fibroblas). Hasilnya disajikan dalam bentuk tabel. Dibuat grafik *box-plot* menurut kelompok perlakuan. Untuk menilai normalitas dari variabel tergantung dilakukan uji *Shapiro-Wilk*. Data hasil pemeriksaan fibroblas dilakukan uji hipotesis dengan *One-Way ANOVA*. Batas derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95 % interval kepercayaan. Analisa data dilakukan dengan program komputer SPSS 13. *for windows*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

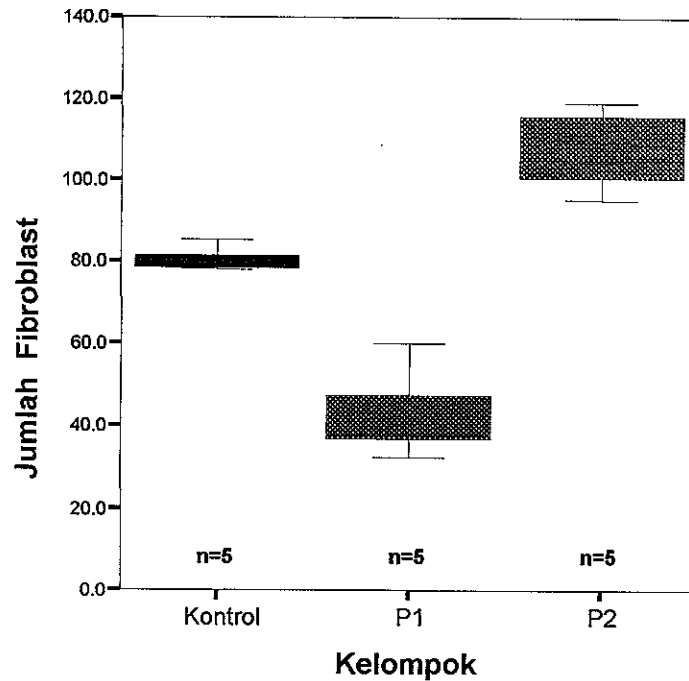
Pada penelitian ini diperoleh data jumlah fibroblast pada Kelompok Kontrol, Perlakuan 1 dan Perlakuan 2 adalah seperti yang ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata dan Simpang Baku umlah fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi

Kelompok perlakuan	Rerata	SD	Minimum	Maximum
Kontrol	80.76	3.035	78.2	85.6
Perlakuan 1	42.96	11.159	32.2	60.2
Perlakuan 2	106.96	10.059	95.0	118.8

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah fibroblast pada Kelompok Perlakuan 2 yaitu 106,96 (SD=10,059) adalah lebih tinggi dibanding Kelompok Kontrol yaitu 80,76 (SD=3,035) dan kelompok perlakuan 2 yaitu 42,96 (SD=11.159). Data pada tabel 1 juga menunjukkan bahwa jumlah fibroblast pada Kelompok Perlakuan 1 adalah yang paling rendah dibanding Kelompok Kontrol maupun Kelompok Perlakuan 2. Selain pada tabel 1, jumlah fibroblast pada masing-masing kelompok juga ditampilkan sebagai diagram *box-plot* pada gambar 1.

Hasil uji statistik dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada jumlah fibroblast antara Kelompok Kontrol, Perlakuan 1 dan Perlakuan 2 ($p < 0,001$). Hasil uji *post-hoc* Bonferroni menunjukkan bahwa jumlah fibroblast pada Kelompok Perlakuan 2 adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding Kelompok Kontrol ($p < 0,001$) maupun dibanding Kelompok Perlakuan 1 ($p < 0,001$). Hasil uji *post-hoc* Bonferroni juga menunjukkan bahwa jumlah fibroblast pada Kelompok Perlakuan 1 adalah lebih rendah secara bermakna dibanding Kelompok Kontrol ($p < 0,001$).



