

Karya akhir

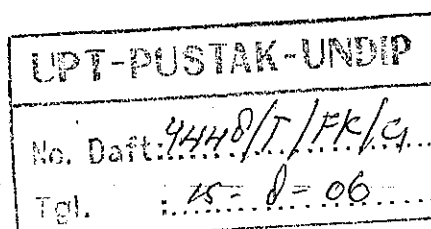
**PENGARUH INFILTRASI LEVOBUPIVAKAIN 0,25%
TERHADAP KUANTITAS ANGIOGENESIS TIKUS
WISTAR PADA PROSES PENYEMBUHAN
LUKA INSISI HARI KE 5**



Oleh :
dr. Tri Santo Nugroho

Pembimbing :
dr. Hariyo Satoto, SpAn (K)

**BAGIAN ANESTESIOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2005**

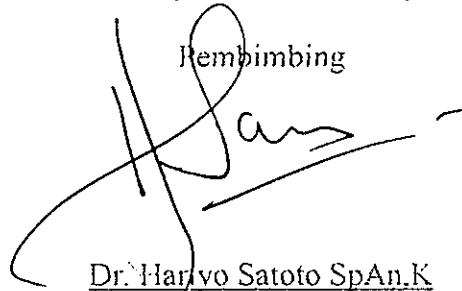


LEMBAR PENGESAHAN

Diajukan sebagai salah satu syarat dalam menempuh :
PROGRAM PENDIDIKAN SPESIALIS BIDANG ANESTESIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG


Telah diperiksa dan disetujui :

Hembimbing



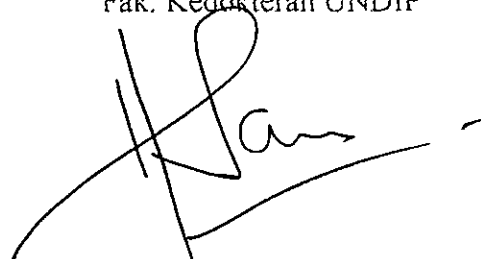
Dr. Hariyo Satoto SpAn.K
NIP : 140 096 999

Ketua Program studi Anestesiologi
Fak. Kedokteran UNDIP



Dr. Uripno Budiono, SpAn, K
NIP : 140 098 893

Ketua Bagian Anestesiologi
Fak. Kedokteran UNDIP



Dr. Hariyo Satoto, SpAn, K
NIP : 140 096 999

KATA PENGANTAR

Puji syukur panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkah dan KaruniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan karya akhir ini.

Atas kesempatan, bantuan, dorongan dan bimbingan yang diberikan kepada saya selama melakukan penelitian dan menyelesaikan karya akhir ini, saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. Prof. Dr. Kabul Rahman, SpKK ; selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
2. Dr. H. Gatot Suharto Mkes, MMR ; selaku Direktur RS dr. Kariadi Semarang.
3. Dr. Hariyo Satoto, SpAn K ; selaku Kepala Bagian Anestesiologi FK UNDIP / RS. Dr. Kariadi Semarang dan selaku pembimbing dalam penelitian ini.
4. Dr. Uripno Budiono, SpAn K : selaku Ketua Program Studi Anestesiologi FK UNDIP Semarang.
5. Prof. Dr. Soenarjo, SpAn K KIC ; selaku Guru Besar Anestesiologi FK UNDIP Semarang.
6. Prof. Dr. dr. St. Muljata, SpAn K KIC ; selaku Guru Besar Anestesiologi FK UNS Surakarta.
7. Prof. DR. dr. Ambar Mudigdo ; selaku Guru Besar Patologi Anatomi FK UNS Surakarta sebagai pembimbing
8. Dra. Dyah Ratna Budiani, M.Si ; selaku Staf Patologi Anatomi FK UNS Surakarta selaku konsultan.
9. Seluruh Staf pengajar di bagian Anestesiologi FK UNDIP Semarang.

10. Para pembantu peneliti dan seluruh rekan sejawat residen bagian Anestesiologi FK UNDIP Semarang.
11. Seluruh penderita yang telah secara sukarela bersedia diikutsertakan dalam penelitian ini.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam melakukan penelitian ini.

Saya menyadari bahwa karya akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karenanya saya sangat mengharapkan kritik dan saran demi perbaikan sehingga dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu Anestesi.

Pada kesempatan ini pula kami ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi – tingginya kepada Ayah dan ibu, mertua, istri dan kedua putri saya tercinta yang telah berkorban dan dengan penuh kesabaran serta kasih sayang memberikan semangat, doa dan dorongan sehingga karya akhir ini dapat terselesaikan.

Akhirnya kepada semua pihak, saya mohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kesalahan, baik yang disengaja maupun yang tidak kami sengaja selama menjalani pendidikan di Bagian Anestesiologi Fakultas Kedokteran universitas Diponegoro / RS. Dr. Kariadi Semarang.

Penulis,

Tri Santo Nugroho

ABSTRACT

Background : The post operation injury will cause many complications in which it can cause the acute pain. The acute pain will result the Metabolic Stress Response, then it will cause the activation of adrenal simpato system and the change in the neuroendocrine. The acute pain post operation in which B endhorpine increases will cause TGF B, VEGF decrease, then angiogenesis was disturbed that result the inhibited of the recovery of injury. The Infiltration of local anesthetic Levobupivacain was recommended to cut the transmission track of pain, then the recovery of injury will be better.

Method : This research was experimental laboratory research with the randomized post control group design by using 18 female wistar mice that divided into 2 groups, each consists of 9 mice. The first group was conducted with 2 cm incision without local anesthetic Levobupivacain 0.25%. The second group after the same insisi, it is given the local anesthetic levobupivacain 0.25%. At the time of incision was given with anesthesia aether and the injury of incision was tailored by 2 sewn items. In the fifth day, the mouse was given with aether again then drawn its tissue along incision. The data analysis that used in this research was t test with the significant level of ($p < 0.05$).

Result : The data from the the distribution of both was normal, and the data from the homogeneity of both was different not significant ($p < 0.05$). in the result of t test angiogenesis of both was obtained the result of ($p = 0.007$) or ($p > 0.05$), and achieved the mean result at the group with the infiltration of local anesthetic levobupivacain 0.25% was higher than the group without the infiltration of local anesthetic levobupivacain 0.25%.

Conclusion : By giving the infiltration of local anesthetic levobupivacain 0.25% to the insisi injury on the wistar mice will increase the number of angiogenesis compared to the group without the infiltration of levobupivacain.

Key words : Levobupivacain, angiogenesis, wound healing.

ABSTRAK

Latar belakang : Luka paska bedah akan menimbulkan banyak komplikasi. Dimana luka paska bedah akan menimbulkan nyeri akut. Nyeri akut akan mengakibatkan timbulnya Metabolik Stres Respon. Sehingga akan mengakibatkan aktivasi sistem simpato adrenal dan perubahan pada neuroendokrin. Nyeri akut paska bedah dimana B endorpin meningkat akan berakibat TGF B ,VEGF menurun,sehingga angiogenesis terganggu yang mengakibatkan penyembuhan luka terhambat. Pemberian infiltrasi anestetik lokal Levobupivakain diharapkan dapat memotong jalur transmisi nyeri,sehingga penyembuhan luka akan lebih baik.

METODE : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain Randomized post Control Group Design. Dengan menggunakan 18 ekor tikus Wistar betina dewasa. Dibagi dalam 2 kelompok ,masing2 9 ekor tikus.Kelompok 1 dilakukan insisi 2 cm tanpa diberi anestetik lokal levobupivakain 0,25%. Pada kelompok2 setelah insisi yang sama kemudian diberikan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25%. Pada saat insisi diberikan anestesi dengan aether dan luka insisi dijahit dengan 2 jahitan.Pada hari ke-5 tikus dibius lagi kemudian diambil jaringan sepanjang insisi. Analisa data menggunakan uji beda mean t-test dengan derajat kemaknaan p 0,05.

HASIL : Data dari uji distribusi kedua kelompok adalah normal,dan data dari uji homogenitas kedua kelompok adalah berbeda tidak bermakna p 0,05. Pada hasil uji beda angiogenesis kedua kelompok didapat hasil dengan nilai p 0,007 atau p 0,05,dan didapat hasil rerata pada kelompok dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% lebih tinggi dibanding kelompok tanpa pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25%.

Kesimpulan : Dengan pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% untuk luka insisi pada tikus Wistar menaikkan jumlah angiogenesis dibandingkan pada kelompok tanpa pemberian infiltrasi levobupivakain.

Kata kunci : levobupivakain,angiogenesis,penyembuhan luka.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Levobupivakain	5
II.1.1 Sifat Kimia	5
II.1.2 Farmakokinetik	6
II.1.3 Farmakodinamik.....	6
II.1.4 Efek Toksik	6
II.1.5 Aplikasi Klinik	6
II.1.6 Efek Samping.....	7
II.2 Patofisiologi Nyeri	7
II.2.1 Proses Terjadinya Nyeri	8
II.2.1.1 Transduksi	8

II.2.1.2 Transmisi	10
II.2.1.3 Modulasi	11
II.2.1.4 Persepsi	12
II.3 Penyembuhan Luka	12
II.3.1 Kejadian seluler dan Molekuler	14
II.3.2 Pembentukan Jaringan Penyembuhan	15
II.3.3 Fase Inflamasi	17
II.3.4 Fase Proliferasi	19
II.3.5 Fase Maturasi	21
II.4 Angiogenesis	22
II.5 Pembentukan Jaringan Granulasi & Angiogenesis	28
II.6 Pengaruh Anestesi Lokal Terhadap Penyembuhan Luka.....	30
BAB.III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP & HIPOTESIS	32
III.1 Kerangka Teori	32
III.2 Kerangka Konsep	33
III.3 Hipotesis Penelitian	33
BAB.IV.1 METODOLOGI PENELITIAN	34
IV.2 SAMPEL PENELITIAN	35
IV.2.1 Kriteria Inklusi.....	35
IV.2.2 Kriteria Ekslusi	35
IV.2.3 Besar Sampel	36
IV.2.4 Randomisasi	36
IV.3 Waktu & Lokasi Penelitian	36
IV.4 Variabel Penelitian	36
IV.4.1 Variabel Bebas.....	36
IV.4.2 Variabel Terikat	37

IV.5 Definisi Operasional	37
IV.6 Bahan & Alat Penelitian	37
IV.6.1 Bahan untuk Perlakuan	37
IV.6.2 Bahan untuk Insisi	38
IV.6.3 Bahan untuk Infiltrasi	39
IV.6.4 Bahan untuk Pemeriksaan Histopatologi	39
IV.6.5 Bahan untuk Pembuatan Sediaan Dengan HE.....	39
IV.7 Pelaksanaan Penelitian	39
IV.7.1 Cara Perlakuan.....	39
IV.7.2 Alur Kerja	42
IV.8 Prosedur Pemeriksaan	43
IV.8.1 Prosedur Eksisi Biopsi.....	43
IV.8.2 Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi	43
IV.9 Cara Pengumpulan Data	44
IV.10 Analisa Data	45
BAB V. HASIL PENELITIAN	46
BAB VI. PEMBAHASAN	50
BAB VII. KESIMPULAN.....	54
BAB VIII. SARAN	55
BAB IX. DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN - 1	59
LAMPIRAN -2	60
LAMPIRAN -3	61
LAMPIRAN-4	62
LAMPIRAN -5	63
LAMPIRAN -6	64

