

**HUBUNGAN ANTARA KADAR KORTISOL SERUM,  
KUANTITAS NEUTROFIL SEGMENT DAN INFILTRASI  
ANESTETIK LOKAL LEVOBUPIVAKAIN PADA  
PENYEMBUHAN LUKA TIKUS WISTAR**

***THE CORRELATION BETWEEN THE LEVEL OF SERUM CORTISOL,  
SEGMENTED NEUTROPHIL AND LEVOBUPIVACAINE INFILTRATION  
ON WISTAR RATS WOUND HEALING***

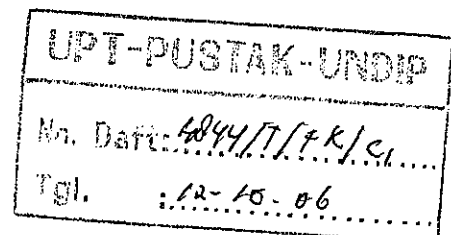


**Tesis**

untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar derajat Sarjana S-2  
dan PPDS I Anestesiologi

**Eko Setijanto**

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



**Tesis**

**HUBUNGAN ANTARA KADAR KORTISOL SERUM,  
KUANTITAS NEUTROFIL SEGMENT DAN INFILTRASI  
ANESTETIK LOKAL LEVOBUPIVAKAIN PADA  
PENYEMBUHAN LUKA TIKUS WISTAR**

disusun oleh  
Eko Setijanto

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

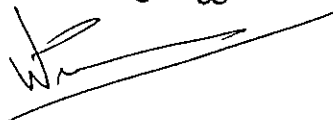
Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama



dr.H. Marwoto, Sp.An,KIC  
NIP. 130 516 880

Pembimbing Anggota

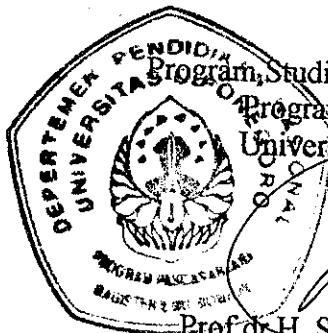


Prof.dr.M.I.Widiastuti,SpS(K),M.Kes,PAK  
NIP. 130 345 805

Mengetahui:

Ketua

Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Program Pasca Sarjana  
Universitas Diponegoro



Prof.dr.H. Soebowo, SpPA(K)  
NIP. 130 352 249

Ketua

Program Studi PPDS I Anestesiologi  
Universitas Diponegoro



dr.Fitro Budiono, SpAn  
NIP. 140 098 893

## **PERNYATAAN**

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

Semarang, Desember 2005

Penulis

## RIWAYAT HIDUP SINGKAT

### A. Identitas

Nama : dr. Eko Setijanto  
NIM Magister Biomedik : G4A004036  
NIM PPDS I Anestesiologi : G3F001070  
Tempat / Tgl lahir : Batang / 22 Maret 1971  
Agama : Islam  
Jenis kelamin : Laki-laki

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD Tirto 1 Pekalongan Jawa Tengah : Lulus tahun 1983
2. SMP 1 Pekalongan Jawa Tengah : Lulus tahun 1986
3. SMA 1 Pekalongan Jawa Tengah : Lulus tahun 1989
4. FK UNS Surakarta Jawa Tengah : Lulus tahun 1997
5. PPDS I Anestesiologi UNDIP Semarang Jawa Tengah
6. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang Jawa Tengah

### C. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang tua Ayah : Walujo  
Ibu : Markuwati
2. Nama Istri : Reni Ekawati
3. Nama Anak : Izza Ramadhani Setijanto

## KATA PENGANTAR

Rasa syukur dipanjatkan kehadirat Allah Subhannahuwataala atas limpahan rahmat dan anugerahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Hubungan antara Kadar Kortisol Serum, Kuantitas Neutrofil Segmen dan Infiltrasi Anestetik Lokal Levobupivakain pada Penyembuhan Luka Tikus Wistar”

Penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar derajat sarjana S<sub>2</sub> Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Kepada dr.H.Marwoto,SpAn,KIC sebagai dosen pembimbing utama dan Prof.dr.M.I.Widiastuti,SpS(K),MKes. sebagai dosen pembimbing kedua, penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan, sumbangan pikiran serta dorongan semangat dalam penulisan tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih kepada :

1. Prof.dr.Kabulrachman,SpKK(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
2. Prof.dr.H.Soebowo,SpPA(K), Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
3. dr.Hariyo Satoto,SpAn(K), Kepala Bagian Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr Kariadi Semarang.

4. dr.Uripno Budiono,SpAn, Ketua Program Studi PPDS I Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
5. Dra. Dyah Retno Budiani,Msi dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UNS Surakarta, Kepala Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang serta Kepala Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr Kariadi Semarang.
6. Tim penguji dan nara sumber yang telah berkenan memberi masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna. Kritik dan saran demi kesempurnaan penelitian ini akan diterima dengan senang hati. Penulis berharap penelitian ini memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu kedokteran dan berguna bagi masyarakat.

Semarang, Desember 2005

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
<b>BAB 1</b> PENDAHULUAN.....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB 2</b> TINJAUAN PUSTAKA.....	<b>7</b>
2.1 Levobupivakain.....	7
2.2 Patofisiologi Nyeri.....	8
2.3 Penyembuhan Luka.....	10
2.4 Peran Kortisol pada Penyembuhan Luka.....	13
2.5 Peran Neutrofil Segmen.....	15
2.6 Pengaruh Anestetik Lokal.....	17
2.7 Kerangka Patofisiologi.....	20
<b>BAB 3</b> KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	<b>21</b>
3.1 Kerangka Teori.....	21
3.2 Kerangka Konsep.....	22
3.3 Hipotesis Penelitian.....	22
<b>BAB 4</b> METODE PENELITIAN.....	<b>23</b>
4.1 Rancangan Penelitian.....	23
4.2 Sampel Penelitian.....	23
4.3 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	24
4.4 Variabel Penelitian.....	25
4.5 Definisi operasional.....	25
4.6 Bahan dan Alat Penelitian.....	26
4.7 Pelaksanaan Penelitian.....	28
4.8 Alur Kerja.....	31
4.9 Prosedur Pemeriksaan.....	32
4.10 Cara Pengumpulan Data.....	34
4.11 Analisis Data.....	35
<b>BAB 5</b> HASIL PENELITIAN.....	<b>36</b>

	5.1 Hasil Penelitian.....	36
	5.2 Pembahasan.....	38
BAB 6	SIMPULAN DAN SARAN.....	44
	6.1 Simpulan.....	44
	6.2 Saran.....	44
	DAFTAR PUSTAKA.....	45
	LAMPIRAN.....	49



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Peran neutrofil pada penyembuhan luka.....	15
Tabel 2. Data berat badan tikus dan dosis levobupivakain.....	32
Tabel 3. Nilai rerata kortisol dan neutrofil segmen .....	32
Tabel 4. Uji normalitas kortisol neutrofil segmen.....	33
Tabel 5. Uji beda antar kelompok data kortisol dan neutrofil segmen	34
Tabel 6. Analisis hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen.....	37

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase penyembuhan luka.....	12
Gambar 2. Skema patofisiologi respons stres.....	20
Gambar 3. Skema rancangan penelitian.....	23
Gambar 4. Diagram hubungan antara kortisol, ANC, neutrofil segmen jaringan dan infiltrasi levobupivakain.....	35
Gambar 5. Gambar mikroskopis sediaan apusan darah tikus Wistar.....	36
Gambar 6. Diagram pencar hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen.	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data berat badan dan dosis levobupivakain.....	49
Lampiran 2. Data kortisol dan neutrofil segmen.....	49
Lampiran 3. Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> .....	50
Lampiran 4. Uji beda <i>Kruskal-Wallis</i> .....	50
Lampiran 5. Uji korelasi non parametrik.....	50

## DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: <i>Adrenocorticotropin Hormone</i>
ADH	: <i>Antidiuretic hormone</i>
ANC	: <i>Absolute neutrophil count</i>
bFGF	: <i>basic Fibroblast Growth Factor</i>
CRH	: <i>Corticotropin Releasing Hormone</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
HPA	: <i>Hipothalamus Pituitary Adrenal</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
IFN- $\gamma$	: <i>Interferron gamma</i>
Ig G1	: <i>Immunoglobulin G 1</i>
IL-1/-4 /-6/-8	: <i>Interleukin-1 / -4/-6 / -8</i>
PVN	: <i>Paraventricular Nucleus</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
SAM	: <i>Sympathetic adrenomedularis</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TH1/2	: <i>T Helper 1 / 2</i>
TNF $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>

## ABSTRAK

**Latar belakang :** Nyeri akut pasca pembedahan merangsang *corticotropin releasing factor* dan adrenal untuk melepaskan kortisol. Infiltrasi anestetik lokal terbukti mengurangi nyeri akut, menurunkan kortisol. Levobupivakain, anestetik lokal durasi panjang efektif mengurangi nyeri akut. Kortisol menyebabkan depresi neutrofil segmen.

**Tujuan :** Membuktikan adanya hubungan antara kadar kortisol serum, neutrofil segmen dan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain pada penyembuhan luka.

**Metode :** Dilakukan penelitian eksperimental pada hewan coba tikus Wistar, dengan desain *randomized post test only control group*. Sampel 15 ekor dibagi menjadi 3 kelompok; kelompok I kontrol, kelompok II insisi subkutis, kelompok III insisi subkutis dan infiltrasi levobupivakain setiap 8 jam selama 24 jam. Diperiksa kadar kortisol serum, *absolute neutrophil count* serta neutrofil segmen jaringan pada jam ke-24 pasca insisi. Data dianalisis dengan uji beda *Kruskal-Wallis*. Hubungan antara kadar kortisol serum dan neutrofil segmen dianalisis menggunakan uji korelasi *Spearman*.

**Hasil :** Kadar kortisol serum antara kelompok I, II dan III berbeda bermakna ( $p=0,002$ ). *Absolute neutrophil count* antara kelompok I, II dan III berbeda tak bermakna ( $p=0,100$ ). Kuantitas neutrofil segmen jaringan antara kelompok I, II dan III berbeda bermakna ( $p=0,007$ ). Hubungan antara kadar kortisol serum dan kuantitas neutrofil segmen tak bermakna ( $r=0,057$ ), ( $p=0,839$ ).

**Simpulan :** Kadar kortisol serum kelompok infiltrasi levobupivakain lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi levobupivakain. *Absolute neutrophil count* darah kelompok infiltrasi dibandingkan tanpa infiltrasi levobupivakain berbeda tak bermakna. Kuantitas neutrofil segmen jaringan pada kelompok infiltrasi levobupivakain lebih besar dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi levobupivakain. Tidak terdapat hubungan antara kadar kortisol serum dan neutrofil segmen pada proses penyembuhan luka.

**Kata kunci :** levobupivakain, kadar kortisol serum, neutrofil segmen.

## ABSTRACT

### THE CORRELATION BETWEEN THE LEVEL OF SERUM CORTISOL, SEGMENTED NEUTROPHIL AND LEVOBUPIVACAINE INFILTRATION ON WISTAR RATS WOUND HEALING

**Background :** Post operative acute pain stimulates corticotropin releasing factor and adrenal to release cortisol. The use of local anaesthetic infiltration is consider to control acute pain and will decrease the level of cortisol. Levobupivacaine is a long acting local anaesthetic, suitable for pain control. Cortisol has an ability to depress segmented neutrophil.

**Objective :** To prove the correlation between the level of serum cortisol, the number of segmented neutrophil and levobupivacaine infiltration.

**Methods :** This study was an animal experimental study, randomized post test only control group design, 15 Wistar rats were divided into 3 groups. Group I, control, group II, rats that got incisions without levobupivacaine infiltration and group III, rats that got incisions and levobupivacaine infiltration every 8<sup>th</sup> hours for 24 hours. On 1<sup>st</sup> day, blood sample was taken and analyzed for the level of serum cortisol, absolute neutrophil count and the number of segmented neutrophil from tissue biopsy was done. Data were analyzed using Kruskal-Wallis test. The correlation between the level of serum cortisol and the number of segmented neutrophil were analyzed using Spearmans correlation test.