Gambar 1. Diagram *box-plot* jumlah sel fibroblast tikus Wistar 5 hari pasca insisi pada kelompok kontrol (n=5), perlakuan 1 (n=5) dan kelompok perlakuan 2 (n=5)

4.2. Pembahasan

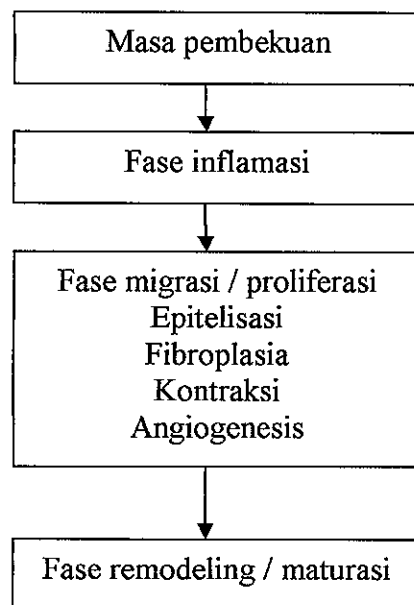
Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dimana merupakan hasil interaksi antara seluler, humoral, dan elemen-elemen jaringan ikat. Proses perbaikan luka berbeda antara jaringan yang satu dengan yang lain tergantung dari jenis luka. Pada proses penyembuhan luka elemen yang berbeda secara kontinyu dan bersamaan bekerja secara terintegrasi, tetapi untuk keperluan deskriptif dapat dibagi menjadi fase-fase yang saling tumpang tindih yakni fase inflamasi, fase migrasi atau proliferasi, ada pula yang menyebutnya sebagai fase granulasi dan fase maturasi atau remodeling. Ketiga fase tersebut didahului oleh proses koagulasi dimana protein-protein koagulasi dan platelet bekerja untuk mencegah perdarahan. Sel-sel yang berperan dalam setiap fase berbeda-beda, tergantung fungsi dan tujuan fase. Sel-sel yang berperan pada setiap fasenya terperinci pada tabel 1.

Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka

Fase	Sel-sel yang berperan
Proses koagulasi	Trombosit
Inflamasi	Trombosit
Hari ke 0 - 5	Makrofag
	Neutrofil
Migrasi / proliferasi / granulasi	Makrofag
Hari ke 3 - 14	Limfosit
	Fibroblas
	Sel epitel
	Sel endotel
Maturasi / remodelling	Fibroblas
Hari ke 7 - 1 thn	

Dari table 1 dapat kita ketahui bahwa sel fibroblas berperan pada dua fase yaitu pada fase migrasi atau disebut juga fase proliferasi/granulasi dan fase remodeling atau disebut juga fase maturasi.

Pada fase granulasi terbagi lagi menjadi beberapa bagian seperti yang dapat ditunjukkan pada bagan berikut



Bagan 1. Rangkaian fase penyembuhan luka.

Dari bagan 1 tersebut fase migrasi atau proliferasi terbagi atas beberapa rangkaian yaitu Epitelisasi, fibroplasia, kontraksi dan angiogenesis. Fibroblast berperan pada seluruh rangkaian tersebut. Peran fibroblas pada setiap rangkaian akan di jelaskan lebih lanjut.³

I. Fase migrasi / proliferasi / granulasi

Jaringan granulasi ditandai dengan bentuknya yang berwarna kemerahan seperti daging, akibat pembelahan dan migrasi sel endotelial untuk membentuk rangkaian jaringan kaya kapiler yang baru (angiogenesis) pada tempat luka. Fibroblas luka berasal dari sel-sel fibroblas disekitar luka yang mengubah fenotif diferensiasi mereka dan menjadi aktif selama proses replikasi. Fibroblas bermigrasi kedalam luka, menggunakan timbunan fibrin dan matriks fibronectin sebagai *scaffold*. Fibroblas berproliferasi (fibroplasia) dan mensintesa matriks ekstraseluler baru. Pertumbuhan sel-sel endotelial vaskuler terjadi secara simultan dengan proses fibroplasia selama pembentukan atau formasi jaringan granulasi, distimulasi oleh platelet dan produk-produk makrofag yang teraktivasi. Jadi , jaringan granulasi merupakan suatu matriks longgar yang tampak pada luka dan terbentuk dari kolagen, fibronectin, dan asam hialuronat, dengan infiltrasi makrofag, fibroblas, dan sel-sel endotelial vaskuler.²