BAB I

PENDAHULUAN

II. LATAR BELAKANG MASALAH

Dokter bedah membuat luka pasca pembedahan setiap harinya dan mayoritas menyembuhkannya tanpa komplikasi. Luka pasca pembedahan akan menimbulkan suatu nyeri akut yang diawali oleh kerusakan jaringan. Nyeri akut sering menimbulkan keadaan yang tidak menguntungkan bagi penderita seperti kegelisahan, perubahan hemodinamik, gangguan pernafasan, retensi urine, ileus dan lain-lain. Keadaan tersebut dapat mengakibatkan penghambatan pada penyembuhan luka, mobilisasi yang terganggu dan jangka waktu rawat dirumah sakit akan semakin bertambah. Di Inggris Raya, luka pasca pembedahan menghabiskan dana National Health Services minimal sebesar 1 Milyar Poundsterling setiap tahunnya.^{1,2}

Setiap penderita yang mengalami pasca pembedahan sebaiknya diberikan penanganan nyeri yang sempurna, dikarenakan dampak dari nyeri itu sendiri dapat mengakibatkan timbulnya Metabolik Stress Respons (MSR) yang akan mempengaruhi semua sistem tubuh penderita. Termasuk adanya perubahan aktivasi sistem simpato adrenal dan perubahan pada neuroendokrin dimana akan mengakibatkan peningkatan kortisol, ADH, aldosteron, epinefrin / norepinefrin, hiperglikemia, akan menekan sistem kekebalan tubuh yang dampak akhirnya akan memperlambat penyembuhan luka.^{4,5}

Dalam keadaan nyeri, β endorpin yang dilepas pituitaria kadarnya akan meningkat dan mempunyai sifat mensupresi makrofag sehingga aktifitas makrofag ini akan

akan berakibat pada sitokin yang dilepaskan makrofag seperti $TNF\alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, $TGF\ \beta$, PDGF, FGF, VEGF aktifitasnya juga ikut menurun. Penurunan beberapa faktor pertumbuhan ini akan berakibat terjadinya hambatan kesembuhan luka, khususnya faktor FGF dan VEGF akan berpengaruh menurunnya pembentukan pembuluh darah baru atau Angiogenesis.

Tahun 1787 dr. John Hunter seorang ahli bedah Inggris telah menemukan istilah Angiogenesis yang pertama kali, untuk menjelaskan penelitiannya tentang kesembuhan luka pada tanduk rusa kutub. Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh darah baru dan merupakan elemen kunci pada penyembuhan luka yang tertutup secara primer dan luka terbuka yang dimungkinkan untuk sembuh secara sekunder, sehingga proses penyembuhan luka tidak dapat dipisahkan dengan angiogenesis^{1,2}.

Salah satu faktor sistemik yang menghambat penyembuhan luka adalah adanya peningkatan hormon glukokortikoid. Rasa nyeri merupakan salah satu pencetus peningkatan hormon ini. Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain pada sekitar luka dapat mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri, sehingga menurunkan sekresi hormon glukokortikoid dan menghilangkan salah satu faktor penghambat penyembuhan luka. Dengan menghambat nyeri diharapkan penyembuhan luka akan lebih baik^{2,3}.

I.2. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang masalah diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat hubungan antara nyeri dengan angiogenesis dalam proses penyembuhan luka.
2. Apakah infiltrasi anestetik lokal levobupivakain mempengaruhi angiogenesis dalam kaitannya dalam penyembuhan luka pada binatang percobaan.

I.3. TUJUAN PENELITIAN

I.3.1 TUJUAN UMUM

Membuktikan pengaruh pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain terhadap angiogenesis penyembuhan luka pada tikus Wistar.

I.3.2 TUJUAN KHUSUS

1. Membuktikan adanya perbedaan angiogenesis penyembuhan luka antara kelompok tikus wistar yang mendapat infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dibandingkan dengan tikus wistar yang tidak mendapat infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.
2. Membuktikan adanya nyeri akan mempengaruhi angiogenesis penyembuhan luka pada tikus Wistar.

I.4. MANFAAT PENELITIAN

Apabila hipotesis penelitian ini terbukti maka diharapkan :

1. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sumbangan teori dalam upaya menerangkan pengaruh infiltrasi anestetik lokal levobupivakain terhadap proses penyembuhan luka.
2. Infiltrasi anestetik lokal levobupivakain dapat dipertimbangkan penggunaannya sebagai penghilang nyeri akut paska bedah dan sekaligus membantu proses penyembuhan luka.
3. Karena penelitian ini dilakukan pada binatang percobaan maka dapat dijadikan landasan untuk penelitian lebih lanjut dan dapat diterapkan pada manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. LEVOBUPIVAKAIN

II.1.1 Sifat kimia

Levobupivakain adalah obat anestetik lokal dengan durasi lama. Termasuk golongan amida (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 farmakologi beraksi lebih cepat. Sebaliknya pada pH rendah atau asam akan lebih sedikit molekul basa bebas melintasi membran akson dengan aksi farmakologi 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 rendah³.

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 berisiko toksik. Bersihan obat dalam plasma akan menurun bila terjadi gangguan fungsi hepar³.

II.1.3. Farmakodinamik

Mekanisme aksi sama dengan bupivakain atau obat anestetik 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%³.

II.1.4 Efek toksik

Levobupivakain menimbulkan depresi kardiak lebih sedikit dibandingkan bupivakain dan ropivakain. Gejala toksisitas sistem saraf pusat pada bupivakain lebih rendah rata-rata 47,1 mg dibandingkan levobupivakain 56,1 mg.

II.1.5 Aplikasi klinik

Levobupivakain dapat digunakan untuk epidural, subaraknoid, blok pleksus brakialis, blok supra dan infra klavikular, blok interkostal dan interskalen, blok saraf perifer, blok peribulbar dan retrobulbar, infiltrasi lokal, analgesi obstetri, pengelolaan

nyeri setelah operasi, pengelolaan nyeri akut dan kronis. Dosis tunggal maksimum yang digunakan 2 mg/kg bb dan 5,7 mg/kg bb (400 mg) dalam 24 jam³.

II.1.6 Efek samping

Sama dengan efek samping obat anestetik lainnya, diantaranya hipotensi, bradikardi, mual, muntah, gatal, nyeri kepala, pusing, telinga berdenging, gangguan buang air besar dan kejang³.

II.2. Patofisiologi nyeri

Nyeri merupakan gejala umum dari hampir setiap penyakit, bersifat subyektif, dan disertai konsekuensi psikologis bervariasi, menyebabkan nyeri memiliki definisi bermacam-macam. Nyeri merupakan suatu pengalaman hidup kompleks; sinyal neurologis yang berasal dari jaringan tubuh terluka akan menyatu dengan emosi dan pikiran yang berproses menghasilkan pengalaman nyeri⁴. Nyeri juga merupakan suatu sensasi tidak nyaman yang dirasakan timbul dari bagian tubuh tertentu, yang disebabkan proses yang merusak atau berpotensi merusak jaringan tubuh⁵. Nyeri berarti pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan atau yang cenderung merusak jaringan⁶. 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, hilang bila 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 yang lamanya sama dengan penyembuhan luka⁷.

II.2.1. Proses terjadinya nyeri

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 radik 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 desenden 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 nyeri⁹. Tahap proses terjadinya nyeri sebagai berikut:

II.2.1.1 Transduksi

Kerusakan jaringan menyebabkan terlepasnya substansi kimiawi endogen berupa bradikinin, substansi P, serotonin, histamin, ion H, ion K, prostaglandin. Zat kimia ini

terlepas ke dalam cairan ekstraseluler yang melingkupi nosiseptor. Kerusakan membran sel akan melepaskan senyawa phospholipid yang mengandung asam arakhidonat dan terjadi aktivasi ujung aferen nosiseptif. Asam arakhidonat atas pengaruh *prostaglandin* (PG) *endoperoxide synthase* akan membentuk *cyclic endoperoxide* (PGG₂ dan PGH₂) akan membentuk mediator inflamasi sekaligus mediator nyeri tromboksan (TXA₂), prostaglandin (PGE₂, PG2 α), prostasiklin (PGI₂). Terbentuk pula lekotrien (LT) atas pengaruh 5-lipooksigenase. Setelah kerusakan jaringan timbul mediator nyeri atau inflamasi berupa substansi P, PGs, LTs dan bradikinin. Dari sel mast dilepaskan histamin. Kombinasi senyawa ini menimbulkan vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas vaskuler lokal sehingga membantu gerakan cairan ekstrasvasasi ke dalam ruang interstisial jaringan rusak. Proses ini mengawali mekanisme respon inflamasi yang merupakan langkah pertama dalam proses pertahanan jaringan dan reparasi luka. Mediator juga mengaktifkan nosiseptor. PGs dan LTs tidak langsung mengaktifkan melainkan mensensitisasi nosiseptor agar dapat distimuli oleh senyawa lain seperti bradikinin, histamin sehingga terjadi hiperalgesia, yaitu respon stimuli yang meningkat, pada kondisi normal sudah menimbulkan sakit. (IASP 74). Pelepasan mediator kimiawi terus menerus dapat menyebabkan stimulasi dan sensitisasi terus menerus sehingga terjadi hiperalgesia, alodina dan proses berakhir sesudah terjadi proses penyembuhan. Selanjutnya lekotrien D₄ (LTD₄) mengaktifkan makrofag dan basofil yang selanjutnya akan menstimuli dan meningkatkan pelepasan eikosanoids, yaitu metabolit yang terlepas akibat terjadinya metabolisme asam arakhidonat. Lekotrien D₄ juga melepas substansi P dan secara tidak langsung bekerja pada neuron sensoris dengan menstimuli sel lain untuk melepaskan

bahan neuron aktif. Lekosit PMN melepaskan leukotrien B₄ (LTB₄). Keduanya berperan dalam sensitisasi nosiseptor.

Pada inflamasi, sistem imun akan melepaskan sitokin proinflamasi : interleukin (IL)-1 β , IL-6, TNF, IFN. Sitokin ini dengan cepat akan berinteraksi dengan saraf perifer melalui mediator. IL-1 β berinteraksi dengan neuron sensoris, mengaktifkan eikosanoid dalam sel seperti fibroblast dan menyebabkan terlepasnya prostaglandin. Platelet dan sel mast melepas serotonin yang langsung mengaktifkan atau mensensitisasi nosiseptor dan menimbulkan hiperalgesia. Proses transduksi dapat dihambat oleh obat anti inflamasi non steroid (AINS)¹⁹.

II.2.1.2 Transmisi

Dalam keadaan hiperalgesia intensitas impuls akan membesar kemudian ditransmisi oleh serabut aferen nosiseptif primer lewat radik posterior menuju kornu posterior medula spinalis. Serabut perifer terdiri dari serabut sensoris, motorik somatik, motorik otonomik. Akson dari neuron primer bermielin atau tidak bermielin, dibungkus neurolema. Terbagi atas serabut A, B, C. Serabut A terbagi menjadi A α , A β , A γ dan A δ . Akson berakhir pada kulit dan bangunan lain sebagai anyaman rapat, dekat ujung akhir saraf, bungkus perineural terbuka dan sel Schwann menjadi irregular. Serabut aferen primer nosiseptif khusus menghantarkan impuls nosiseptif, terdapat di kulit, periosteum, sendi, ligamen, otot, visera. Serabut yang menyampaikan impuls nosiseptif hanya A δ dan C, sehingga serabut tersebut tidak bermielin atau bermielin halus. Stimulus yang dapat direspon adalah mekanik, mekanotermal dan polimodal.

Impuls di neuron aferen primer melewati radik posterior masuk ke medula spinalis pada berbagai tingkat membentuk sel bodi dalam ganglia radik posterior. Serabut ini membelah dua, mengirim banyak cabang kolateral. Serabut aferen primer berakhir pada lamina I, substansia gelatinosa (lamina II,III), lamina V, lamina IV. Impuls ditransmisi ke neuron sekunder dan masuk ke traktus spinotalamikus lateralis. Korno posterior berfungsi sebagai masuk jalur desenden dari otak untuk melakukan modulasi impuls dari perifer. Impuls selanjutnya disalurkan ke daerah somatosensorik di korteks serebri dan diterjemahkan. Proses transmisi ini dapat dihambat oleh obat anestetik lokal^{20,21}.