**Results :** There was a significant difference on the level of serum cortisol between group I, II and III, ( $p=0.002$ ). There was no significant difference of absolute neutrophil count between group I, II and III, ( $p=0.100$ ). There was a significant difference on the number of segmented neutrophil from tissue biopsy between group I, II and III, ( $p=0.007$ ). There was no correlation between the level of serum cortisol and the number of segmented neutrophil ( $p=0.839$ ).

**Conclusions :** The level of serum cortisol in levobupivacaine infiltration group are lower than that without levobupivacaine infiltration. The number of tissue segmented neutrophils are greater in levobupivacaine infiltration group and there's no significant difference concerning absolute neutrophil count between those two groups. There's no correlation between the level of serum cortisol and the number of segmented neutrophil on wound healing process.

**Key words :** Levobupivacaine, the level of serum cortisol, segmented neutrophil.

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang masalah

Penyembuhan luka merupakan mekanisme tubuh untuk memperbaiki kerusakan jaringan akibat trauma yang melibatkan proses kompleks meliputi : hemostasis, inflamasi akut, regenerasi, migrasi sel, proliferasi sel parenkim, sintesis protein *extracellular matrix* (ECM), *remodelling* jaringan ikat, pembentukan kolagen dan akuisisi kekuatan luka.<sup>1,2,3</sup>

Penyembuhan luka dipengaruhi oleh faktor sistemik dan lokal. Salah satu faktor sistemik tersebut adalah hormon glukokortikoid. Hormon ini mempunyai efek anti inflamasi, supresi neutrofil, menghambat pembentukan fibroblas dan sintesis kolagen.<sup>1</sup> *Elenkov* dkk melaporkan bahwa glukokortikoid, katekolamin dan histamin menyebabkan supresi imunitas seluler dan respons imun humoral.<sup>4</sup> *Webster* dkk melaporkan *corticotropin releasing hormone* (CRH) berperan penting sebagai pengatur reaksi aksis *hypothalamic pituitary adrenal* (HPA) sebagai respons tubuh terhadap stres. CRH merangsang *pituitary* untuk melepaskan *adrenocorticotropin hormone* (ACTH) yang menekan sistem imun secara tidak langsung melalui glukokortikoid dan atau mekanisme sistem simpatis. Pada respons stres beberapa mediator seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , *interleukin 1* (IL-1), *interleukin 6* (IL-6) akan memacu CRH dan atau sekresi vasopresin yang berfungsi untuk mencegah inflamasi berlebihan.<sup>4-8</sup> Kortisol menekan inflamasi dengan menjaga keseimbangan membran lisosom,

menurunkan pelepasan lisosom, menurunkan permeabilitas kapiler, mencegah kebocoran plasma dan mengurangi migrasi neutrofil ke jaringan inflamasi.<sup>5-7</sup>

Neutrofil sebagai sel fagosit pertama yang bereaksi pada inflamasi. Sel ini dengan proses kemotaksis berfungsi sebagai fagosit dan bakterisid yang mengontrol kontaminasi lokal dan mencegah infeksi. Neutrofil melepaskan protease yaitu elastase dan kolagenase yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel, merubah *extracellular matrix* dan membersihkan luka dari sel yang rusak. Luka yang bersih, bebas infeksi akan memperbaiki penyembuhan luka.<sup>6</sup> Neutrofil juga mengaktivasi makrofag, melepaskan sitokin, memacu sel fibroblas dan keratinosit untuk penyembuhan luka.<sup>5-7</sup>

Stres pembedahan menimbulkan respons berupa peningkatan sekresi hormon katabolik yaitu glukokortikoid, hipermetabolisme, aktivasi sistem otonom, peningkatan kerja jantung, nyeri, gangguan paru, gangguan saluran cerna, gangguan sistem koagulasi, fibrinolitik dan immunosupresi.<sup>5</sup> Stres nyeri menjadi stresor pemicu pelepasan glukokortikoid dan  $\beta$  endorfin.<sup>7,8</sup> Nyeri pasca pembedahan bila tidak dikelola dengan baik akan memperpanjang fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortisol.<sup>9,10</sup> Peningkatan kortisol 3 kali dari kondisi basal dengan pencetus stres berupa stimulasi suara pada tikus telah dilaporkan peneliti terdahulu.<sup>11</sup>

Beberapa cara telah dilakukan untuk mengurangi terjadinya stres pembedahan. *Pedersen* mengurangi respons stres pembedahan dengan teknik pembedahan non invasif, penggunaan analgetik opioid dan blok saraf.<sup>5</sup> *Bardram* melaporkan teknik laparaskopi, anestesi epidural, nutrisi dini, mobilisasi dini dan



analgetik adekuat terbukti mampu mengurangi respons stres pembedahan.<sup>7</sup> Infiltrasi anestetik lokal dapat mengurangi intensitas nyeri, sehingga mengurangi sekresi glukokortikoid.<sup>1,2</sup> Penggunaan infiltrasi bupivakain di sekitar luka pada dosis tunggal<sup>12</sup> atau dosis berulang terbukti efektif mengurangi nyeri selama 24 jam pasca operasi, mengurangi kebutuhan opioid,<sup>13</sup> mengurangi komplikasi infeksi, inflamasi lokal,<sup>14</sup> menurunkan katabolisme protein, mengurangi gangguan paru, mengurangi pelepasan katekolamin, kortisol dan glukagon.<sup>5</sup>

Beberapa peneliti telah melaporkan pemakaian anestetik lokal lidokain, bupivakain topikal pada luka bakar terbukti menghambat ekstrasvasasi plasma, mengurangi nyeri, mengurangi komplikasi infeksi maupun alergi, tidak menyebabkan peradangan lokal, memiliki efek bakteristatik serta proses penyembuhan luka lebih baik.<sup>15-17</sup> Peneliti tersebut mengukur berkurangnya intensitas nyeri dengan penilaian *visual analog pain score*, tanpa melakukan pemeriksaan kortisol dan perubahan neutrofil segmen selama masa inflamasi. Penggunaan infiltrasi levobupivakain di sekitar luka belum dilaporkan.

Penelitian ini akan menerapkan hal baru yaitu penggunaan levobupivakain, obat anestetik lokal dengan depresi jantung dan sistem saraf pusat minimal, lama kerja obat 6-8 jam pada penggunaan secara infiltrasi, efektif untuk mengurangi nyeri akut selama 24 jam pertama pasca pembedahan. Cara ini lazim digunakan dalam aplikasi klinis anestetik lokal untuk mengurangi nyeri akut. Infiltrasi levobupivakain di sekitar luka bertujuan untuk menghambat transmisi rangsang nyeri di jalur saraf. Infiltrasi diulang tiap 8 jam sesuai masa kerja obat selama periode nyeri akut 24 jam pasca insisi. Kadar kortisol serum, *absolute*

*neutrophil count* darah dan neutrofil segmen jaringan diperiksa pada jam ke-24 pasca insisi berdasarkan pertimbangan pada saat tersebut kadar kortisol dan neutrofil segmen mencapai maksimal. Penelitian ini dilakukan pada binatang percobaan tikus karena perlakuan insisi tanpa analgetik, tindakan biopsi jaringan pada jam ke-24 pasca insisi tidak etis bila diterapkan pada manusia. Pemilihan tikus Wistar berdasarkan pertimbangan karena ukuran tubuhnya cukup besar, mudah diperoleh, mudah diberi perlakuan dan lebih tahan terhadap perlakuan.

## **1.2 Rumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, dirumuskan masalah: Apakah terdapat hubungan antara kadar kortisol serum, neutrofil segmen darah dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain pada inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

## **1.3 Tujuan penelitian**

### **1.3.1 Umum**

Membuktikan bahwa kadar kortisol serum lebih rendah, kuantitas neutrofil segmen darah dan jaringan lebih besar pada infiltrasi anestetik lokal levobupivakain. Membuktikan adanya hubungan antara kadar kortisol serum dengan neutrofil segmen darah pada inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

### **1.3.2 Khusus**

1. Membuktikan kadar kortisol serum lebih rendah pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
2. Membuktikan kuantitas neutrofil segmen darah lebih besar pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
3. Membuktikan kuantitas neutrofil segmen jaringan lebih besar pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
4. Membuktikan adanya hubungan antara kadar kortisol serum dan kuantitas neutrofil segmen darah pada inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

### **1.4 Manfaat penelitian**

1. Sumbangan teori untuk mengungkap mekanisme perbaikan inflamasi dalam perjalanan penyembuhan luka.
2. Dasar bagi penelitian lebih lanjut untuk memperbaiki inflamasi dalam perjalanan penyembuhan luka berdasarkan kadar kortisol serum lebih rendah, kuantitas neutrofil segmen darah dan jaringan lebih besar.
3. Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain di sekitar luka secara klinis dapat digunakan untuk memperbaiki inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Levobupivakain

Levobupivakain adalah 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. Ikatan dengan protein lebih dari 97% terutama pada asam  $\alpha$ -1 glikoprotein dibandingkan pada albumin. Penderita hipoproteinemi, sindrom nefrotik, kurang kalori protein dan bayi baru lahir dengan sedikit kadar protein akan menyebabkan kadar obat bebas dalam plasma tinggi sehingga efek toksik sudah terlihat pada dosis rendah<sup>17,18</sup>. Metabolisme obat terjadi di hepar oleh enzim sitokrom P450. Bersihan obat dalam plasma akan menurun bila terjadi gangguan fungsi hepar.<sup>18,19</sup>

Mekanisme aksi levobupivakain sama dengan bupivakain atau anestetik lokal lain. Apabila *minimum local analgesic concentration* (MLAC) tercapai, obat melingkupi membran akson, menutup kanal natrium berakibat hambatan permeabilitas kanal natrium, sehingga tidak tercapai ambang aksi potensial. Efek ini menyebabkan hambatan depolarisasi dan penghambatan transmisi impuls saraf.<sup>19,20</sup> Levobupivakain menimbulkan kejadian depresi jantung lebih sedikit dibandingkan bupivakain dan ropivakain. Gejala toksisitas sistem saraf pusat pada levobupivakain terjadi pada dosis lebih tinggi dibandingkan bupivakain.<sup>20</sup>

Levobupivakain dapat digunakan untuk anestesi epidural, subaraknoid, blok saraf perifer, infiltrasi lokal, analgesik obstetri dan pengelolaan nyeri pasca operasi. Dosis tunggal maksimum adalah 2 mg /kg bb dan 5,7 mg/kg bb (400 mg) dalam 24 jam.<sup>18,20</sup> Dosis infiltrasi maksimal 175 mg pada dosis tunggal.<sup>19,20</sup> Efek samping obat diantaranya hipotensi, bradikardi, mual, muntah, gatal, nyeri kepala, pusing, telinga berdenging, gangguan buang air besar dan kejang.<sup>20</sup>

## 2.2 Patofisiologi nyeri

Nyeri akibat kerusakan jaringan bersifat subyektif, gejala psikologis bervariasi, menyatu dengan emosi dan pikiran menghasilkan pengalaman hidup kompleks. Nyeri merupakan proses pengalaman nyeri,<sup>21-23</sup> reaksi sensoris sistem nosiseptif mendadak dan merupakan sinyal mekanisme pertahanan tubuh.<sup>24,25</sup>

Pengelolaan nyeri tidak adekuat berakibat penurunan gerak pernapasan, kemampuan batuk, ketakutan untuk mobilisasi, kecemasan, peningkatan pelepasan katekolamin. Katekolamin yang tinggi berefek terhadap pemanjangan fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortisol.<sup>9,25-28</sup> *Bardram* melaporkan penggunaan teknik laparaskopi, teknik anestesi ekstradural, nutrisi dini, mobilisasi dini dan analgetik opioid dapat mempersingkat lama rawat inap di rumah sakit tanpa menimbulkan komplikasi jantung, tromboemboli, infeksi, dan kelelahan.<sup>7</sup>

Tahap terjadinya nyeri sebagai berikut :

### 2.2.1 Transduksi

Kerusakan jaringan menyebabkan terlepasnya substansi kimiawi endogen yaitu: bradikinin, substansi P, serotonin, histamin, ion H, ion K dan prostaglandin.