Awal matriks luka sementara dibentuk oleh fibrin, fibronectin, dan asam hialuronat juga Glykosaminoglikan (GAG) yang seluruhnya, kecuali fibrin, dihasilkan oleh fibroblas. Akibat kerangka bentuk asam hialuronat yang mengandung banyak air, asam hialuronat menyediakan matriks yang meningkatkan migrasi sel. Adhesi glykoprotein, termasuk fibronectin, laminin, dan tenascin, terdapat diseluruh matriks awal dan memfasilitasi pertambahan dan migrasi sel. reseptor integrin pada permukaan sel terikat pada matriks GAG dan glikoprotein. Saat fibroblas memasuki dan mengisi luka, mereka menggunakan hialuronidase untuk mendigesti matriks sementara yang kaya akan asam hialuronat dan kemudian menimbun lebih banyak GAG. Secara concomitan, fibroblas menimbun kolagen diatas fibronectin dan *scaffold* GAG dalam susunan tak teratur. Kolagen tipe I dan III merupakan kolagen fibriler utama yang membentuk matriks ekstraseluler kulit. Kolagen tipe III juga awalnya lebih predominan pada luka dibandingkan dengan kulit normal, tetapi saat luka matur, kolagen tipe I lebih banyak tertimbun dalam luka. kolagen yang paling banyak baik pada luka maupun kulit normal adalah kolagen tipe I.^{1, 2, 3}

a. Epitelisasi

Dalam waktu beberapa menit setelah terjadinya luka, perubahan-perubahan morfologi pada keratinosit pada tepi luka terjadi. Pada kulit yang luka, epidermal menebal, dan sel-sel basal marginal melebar dan bermigrasi memenuhi defek pada luka. Satu kali sel bermigrasi, sel tersebut tidak akan berbelah hingga kontinuitas epidermal diperbaiki. Sel-sel basal yang telah diperbaiki pada area dekat potongan luka terus membelah, dan sel-sel yang dihasilkan merata dan bermigrasi ke seluruh matriks luka membentuk suatu lembaran. Adhesi sel glikoprotein seperti fibronectin, vitronectin, dan tenascin menyediakan “jalan” untuk memfasilitasi migrasi sel epitelial ke matriks luka. Keratinosit mendasari laminin dan kolagen tipe IV sebagai bagian mereka pada membran dasar. Keratinosit menjadi kolumnar dan membelah sebagai lapisan epidermis yang terbentuk.

b. Fibroplasia

Hasil proses penyembuhan luka pada mamalia adalah pembentukan jaringan parut. Morfologi jaringan parut terbentuk akibat kurangnya susunan jaringan dibandingkan susunan jaringan normal disekitarnya. Deposisi kolagen yang tak teratur memainkan peranan menonjol pada pembentukan jaringan parut. Serat-serat kolagen baru di sekresi oleh fibroblas yang mulai dihasilkan pada hari ke-3 setelah terjadinya luka. Saat matriks kolagenosa terbentuk, serabut padat kolagen akan mengisi area luka.

c. Kontraksi

Pada luka terbuka, sekeliling kulit yang tak luka luka tertarik menutupi defek sebagai proses kontraksi luka. Hal ini berhubungan dengan gerakan centripetal kulit. Kulit yang tertarik memiliki struktur dermis normal. Secara umum kontraksi luka menguntungkan karena mengurangi area jaringan parut yang menutupi defek.

Sel yang bertanggung jawab pada kontraksi luka adalah myofibroblas. Myofibroblas merupakan sel mesenkim dengan fungsi dan karakteristik struktur seperti fibroblas dan sel-sel otot polos. Sel tersebut merupakan komponen seluler jaringan granulasi atau jaringan parut yang membangkitkan tenaga kontraktile melibatkan aktivitas kontraksi muskuler aktin-miosin sitoplasma.

Myofibroblas berasal dari fibroblas luka, dan tanda dari fenotip myofibroblas adalah ekspresi aktin otot halus- α , bentuk aktin serupa dengan sel-sel otot polos vaskuler. Mikrofilamen aktin tersusun sepanjang axis panjang fibroblas dan berhubungan dengan dense bodies untuk tambahan pada sekeliling matriks seluler. Myofibroblas juga memiliki

tambahan fungsi unik yang menghubungkan sitoskeleton ke matriks ekstraseluler yang disebut *fibronexus*. Fibronexus dibutuhkan untuk koneksi yang menjembatani membran sel antara mikrofilamen interseluler dan fibronectin ekstraseluler. Jadi, kekuatan kontraksi luka mungkin disebabkan oleh kumparan aktin dalam myofibroblas, dan hal tersebut diteruskan ke tepi luka oleh ikatan sel-sel dan sel-matriks.

d. Angiogenesis

Keluarga angiopoetin terdiri dari 4 anggota, yaitu angiopoetin 1 sampai 4. yang berperan dalam angiogenesis adalah angiopoetin 2.