II.2.1.3 Modulasi

Impuls setelah mencapai korno posterior medula spinalis akan mengalami penyaringan intensitas yang bisa diperbesar atau dihambat. Sistem pengendali modulasi ini adalah sistem gerbang kendali spinal atau *the gate control theory of pain*. Terdiri dari substansia gelatinosa sebagai penghambat sel transmisi T, serabut aferen diameter besar akan menutup gerbang, diameter kecil akan membuka gerbang. Cabang serabut desenden dari otak ke substansia gelatinosa akan menambah hambatan transmisi sel T. Apabila impuls melebihi ambang sel T maka akan melewati sistem kendali gerbang spinal dan diteruskan ke pusat supraspinal di korteks somatosensoris. Impuls akan dipersepsi sebagai pengalaman nyeri. Substansi yang bekerja sebagai modulator nyeri di medula spinalis yaitu dinorfin, enkefalin, noradrenalin, dopamin 5 HT2, GABA akan menghambat nyeri. Substansi yang meningkatkan nyeri yaitu substansi P, ATP, asam amino eksitatori^{19,22}.

II.2.1.4 Persepsi

Hasil proses integrasi pada pusat kognisi, afeksi dan impuls nyeri yang dirasakan individu dan bagaimana cara individu menghadapinya²².

II.3. Penyembuhan luka

Rangsang eksogen dan endogen dapat menimbulkan kerusakan sel, dan selanjutnya memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darahnya. 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 sehingga proses inflamasi dan penyembuhan luka akan cenderung menimbulkan nyeri¹.

Proses inflamasi terjadi pada jaringan ikat dengan pembuluh darah yang mengandung plasma, sel yang bersirkulasi, elemen seluler dan ekstra seluler jaringan pengikat. Termasuk komponen seluler adalah eritrosit, leukosit : netrofil, eosinofil, basofil, monosit, limfosit, trombosit. Termasuk sel jaringan pengikat adalah sel mast, fibroblast, monosit, makrofag dan limfosit. Elemen ekstra seluler diantaranya kolagen, elatin, glikoprotein adesif : fibronectin, laminin, kolagen non fibril, enasen, proteoglikan¹.

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 parenkim asli dengan cara mengisi bagian yang rusak dengan jaringan fibroblast (poses *scarring*). Atau kombinasi keduanya¹.

Penyembuhan luka merupakan fenomena kompleks dan melibatkan berbagai proses dengan urutan sebagai berikut^{1,2}:

1. Inflamasi akut menyusul terjadinya kerusakan jaringan.
2. Regenerasi sel parenkimal.
3. Migrasi dan proliferasi sel parenkim.
4. Sintesa protein *extra cellular matrix* (ECM).
5. Remodeling jaringan ikat dan komponen parenkim.
6. Kolagenasi dan akuisisi kekuatan luka.

Penyembuhan luka secara sekunder terjadi bila luka dibiarkan tetap terbuka seperti pada keadaan dimana jaringan rusak atau hilang cukup banyak pada keadaan ini penyembuhan primer dihambat. Terjadi pembentukan jaringan parut, jaringan granulasi dan pemendekan jaringan. Waktu yang diperlukan untuk penyembuhan ini menjadi lebih panjang. Terdapat sejumlah faktor sistemik dan faktor lokal yang dapat mengganggu penyembuhan luka¹. Faktor sistemik yang mempengaruhi penyembuhan luka antara lain :

- a. Nutrisi, pengaruhnya sangat menonjol terutama pada defisiensi protein dan vitamin C akan mengganggu sintesa kolagen dan memperlama penyembuhan luka.
- b. Status metabolik, misalnya diabetes melitus.

- c. Status sirkulasi darah, misalnya arterosklerosis, tersedianya darah pada tempat luka tidak cukup , begitu juga pada kelainan vena dimana drainase darah tidak lancar.
- d. Hormon glukokortikoid mempunyai pengaruh anti inflamasi, menghambat pembentukan fibroblas, mengganggu sintesa kolagen.

Faktor lokal yang berpengaruh terhadap penyembuhan luka antara lain :

- a. Infeksi, merupakan penyebab tunggal keterlambatan penyembuhan luka.
- b. Faktor mekanik misalnya mobilisasi dini, memperlambat penyembuhan luka.
- c. Benda asing seperti benang jahitan yang tidak terabsorpsi, fragmen baja, kaca, pecahan tulang merupakan halangan untuk penyembuhan luka.
- d. Macam, lokasi dan ukuran besarnya luka mempengaruhi penyembuhan.

II.3.1. Kejadian seluler dan molekuler

Penyembuhan luka merupakan proses terus menerus dari peradangan dan perbaikan, dimana sel-sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblast keluar secara bersamaan dari tempatnya semula dan berinteraksi untuk mengembalikan 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 lekosit 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 karena pengaruh IL 1 yang diproduksi netrofil.

Molekul adesi 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 rusak¹.

Aktifitas netrofil sejak intravaskuler, 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 juga terjadi proses penyembuhan¹.

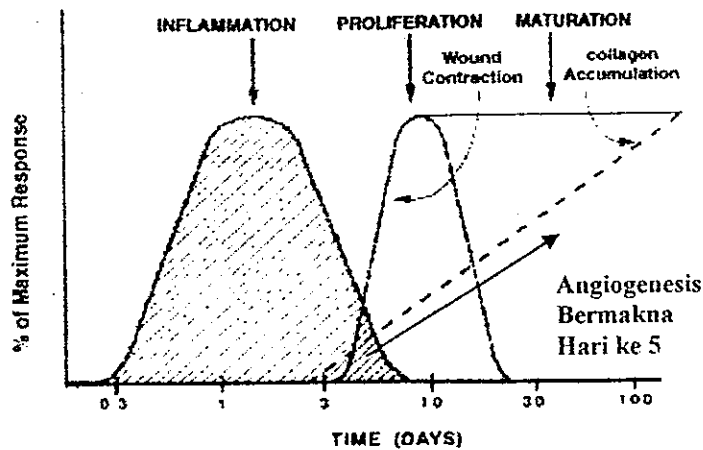
II.3.2 Pembentukan jaringan penyembuhan

Sitokin bersama faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF aktif berperan melaksanakan proses penyembuhan. Beberapa macam sitokin terlibat dalam proses penyembuhan yaitu : TNF α , IL 1, IL 6, IL 8 dan TGF β 1. Sesudah disekresi oleh sel T, sel B, makrofag, platelet, sel endotel, fibroblast, plasenta, tulang dan ginjal segera melepas dimer biologis aktif dari komponen molekul laten. Fungsinya bisa sebagai faktor inhibitor dan bisa juga sebagai stimulator. Pada konsentrasi rendah akan menginduksi sintesa dan sekresi PDGF, sedangkan pada konsentrasi tinggi merupakan inhibitor pertumbuhan karena menghambat ekspresi reseptor PDGF. TGF β juga menstimulasi daya kemosistis fibroblas, inhibisi produksi kolagen dan fibronektin, menghambat

degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis TGF β terlibat dalam pertumbuhan fibrosis¹. Dalam keseimbangan antara deposisi dan degradasi fibrin fungsi sitokin keseluruhan dapat menggeser keseimbangan tersebut kearah residu fibrin¹⁰.

Pada deposisi matrik ekstraseluler, sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan dan sitokin yaitu PDGF, FGF, TGF β dan IL1, IL 4, IgG1 yang diproduksi oleh lekosit dan limfosit pada saat sintesa kolagen. Pada proses remodeling jaringan faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF, TGF β 1 dan IL 1, TNF akan menstimulasi sintesa kolagen serta jaringan ikat lain yang selanjutnya sitokin dan faktor pertumbuhan memodulasi sintesa dan aktifasi metaloproteinase, suatu enzim yang berfungsi untuk degradasi komponen ECM. Hasil dari sintesis dan degradasi ECM merupakan remodeling kerangka jaringan ikat, dan struktur ini merupakan gambaran pokok penyembuhan luka pada inflamasi kronis. Sedangkan proses degradasi kolagen dan protein ECM lain dilaksanakan oleh metalopretinase. Metaloproteinase terdiri atas interstisial kolagenase dan gelatinase, diproduksi oleh beberapa macam sel : fibroblast, makrofag, netrofil, sel sinovial dan beberapa sel epitel. Untuk mensekresikannya perlu stimulus tertentu yaitu PDGF, FGF, IL1, TNF α , fagosit dan stress fisik¹.

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 proliferasi dan fase maturasi.



gambar 1: fase dari penyembuhan luka : dibagi tiga fase inflamasi, proliferaasi dan maturasi .
 (Disadur dari : Wound healing. <http://www.orthoteers.co.uk/Nrujp-ij331m/orthwound.htm>)

II.3.3 Fase inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada hari 0 – 5. proses penyembuhan terjadi pada saat terjadi luka. Luka karena trauma atau luka karena pembedahan mengakibatkan kerusakan pada struktur jaringan dan mengakibatkan perdarahan. Pada awalnya darah akan mengisi jaringan yang cedera dan terpaparnya darah terhadap kolagen akan mengakibatkan terjadinya degranulasi trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Hal ini kemudian akan memicu sistem biologis lain seperti pengaktifan komplemen kinin, kaskade pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadaan ini memperkuat sinyal dari daerah terluka, yang tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dari pembuluh darah 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 tampaknya kehadiran sel-sel ini tidak begitu penting sebab penyembuhan luka dapat terjadi tanpa keberadaan sel-sel ini.

Adanya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. Bila tidak terjadi infeksi sel-sel PMN berumur pendek dan jumlahnya menurun dengan cepat setelah hari ketiga.

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 ke3. 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 (CD4) dengan jumlah bermakna pada hari ke 5 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Sebaliknya dari PMN, makrofag dan limfosit T penting keberadaanya pada penyembuhan luka normal. Makrofag seperti halnya netrofil, memfagositosis dan mencerna organisme-organisme patalogis 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 sitokin¹¹.

II.3.4 Fase proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3- 14. bila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang 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 ekstraseluler 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 oleh 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 matrik fibronectin, asam hialoronik dan gliko aminoglikan. Proses proliferasi fibroblas dan aktifasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia.

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas-tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 setelah luka sel-sel endothelial dari venulae mulai bermigrasi sebagai respon stimuli 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 endothelial ini dan kemotaksis termasuk sitokin yang dihasilkan trombosit, makrofag dan limfosit pada luka, tekanan oksigen yang rendah, asam laktat dan amin biogenic. Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk *basic fibroblast growth factor* β (TGF β) dan *epidermal growth factor* (eFGF). FGF pada percobaan *invivo* merupakan substansi poten dalam neovaskularisasi.

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 matrik 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 kolumnar 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 1).

IL.3.5 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. Terbentuknya 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, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks sebagian besar tersusun dari fibronektin dan asam hialuronidase, terjadi peningkatan cepat dari kekuatan tahanan luka karena fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Bagaimanapun, kekuatan akhir penyembuhan luka tetap kurang dibanding dengan kulit yang tidak pernah terluka, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70% dari kulit utuh.

Pengembalian kekuatan tegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus menerus, remodeling serabut kolagen membentuk bundle-bundel kolagen lebih besar dan perubahan dari *cross linking inter molekuler*. Remodeling kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesa 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. 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 kedalam dari tepi luka juga merupakan faktor berpengaruh dalam penyembuhan luka dan harus dibedakan dengan kontraktur¹¹.