Kerusakan membran sel akan melepaskan senyawa *phospholipid* yang mengandung asam arakhidonat dan dengan pengaruh *prostaglandin endoperoxide synthase* akan membentuk mediator inflamasi sekaligus mediator nyeri yaitu tromboksan, prostaglandin dan prostasiklin. Kombinasi senyawa ini menimbulkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler lokal. Tubuh akan melepaskan sitokin proinflamasi yaitu : IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , *interferron* (IFN)- $\gamma$ . Proses transduksi ini dapat dihambat obat anti inflamasi non steroid.<sup>25-27</sup>

### **2.2.2 Transmisi**

Serabut perifer terdiri dari serabut sensoris, motorik somatik, motorik otonomik. Serabut yang menghantarkan impuls nosiseptif adalah serabut A $\delta$  dan C. Impuls di neuron aferen primer melewati radiks posterior menuju ke kornu posterior medula spinalis pada berbagai tingkat dan membentuk badan sel dalam ganglia radiks posterior. Impuls dihantarkan ke neuron aferen sekunder menuju ke traktus spinotalamikus lateralis, somatosensorik di korteks serebri. Proses transmisi ini dapat dihambat oleh obat anestetik lokal.<sup>26-28</sup>

### **2.2.3 Modulasi**

Impuls yang mencapai kornu posterior medula spinalis akan mengalami penyaringan intensitas. Sistem pengendali modulasi ini dikenal sebagai sistem gerbang kendali nyeri di medula spinalis. Modulator penghambat nyeri di medula spinalis yaitu dinorfin, enkefalin, noradrenalin, dopamin 5 HT2 dan *gama amino butiric acid* (GABA). Sedangkan yang meningkatkan nyeri yaitu substansi P, *adenosin triphosphate* (ATP) dan asam amino eksitatori.<sup>25,26</sup>

#### 2.2.4 Persepsi

Hasil proses integrasi pada pusat kognisi, afeksi dan impuls nyeri yang dirasakan individu.<sup>25-27</sup>

### 2.3 Proses penyembuhan luka

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks, meliputi hemostasis, inflamasi akut, regenerasi, migrasi dan proliferasi sel parenkim, sintesis protein ECM, *remodelling* jaringan ikat dan parenkim, kolagenasi dan akuisisi kekuatan luka (gambar 1).<sup>1-3</sup>

#### 2.3.1 Fase inflamasi

Kerusakan sel memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat dengan pembuluh darah. Reaksi ini berguna sebagai proteksi terhadap jaringan yang mengalami kerusakan agar tidak mengalami infeksi dan meluas tak terkendali. Proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Inflamasi cenderung menimbulkan nyeri. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan dan luka akan tetap menjadi sumber nyeri.<sup>1-3,5,6</sup> Fase inflamasi terjadi pada hari ke-0-5 dan 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 aktivasi komplemen kinin, kaskade pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadaan ini memperkuat sinyal dari daerah luka, tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka.

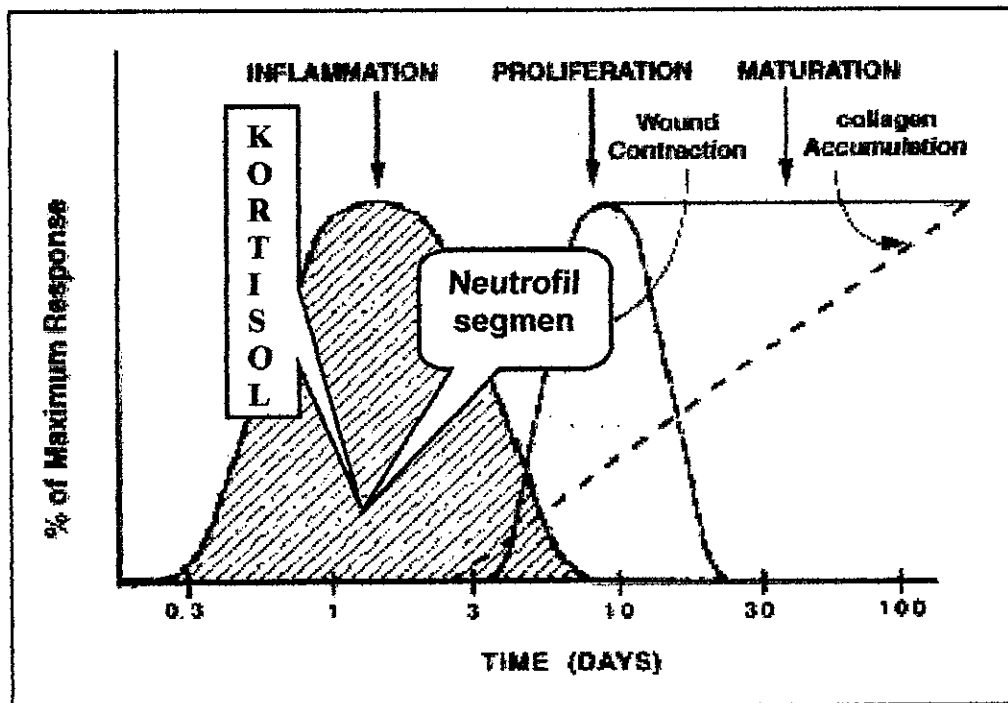
Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan edema.<sup>1-3</sup> Sel *polymorphonuclear* (PMN) terutama neutrofil adalah sel pertama yang menuju ke daerah luka. Jumlahnya akan meningkat cepat dan mencapai puncak pada jam ke-24-48. Neutrofil berperan untuk fagositosis, mencerna organisme patologis dan sisa jaringan. Bila tidak terjadi infeksi neutrofil berumur pendek dan jumlahnya menurun cepat setelah hari ke-3.<sup>1-3,6</sup>

Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag, 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 berperan untuk fagositosis dan mencerna organisme patologis dan sisa jaringan. Makrofag juga mengekspresi sitokin, faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan jaringan granulasi.<sup>1-3,5,6</sup>

### **2.3.2 Fase proliferasi**

Fase ini terjadi pada hari ke-3-14. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi. Jaringan granulasi merupakan kombinasi elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi, bersama dengan kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronektin dan asam hialuronik. Fibroblas juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, unsur utama ECM yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut.<sup>1-3</sup> Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Pada hari ke-2 sel endotelial mulai bermigrasi sebagai respons stimuli angiogenik. Proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi (gambar 1).<sup>1-3,6</sup>





Gambar 1. Fase penyembuhan luka (Mast AB, 2000)

### 2.3.3 Fase maturasi

Fase ini berlangsung dari hari ke-7 sampai 1 tahun, meliputi pembentukan ECM, reorganisasi, migrasi sel, penumpukan kolagen oleh fibroblas. Asam hialuronidase dan proteoglikan berperan dalam pembentukan ECM. Sintesis kolagen akan dipacu oleh faktor pertumbuhan yaitu *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor* (TGF)- $\beta$  dan IL-1, IL-4, *immunoglobulin G1* (IgG1) yang diproduksi leukosit dan limfosit. Pada proses *remodelling* jaringan, faktor pertumbuhan dan IL-1, TNF- $\alpha$  akan memacu sintesis kolagen dan aktivasi *metaloproteinase* yang berfungsi untuk degradasi komponen ECM yang merupakan *remodelling* kerangka jaringan ikat. Kecepatan sintesis kolagen mengembalikan luka menjadi jaringan normal terjadi dalam waktu 6 bulan sampai 1 tahun.<sup>1-3,6</sup>

## 2.4 Peran kortisol pada penyembuhan luka

Aktivitas glukokortikoid 95% berasal dari kortisol, sebagian lain dari kortikosteron dan kortison. Kortisol meningkatkan glukoneogenesis, katabolisme protein, mobilisasi asam lemak dan anti inflamasi.<sup>20</sup> Pada reaksi inflamasi, kortisol menstabilisasi membran lisosom menyebabkan penurunan pelepasan lisosom yang dipicu inflamasi. Kortisol menurunkan permeabilitas kapiler sehingga mencegah kebocoran plasma ke jaringan, sehingga mencegah edema. Kortisol menurunkan migrasi neutrofil ke jaringan inflamasi. Kortisol mengurangi jumlah neutrofil dan eosinofil dalam darah beberapa menit setelah pemberian. Kortisol menyebabkan atropi jaringan limfoid tubuh yang menyebabkan penurunan produksi antibodi. Semua ini menurunkan imunitas tubuh dalam melawan bakteri atau virus. Kemampuan kortisol menekan imunitas berguna dalam mengurangi respons penolakan imunologis pada transplantasi jaringan.<sup>1,2,4</sup> Mekanisme glukokortikoid dalam menghambat inflamasi melalui ikatan dengan reseptor glukokortikoid dalam sitoplasma, sehingga terjadi dimerisasi, translokasi menuju nukleus dan berikatan dengan *glucocorticoid response elements* (GRE). Ikatan ini terjadi dalam gen yang responsif sehingga meningkatkan transkripsi gen untuk protein anti inflamasi yaitu *lipocortin-1*, *IL-10*, *IL-1 receptor antagonist* dan *neutral endopeptidase*. Glukokortikoid menghambat faktor inflamasi seperti sitokin, enzim, reseptor dan molekul adhesi. Mekanisme ini terjadi akibat penghambatan langsung reseptor glukokortikoid terhadap faktor transkripsi yang mengatur ekspresi faktor inflamasi seperti *nuclear factor-kappa B* and aktivator protein-1.<sup>4,20</sup>

Kortisol mencegah respons inflamasi akibat reaksi alergi seperti edema laring, mempengaruhi aktivasi komplemen dan leukotrien.<sup>20</sup> Kortisol disekresi dari korteks adrenal 20 µg/hari pada kondisi basal, meningkat pada stimulasi stres maksimal sejumlah 150 µg/hari. Kadar kortisol plasma tertinggi pada pagi hari 8-25 µg/dl. Ikatan kortisol dengan globulin atau disebut transkortin sejumlah 80-90%. Waktu paruh eliminasi 70 menit. Degradasi di hepar menjadi 17-hidroksikortisteroid, dan ekskresi melalui urine.

Pengaturan sekresi kortisol melalui perangsangan *anterior pituitary* oleh CRH yang akan melepaskan ACTH, selanjutnya akan melepaskan kortisol ke dalam darah. CRH merupakan pengatur utama sekresi glukokortikoid. Kortisol berperan pada mekanisme umpan balik negatif langsung ke hipotalamus dan *pituitary*, akan menghambat pelepasan CRH dan ACTH. TNF- $\alpha$ , IL-1, dan IL-6 diproduksi berurutan. Ketiganya disebut sebagai *tissue corticotropin releasing hormone* yang akan merangsang aksis HPA, ACTH untuk memproduksi glukokortikoid. Glukokortikoid mempengaruhi sirkulasi leukosit dan menghambat beberapa fungsi leukosit. Hormon ini menekan fungsi limfosit TH-1, memacu apoptosis eosinofil dan beberapa limfosit T. Glukokortikoid menghambat ekspresi molekul adhesi, reseptornya serta memacu reaksi fase akut.<sup>4,20</sup>

Respons stres dapat menghalangi mekanisme umpan balik negatif dan berakibat peningkatan kortisol. Pemberian kortikosteroid jangka lama berakibat penekanan aksis HPA menyebabkan hambatan pelepasan kortisol stres.<sup>1,4,20</sup>

## 2.5 Peran neutrofil segmen pada penyembuhan luka

Luka mengakibatkan sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblas dilepaskan bersamaan dan berinteraksi untuk memulihkan kerusakan. Proses hemostasis segera terjadi berupa vasokonstriksi, agregasi trombosit, dan aktivasi proses pembekuan darah. Bekuan darah akan berfungsi sebagai pertahanan terhadap kontaminasi bakteri dan mencegah kehilangan cairan. Fibrin, fibronektin, asam hialuronik akan mengisi daerah luka untuk membentuk ECM. Pembentukan matriks ini akan berfungsi sebagai perekat sel dan jalur masuk sel ke daerah luka. Vasodilatasi, peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan pelepasan kemoatraktan C5a, protein bakteri, leukotrien B<sub>4</sub> akan terjadi di sekitar luka. Kemoatraktan akan menarik leukosit PMN dalam sirkulasi kapiler. Neutrofil akan bereaksi dan terjadi akumulasi neutrofil mendekati sel endotel dinding venula. Proses ini disebut *marginasi*. Akumulasi dan penempelan neutrofil pada permukaan endotel terjadi karena adanya molekul adhesi yang dilepaskan endotel akibat pengaruh IL-1 yang diproduksi neutrofil. Molekul adhesi tersebut antara lain E-selektin, *intercellular adhesion molecule (ICAM)*. Selanjutnya neutrofil bergulir pada permukaan endotel akibat daya dorong aliran plasma. Penempelan neutrofil pada endotel makin kuat dan bergerak aktif secara *diapedesis*, kemudian berhenti dan mengeluarkan *pseudopodia*, mengerutkan diri menyusup melewati celah antara membran basalis sel endotel dan bermigrasi meninggalkan kapiler menuju jaringan interstitial yang rusak. Neutrofil akan menguatkan proses inflamasi dengan melepaskan sitokin seperti TNF- $\alpha$  dan interleukin<sup>1,3,27</sup> Neutrofil berperan dalam mekanisme bakterisid dan fagositosis yang mengontrol

kontaminasi lokal dan mencegah infeksi. Neutrofil melepaskan protease untuk memperbaiki kerusakan sel, merubah ECM dan membersihkan luka.<sup>6</sup>