Dalam pembentukan jaringan baru sangat dibutuhkan suplai darah yang kaya atau banyak, dan ini nampak pada warna kemerahan pada luka yang baru menutup. Pembuluh pembuluh darah ini, beberapa diantaranya akan menghilang sesuai dengan kebutuhan. Makrofag memproduksi *macrophage-derived angiogenic factor*, salah satunya angiopoetin 2, dan stimulasi angiogenesis untuk merespon oksigenasi jaringan yang rendah. Faktor ini berfungsi sebagai *chemoattractant* untuk sel sel endotel. *Basic fibroblast growth factor* yang disekresi oleh makrofag, *vascular endothelial growth factor* yang disekresi oleh sel epidermal, *fibroblast growth factor-7*, *Epidermal growth factor*, dan aktivin yang disekresi oleh fibroblas juga penting untuk proses angiogenesis.

Pembentukan cabang cabang kapiler baru merupakan respon dari faktor faktor tadi. Sel sel endotel bergabung menjadi satu dan mengikat fibrin, yang akan mensupport pembentukan dinding pembuluh darah. Hasil dari angiogenesis adalah terbentuknya pembuluh pembuluh darah baru yang akan memberikan banyak suplai darah pada luka dan juga faktor faktor yang dibutuhkan untuk penyembuhan luka. Angiogenesis akan berhenti sesuai dengan kebutuhan akan pembuluh darah baru. Pembuluh pembuluh darah baru yang tidak dibutuhkan akan hilang dengan sendirinya (apoptosis).²

II. Fase remodeling / maturasi

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya fase ini berlangsung dari hari ke 7 sampai dengan 1 tahun. Segera setelah matriks ekstrasel terbentuk dimulailah reorganisasi. Pada mulanya matriks ekstrasel kaya akan fibronectin. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel substratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan penumpukan kolagen oleh fibroblas. Terbentuk asam hialuronidase dan proteoglikan (yang keduanya dibentuk oleh fibroblast) 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.

Fibroblast merupakan penghasil utama kolagen. Fibroblast menghasilkan molekul prekollagen interseluler yang disebut tropocolagen pada batas membrane ribosom, membungkus procollagen kedalam vesikel sekretorik di apparatus golgi, dan kemudian mengeluarkannya menembus membrane sel kedalam ruang ekstraseluler dimana kolagen yang dihasilkan merupakan matriks yang paling dibutuhkan pada fase remodeling atau maturasi seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. ²

Jumlah pada fibroblas pada kelompok perlakuan 2 yang lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok perlakuan 1 dapat disebabkan oleh penggunaan levobupivakain yang telah diberikan sejak insisi, dimana levobupivakain merupakan obat anestesi lokal dengan durasi lama yang dapat mengurangi nyeri akibat insisi. Karena seperti yang dibahas di dalam tinjauan pustaka bahwa nyeri, dalam kasus ini adalah nyeri insisi, dapat secara langsung menimbulkan stress pada sistem imun, lewat peptida hipotalamik, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatik. Karena nyeri berkurang atau hilang, maka dapat dicegah peningkatan β endorfin yang dilepas pituitaria, sehingga supresi terhadap makrofag dapat dicegah. Hal ini berhubungan langsung dengan jumlah fibroblas, dimana bila jumlah makrofag meningkat, akan disertai pula peningkatan jumlah fibroblas. Penyembuhan luka pada kelompok 2 juga didukung oleh aktifitas sitokin yang dilepas makrofag seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β , yang aktifitasnya tidak menurun sehingga terjadi hambatan kesembuhan luka.

Nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamik, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem otak dan sistem imun adalah CRF, ACTH, β endorfin, substansi P dan masih banyak lagi. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh PVN dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dan beberapa perubahan yang diinduksi stres. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA dan aksis SAM (*Sympathetic Adrenal Medullary*).^{13, 14}

Dalam keadaan stres dan nyeri berat, β endorfin yang dilepas pituitaria kadarnya juga meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag, sehingga aktivitas makrofag yang dipengaruhi IFN γ lebih menurun lagi. Penurunan aktivitas makrofag akan berakibat pada sitokin yang dilepaskan makrofag seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β aktivitasnya

juga ikut menurun. Sel TH₃ yang didiferensiasi dari CD4+, karena pengaruh supresi kortisol, aktivitasnya juga menurun sehingga TGF β yang diproduksi TH₃, jumlah dan aktivitasnya juga ikut menurun. Padahal TGF β mempunyai peran meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi, sehingga apabila TGF β menurun, sitokin yang mempunyai peran penyembuhan luka kadarnya ikut menurun, sehingga berakibat terjadi hambatan kesembuhan luka^{11, 12, 13, 14}