II.4. Angiogenesis

Pembentukan pembuluh darah baru, atau angiogenesis, merupakan elemen kunci penyembuhan pada luka yang tertutup secara primer dan luka terbuka yang dimungkinkan untuk sembuh secara sekunder. Proses-proses neovaskularisasi rumit dan telah dijelaskan melalui pengamatan histologis pada luka dan oleh penelitian yang lebih terkontrol pada membrane embrio ayam, kornea kelinci, dan kultur sel endotelial¹².

Angiogenesis terjadi sebagai respon terhadap berbagai stimuli, yang menyebabkan pembentukan kapiler baru yang asalnya adalah pertumbuhan dari venula. Penutupan membran dasar terjadi pada venula pada bagian yang diarahkan menuju stimulus. Migrasi sel endotelial kemudian berlangsung, dengan kolagenase khusus membuat jalan melalui jaringan. Secara bersamaan, terjadi produksi sel dan pembentukan akhir dari lumen tabung. Hubungan vaskular terbentuk dengan kapiler lain yang baru terbentuk yang muncul dari daerah yang berdekatan dalam luka. Setelah perkembangan aliran vaskular, regresi dan remodeling menyebabkan banyak pembuluh terpecah seluruhnya dan pembuluh lain dibedakan menuju arteri dan vena. Langkah-langkah dasar ini terjadi pada luka yang tertutup secara primer, pada penyembuhan luka secara sekunder, pada *flap* bedah pada perbatasan dengan dasar luka yang direkonstruksi dan dalam beberapa tingkatan selama neoplasia²⁹.

Ada berbagai stimulus dan mediator neovaskularisasi. Faktor-faktor berperan langsung telah ditunjukkan memiliki pengaruh langsung terhadap migrasi sel endotelial, seperti yang ditunjukkan memiliki pengaruh langsung terhadap migrasi sel endotelial, seperti yang ditunjukkan dalam kultur sel. Faktor tersebut antara lain bFGF, aFGF, TGF- α , TNF- α , dan faktor pertumbuhan endotelial vaskular (VEGF). Faktor-faktor angiogenik akting langsung tidak memiliki pengaruh yang tercatat terhadap sel endotelial dalam kultur tetapi telah ditunjukkan menstimulasi angiogenesis pada membran embrio ayam dan kornea kelinci. Faktor-faktor ini antara lain TGF- β , PDGF, prostaglandin, dan angiogenin dan diperkirakan melakukan aksinya dengan merekrut komponen-komponen sel (mis. Makrofag) yang mengeluarkan faktor-faktor angiogenik langsung²⁹. Tegangan oksigen dalam luka juga diperkirakan merupakan stimulus potensial dan pengarah

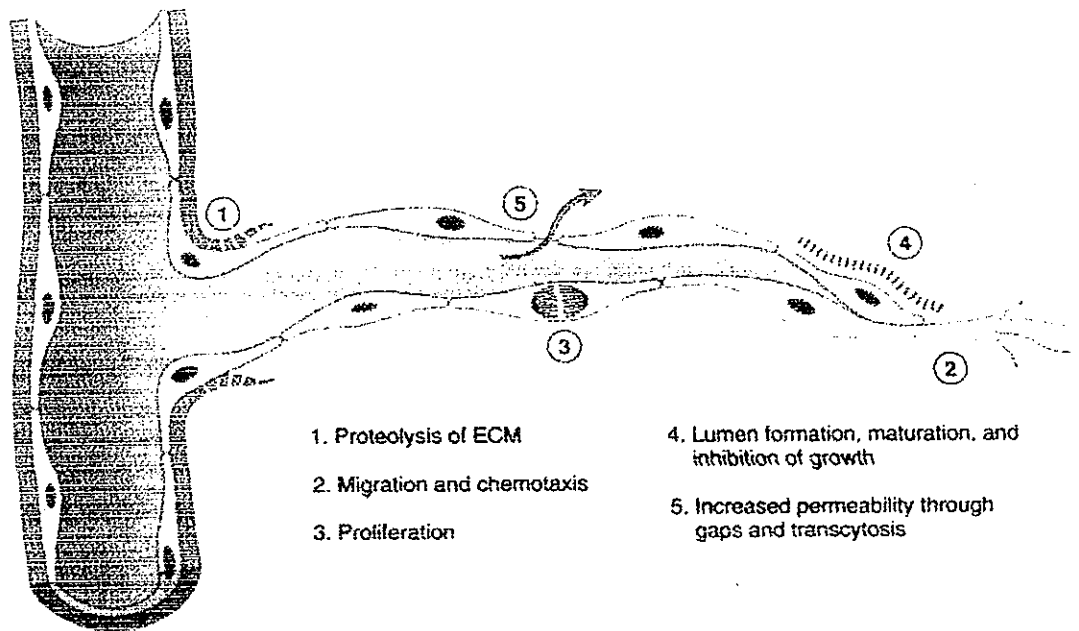
angiogenesis. Pembentukan pembuluh darah baru telah ditunjukkan ke daerah luka dengan tegangan oksigen terendah. Lebih lanjut, faktor – faktor angiogenik yang didapat dari makrofag dipengaruhi oleh tegangan oksigen dari luka.

Istilah “jaringan granulasi” sering kali digunakan secara tidak tepat untuk menjelaskan angiogenesis pada sebuah luka yang tertutup secara primer. Penamaan yang salah ini diciptakan oleh mereka yang tidak memiliki atau memiliki sedikit pengalaman dengan luka klinis. Ahli kesehatan memberi penjelasan tentang jaringan granulasi ini beberapa dekade lalu dengan mengamati jaringan penyembuhan yang berkembang pada sebuah luka terbuka. Angiogenesis pada luka terbuka menghasilkan jaringan yang kaya akan lingkaran kapiler yang dengan mata telanjang nampak seperti butiran gula. Jaringan seperti itu tidak pernah didapat pada sebuah luka yang tertutup secara primer yang akan sembuh tanpa infeksi atau pada gangguan luka sebagian. Penyebarluasan penggunaan istilah yang tidak tepat ini harus dihentikan karena hal ini hanya membingungkan pemahaman kita akan proses penyembuhan.

Pembuluh darah terbentuk dengan dua proses : *vaskulogenesis*, dimana sebuah jalinan vaskular primitif terbentuk selama perkembangan embrio dari dasar sel endothelial yang disebut *angioblasti* ; dan *angiogenesis*, atau *neovaskularisasi*, dimana pembuluh yang telah ada sebelumnya mengeluarkan kuncup atau tunas untuk menghasilkan pembuluh baru³⁰. Karena angiogenesis merupakan proses yang penting, yang kritis terhadap fibrosis dan pembengkakan kronis, terhadap pertumbuhan sel tumor, dan terhadap pembentukan sirkulasi kolateral, banyak yang telah dilakukan untuk memahami mekanisme yang mengendalikan pembentukan pembuluh darah yang baru.

Saat ini baik terapi proangiogenik (untuk meningkatkan pembuluh darah saat dibutuhkan) maupun antiangiogenik (untuk menghambat angiogenesis patologis) sedang diteliti.

Serangkaian langkah dibutuhkan dalam perkembangan pembuluh darah kapiler baru selama angiogenesis (Gambar 2) :



Disadur dari : Cotran Ramzi S, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. W B Saunders Co. Philadelphia. 1999 : 21-201

- Degradasi proteolitik dari BM pembuluh induk untuk memungkinkan pembentukan tunas kapiler dan kemudian migrasi sel.
- Migrasi sel endotelial menuju stimulus angiogenik.
- Pembentukan sel endotelial, tepat di belakang ujung bagian depan dari sel yang bermigrasi.
- Pematangan sel endotelial, yang antara lain penghambatan pertumbuhan dan remodeling menjadi tabung kapiler.

- Perekrutan sel-sel periendotelial (termasuk perisit untuk kapiler kecil dan sel-sel otot lembut vaskular untuk pembuluh yang lebih besar) untuk mendukung tabung endotelial, yang menyediakan pemeliharaan dan fungsi sel tambahan untuk pembuluh.

Seluruh langkah ini dikendalikan oleh interaksi diantara faktor-faktor pertumbuhan, sel-sel vaskular, dan ECM.

Faktor-faktor dan Reseptor Pertumbuhan. Meskipun banyak faktor pertumbuhan menghambat aktifitas angiogenik, kebanyakan bukti menunjukkan pada sebuah peran khusus untuk *VEGF* dan *angiopoietin* pada vaskulogenesis dan angiogenesis. Faktor-faktor ini dihasilkan oleh banyak sel stroma dan mesenkim, tetapi reseptor-reseptornya semuanya memiliki aktifitas kinase tirosin – utamanya terbatas pada endotel. Faktor-faktor ini berpengaruh terhadap perkembangan vaskular dalam embryogenesis dan terhadap angiogenesis pada orang dewasa. Sebuah model (gambar 2) untuk aksi mereka secara berurutan, yang diambil terutama dari penelitian pada embrio, adalah sebagai berikut :

- Pada perkembangan vaskular awal, VEGF terikat dengan salah satu dari reseptornya (VEGF-R2) pada *angoiblast* dan menyebabkan pembentukan dan produksi sel-sel endotelial.
- Kemudian VEGF yang terikat pada reseptor yang berbeda yang kedua (VEGF-R1) menyebabkan pembentukan tabung yang bercirikan kapiler.
- Perkembangan angiogenesis lebih lanjut nampaknya dikendalikan oleh *angiopoietin* (Ang 1 dan Ang 2), Ang 1 berinteraksi dengan reseptor pada sel

endotelial, yang disebut Tie2, untuk merekrut satu rangkaian sel pereindotelial, yang membantu mestabilkan pembuluh yang baru terbentuk³⁰.

- Interaksi Ang1/Tie2 menjembatani pendewasaan pembuluh dari tabung endotelial sederhana sampai struktur vaskular yang rumit dan membantu mempertahankan ketenangan endotelial.
- Ang2 sebaliknya, yang juga berintraksi dengan Tie2, memiliki efek yang berlawanan, mengendorkan sel-sel endotelial sedemikian rupa sehingga sel-sel tersebut menjadi lebih responsif terhadap rangsangan oleh faktor-faktor pertumbuhan seperti VEGF, atau bila VEGF tidak ada, lebih responsif terhadap penghambat angiogenesis. Sebuah bukti nyata tentang pentingnya molekul-molekul ini adalah adanya gangguan genetik, yang dicirikan oleh kesalahan pembentukan vena, yang disebabkan oleh mutasi dalam Tie2²⁹. Sebagai tambahan, tikur-tikus transgenik yang kekurangan molekul ini menunjukkan perubahan dalam vaskulogenesis dan angiogenesis.

bFGF adalah sebuah faktor angiogenik yang kuat, tetapi VEGF muncul sebagai faktor pertumbuhan yang paling penting pada jaringan orang dewasa yang mengalami angiogenesis fisiologis (misalnya memproduksi endometrium) dan pada angiogenesis patologis yang terlihat pada pembengkakan kronis, penyembuhan luka, tumor, dan kondisi seperti retinopati dari prematuritas (fibroplasia rerolental). Penampakan VEGF dirangsang oleh faktor pertumbuhan dan sitokin tertentu (mis. TGF- β , PDGF, TGF- α) dan, khususnya oleh hipoksia jaringan, yang telah lama dihubungkan dengan angiogenesis³³. Faktor –faktor pertumbuhan lain, seperti PDGF

dan TGF- β , dan reseptornya yang sesuai (PDGF-R dan TGF-BR) juga penting bagi remodeling dan pematangan vaskuler yang sesuai.