Aktivitas seperti neutrofil juga terjadi pada eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Di jaringan sasaran, neutrofil aktif mematikan dan menghancurkan mikroba. Pada saat yang sama juga terjadi proses penyembuhan.<sup>1,2,7</sup> Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncaknya dalam 24 – 48 jam. Neutrofil berperan untuk fagositosis dan mencerna organisme patologis dan sisa jaringan. Bila tidak terjadi infeksi, neutrofil berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ke-3.<sup>3,7</sup> Peran neutrofil dominan pada fase inflamasi (tabel 1).<sup>1-3,28</sup>

Tabel 1. Peran neutrofil segmen pada penyembuhan luka (*Mast AB, 2000*)

Fase	Sel yang berperan
Proses koagulasi	Platelet
Inflamasi	Platelet Neutrofil
Migrasi / proliferasi / granulasi	Makrofag Lymfosit Fibroblas Sel epithelial Sel endotel
Maturasi / <i>remodelling</i>	Fibroblas

## II. 6 Pengaruh 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 *sectio caesaria* selama 24 jam pasca operasi.<sup>12</sup> Infiltrasi bupivakain 0,25% dosis tunggal atau berulang di sekitar luka telah terbukti mampu mengurangi nyeri

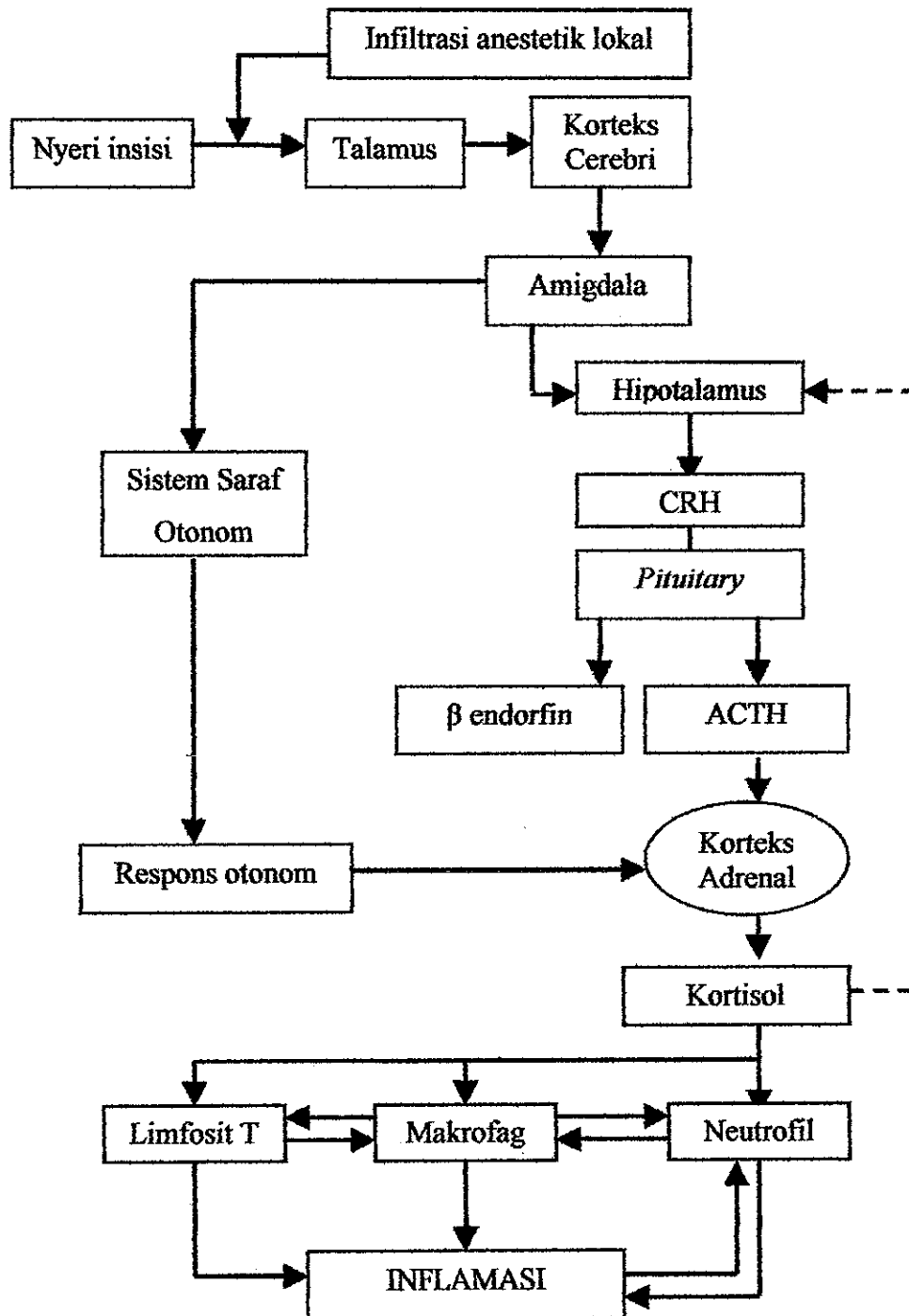
pasca operasi dan mengurangi kebutuhan analgetik opioid tanpa komplikasi infeksi, inflamasi lokal. Penggunaan konsentrasi 0,25% lebih efektif dibandingkan 0,5%, namun berbeda tidak bermakna dengan 0,125%. Hal ini dinilai dalam kaitan dengan potensi analgesik, penambahan opioid, komplikasi, kepuasan pasien, biaya dan lama tinggal di rumah sakit.<sup>12,13</sup>

Nyeri secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau melalui peptida hipotalamus, *pituitary* dan katekolamin sebagai produk simpatis. Substansi penghubung antara otak dan sistem imun adalah CRH, ACTH,  $\beta$  endorfin, substansi P. Otak memberikan respons terhadap stres dengan melepas CRH yang dilakukan oleh *paraventricularis nucleus* (PVN), dan berperan sebagai mediator primer dari beberapa perubahan yang diinduksi nyeri. Perubahan tersebut termasuk aktivasi aksis HPA dan aksis *sympathetic adrenomedularis* (SAM). Pada nyeri hebat sinyal melalui aksis HPA, menimbulkan gangguan regulasi sistem imun sehingga terjadi penurunan ketahanan tubuh. Sinyal juga melalui aksis SAM, menimbulkan gejala patofisiologis berupa respons otonom, yang diekspresikan dalam bentuk peningkatan tekanan darah, nadi, respirasi, keringat dingin dan spasme otot. Respons ini disebut sebagai respons darurat.<sup>1,4,8,27</sup> Impuls nyeri yang dihambat oleh anestetik lokal pada jalur transmisi mengakibatkan impuls bersifat lebih terkendali, tidak bersifat darurat. Otak memproyeksikan impuls ini dan memberikan sinyal ke hipokampus, amigdala, dan hipotalamus. Hipotalamus teraktivasi dan berrespons dengan melepaskan CRH yang tidak bersifat darurat. CRH mengaktifkan *pituitary* untuk melepaskan ACTH dan  $\beta$  endorfin. CRH melalui serabut preganglioner simpatis mengaktifkan

medula adrenal untuk melepaskan katekolamin dalam kadar normal sehingga tidak menimbulkan respons stres berlebihan. ACTH mengaktifkan korteks adrenal dan melepaskan glukokortikoid dalam dosis tidak tinggi. Kadar kortisol yang tidak tinggi tersebut tidak lagi menimbulkan supresi atau inhibisi tetapi berubah menimbulkan stimulasi atau eksitasi.<sup>26</sup> Peningkatan aktivitas sel B, TH-2, TH-1, IFN- $\gamma$  yang disekresi TH-1 jumlah dan aktivitasnya juga meningkat, sitokin ini bekerja dalam sel B dan aktif menginduksi perubahan imunoglobulin menjadi IgG1.<sup>1-4,6,8</sup>

IL-8 menarik semua tipe leukosit ke jaringan rusak dengan pengikatan dan ekspresi permukaan leukosit pada integrin dan merekatkannya pada endotel. IL-8 meningkatkan migrasi leukosit melintasi dinding pembuluh darah menuju jaringan ekstravaskuler. IL-6 mengaktifkan pembentukan sel B, leukosit, *neutrophil chemotactic factor* (NCF), yang akan menarik elemen pembentuk jaringan baru ke jaringan rusak. TNF- $\alpha$  memacu sel endotel vaskuler mengekspresikan reseptor sehingga permukaan sel endotel menjadi adhesif untuk neutrofil, leukosit dan limfosit. TNF- $\alpha$  mampu meningkatkan daya lekat leukosit pada dinding sel jaringan yang rusak, mampu mengaktifkan neutrofil, eosinofil dan fagosit, untuk membunuh mikroba.<sup>4,6,8,28</sup> TNF- $\alpha$  memacu sekresi IL-1 dan IL-6 ke dalam sirkulasi darah, memacu sel endotel vaskuler untuk mengekspresi molekul adhesi seperti : E-selektin, P-selektin, ICAM-1 dan *vascular cell adhesion molecule* (VCAM-1).<sup>4,6,8</sup>

## 2.7 Kerangka patofisiologi



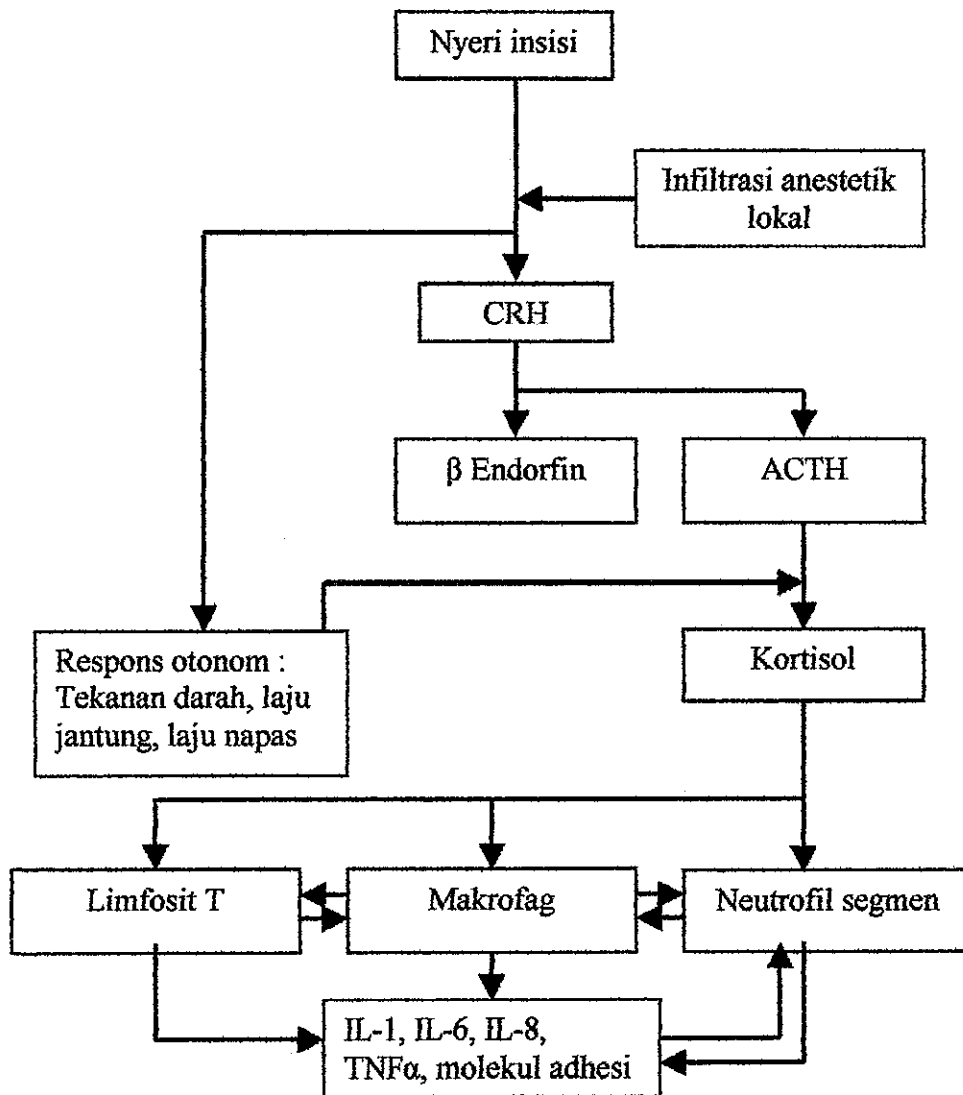
Gambar 2. Skema patofisiologi respons stres