Jumlah fibroblas pada kelompok perlakuan 2 juga lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol, yang berarti tidak ada rangsang eksogen yang menimbulkan kerusakan sel, yang tidak akan memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darahnya, tidak terjadi reaksi inflamasi. Dengan demikian tidak terjadi peningkatan komponen seluler dan ekstra seluler. Yang termasuk komponen seluler adalah eritrosit, leukosit (netrofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit) dan trombosit. Komponen ekstra seluler seperti kolagen, elastin, glikoprotein adhesif, fibronektin laminin, kolagen non fibril, tenasin dan proteoglikan, sedangkan yang termasuk komponen jaringan ikat adalah sel mast, fibroblas, monosit, makrofag dan limfosit. Karena tidak ada proses inflamasi maka jumlah fibroblas pada kelompok kontrol menjadi lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan 2.

Selain itu pemberian levobupivakain sebagai anestesi lokal dapat mendukung proses penyembuhan luka seperti yang telah disampaikan Cassuto dkk yang melaporkan bahwa pemakaian anestesi lokal secara topikal dan sistemik pada luka bakar akan menghambat ekstrasvasasi pada tikus.

Penyembuhan luka juga akan lebih baik dengan menggunakan levobupivakain karena dapat mencegah terjadinya infeksi yang merupakan faktor lokal penghambat penyembuhan luka. Seperti yang telah disampaikan oleh beberapa penulis seperti De Amici dkk yang melaporkan bahwa bupivakain menghambat virus dan Rossenberg dkk yang melaporkan adanya efek bakterostatik dan antimikroba pada bupivakain.

Nyeri dan cemas secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamik, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem otak dan sistem imun adalah CRF, ACTH, β endorfin, substansi P dan masih banyak lagi. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRF yang dilakukan oleh PVN dan diperkirakan berperan

sebagai mediator primer dan beberapa perubahan yang diinduksi stres. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA dan aksis SAM (*Sympathetic Adrenal Medullary*).^{13, 14}

Dalam keadaan stres dan nyeri berat, β endorfin yang dilepas pituitaria kadarnya juga meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag, sehingga aktivitas makrofag yang dipengaruhi IFN γ lebih menurun lagi. Penurunan aktivitas makrofag akan berakibat pada sitokin yang dilepaskan makrofag seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β aktivitasnya juga ikut menurun. Sel TH₃ yang didiferensiasi dari CD4+, karena pengaruh supresi kortisol, aktivitasnya juga menurun sehingga TGF β yang diproduksi TH₃, jumlah dan aktivitasnya juga ikut menurun. Padahal TGF β mempunyai peran meningkatkan matrik ekstraseluler (ECM) dan meningkatkan kolagenasi, sehingga apabila TGF β menurun, sitokin yang mempunyai peran penyembuhan luka kadarnya ikut menurun, sehingga berakibat terjadi hambatan kesembuhan luka^{11, 12, 13, 14}

Telah dilaporkan beberapa efek anestesi lokal terhadap proses penyembuhan luka. Cassuto dkk melaporkan bahwa pemakaian anestesi lokal secara topikal dan sistemik pada luka bakar akan menghambat ekstrasvasasi plasma pada tikus. Sedangkan Brofeldt dkk melaporkan penggunaan lidokain krim 5 % pada luka bakar parsial dengan konsentrasi yang dinaikkan sampai 2,25 mg/cm² berhubungan dengan berkurangnya nyeri, hilangnya komplikasi infeksi maupun alergi serta proses penyembuhan luka yang baik. Schimidt dan Rosenktanz melaporkan bahwa lidokain 2 % menghambat pertumbuhan semua bakteri patogen kecuali *streptococcus aureus* dan *pseudomonas aeruginosa*. De Amici dkk melaporkan bahwa bupivakain menghambat replikasi virus, sedang Rossenberg PH dkk melaporkan adanya efek bakteriostatik dan antimikroba bupivakain. Vintar dkk melaporkan penggunaan anestesi lokal bupivakain lewat kateter pada luka efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia inguinalis dan penyembuhan lukanya lebih baik.^{21, 22, 23, 24}

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

Pemberian infiltrasi levobupivakain di daerah sekitar luka insisi akan meningkatkan produksi fibroblas yang dibuktikan dengan jumlah fibroblas yang meningkat. Hasil analisis jumlah fibroblas menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok.