Protein Matriks Ekstraselular sebagai Regulator Angiogenesis. Sebuah komponen kunci angiogenesis adalah motilitas dan migrasi terarah dari sel-sel endotelial. Proses-proses ini dikendalikan oleh beberapa kelas protein, termasuk *integrin*, khususnya $\alpha_v\beta_3$, yang penting pembentukan dan pemeliharaan pembuluh darah yang baru terbentuk, *protein matrix-selular*, termasuk thrombospondin 1, SPARC, dan tenascin C, yang melemahkan interaksi sel – matrik dan oleh karena itu mendorong angiogenesis³¹, dan *protease*, seperti aktivator plasminogen dan metaloprotease matrik, yang didiskusikan kemudian, yang penting pada saat remodeling selama infasi endotelial. Sebagai tambahan, protease ini memotong protein ekstraselular yang menghasilkan produk-produk yang terpotong yang mengatur angiogenesis³⁰. Misalnya, *endostatin* merupakan potongan kecil dari jenis tertentu dari kolagen yang menghambat produksi endotelial dan angiogenesis.

II.5. Pembentukan jaringan Granulasi dan Angiogenesis

Jaringan granulasi terbentuk di bawah epitelium dan disusun dari sel penyebab radang, fibroblas dan sel baru. Rekonstruksi awalnya dari jaringan yang rusak bertugas sebagai sebuah penghalang sementara terhadap lingkungan yang tidak sehat. Di dalam jaringan granulasi, angiogenesis (pembentukan sel darah kapiler baru dari vaskulatur yang ada untuk menyediakan gizi dan oksigen) dipotensialkan oleh hipoksia, nitric oksida (NO), VEGF dan faktor pertumbuhan fibroblas 2 (FGF 2) dan oleh kemokin, MCP-1 dan protein peradangan makrofag (MIP-1 α). VEGF, dilepaskan dari epitelium yang luka dan

dari matrik ekstraselular oleh protease yang berasal dari endotelium, mendorong perkembangan sel endotelium dan meningkatkan permeabilitas vaskular^{2, 28}. VEGF dapat ditingkatkan untuk merespon NO, yang juga mempengaruhi vasodilatasi, sebuah langkah awal di dalam angiogenesis. Di dalam sebuah bentuk lingkaran, VEGF juga mengendalikan NOS (Nitric Oksida Sintesa) di dalam sel endothelium. Sel endotelium menekan reseptor afinitas tinggi untuk VEGF, VEGF R1 dan VEGF R2 dan menggambarkan sebuah target utama dari faktor angiogenesis dan permeabilitas vaskular ini. Keanekaragaman tikus untuk inaktivasi yang ditargetkan dari VEGF atau kesamaan dari inaktivasi dari reseptornya adalah mematikan secara embrio, menyatakan pentingnya VEGF di dalam angiogenesis. Di samping VEGF, FGFs memindahkan tanda melalui 4 protein resptor tiroksin kinase untuk memediasi kejadian penting yang ada di dalam angiogenesis. FGFs merekrut sel endothelium dan juga mengarahkan perkembangan mereka, perbedaan dan sintesis aktifator plasminogen. Sebuah proses mulifaktorial yang jelas, kejadian sel yang ada di dalam neovaskularisasi juga disebabkan oleh TGF- β 1, EGF, TGF- α , endothelin 1, leptin, dan secara tidak langsung, TNF- α dan IL-1 β .

1. Angiogenesis merupakan sebuah proses yang terkontrol. Ini dikarakteristik tidak hanya oleh kehadiran dari penginduksi endogenous, tetapi juga penghambat yang memediasi proses dalam jaringan granulasi, yang merupakan indikasi adanya granular dan sel darah di dalam pembentukan daging yang terus-menerus. Di antara penghambat endogenous yang teridentifikasi dari vaskularisasi adalah IFN- γ , ip-10, IL-12, IL-4 dan penghambat jaringan dari MMPs Cotran Ramzi S, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. W B Saunders Co. Philadelphia. 1999 : 21-201

, serta angistatin dan endostatin. Karena hilangnya kontrol angiogenik dapat berakibat adanya tumor, rheumatoid arthritis dan endometriosis, identifikasi dari modulator terapeutik yang terus menerus.

Penyembuhan luka pada dasarnya sama di semua jaringan dan relatif tidak tergantung pada bentuk luka, meskipun beberapa variasi dapat terjadi. Produk akhir dari proses penyembuhan adalah jaringan parut. Masa kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler ini berfungsi untuk mengembalikan kontinyuitas, kekuatan dan fungsi jaringan. Kelambatan proses penyembuhan dapat disebabkan oleh keberadaan luka yang memanjang, sementara abnormalitas proses penyembuhan dapat menyebabkan pembentukan jaringan parut abnormal¹.

II.6 Pengaruh anestesi lokal terhadap penyembuhan luka

Nyeri secara langsung dapat menimbulkan stress pada sistem imun, atau lewat peptide hipotalamus, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem, otak dan sistem imun, adalah CRF (*Cortitrophin releasing Factor*), ACTH, β endorfin, substansi P, dan lain-lain. Otak memberikan respon terhadap stress 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 otot¹.

Efek anestesi lokal yang dilaporkan adalah :

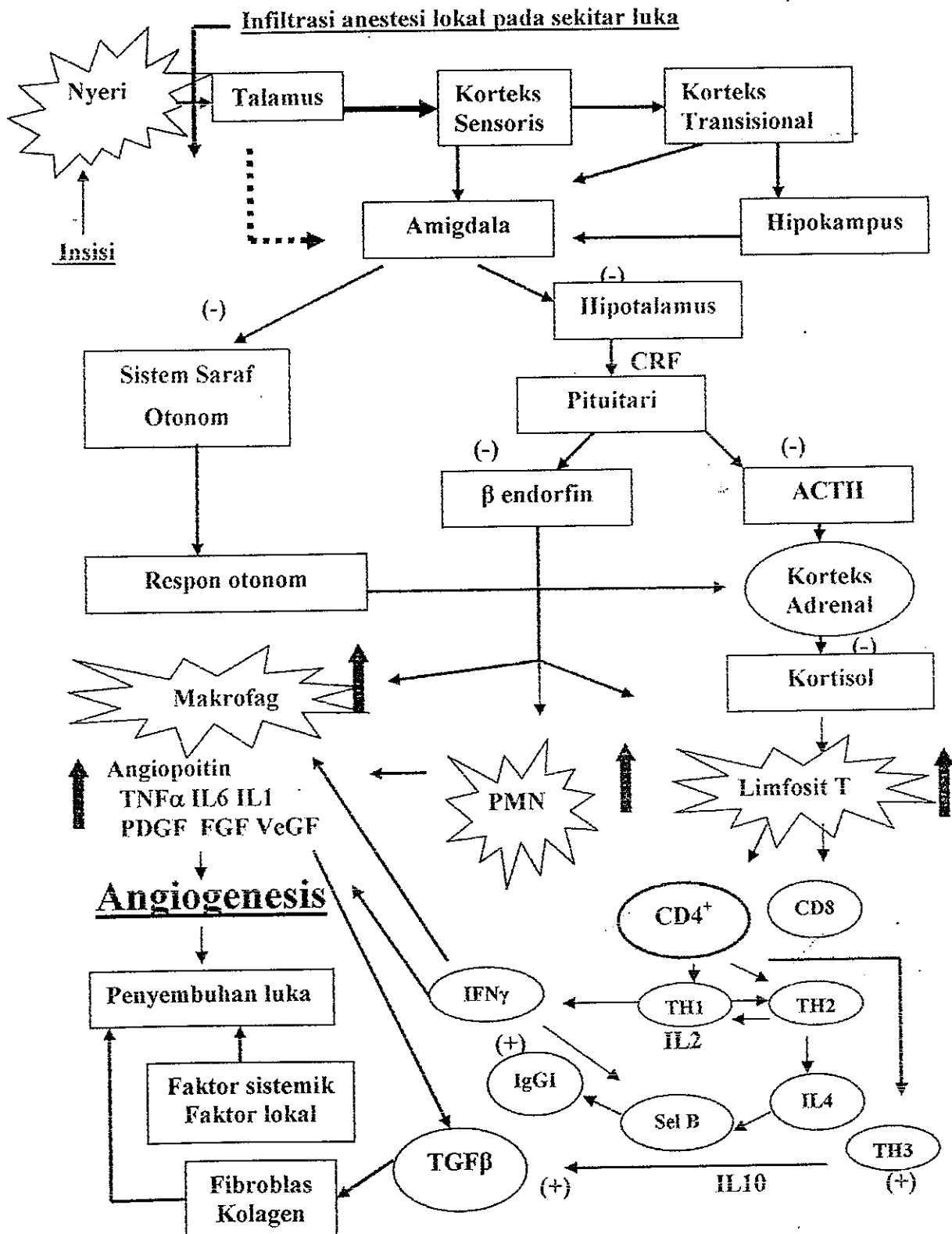
Efek terhadap penyembuhan luka :

1. Cassuto dan kawan kawan melaporkan bahwa pada penggunaan lokal anestetik secara topikal dan sistemik pada luka bakar akan menghambat ekstrasvasi plasma pada tikus.
2. Brofeldt dan kawan kawan melaporkan bahwa penggunaan 5 % lidokain krim digunakan pada pasien luka bakar yang parsial konsentrasinya dinaikkan sampai 2,25 mg/cm² dihubungkan dengan : nyeri menjadi berkurang, tidak ada infeksi atau komplikasi alergi dan bagus dalam penyembuhan luka.
3. Mempunyai efek antibakteri dan antivirus, Schimidt dan Rosenkranz melaporkan lidokain 2% menghambat semua bakteri patogen kecuali *streptococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. De Amici dan kawan kawan melaporkan bupivakain (15,5 mM) menghambat replikasi virus. Rossenberg P H dan kawan kawan melaporkan bahwa Bupivakain mempunyai efek bakteriostatik dan antimikroba.
4. Vintar N dan kawan kawan melaporkan penggunaan lokal anestetik bupivakain lewat kateter dalam luka akan efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia iunguinalis dan penyembuhan luka lebih baik^{8,9,13}.

BAB III

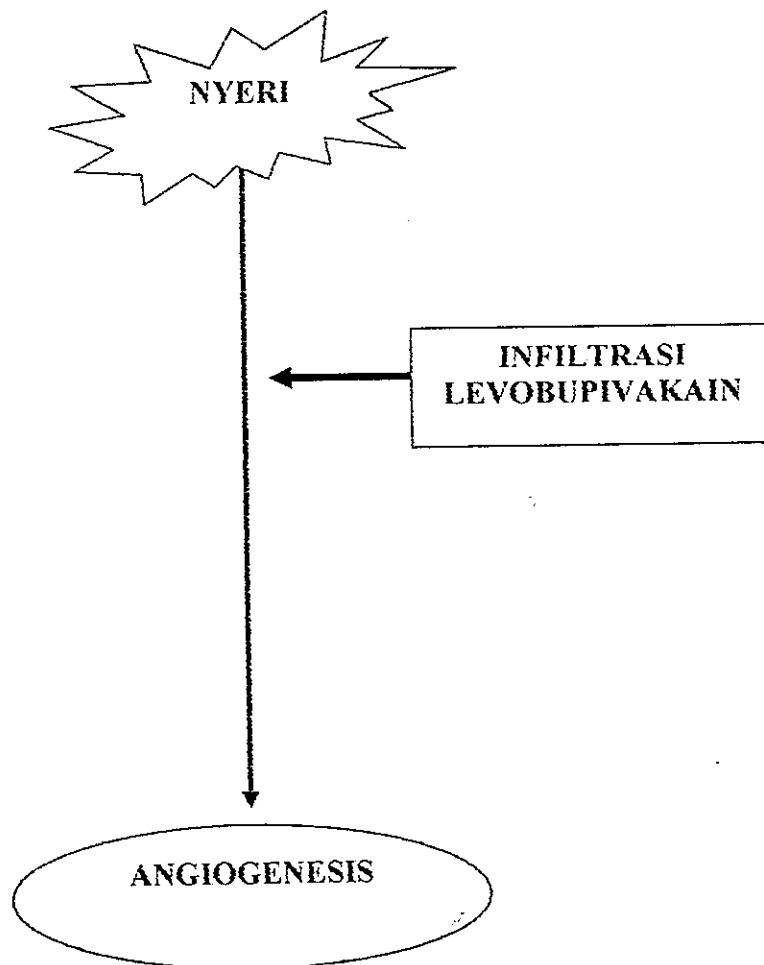
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

III.1. Kerangka teori



dimodifikasi dari : Mulyata S. Paket penyuluhan kognitif dan senam prapersalinan pada primigravida mengurangi cemas dan nyeri persalinan, meningkatkan skor apgar bayi, serta mempercepat penyembuhan luka persalinan. 2002 : 122-124

III.2 Kerangka konsep



III.3 Hipotesis Penelitian

Dengan pemberian levobupivakain akan meningkatkan kuantitas angiogenesis.