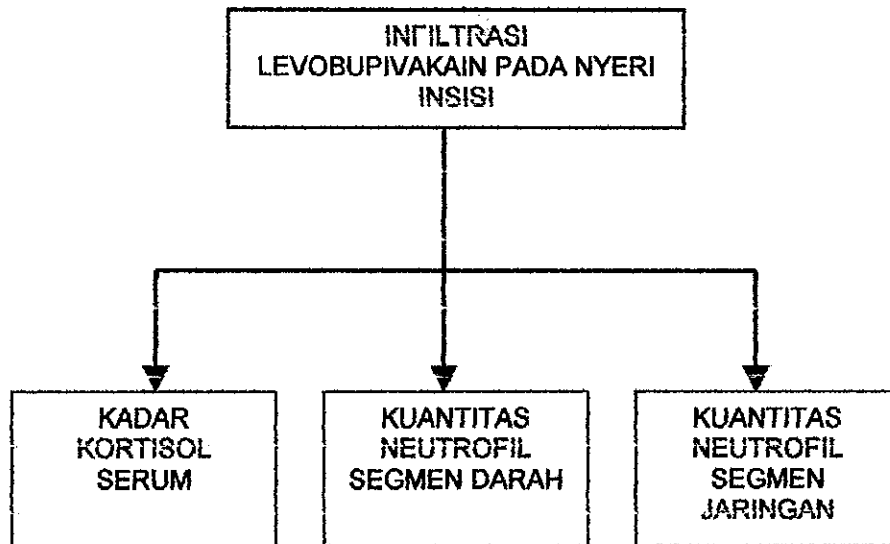
## BAB 3

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka teori



### 3.2 Kerangka konsep



### 3.3 Hipotesis penelitian

1. Kadar kortisol serum pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
2. Kuantitas neutrofil segmen darah pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih besar dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
3. Kuantitas neutrofil segmen jaringan pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih besar dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain
4. Terdapat hubungan antara kadar kortisol serum terhadap kuantitas neutrofil segmen pada inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

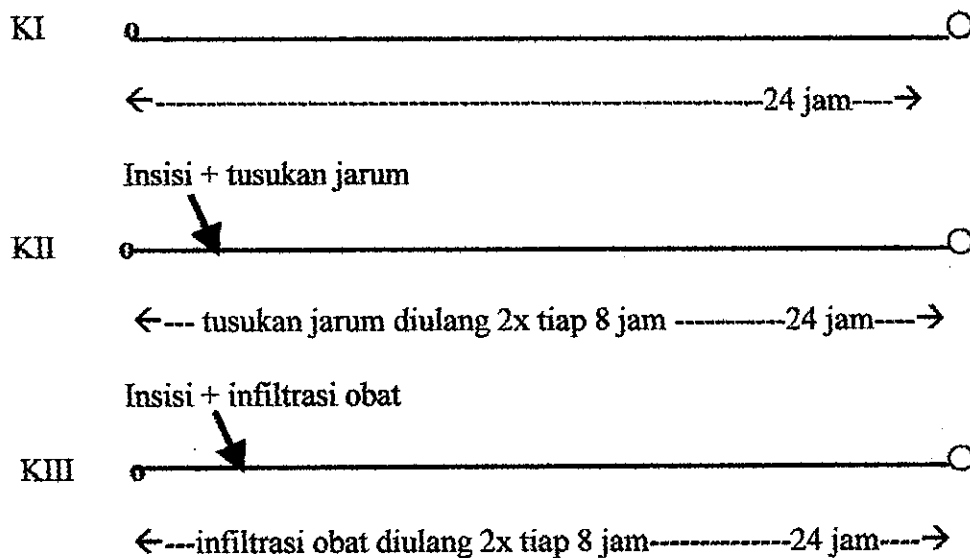
## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *randomized post test only control group design*.<sup>31</sup> Kelompok penelitian dibagi menjadi 3 :

- KI : Kelompok tikus yang tidak diinsisi dan tidak diberi obat.
- KII : Kelompok tikus yang diinsisi dan tidak diberi obat.
- KIII : Kelompok tikus yang diinsisi dan diberi obat.



Gambar 3. Skema rancangan penelitian

## **4.2 Sampel penelitian**

Hewan coba adalah tikus Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

### **4.2.1 Kriteria inklusi**

1. Tikus Wistar betina keturunan murni.
2. Belum pernah digunakan untuk penelitian.
3. Umur 2 - 2,5 bulan.
4. Berat badan 250 - 300 gram.
5. Tidak terdapat kelainan anatomis.

### **4.2.2 Kriteria eksklusi**

1. Tikus sakit selama masa adaptasi.
2. Tikus mati selama masa adaptasi.

### **4.2.3 Kriteria drop out**

1. Tikus mati selama masa perlakuan.

### **4.2.3 Besar sampel**

Besar sampel menurut ketentuan penelitian hewan coba untuk perlakuan jangka pendek dari WHO adalah minimal 5 ekor tiap kelompok.<sup>32</sup>

### **4.2.4 Randomisasi**

Sejumlah 15 ekor tikus dikelompokkan secara random menggunakan tabel randomisasi menjadi 3 kelompok masing-masing 5 ekor.<sup>31</sup>

## **4.3. Waktu dan lokasi penelitian**

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 24 minggu. Perlakuan, proses pengambilan jaringan dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas

Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Pemeriksaan kortisol dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Prodia Jakarta melalui Laboratorium Klinik Prodia Semarang. Pemeriksaan kuantitas neutrofil segmen darah dengan *hematologic analyzer* dan hitung jenis dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik RS Dr Kariadi Semarang. Pemeriksaan histopatologi kuantitas neutrofil segmen dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

#### **4.4 Variabel penelitian**

##### **4.4.1 Variabel bebas**

Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.

##### **4.4.2 Variabel tergantung**

Kadar kortisol, kuantitas neutrofil segmen darah serta kuantitas neutrofil segmen jaringan.

#### **4.5 Definisi operasional**

1. Infiltrasi levobupivakain 0,25%, dosis 12,6 mcg/gram BB memakai semprit tuberkulin pada jarak 1 cm dari kedua tepi luka.
2. Pemeriksaan kortisol serum dengan *Immulite Cortisol* dengan antibodi monoklonal kelinci spesifik untuk kortisol, dibaca dengan *ELISA reader*.
3. Pemeriksaan kuantitas neutrofil segmen darah menggunakan perhitungan *absolute neutrophil count (ANC)* dengan *hematologic analyzer CELL-DYNE 3700*. Hasil menunjukkan jumlah total neutrofil segmen. Apabila didapatkan neutrofil batang, akan dilakukan konfirmasi dengan

pemeriksaan hitung jenis apusan darah. Hasil pemeriksaan hitung jenis diabaikan apabila persentase neutrofil batang kurang dari 2%.

4. Pemeriksaan kuantitas neutrofil segmen jaringan menggunakan pewarnaan *Giemsa*, mikroskop cahaya skala pembesaran 100 kali. Penghitungan dilakukan dengan metode *touch counts* menggunakan perangkat lunak Olimpia 2002 pada komputer OLYMPUS.

#### **4.6 Bahan dan alat penelitian**

##### **4.6.1 Bahan untuk perlakuan**

1. Hewan coba tikus Wistar
2. Levobupivakain 0,25%.

##### **4.6.2 Alat untuk pemeriksaan kortisol**

1. Kit *immulite Cortisol*.
2. *ELISA reader*.
3. Inkubator.
4. Tabung reaksi steril.
5. *Centrifuge*.
6. Gelas obyek.

##### **4.6.3 Alat untuk pemeriksaan *absolute neutrophil counts***

1. Mesin *hematologic analyzer CELL-DYNE 3700*.
2. Tabung reaksi steril.

##### **4.6.4 Alat untuk insisi-biopsi dan pembuatan preparat histopatologi**

1. Minor set steril.
2. Larutan *Betadine*.

3. Larutan bufer formalin
4. Parafin untuk fiksasi.
5. Mikrotom
6. Gelas obyek.

#### **4.6.5 Alat untuk pemeriksaan histopatologi neutrofil segmen**

1. Pengecatan *Giemsa*.
2. Tempat pewarnaan dan pencucian.
3. Gelas obyek.
4. Mikroskop cahaya.
5. Komputer *OLYMPUS* dengan perangkat lunak *Olympia 2002*.

#### **4.7 Pelaksanaan penelitian**

##### **4.7.1 Cara perlakuan**

1. Sebanyak 15 ekor tikus Wistar dilakukan adaptasi di laboratorium dengan dikandangan berkelompok terdiri dari 5 ekor per kandang, diberi pakan standar dan minum secukupnya selama 7 hari. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 5 ekor tikus yang ditentukan secara acak.
2. Perlakuan yang diberikan adalah KI : kelompok kontrol, KII : kelompok tikus yang dilakukan insisi subkutis 2 cm di punggung dan ditusuk dengan jarum tuberkulin, diulang 2 kali tiap 8 jam. KIII : kelompok tikus yang dilakukan insisi 2 cm di punggung, infiltrasi levobupivakain sesuai dosis dan diulang 2 kali tiap 8 jam.
3. Tikus dibius dengan menggunakan *ether*. Tikus dimasukkan ke toples kaca yang diberi kapas yang telah dibasahi *ether*. Setelah berhenti bergerak dan