7.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disarankan sebagai berikut:

Pada luka insisi operasi dapat di pergunakan infiltrasi anestesi lokal levobupivakain pada sekitar luka karena akan meningkatkan jumlah fibroblas pada jaringan sekitar luka sehingga penyembuhan luka lebih baik.

Perlu dipertimbangkan untuk dilakukan penelitian pada manusia sehingga hasilnya dapat dijadikan rekomendasi untuk pemberian infiltrasi levobupivakain pada luka insisi setelah pembedahan

DAFTAR PUSTAKA

1. Sabiston CD. Wound healing : Biologic and Clinical Features. Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Practice, 15th ed.1997. WB Saunders Comp. Philadelphia: 207 – 219
2. Mercandetti M, Cohen A. Wound healing, healing and repair. EMedicine. October 7. 2002. <http://www.eMedicine.com.Inc>
3. Richard Bucala. Fibrocytes : circulating fibroblast that mediate tissue repair. 2004. <http://www.etrns.com>.
4. Michell WD and Smith G. The control of acute post operatif pain. British Journal of Anaesthesia 1989 ; 63 : 147 - 158
5. Ike SM Redjeki. Pengelolaan nyeri pascabedah. 1st National Congress Indonesian Pain Society ; 2001;58 - 62
6. Pleuvry B J. The chemical modulation of nociceptive responses and pain. In : Healy T E J, Cohen P J. eds. A practice of anesthesia. 6th ed. London Edward Arnold. 1995 : 80-8
7. Galindo M A, Levobupivacain, a long acting local anaesthetic, with less cardiac and neurotoxicity. <http://www.ndaa.ox.ac.uk/wfsa/html/u14/u1407-01.html>
8. Mulyata St . Analisis imunohistokimia TGF β 1, indikasi hambatan kesembuhan lika operasi episiotomi pada tikus Sprague Dawley. 1st Indonesian simposium on obstetric anaesthesia, Bandung 2002
9. Stoelting R K. Local anesthetics. In : Stoelting R K. Pharmacology and physiology in anesthetic practice. 3rd ed. Philadelphia. New York : JB Lippincott ; 1999. 45-67
10. Nazarudin U. Acute pain management strategis that work. Kumpulan makalah PIB XI .Medan 2002 : 421
11. Bonica J J. anatomic and physiologic basis of pain and nociception and pain. In : Bonica J J. ed. The management of pain. Pennsylvania. Lea and Febiger. London. 1990 : 12-28
12. Devor M. Pain mechanism and pain syndrome. In : Campbell J N. Pain 1996 an update review. IASP press. Seattle. 1996 : 103-112
13. Webster E, Torpy D J, Elenkov I. et al. Corticotropin releasing hormone and inflammation. Annals of the New York Academy of Sciences.1998 ; 840 : 21-32

14. Melzacks R, Wall P. The gate control theory of pain. In : Melzacks R, Wall P. The challenge of pain 1st ed. Penguin education. 1984 : 223-261
15. Gillian S et al. Topical estrogen accelerates cutaneous wound healing in aged humans associated with unaltered inflammatory response. *Am J Pathol* ,1999.155; 1137 – 1146
16. George W et al. Wound healing. Textbook of surgery; vol IA, New York , Tokyo, Oxford University Press 1994 ; 3 – 23
17. Cotran Ramzi S, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. W B Saunders Co. Philadelphia. 1999 : 21-201
18. Churchill H C, Davidson. Pain clinical and operative nerve block. In : A practice of anesthesia. 5th ed. PG pub. Pte. Ltd. Singapore. 1986 : 893-900
19. Hollmann , Markus W, Durieux E, Local anesthetics and the inflammatory response : A new therapeutic indication , *Anesthesiology*. September 2000; 93 : 858-75
20. Fields H L, The peripheral pain sensory system. In : Pain 1st ed. New York. Mc Graw Hill Co. Inc; 1987 :13-37
21. Raymond R G, William G B. Pain management. In : Morgans G E, Mikhail M S. eds. Clinical anesthesiology. 1st ed. Prentice hall int. Inc. New Jersey. 1992 : 269-273
22. 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
23. Vintar N, Pozlep G, Rawal N, et al. Incisional self-administration of bupivacaine or ropivacaine provides effective analgesia after inguinal hernia repair. *Can J of An* 2002 ; 49: 481-6
24. 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). *Anaesthetist* 1999 ; 48 : 439-433