BAB IV

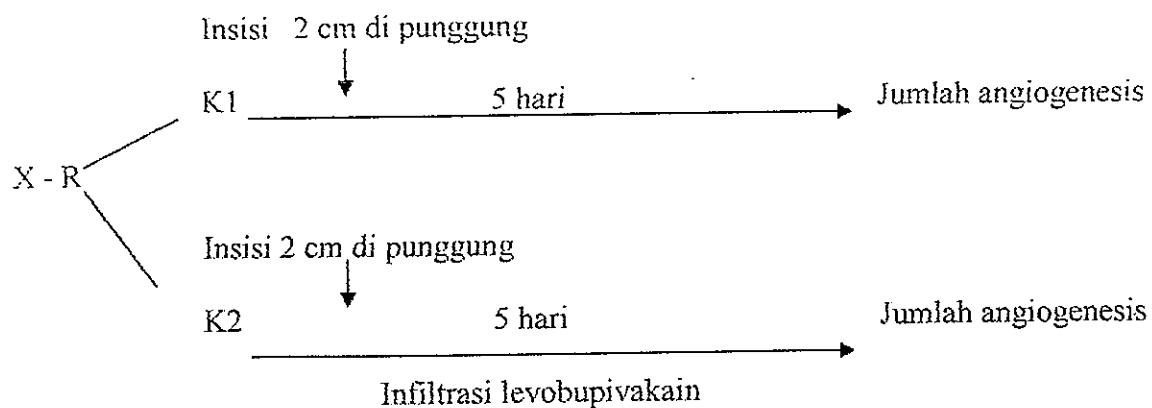
METODOLOGI PENELITIAN

IV.1. Metodologi Penelitian

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

- K1 : Kelompok 1, tikus yang dilakukan insisi 2 cm pada punggung atas, tanpa diberikan infiltrasi levobupivakain.
- K2 : Kelompok 2, tikus yang dilakukan insisi 2 cm pada punggung atas, diberikan infiltrasi levobupivakain tiap 8 jam selama 24 jam.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



Keterangan :

X - R : Masa adaptasi 7 hari

R : Randomisasi

- K1 : Kelompok kontrol , sebagai kelompok tikus pembanding yang mendapat luka insisi di punggung dan penyuntikan tiap 8 jam selama 24 jam pertama tanpa anestetik lokal levobupivakain.
- K2 : Kelompok tikus yang mendapat perlakuan insisi di punggung kemudian diberi infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% setiap 8 jam pada 24 jam pertama.

IV.2 Sampel penelitian

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

IV.2.1 Kriteria Inklusi :

1. Tikus Wistar galur murni
2. Belum pernah digunakan untuk penelitian
3. Umur dua sampai dua setengah bulan
4. Berat badan 250 gram.
5. Tidak ada kelainan anatomis yang tampak
6. Dinyatakan sehat oleh dokter hewan dan layak dijadikan hewan penelitian.

IV.2.2 Kriteria Eksklusi :

1. Tikus Wistar sakit selama masa adaptasi 7 hari (gerakan tidak aktif)
2. Mati selama perlakuan berlangsung.

IV.2.3 Besar Sampel :

Besar sampel ditentukan berdasar rumus (Steel,1981)

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 (\sigma D)^2}{\delta^2}$$

dimana $\delta / \sigma = 1$, sehingga $\frac{(\sigma D)^2}{\delta^2} = 1$ dan $Z = 1,69$ serta $Z_{\beta} = 1,28$ sehingga besar sampel = 9 untuk masing masing kelompok.

IV.2.4 Randomisasi

18 tikus dikelompokkan secara random menjadi 2 kelompok yaitu :

Kelompok K1 : 9 tikus.

Kelompok K2 : 9 tikus

Cara randomisasi adalah sebagai berikut :

- Sebelumnya tikus diberi nomor, kemudian untuk pengambilan urutan diacak berdasarkan pengambilan secara undian (semua nomor dimasukkan dalam toples, kemudian dikocok).

IV.3 Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 6 bulan. Perlakuan pada tikus proses pengambilan jaringan dilakukan di Laboratorium Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Proses pembuatan preparat dan pewarnaan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNS Surakarta.

IV.4. Variabel Penelitian

IV.4.1. Variabel bebas

Pemberian anestetik lokal infiltrasi levobupivakain pada sekitar luka

IV.4.2. Variabel terikat

Profil kuantitas angiogenesis hasil dari pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan Hematoksin-Eosin (HE) pada jaringan sekitar luka, yang diperiksa hari ke 5.

IV.5. Definisi operasional

1. Infiltrasi lokal anestetik levobupivakain merupakan suatu anestetik lokal dengan pemberian levobupivakain, sediaan berupa larutan 0,5% Chirokain yang diencerkan menjadi larutan 0,25%. Pemberian dengan infiltrasi dalam spuit 1 cc dengan jarum no 25 sekitar 1 cm di sekitar luka irisan.
2. Profil kuantitas dari angiogenesis dengan pengecatan Hematoksin-Eosin (HE) diambil dari jaringan luka yang diperiksa pada hari ke 5 kemudian dilihat dengan mikroskop dengan pembesaran 40 X. Untuk penetapan hasil kuantitas angiogenesis adalah dengan menghitung jumlah tunas pembuluh darah baru yang tumbuh dari pembuluh darah induk. Tunas pembuluh darah baru ukurannya lebih kecil dari pembuluh darah induk, dan didalamnya terdapat sel-sel endotel.

IV.6. Bahan dan alat penelitian

IV.6.1. Bahan untuk perlakuan

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

Tikus diperoleh dari Fakultas Peternakan UGM. Selama percobaan, hewan coba ditempatkan pada kandang dan diberi pakan dan minum ad libitum. Sebelum penelitian, tikus menjalani masa adaptasi selama 7 hari.

Pakan standar yang diberikan adalah buatan laboratorium PAU Pangan dan Gizi UGM (Prof. Dr.Hastari,DVM., MSc) yang terdiri dari campuran bahan-bahan :

Selulose (agar)	5%
Lemak hewani	4,5%
Kolesterol	0,5%
Sukrose	50%
Tepung jagung	40%
Kasein	25%
Vitamin / mineral	5%

IV.6.2. Bahan 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 untuk infiltrasi

- a. Disposable syringe Ice
- b. Larutan Levobupivakain 0,25%

IV.6.4. Bahan untuk pemeriksaan histopatologi

- a. Formalin buffer 10%
- b. Alkohol 50%, 70%, 80%, 96%, absolute.
- c. Xylol
- d. Parafin cair (Histoplast)
- e. Albumindan Poly-L-Lysine
- f. Bahan pengecatan Hematoksin-Eosin (HE)
- g. Balsam Kanada dan Entelan.

(Larssol, 1991 ; Wasito, 1991).

IV.6.5 Bahan untuk pembuatan sediaan penelitian dengan pewarnaan H & E

- a. Inkubator suhu 56^oC
- b. Mikrotom
- c. Kaca obyek dan kaca penutup

IV.7. PELAKSANAAN PENELITIAN

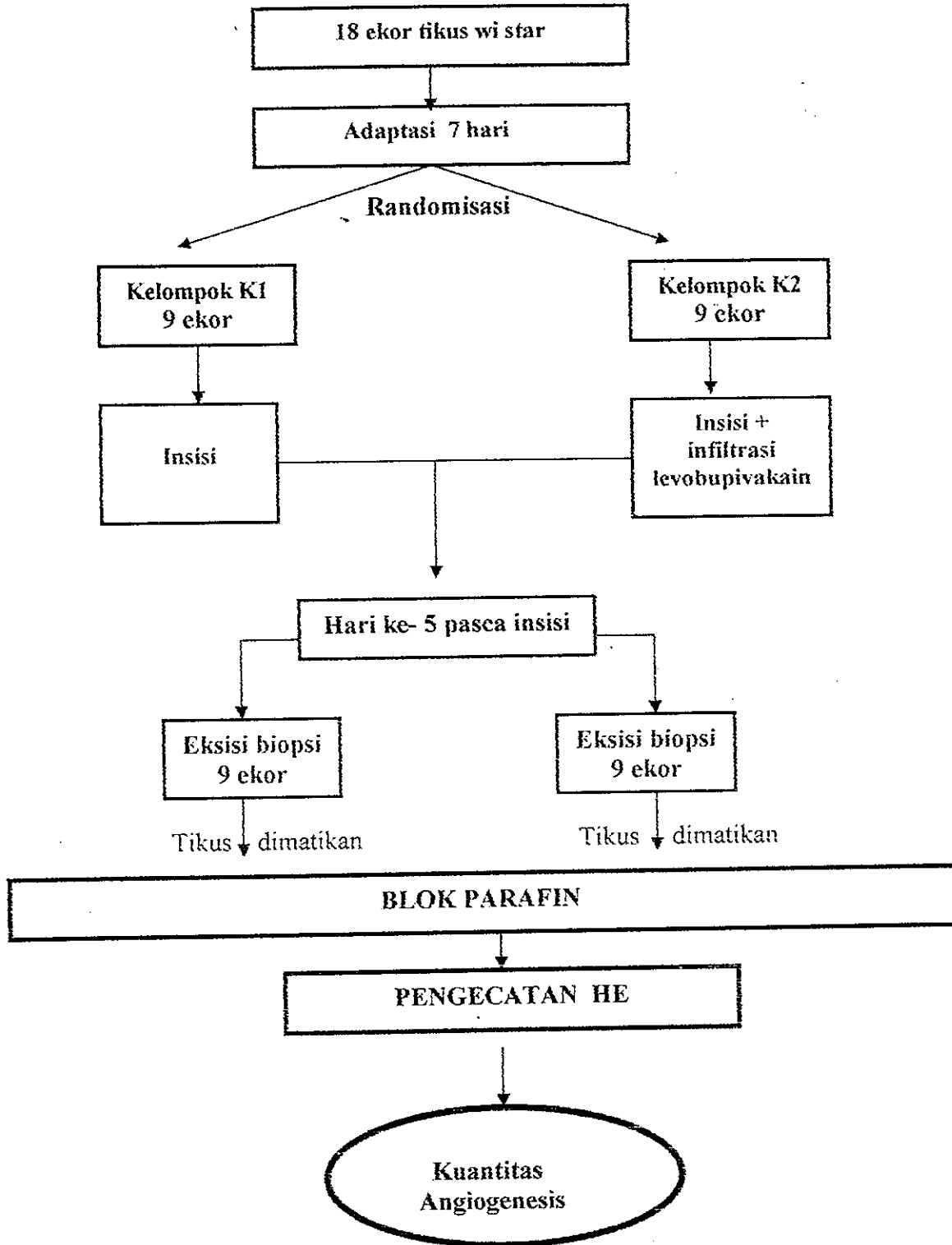
IV.7.1. Cara perlakuan

Sejumlah 18 ekor tikus Wistar dilakukan adaptasi di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar secukupnya selama 7 hari. Sesudah masa adaptasi 7 hari berakhir, tikus dibagi menjadi 2 kelompok masing-masing terdiri dari 9 ekor tikus yang ditentukan secara acak, kemudian dipindahkan ke dalam kandang tunggal setiap kelompoknya.