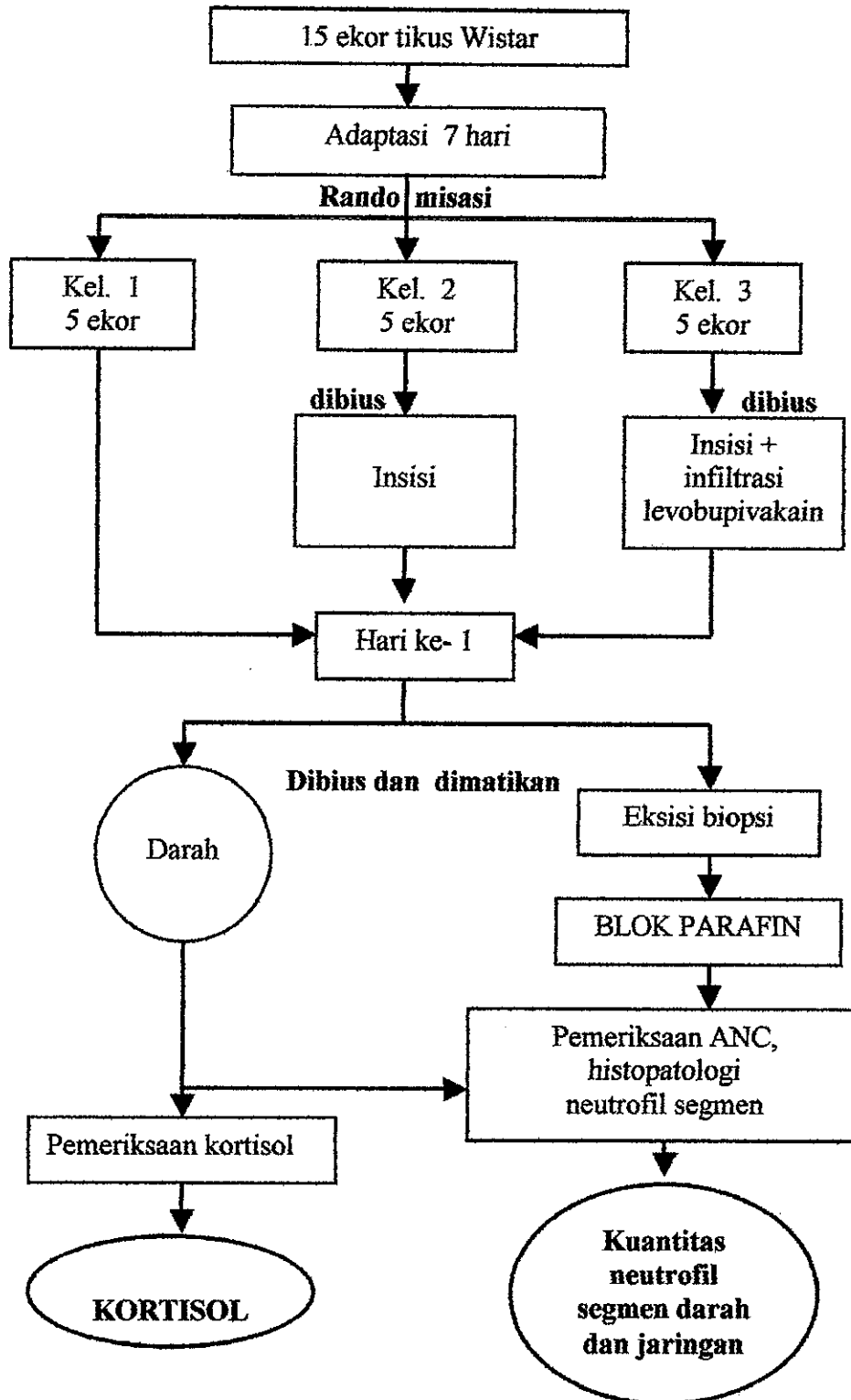
tertudur, bulu sekitar punggung dicukur bersih dan dilakukan desinfeksi menggunakan *Betadine*.

4. Disayat dengan pisau bedah tajam sepanjang 2 cm dengan kedalaman sampai subkutis. Luka dibersihkan dan dioles *Betadine*, kemudian kedua ujung luka dijahit dengan 2 jahitan tunggal sederhana menggunakan jarum kulit dengan benang monofilamen steril nomor 4-0. Luka dibersihkan dan dioles dengan *Betadine*.
5. Kelompok II diberikan suntikan tanpa obat menggunakan jarum pada kedua tepi luka dan diulang 2 kali setiap 8 jam. Kelompok III dilakukan infiltrasi levobupivakain dengan semprit tuberkulin dosis 12,6 µg/gram BB dengan perlakuan sama.
6. Kedua kelompok diberikan *penicillin oil* 15 mg intra muskular.
7. Pada jam ke-24 tikus dibius, dilakukan pengambilan sampel darah intrakardial dengan cara menusukkan semprit 3 ml langsung ke jantung. Darah dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml sebagai sediaan darah beku. Sediaan darah dipindahkan ke tabung reaksi khusus pemusingan dan segera dipusingkan dengan *centrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Serum yang terletak di lapisan atas diambil dengan menggunakan semprit 3 ml secara hati-hati dan dikirim ke laboratorium untuk pemeriksaan kortisol.
8. Darah sebanyak 1 ml dalam tabung reaksi yang telah ditambahkan EDTA untuk pemeriksaan ANC dengan *hematologic analyzer* dan pembuatan preparat apusan darah.



9. Dilakukan eksisi biopsi jaringan kira-kira  $0,5 \text{ cm}^2$  melintasi garis irisan di tengah luka. Jaringan biopsi difiksasi dengan bufer formalin dan dibuat preparat histopatologi.
10. Tikus dimatikan.

#### 4.8 Alur kerja penelitian



## 4.9 Prosedur pemeriksaan

### 4.9.1 Prosedur pemeriksaan kortisol

1. Darah dalam tabung reaksi steril dan diperiksa dengan teknik *immulite cortisol (Solid-phase two site chemiluminescent enzyme immunoassay)*. Prosedur pemeriksaan *immulite cortisol* dengan manik-manik *solid phase*, suatu bola *polystyrene* pada *immulite test unit*, dilapisi antibodi monoklonal kelinci spesifik untuk kortisol.
2. Sampel darah dan *alkali phosphatase conjugated rabbit polyclonal anti cortisol antibody* diinkubasi 30 menit pada suhu 37<sup>0</sup> C dalam tes unit.
3. Enzim konjugat yang tidak terikat dibersihkan dengan pencucian *centrifuge*.
4. Ditambahkan substrat dari tes unit dan diinkubasi selama 10 menit. Substrat *chemiluminescent*, ester fosfat dari *adamantyl dioxetane*, mengalami hidrolisis dengan alkali fosfatase membentuk *intermediate* tidak stabil. Produksi terus menerus dari *intermediate* ini menimbulkan emisi cahaya
5. Emisi cahaya dapat terbaca sebagai kadar kortisol. Konsentrasi kortisol diukur dengan *luminometer* proporsional menggunakan *ELISA reader*.<sup>33,35</sup>

### 4.9.2 Prosedur pemeriksaan *absolute neutrophil counts*

1. Pemeriksaan kuantitas neutrofil segmen pada sediaan darah dengan menggunakan *hematologic analyzer CELL-DYNE 3700*. Sampel darah 2 ml ditambah EDTA ditempatkan dalam tabung reaksi steril. Sampel darah diperiksa secara otomatis. Hasil dinyatakan dalam jumlah total neutrofil segmen.<sup>29,33</sup>

2. Preparat hasil biopsi jaringan dicat *Giemsa* sesuai standar. Pemeriksaan menggunakan mikroskop cahaya untuk melihat adanya neutrofil segmen. Pengamatan dilaksanakan dengan mikroskop cahaya dalam skala pembesaran 40-100 kali. Dipilih lapang pandang yang jelas selanjutnya dihitung jumlah sel neutrofil segmen pada lima lapang pandang searah jarum jam dan dihitung reratanya. Penghitungan dilakukan dengan metode *touch counts* menggunakan perangkat lunak Olimpia 2002 pada komputer OLYMPUS.

#### **4.9.3 Prosedur pembuatan preparat histopatologi**

##### **1. Fiksasi**

Jaringan biopsi eksisi dimasukkan ke dalam larutan bufer formalin (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 menghilangkan larutan fiksasi.

##### **2. Dehidrasi**

Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol konsentrasi bertingkat. Jaringan menjadi lebih jernih dan transparan. Jaringan kemudian dimasukkan dalam larutan *alcohol-xylol* selama 1 jam dan kemudian larutan *xylol* murni selama 2x2 jam.

##### **3. Impregnasi**

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2x2 jam

##### **4. Embedding**

Jaringan ditanam dalam parafin cair ditunggu sampai parafin memadat. Jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 4 mikron, ditempelkan pada gelas obyek yang

sebelumnya telah diolesi *polyisin* sebagai perekat. Jaringan pada gelas obyek dipanaskan dalam inkubator suhu 56-58<sup>0</sup> C sampai parafin mencair.<sup>33</sup> Selanjutnya dilakukan pewarnaan *Giemsa* sesuai standar.

#### **4.10 Cara pengumpulan data**

Data diambil dari hasil pemeriksaan kortisol, *absolute neutrophil count* dan pemeriksaan neutrofil segmen preparat histopatologi.

#### **4.11 Analisis data**

Setelah data terkumpul dilakukan *cleaning, coding* dan tabulasi. Analisis data meliputi analisis deskriptif dan uji hipotesis. Hasil analisis deskriptif kortisol, jumlah neutrofil segmen darah dan jaringan disajikan dalam bentuk tabel rerata, simpang baku, median. Dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Distribusi data variabel kortisol dan neutrofil segmen diuji menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sesuai dengan uji non parametrik dan  $n < 30$ . Selanjutnya dilakukan uji beda non parametrik untuk 3 variabel menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Untuk menilai hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen digunakan uji korelasi sesuai dengan uji non parametrik dengan  $n < 30$  yaitu uji *Spearman*. Analisis data menggunakan program komputer SPSS 11.0 *for windows*.<sup>31</sup>

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

Tabel 2. Data berat badan tikus

Variabel	Kelompok			P
	I	II	III	
Berat badan (gram)	255,0 ±10,00	255,4± 9,48	257,0± 8,72	0,874*

$p < 0.05$

Data dinyatakan dalam rerata±simpang baku

\* Uji homogenitas variansi

Dari tabel 2 untuk uji homogenitas nilai rerata berat badan pada ketiga kelompok berbeda tak bermakna ( $p=0,874$ ). Berarti ketiga kelompok berasal dari populasi yang homogen sehingga layak untuk dibandingkan.

Tabel 3. Nilai rerata kortisol dan neutrofil segmen

Variabel	Kel.	N	Rerata	Simpang baku	Minimum	Maksimum
Kortisol	I	5	1,348	0,1849	1,03	1,50
	II	5	3,832	0,4594	3,33	4,49
	III	5	2,716	0,4466	2,11	3,28
ANC	I	5	1,110	0,4881	0,49	1,85
	II	5	1,202	0,6845	0,59	2,38
	III	5	1,796	1,2087	1,25	2,38
Neutrofil jar.	I	5	0,80	0,84	0	2
	II	5	5,60	1,14	4	7
	III	5	11,4	9,24	4	27

Rerata kortisol kelompok infiltrasi levobupivakain lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi obat tersebut. Rerata ANC pada kelompok

infiltrasi levobupivakain lebih besar dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi obat tersebut. Rerata neutrofil segmen jaringan pada kelompok infiltrasi levobupivakain lebih besar dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi obat tersebut.

Tabel 4. Uji normalitas rerata kortisol dan neutrofil segmen

Variabel	<i>p</i>			uji	keterangan
	I	II	III		
Kortisol	0,167	0,567	0,808	<i>Shapiro-Wilk</i>	Normal
ANC	0,863	0,169	0,366	<i>Shapiro-Wilk</i>	Normal
Neu. Seg. jar	0,251	0,725	0,172	<i>Shapiro-Wilk</i>	Normal

$p > 0,05$

Distribusi data kortisol dan neutrofil segmen diuji menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena sesuai untuk uji non parametrik, jumlah sampel kecil <30. Data kortisol pada ketiga kelompok terdistribusi normal ( $p > 0,05$ .) Data ANC pada ketiga kelompok terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Data neutrofil segmen jaringan pada ketiga kelompok terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5. Uji beda antar kelompok data kortisol dan neutrofil segmen

Variabel	Kelompok			uji	<i>p</i>
	I (n=5)	II (n=5)	III (n=5)		
Kortisol ( $\mu\text{g/dL}$ )	1,348 $\pm$ 0,185	3,832 $\pm$ 0,459	2,716 $\pm$ 0,446	<i>Kruskal-Wallis</i>	0,002
ANC (1000)	1,110 $\pm$ 0,488	1,202 $\pm$ 0,684	1,796 $\pm$ 1,208	<i>Kruskal-Wallis</i>	0,100 <sup>#</sup>
Neu seg. Jar (histologi)	0,80 $\pm$ 0,84	5,60 $\pm$ 1,14	11,40 $\pm$ 9,24	<i>Kruskal-Wallis</i>	0,007

$p < 0.05$

data dinyatakan dalam rerata $\pm$ simpang baku

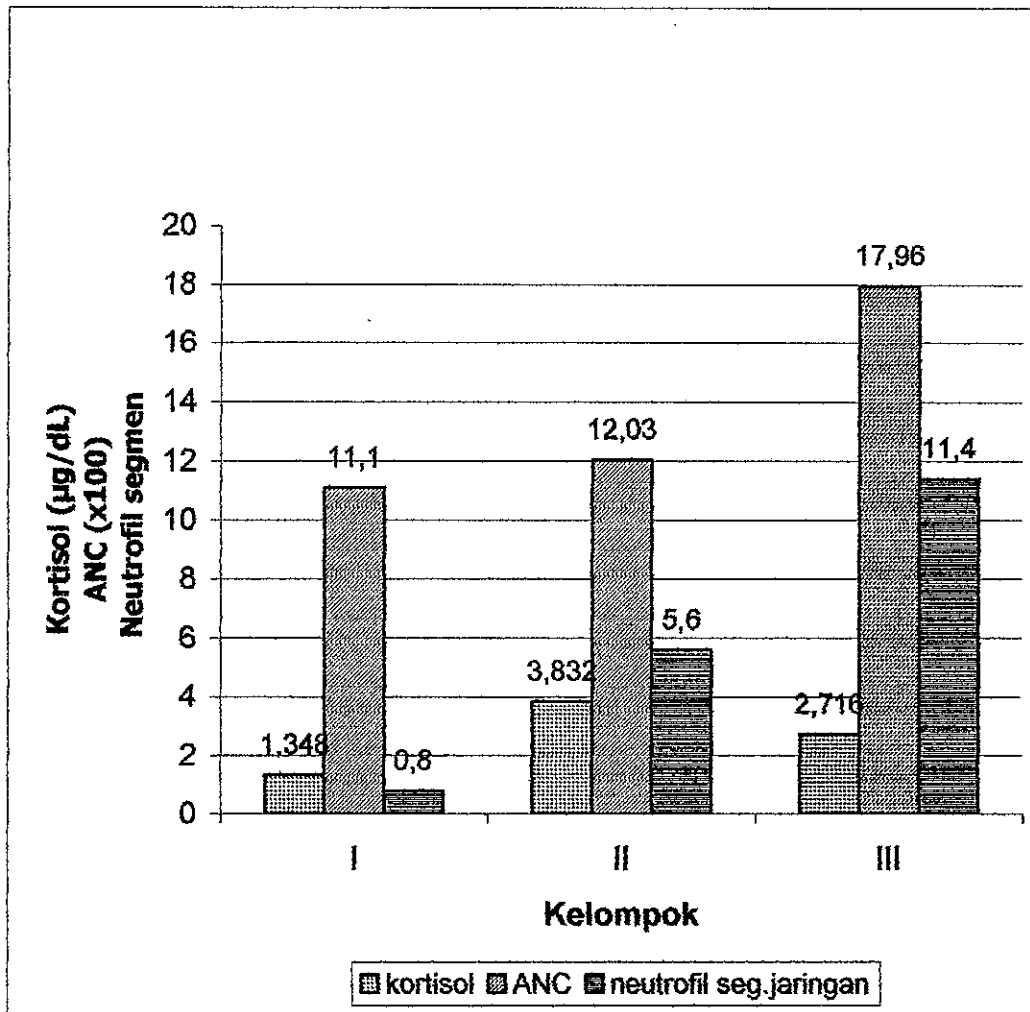
Nilai kortisol, ANC dan neutrofil segmen jaringan pada ketiga kelompok, dilakukan uji beda antar kelompok menggunakan uji *Kruskal-Wallis* karena sesuai untuk data non parametrik dengan jumlah variabel lebih dari 2.

Kortisol pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain, secara statistik berbeda bermakna ( $p=0,002$ ).

*Absolute neutrophil counts* pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain berbeda tak bermakna ( $p=0,100$ ). Terdapat 1 sampel pada kelompok I yang didapatkan neutrofil batang, sehingga dilakukan pemeriksaan hitung jenis dengan apusan darah sebagai konfirmasi. Pemeriksaan ini menunjukkan neutrofil batang  $<2\%$  sehingga diabaikan.

Neutrofil segmen jaringan pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih tinggi dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain, secara statistik berbeda bermakna ( $p=0,007$ ).





Gambar 4. Diagram nilai rerata kortisol, ANC dan neutrofil segmen jaringan

Dari gambar 4 dapat diketahui peningkatan kortisol kelompok II sebagai respons stres nyeri insisi mencapai 3 kali kondisi basal. Sedangkan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain pada kelompok III mampu menghambat peningkatan kortisol menjadi 2 kali kondisi basal. Insisi menyebabkan neutrofil segmen jaringan pada kelompok II meningkat 7 kali kondisi basal. Sedangkan pada kelompok III dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain neutrofil segmen jaringan meningkat 14 kali kondisi basal. Pemeriksaan ANC pada kelompok II dan III dibandingkan kondisi basal berbeda tak bermakna.



Gambar 5. Gambar mikroskopis sediaan apusan darah tikus Wistar  
 Keterangan: 1. Neutrofil segmen 2. Limfosit 3. Monosit 4. Sel atipik mononukleus  
 5. Eritrosit 6. Trombosit. (Pembesaran 100x)

Gambar 5 menunjukkan pada pemeriksaan apusan darah tikus Wistar didapatkan neutrofil segmen, limfosit, monosit, sel atipik mononukleus, eritrosit, trombosit. Bentuk sel-sel tersebut relatif sama dengan sel pada manusia. Inti neutrofil tercat ungu sedangkan sitoplasma tercat lebih merah muda. Jumlah segmen antara 3-5 lobul.

Tabel 6. Analisis hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen.

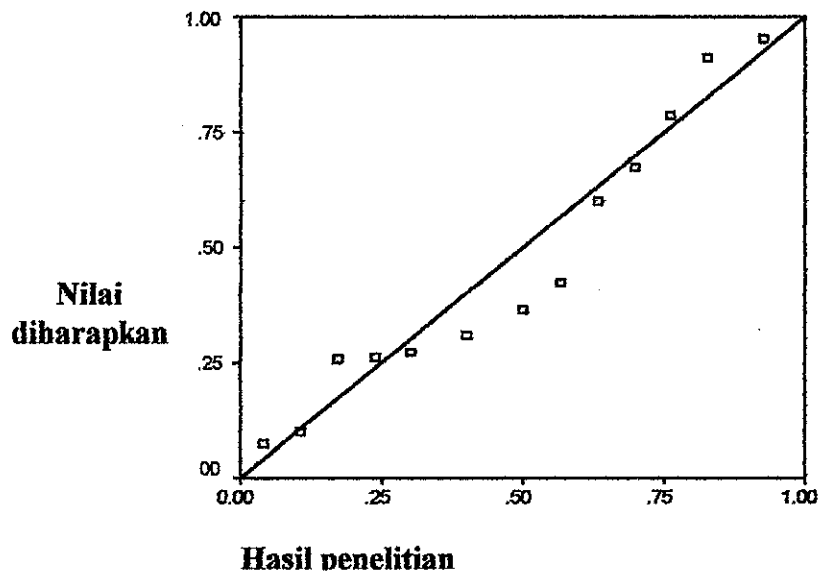
Korelasi <i>Spearman</i>	<i>p</i>	[ <i>r</i> ]
Kortisol – ANC	0,839	0,057

\* $p < 0,05$

[ *r* ] : koefisien korelasi rho

Dari tabel hubungan kortisol terhadap kuantitas neutrofil segmen diketahui koefisien korelasi  $r = 0,057$ . Hasil ini berarti antara kortisol dan neutrofil segmen

tidak terdapat korelasi. Derajat kemaknaan  $p=0,839$ , berarti hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen secara statistik tak bermakna.



Gambar 6. Diagram pencar hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen

Dari gambar 6 diketahui hubungan bersifat positif berarti hubungan kedua variabel searah artinya apabila terjadi kenaikan kortisol akan diikuti kenaikan neutrofil segmen. Koefisien korelasi data tersebar mendekati garis nol yang menunjukkan tidak ada korelasi.

## 5.2 Pembahasan

Kortisol pada kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain meningkat 284% dibandingkan kondisi basal. Pada manusia respons stres maksimal menyebabkan kenaikan kortisol 7-8 kali dari kondisi basal. Penelitian lain pada hewan coba tikus dengan pencetus stres berupa suara menunjukkan peningkatan kortisol 3 kali dari kondisi basal.<sup>11</sup>

Peningkatan kortisol sebagai respons stres terhadap nyeri insisi sesuai dengan teori. Peningkatan kortisol menunjukkan respons tubuh terhadap nyeri melalui aksis HPA, CRH, sistem simpatis, ACTH sehingga adrenal terstimulasi untuk melepaskan glukokortikoid dan  $\beta$  endorfin. Respons stres menghalangi mekanisme umpan balik negatif ke hipotalamus dan *anterior pituitary* sehingga menyebabkan peningkatan kortisol. Pada nyeri hebat akan timbul respons darurat,<sup>27,28</sup> sehingga seluruh mekanisme bereaksi berlebihan. Hasil akhir respons darurat ini meningkatkan glukokortikoid,  $\beta$  endorfin dalam jumlah berlebihan. Perangsangan CRH juga terjadi dalam jaringan melalui TNF- $\alpha$ , IL-1 dan IL-6. Ketiganya disebut sebagai *tissue corticotropin releasing hormone* yang akan merangsang aksis HPA, ACTH untuk memproduksi glukokortikoid.

Sedangkan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat menghambat respon stres sehingga kortisol hanya meningkat 195% dari kondisi basal. Berarti infiltrasi anestetik lokal levobupivakain mampu mengurangi peningkatan kortisol sebesar 89%. Hasil ini membuktikan bahwa pengelolaan nyeri dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain terbukti mengurangi respons stres akibat nyeri insisi. Hal ini terbukti dari kortisol lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi levobupivakain. Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu tentang efektivitas pengelolaan nyeri dengan anestetik lokal. Penggunaan anestetik lokal lidokain, bupivakain, ropivakain oleh *Pettersson dkk, 1999, Bultmann dkk, 1999,* serta *Vintar, 2002* diketahui mampu mengurangi nyeri akut pasca operasi, mengurangi kebutuhan analgetik, mengurangi inflamasi dan mencegah infeksi. *Pedersen, 1994* dan *Bardram, 1995* mengendalikan respons stres dengan

menggunakan teknik bedah non invasif, anestesi epidural, nutrisi dini, mobilisasi dini dan analgesik opioid.

Terjadinya respons stres lebih rendah pada kelompok dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat dijelaskan karena anestetik lokal memblokir transmisi impuls nyeri. Otak memproyeksikan sebagai impuls yang tidak bersifat darurat dan memberikan sinyal ke hipotalamus, yang merespons dengan melepaskan CRH, ACTH yang tidak bersifat darurat. Korteks adrenal melepaskan glukokortikoid dalam kadar tidak tinggi.

Pada penelitian ini stres nyeri berasal dari nyeri akut pasca insisi subkutis sepanjang 2 cm di punggung. Peneliti lain memberikan perlakuan berupa insisi episiotomi 1 cm pada hewan coba tikus *Sprague Dawley* telah terbukti meningkatkan kortisol dibanding kontrol.<sup>11</sup> Infiltrasi obat dilakukan 1 cm di kedua sisi luka dengan volume 1-1,2 ml sesuai dosis obat. Tindakan ini bertujuan menggenangi serabut saraf sekitar luka dengan anestetik lokal untuk memblokir transmisi impuls nyeri. Tindakan ini dikhawatirkan dapat menghalangi penyatuan kedua tepi luka yang justru akan mengganggu penyembuhan luka. Tindakan untuk menghindari kejadian ini dengan infiltrasi obat dengan volume relatif sedikit 1-1,2 ml. Pasca perlakuan tikus dikembalikan ke kandang berkelompok untuk menghindari stres tambahan. Pemeriksaan kortisol diperoleh dari spesimen darah pada jam 10.00-12.00 menunjukkan kadar tertinggi secara fisiologis, karena kortisol dalam darah dipengaruhi siklus diurnal.<sup>20</sup> Dari penelitian ini diketahui nilai kortisol kondisi basal tikus Wistar betina adalah 1,348 µg/dL.

Hasil penelitian terhadap neutrofil segmen dengan perhitungan ANC pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain berbeda tak bermakna ( $p=0,100$ ). Analisis hasil ini dapat diterangkan karena infiltrasi anestetik lokal levobupivakain menyebabkan efek stimulasi neutrofil segmen akibat terkendalinya respons stres. Terjadi peningkatan akumulasi, marginasi, diapedesis dan migrasi neutrofil dari sirkulasi menuju daerah luka. Proses ini terjadi segera setelah adanya luka dan akan berlangsung sampai inflamasi berakhir. Pada jam ke-24 proses migrasi neutrofil segmen dari sirkulasi menuju daerah luka mencapai maksimal. Proses pengerahan neutrofil segmen dari sirkulasi ke jaringan luka menyebabkan berkurangnya jumlah sel tersebut dalam sirkulasi. Hal ini berakibat perhitungan ANC yang mencerminkan kuantitas neutrofil segmen dalam sirkulasi pada kelompok II dan III berbeda tak bermakna.