Tikus kedua kelompok dibius dengan menggunakan Aether. Pada tikus kelompok kontrol (K1), sesudah terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadin. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutis pada punggung atas. Luka irisan dibersihkan dan dioles larutan betadin, kemudian luka ditutup dengan 4 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang nylon steril nomor 0000. selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadin dan dirawat. Paska bedah diberikan penicillin oil 15 mg, intra muskular pada paha atas. Pada kelompok perlakuan (K2), sesudah tikus terbius bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadin. Selanjutnya dibuat irisan sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutis pada punggung atas. Kemudian jaringan subkutis diberikan infiltrasi levobupivakain 0,25% dengan dosis 2mg/kgBB dan luka ditutup dengan 4 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang nylon steril nomor 0000. Selanjutnya jahitan dibersihkan dan dioles dengan betadin dan dirawat. Paska bedah diberikan penicillin oil 15 mg, intra muskular pada paha atas. Setelah 8 jam, tikus pada kelompok perlakuan (K2) diberikan infiltrasi ulang levobupivakain 0,25% pada jaringan subkutis pada daerah luka insisi, sedangkan pada kelompok kontrol dilakukan tusukan dengan jarum suntik. Hal ini dilakukan selama 24 jam pertama.

Pada hari ke 5 kedua kelompok masing-masing diambil 9 ekor. Dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Setelah tikus terbius kemudian dilakukan biopsi-eksisi pada jaringan bekas luka irisan 2,5 cm persegi melintasi garis irisan, dengan kedalaman sampai subkutis. Dari masing-masing kelompok (Kelompok K1 dan Kelompok K2) diambil 9 jaringan eksisi biopsi, dan dibuat preparat histopatologi sampai dengan blok paraffin. Semua ini dilakukan di Laboratorium PAU UGM Yogyakarta dan selanjutnya dilakukan pewarnaan sediaan dengan HE dan pembacaan hasil pemeriksaan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNS. Sediaan kemudian diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 X. Dengan bantuan mikroskop kuantitas atau jumlah tunas baru dari proses angiogenesis dapat dihitung. Kemudian hasil penghitungan dari kedua kelompok sampel dianalisa.

IV.7.2 Alur kerja



IV.8. Prosedur Pemeriksaan

IV.8.1. Prosedur eksisi-biopsi

Semua tikus pada kedua kelompok dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether. Setelah tikus terbius kemudian pada jaringan bekas irisan dibuat eksisi-biopsi sebesar 2,5 cm persegi melintasi garis irisan dengan kedalaman sampai subkutis. Kemudian diproses untuk menjadi preparat histopatologi setelah dibuat dengan blok parafin.

IV.8.2. Prosedur pembuatan preparat histopatologi

a. Fiksasi

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

b. Dehidrasi

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

c. Impregnasi

Jaringan dimasukkan dalam parafin cair selama 2 x 2 jam

d. Embedding

Jaringan ditanam dalam parafin padat yang mempunyai titik lebur 56-58⁰C, 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 incubator suhu 56-58⁰C sampai parafin mencair.

e. Pewarnaan jaringan dengan HE

Secara berurutan jaringan pada kaca obyek dimasukkan dalam

1. Xylol I	5 menit	11. Alkohol	3x2 menit
2. Xylol II	5 menit	12. Xylol	3x5 menit
3. Alkohol absolute	3x2 menit	13. Eosin	
4. Air mengalir	2 menit	14. Alkohol 70% 3 kali	
5. HE Lilie-Mayer	5 menit	15. Karbol Xylol	
6. Air mengalir	2 menit	16. Xylol	3 kali
7. Alkohol asam	3 celup	17. Xylol	20 menit
8. Air mengalir	2 menit	18. Canada balsam	
9. Lithium karbonat jenuh	3 celup	19. Tutup kaca penutup	
10. Air mengalir	2 menit		

IV.9. Cara pengumpulan data

Dari masing-masing kelompok pada hari ke 5 diambil 9 ekor kemudian dilakukan esisi biopsi pada luka insisi sebesar 2,5 cm persegi. Kemudian dilakukan fiksasi dengan blok parafin, selanjutnya diwarnai dengan pengecatan HE. Pemeriksaan histologi dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 X untuk menentukan dan menghitung kuantitas atau jumlah tunas baru pada proses angiogenesis. Data dari pemeriksaan mikroskopis

langsung dihitung dan dicetak dengan system computerisasi di laboratorium Biomedik dan laboratorium Patologi Anatomi FK UNS Surakarta.

IV.10. Analisa data

Sebelum dilakukan uji hipotesis, data yang terkumpul terlebih dulu didit, decoding, dientri dalam file komputer dan dicleaning, kemudian dilakukan analisis statistik deskriptif analitik.

Dalam analisa deskriptif, dihitung nilai kecenderungan sentral (*mean*) dan sebaran (*SD*) dari variable tergantung (jumlah kuantitas atau jumlah angiogenesis). Hasilnya disajikan dalam bentuk tabel silang. Dibuat grafik *box - plot* menurut kelompok perlakuan.

Data hasil pemeriksaan jumlah atau kuantitas angiogenesis diambil dari hasil pemeriksaan mulai daerah ujung luka sampai daerah ujung luka lainnya. Kemudian dilakukan uji hipotesis dengan uji nonparametrik menggunakan uji beda mean t-test dipergunakan untuk menganalisis data dengan data variabel bebas nominal dan variabel terikat yang berskala nominal²⁵.

Batas derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan. Analisa data dilakukan dengan program komputer SPSS 10. *for windows*.

Bab V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1 Hasil Penelitian

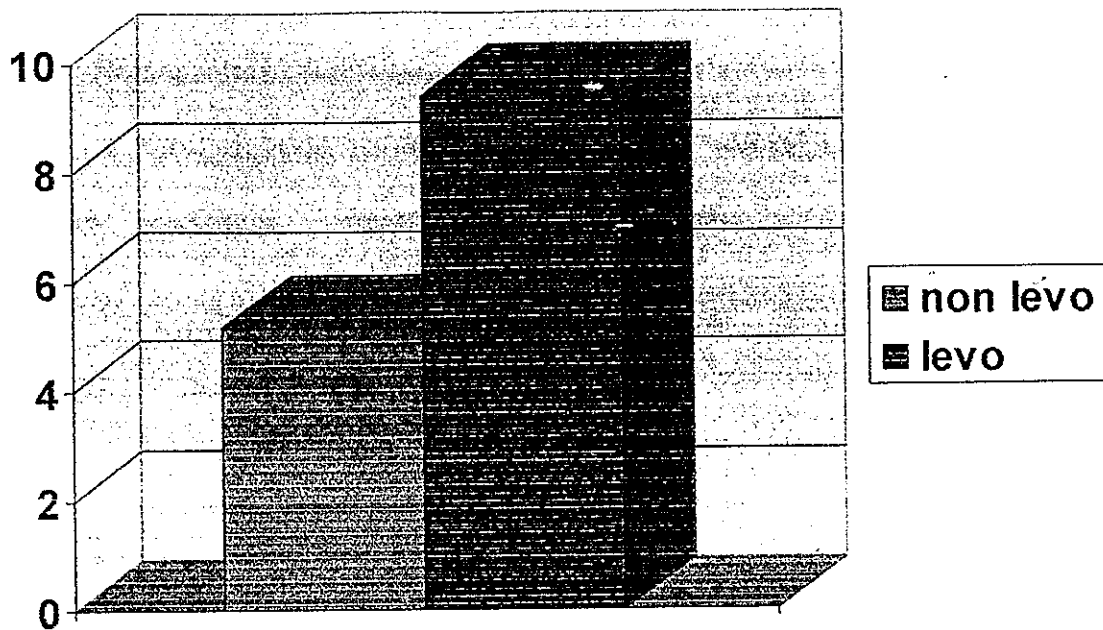
Dilakukan penelitian terhadap hewan coba sebanyak 18 ekor tikus wistar terdiri dari dua kelompok masing masing 9 ekor, betina, dewasa umur kurang lebih 3 bulan dengan berat 250-300 gram.

Hasil analisis deskriptif variabel tergantung dari kedua kelompok dapat dilihat pada tabel 5.1 dibawah ini

Tabel 5.1. Jumlah angiogenesis dalam jaringan sekitar luka

no	Jumlah Angiogenesis	
	Non levobupivakain	levobupivakain
	Hari ke 5	Hari ke 5
1	6	8
2	3	12
3	4	9
4	3	3
5	12	11
6	4	10
7	6	8
8	3	12
9	6	12
Rata rata	5,222	9,444

Sumber : data primer 2005



5.1.2 Uji distribusi

One Sample Kolmogorov-Smirnov Test
Kelompok Non Levobupivakain

KELOMPOK	N	MEAN	SD	P	KETERANGAN
Non Levo	9	5,2222	2,86259	0,845	Tidak bermakna

- a. Test distribusi normal
- b. Kalkulasi dari data

One Sample Kolmogorov-Smirnov Test
Kelompok Levobupivakain

KELOMPOK	N	MEAN	SD	P	KETERANGAN
Levo	9	9,4444	2,92024	0,598	Tidak bermakna

- a. Test distribusi normal
- b. Kalkulasi dari data

5.2 Analisa Data

5.2.1 Uji Homogenitas antar kelompok

Tabel 5.2.1 Hasil uji berat badan kedua kelompok hewan coba

variabel	kelompok	mean	T	df	p	keterangan
Berat badan (gr)	Nonlevo	281,444	-0,495	16	0,627	Tidak bermakna
	levo	279,111				

Sumber : data primer 2005

Dari tabel 5.2.1 didapat hasil uji berat badan antar kedua kelompok hewan coba hampir sama atau berbeda tidak bermakna ($p = 0,627$; $p > 0,05$). Yang pada umumnya tikus berasal dari satu indukan yang sama.

5.2.2 Hasil setelah perlakuan

Tabel 5.2.2 Hasil uji beda angiogenesis pada kedua kelompok hewan coba

variabel	kelompok	mean	t	df	p	keterangan
Angiogenesis	Nonlevo	5,222	-3,098	16	0,007	bermakna
	levo	9,444				

Dari tabel 5.2.2 didapat hasil berbeda bermakna ($P = 0,007$; $p < 0,05$) dan rerata kelompok levobupivakain lebih tinggi dibanding non levobupivakain. Berarti menunjukkan bahwa pemberian anestetik lokal levobupivakain didapat jumlah angiogenesis lebih banyak dibanding non levobupivakain.