Penelitian ini menunjukkan kuantitas neutrofil segmen jaringan pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih besar dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain secara statistik berbeda bermakna ( $p=0,007$ ).

Hal ini berarti bahwa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain melalui mekanisme pengendalian respons stres menghasilkan kuantitas neutrofil segmen jaringan lebih tinggi pada inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka dibandingkan dengan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain. Hasil ini sesuai dengan teori yang menyebutkan terjadi peningkatan akumulasi, marginasi, diapedesis, dan migrasi neutrofil ke jaringan pada inflamasi awal

dalam perjalanan penyembuhan luka. Kenyataan ini dapat diterangkan bahwa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain menjadikan impuls ke otak bersifat lebih terkendali, tidak bersifat darurat. CRH, ACTH merespons dan memacu korteks adrenal untuk melepaskan glukokortikoid dalam dosis tidak tinggi. Kadar kortisol yang tidak tinggi tersebut tidak lagi menimbulkan supresi atau inhibisi tetapi menimbulkan stimulasi atau eksitasi termasuk terhadap neutrofil. Efek stimulasi terjadi terhadap aktivitas sel B, TH-1, TH-2, IFN- $\gamma$ . Semua leukosit termasuk neutrofil tertarik menuju jaringan rusak dengan stimulasi IL-8 melalui pengikatan dan ekspresi permukaan leukosit pada integrin dan merekatkannya pada endotel vaskuler. IL-8 meningkatkan migrasi leukosit melintasi dinding pembuluh darah menuju jaringan. IL-6 memacu pembentukan sel B, leukosit, *neutrophil chemotactic factor* (NCF), yang akan menarik elemen pembentuk jaringan baru ke tempat jaringan rusak.<sup>28,34,35</sup> Perubahan ini menyebabkan peningkatan jumlah neutrofil segmen jaringan yang sesuai dengan penelitian ini.

Neutrofil menguatkan inflamasi dengan melepaskan sitokin : TNF- $\alpha$  dan interleukin. TNF- $\alpha$  memacu sel endotel vaskuler mengekspresikan reseptor sehingga permukaan sel endotel menjadi adhesif untuk neutrofil, leukosit dan limfosit. TNF- $\alpha$  meningkatkan daya lekat leukosit pada dinding sel jaringan yang rusak, mengaktifkan neutrofil, eosinofil dan fagosit untuk membunuh mikroba.<sup>4,8,29,35</sup> Neutrofil juga melepaskan protease yang akan memperbaiki kerusakan sel, merubah ECM dan membersihkan luka dari sel yang rusak.<sup>8</sup> Dengan jumlah yang besar proses fagositosis akan berjalan lebih cepat dan menurunkan potensi infeksi. Neutrofil segmen muncul segera setelah terjadi luka

dan jumlahnya meningkat cepat dalam 24 – 48 jam. Bila fungsi fagosit berlangsung efektif, sisa jaringan luka dapat cepat dibersihkan, tanpa infeksi, neutrofil berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ke-3. Hal ini berarti akan mempersingkat inflamasi dalam perjalanan penyembuhan luka. Namun penelitian ini tidak mengamati perubahan fase inflamasi, sehingga tidak dapat dibuktikan percepatan inflamasi dalam perjalanan penyembuhan luka.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hubungan kortisol terhadap kuantitas neutrofil segmen berbeda tak bermakna ( $p=0,839$ ). Menurut teori kortisol mengurangi jumlah neutrofil dalam darah beberapa menit setelah pemberian. Pengendalian kortisol dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat menstimuli akumulasi dan migrasi neutrofil segmen ke daerah luka. Namun analisis uji korelasi *Spearman* menunjukkan hubungan kortisol terhadap neutrofil segmen tak bermakna. Ada beberapa yang harus diperhitungkan untuk menyimpulkan hasil ini. Pertama, berdasarkan teori terdahulu menyebutkan terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi neutrofil segmen pada inflamasi diantaranya IL-1, IL-8, TNF- $\alpha$ , molekul adhesi seperti : E-selektin, P-selektin, ICAM-1 dan *vascular cell adhesion molecule* (VCAM-1). Peran faktor-faktor tersebut tidak dikendalikan pada penelitian ini, sehingga hubungan kortisol dan kuantitas neutrofil segmen tidak bermakna. Kedua, dari tinjauan klinis menunjukkan kadar kortisol yang tinggi mensupresi neutrofil segmen. Pengendalian kadar kortisol menyebabkan stimulasi sehingga jumlah neutrofil segmen meningkat. Peningkatan neutrofil segmen baik dalam darah maupun



jaringan terjadi pada kelompok dengan kadar kortisol terkendali, namun peningkatan ini berbeda tak bermakna.

Dalam aplikasi klinis infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat dijadikan alternatif untuk mengendalikan nyeri akut pasca pembedahan, mengendalikan respons stres lebih baik. Respons stres yang tidak tinggi justru akan menstimulasi neutrofil segmen lebih banyak menuju daerah luka sehingga fagositosis, bakterisid dan pembersihan jaringan rusak berjalan lebih efektif. Sehingga infiltrasi anestetik lokal levobupivakain bermanfaat dalam pengendalian nyeri sekaligus perbaikan inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

## **BAB 6**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1 Simpulan**

1. Kadar kortisol serum pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
2. Kuantitas neutrofil segmen darah pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain berbeda tak bermakna.
3. Kuantitas neutrofil segmen jaringan pada kelompok infiltrasi anestetik lokal levobupivakain lebih banyak dibandingkan kelompok tanpa infiltrasi anestetik lokal levobupivakain
4. Tidak terdapat hubungan antara kadar kortisol serum dan kuantitas neutrofil segmen darah pada inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

#### **6.2 Saran**

1. Penurunan kadar kortisol serum dan peningkatan kuantitas neutrofil segmen jaringan dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat dijadikan landasan teori proses inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.
2. Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat digunakan untuk memperbaiki inflamasi awal dalam perjalanan penyembuhan luka.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders Co, 1999 : 21-31.
2. Constantinnides P. General pathobiology. 1<sup>st</sup> ed. Norwalk Connecticut : Appleton and Lange, 1994 : 173-8.
3. Mast AB. Normal wound healing. In : Achauer BM, Eriksson E, eds. Plastic surgery, indications, operations and outcomes. Mosby : Mosby Inc; 2000. p. 37-40
4. Elenkov IJ, Webster E, Torpy DJ, Chrousos GP. Stress, corticotropine-releasing hormone, glucocorticoids, and the immune/inflammatory response : acute and cronic effects. Annals of the New York academy of sciences 1999 ; 876 : 1-13. Available from: URL:<http://annalsnyas.org/cgi/876/1/1>
5. Pedersen D. Accelerated surgical stay programe. Annals of Surgery 1994 ; 219 : 374-81.
6. Mercandetti M, Cohen A. Wound healing, healing and repair. EMedicine. 2002. Available from: URL:<http://www.eMedicine.com/>
7. 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.
8. Webster EL, Torpy DJ, Elenkov IJ, Chrousos GP. Corticotropine releasing hormone and inflammation. Annals of the New York Academy of Sciences 1998 ; 840 : 21-32. Available from: URL: <http://www.annalsnyas.org/>
9. Rahardjo E. Analgesia pasca bedah, cara invasif atau non invasif, sebuah tinjauan klinis. Surabaya: Instalasi Anestesi dan Reanimasi RSUD Dr Soetomo, 1997 : 2-7.
10. Edward W, Hahn CEW, Adams AP. Principle and practice series patients controlled analgesia. London : BMJ Publ group, 1995 : 1-11.

11. Mulyata S. Paket penyuluhan kognitif dan senam prapersalinan pada primigravida, mengurangi cemas dan nyeri persalinan, meningkatkan skor Apgar bayi, serta mempercepat penyembuhan luka persalinan [dissertasion]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2002.
12. Christie JM, Chen GW. Secondary hyperalgesia is not affected by wound infiltration with bupivacaine. *Can J of An* 1993 ; 40 : 1034-7.
13. Pettersson N, Berggren P, Larsson M, Jeff R, Thomsen J. Pain relief by wound infiltration with bupivacaine or high dose ropivacaine after inguinal hernia repair. *Reg Anesth Pain Med* 1999 ; 24 : 569-75.
14. Bultmann M, Streich R, Risse A, Kohn T. Postoperative analgesia in children after hernioplasty, wound infiltration with different concentrations of bupivacaine : a pilot study . Germany: *Anaesthetist* 1999; 48 : 439-43.
15. Wound healing.2000. Available from: URL:<http://www.orthoteers.co.uk/Nrujp-ij33Im/orthwound.htm>
16. Rossenberg PH, Renkonen OV. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine. *Anesthesiology* 1985 ; 62 : 178-9.
17. Vintar N, Pozlep G, Rawal N, Godee M, Rakovec S. Incisional self-administration of bupivacaine or ropivacaine provides effective analgesia after inguinal hernia repair. *Can J Anaesth* 2002 ; 49: 481-6.
18. Galindo MA. Levobupivacain, a long acting local anaesthetic, with less cardiac and neurotoxicity. 2004. Available from: URL: <http://www.ndaa.ox.ac.uk/wfsa/html/u14/u1407-01.html>
19. Doctor's guide. Chirocaine anesthetic use to post op pain management. Global edition. 2000. Available from: URL: <http://www.pslgroup.com/dg/195B36.htm>
20. Stoelting RK. Local anesthetics. In : Stoelting RK. *Pharmacology and physiology in anesthetic practice*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia : JB Lippincott, 1999 : 45-57.
21. Field HL. *Pain*. 1<sup>st</sup> ed. New York : Mc Graw Hill book Co, 1987 : 5-11.

22. Devor M. Pain mechanism and pain syndrome. In : Champbell JN. Pain 1996 an update review. Seattle : IASP press, 1996: 103-12
23. Raymond RG, William GB. Pain management. In : Morgans GE, Mikhail MS, eds. Clinical anesthesiology. 1<sup>st</sup> ed. New Jersey : Prentice hall int. Inc, 1992 : 269-73.
24. Melzacks R, Wall P. The gate control theory of pain. In : Melzacks R, Wall P. The challenge of pain. 1<sup>st</sup> ed. Penguin education, 1984 : 223-61.
25. Pleuvry BJ. The chemical modulation of nociceptive responses and pain. In : Healy TEJ, Cohen PJ, eds. A Practice of anesthesia. 6<sup>th</sup> ed. London : Edward Arnold, 1995 : 80-8.
26. 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.
27. 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.
28. Notosoedirdjo M. Nyeri dan tatalaksana penanggulangannya. Makalah pertemuan klinik Ikatan Ahli Kesehatan Jiwa cabang Surabaya.1996 Pebruari 19; Malang: 1996.
29. Kresno BS. Imunologi, diagnosis dan prosedur laboratorium. 4<sup>th</sup> ed. Jakarta : Balai penerbit FK UI, 2003 : 14-22.
30. Hollmann, Markus W, Durieux E. Local anesthetics and the inflammatory response: A new therapeutic indication? Anesthesiology 2000;93:858-75.
31. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. 2<sup>nd</sup> ed. Jakarta : Sagung seto, 2002 : 247-9.
32. World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. New York : 1993 : 37-41.
33. Wasito R. Imunohistokimia. Dalam : Pedoman kuliah imunohistopatologi Dep Dikbud. Proyek pengembangan pusat fasilitas bersama antar universitas. Yogyakarta: PAU Bioteknologi–Universitas Gajah Mada, 1991 : 36-80.

34. Stites DP, Terr AT, Parslow TG. Medical immunology. 9<sup>th</sup> ed. Connecticut: Prentice-Hall International Inc, 1997 : 20-8.
35. Baratawidjaja KG. Sistem imun. Dalam : Immunologi dasar. 6<sup>th</sup> ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2004 : 3-48.