BAB VI

PEMBAHASAN

VI.1 Pembahasan

Dalam penelitian ini menggunakan 18 ekor tikus galur Wistar betina dewasa. Dibagi dalam 2 kelompok, dimana kelompok pertama adalah kelompok non perlakuan dan kelompok kedua adalah kelompok dengan perlakuan infiltrasi anestesi lokal levobupivakain 0,25%. Untuk uji homogenitas kedua kelompok dengan variabel yang dapat diukur yaitu berat badan, dimana didapat hasil statistik adalah berbeda tidak bermakna dengan nilai $p=0,627$ ($p > 0,05$) tabel 5.2.1, berarti dapat ditarik kesimpulan bahwa kedua kelompok yang dibandingkan relatif homogen, sehingga layak dibandingkan. Untuk uji distribusinya memakai One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test. Pada kelompok non perlakuan didapatkan nilai $p=0,845$ ($p > 0,05$) dan pada kelompok perlakuan didapatkan nilai $p=0,598$ ($p > 0,05$). Ini dapat ditarik kesimpulan bahwa kedua kelompok tersebut mempunyai distribusi yang normal, sehingga layak dilakukan uji Parametrik T-Test.

Pada kelompok 1 dimana tikus setelah mendapatkan luka insisi, sehingga dengan demikian pada kelompok tersebut mendapat suatu kondisi yang disebut dengan nyeri akut. Nyeri akut tersebut adalah suatu reaksi sensoris dari sistem nosiseptif yang bersifat mendadak, yang merupakan sinyal alarm untuk mekanisme protektif tubuh. Dan nyeri akut hampir selalu terjadi dikarenakan oleh adanya picu kerusakan jaringan somatik ataupun visceral, yang lama berlangsungnya hampir bersamaan dengan lama sembuhnya

perluasan yang tidak disertai dengan penyulit. Nyeri akut akan hilang sempurna pada saat dimana suatu perlukaan sembuh.³²

Secara alamiah sebenarnya tubuh sudah memiliki suatu strategi untuk mereduksi sensasi nyeri akut yang telah dipersepsi tersebut, yaitu dengan cara meningkatkan nilai ambang nyeri. Untuk meningkatkan Pain Threshold tubuh dapat memproduksi opiate like substance, suatu neuromodulator atau neurotransmitter yang disebut dengan β -Endorpin. B-endorpin disintesis di sentral dalam Pars intermedius dan Pars distalis Pituitaria di bagian basal Hipotalamus, kemudian dialirkan menuju ke Peri Aqueduct Gray. Di Perifer, β -endorpin terdapat pada synaps sel syaraf, pada ujung terminal serabut saraf simpatis, dan pada mamalia di pleksus myenterikus.³³

B-endorpin dapat menghambat transmisi impuls nyeri, sehingga kehadirannya pada synaps sel saraf, akan mengakibatkan penurunan sensasi nyeri. Kadar β -endorpin yang terdapat dalam tubuh setiap orang dapat berbeda-beda. Dimana tubuh yang mampu melepaskan β -endorpin pada saat datangnya transmisi nyeri, akan kurang merasakan nyeri, dan ini berbeda pada tubuh yang gagal melepaskan β -endorpin.³²

Dalam keadaan β -endorpin yang tinggi akan mempunyai sifat mensupresi makrofag sehingga aktifitas makrofag menurun. Penurunan aktifitas makrofag akan berakibat pelepasan sitokin yang dilepaskan makrofag seperti TGF β -1 aktifitasnya juga ikut menurun dan ini akan berpengaruh akan menghambat secara langsung VEGF. VEGF yang menurun dapat dilihat dengan jumlah angiogenesis yang menurun. Sehingga angiogenesis yang menurun berakibat menghambat kesembuhan luka.³⁴

Dari tabel 5.1 pada kelompok tikus yang tidak mendapat perlakuan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% dapat dilihat, bahwa untuk nilai mean atau rata-rata

jumlah angiogenesisnya adalah rendah yaitu sebesar 5,222. Nilai angiogenesis terendah 3 dan nilai tertinggi 12, dengan jumlah tikus 9. Ini dapat ditarik kesimpulan bahwa dengan pemberian manipulasi atau rangsang nyeri yang sama akan didapat hasil angiogenesis dengan beda interval yang lebar ($12 - 5,222 = 6,778$). Ini berarti sesuai dengan daftar pustaka atau teori bahwa perbedaan yang nyata ini disebabkan karena pelepasan β -endorpin pada tubuh adalah berbeda – beda.

Dari tabel 5.1 pada kelompok tikus yang mendapat perlakuan dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% dapat dilihat bahwa untuk nilai mean angiogenesis atau rata-rata dengan nilai yang lebih tinggi yaitu 9,444. Dan interval nilai tertinggi dengan nilai rata-rata adalah $12 - 9,444 = 2,556$. Ini berarti dapat kita ambil suatu kesimpulan bahwa pada kelompok perlakuan ini dapat dikatakan tikus tidak merasakan nyeri, sehingga berakibat β -endorpin yang dilepaskan minimal. Dan ini dapat pula ditarik kesimpulan bahwa pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% dapat bekerja dengan memblok sensasi nyeri akut pada luka insisi.

Pada penelitian ini, peneliti bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% pada sekitar luka sepanjang 2 cm akan meningkatkan jumlah kuantitas angiogenesis. Dari tabel 5.2 pada penelitian ini menunjukkan bahwa kuantitas angiogenesis yang diambil dari jaringan sekitar luka insisi yang dipengaruhi oleh pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25%. Perbedaannya adalah bermakna dengan nilai $p = 0,007$ ($p < 0,05$). Ini berarti bahwa jumlah atau kuantitas angiogenesis pada kelompok perlakuan dengan pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% adalah lebih tinggi dibanding kelompok tanpa perlakuan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.

Setelah dilakukan pembahasan berdasarkan paradigma patofisiologi nyeri akut dan teori tentang kesembuhan luka, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

“ Dengan pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% pada sekitar luka insisi akan meningkatkan kuantitas angiogenesis, dimana hal ini disebabkan anestetik lokal levobupivakain 0,25% dapat menurunkan nyeri akut yang ditimbulkan akibat luka insisi, sehingga kuantitas angiogenesis yang meningkat, sehingga diharapkan suatu proses penyembuhan luka akan dapat lebih baik.

BAB VII

KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan :

1. Nyeri akut pasca insisi menurunkan kuantitas angiogenesis
2. Dengan pemberian infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% disekitar luka insisi menaikkan kuantitas angiogenesis.

BAB VIII.

S A R A N

Dikarenakan pembuktian tentang penyembuhan luka secara histologis atau jaringan tidak mungkin dilakukan pada kasus manusia disebabkan oleh karena etika penelitian pada manusia, maka dapat disarankan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25 % dengan menggunakan parameter sitokin lainnya yang berperan langsung terhadap proses kesembuhan luka.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh infiltrasi anestetik lokal levobupivakain 0,25% terhadap proses kesembuhan luka oleh berbagai faktor efek obat anestetik lokal yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cotran Ramzi S, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. W B Saunders Co. Philadelphia: 1999 ; 21-201
2. Constantinnides P. General pathobiology. 1st ed. Appleton and Lange. Norwalk connecticut: 1994 ; 173-186
3. 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>
4. Field H L. Pain. 1st ed. New York: Mc Graw Hill book Co 1987 ; 1-51
5. Devor M. Pain mechanism and pain syndrome. In : Champbell J N. Pain 1996 an update review. Seattl: IASP press; 1996 , 103-112
6. Cervero F. Mechanism of visceral pain, past and present. In : Gebhart G F. Ed. Visceral pain, progress in pain research and management. Vol 5. IASP press; Seattle: IASP press; 1995 , 469-488
7. 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
8. Rossenberg. P H, Renkonen O V. Antimicrobial activity of bupivacaine and morphine. Anesthesiology 1985 ; 62 : 178-9
9. Vintar N, Pozlep G, Rawal N, et all. Incisional self-administration of bupivacaine or ropivacaine provides effective analgesia after inguinal hernia repair. CJA 2002 ; 49: 481-6
10. Kresno Boedina S. Immunologi, diagnosis dan prosedur laboratorium. 4th ed. Jakarta: Balai penerbit FK UI, 2003 : 4-32
11. Wound healing. <http://www.orthoteers.co.uk/Nrujp-ij331m/orthwound.htm>
12. Unanue E R. In : Tizard Ian R. Immunology, an introduction. 4th ed. Philadelphia: Sauders college pub. Harcourt college. 1995 , 75-87
13. Hollmann , Markus W, Durieux E, Local anesthetics and the inflammatory response : A new therapeutic indication ?, Anesthesiology September 2000; 93 : 858-875

14. Fields H L, The peripheral pain sensory system. In : Pain 1st ed. New York. Mc Graw Hill Co. Inc; 1987 ;13-37
15. Raymond R G, William G B. Pain management. In : Morgans G E, Mikhail M S. eds. Clinical anesthesiology. 1st ed. New Jersey: Prentice hall int. Inc; 1992 , 269-273
16. Davis PA, Corless DJ, Aspinall R, Wastell C. Effect of CD4⁺ and CD8⁺ cell depletion on wound healing. Br J Surg. Feb 2001 ; 88: 298-304
17. Riberdy J M, Mostaghel E, Doyle C. Disruption of the CD4- major histocompatibility complex class II interaction blocks the development of CD4⁺ T cells in vivo, Immunology. April 1998 Vol 95 : 4493-4498
18. 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 , 80-88
19. Bonica J J. anatomic and physiologic basis of pain and nociception and pain. In : Bonica J J. ed. The management of pain. Pennsylvania. London: Lea and Febiger; 1990 ; 12-28
20. Churchill H C, Davidson. Pain clinical and operative nerve block. In : A practice of anesthesia. 5th ed. Singapore: PG pub. Pre. Ltd; 1986 , 893-900
21. Notosoedirjo M, Nyeri dan tatalaksana penanganannya. Disajikan dalam pertemuan klinik yang diselenggarakan oleh ikatan dokter ahli jiwa cabang Surabaya di Batu, Malang pada tanggal 8 – 9 juni 1996
22. Wasito R. Imunohistokimia. dalam : Pedoman kuliah imunohistopatologi dep Dikbud. Proyek pengembangan pusat fasilitas bersama antar universitas . PAU Bioteknologi – Universitas Gajah mada Yogyakarta. 1991 : 36-80
23. World Health Organization. Resarch guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. 1993 : 44
24. Sudigdo S, Sofyan I, Dasar dasar metoologi penelitian klinis edisi ke-2. Jakarta: Sagung seto; 2002, 247-249
25. B cells and T cells. <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/biologypages/b/#t-cells>

26. Roitt I. Essential immunology. 8th ed. Oxford: Blackwell science limited; 1994 , 152-161
27. Mulyata S. Paket penyuluhan kognitif dan senam prapersalinan pada primigravida mengurangi cemas dan nyeri persalinan, meningkatkan skor apgar bayi, serta mempercepat penyembuhan luka persalinan. Solo: UNS; 2002.
28. Whalen GF, Zetter BR : Angiogenesis in Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WL, editors: Wound healing : biochemical and clinical aspects. Philadelphia: 1993 : 122-143
29. Weithzhandler M, Bernfield MR : Proteoglycan glycoconjugates. in Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WL, editors: Wound healing : biochemical and clinical aspects, Philadelphia, 1993 : 155-160
30. Martin P. Wound healing aiming for perfect skin regeneration. Science 1997 ; 276-278
31. Cervero F. Mechanism of Visceral Pain, past and present. In: Gebhart GF, (ed). 1995: Visceral Pain, Progress in Pain research and Management, Seattle: IASP Press. Ch. 18. Pp. 469-488
32. Domeneghini C et al, 1997. Localization of regulatory Peptides in the GI tract of the striped Dolphin, *Stenella caerulealba* (Mammalia cecacca), An Immunohistochemicals Study. Eur. J. Histochem. 1997 41 (4): 285 - 300
33. Melzacks R & Wall P, 1984: the Gate-control Theory of Pain; In: Melzacks R & Wall P, 1984. the Challenge Of Pain; 1st ed. Penguin Education. 10: 223-239. 11:24-261