

**PERBANDINGAN KADAR IL-10 SERUM DENGAN DAN
TANPA INFILTRASI LEVOBUPIVAKAIN PADA NYERI
PASCA INSISI**

*COMPARISON OF IL-10 SERUM LEVEL WITH AND WITHOUT
LEVOBUPIVACAINE INFILTRATION POST INCISION PAIN*



Tesis

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

Mochamad Rofii

**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ANESTESIOLOGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
MARET
2006**

Tesis

**PERBANDINGAN KADAR IL-10 SERUM DENGAN DAN
TANPA INFILTRASI LEVOBUPIVAKAIN PADA NYERI
PASCA INSISI**

***COMPARISON OF IL-10 SERUM LEVEL WITH AND WITHOUT
LEVOBUPIVACAINE INFILTRATION POST INCISION PAIN***

Disusun oleh :

Mochamad Rofii

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 13 Maret 2006
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Hariyo Satoto, SpAn (K)
NIP. 140 098 999

dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, SpParK
NIP. 130 529 451

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Anestesiologi
Fakultas Kedokteran UNDIP**

**Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana UNDIP**

dr. Uripno Budiono, SpAn (K)
NIP. 140 098 893

Prof. dr. H. Soebowo, SpPA (K)
NIP. 130 352 549

PERNYATAAN

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

Semarang, 13 Maret 2006

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : **dr. Mochamad Rofii**
NIM Magister Ilmu Biomedik : G4A002065
NIM PPDS I : G3F002066
Tempat / Tanggal lahir : Grobogan, 18 Oktober 1967
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-laki
Alamat : Puspogiwang Dalam V Nomor 1 Semarang

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Siliwangi 2 Semarang , Jawa Tengah : Lulus tahun 1980
2. SMP Negeri 1 Semarang , Jawa Tengah : Lulus tahun 1983
3. SMA Negeri 1 Semarang , Jawa Tengah : Lulus tahun 1986
4. FK UNDIP Semarang , Jawa Tengah : Lulus tahun 1994
5. Spesialisasi Anestesiologi FK UNDIP Semarang , Jawa Tengah
6. Magister Ilmu Biomedik UNDIP Semarang , Jawa Tengah

C. Riwayat Pekerjaan

Tahun 1995 – 1998 : Dokter Puskesmas Gringsing 1, Kabupaten Batang
Jawa Tengah.
Tahun 1998 – 2006 : Balai Pendidikan dan Pelatihan Transportasi Darat Tegal
Badan Diklat Departemen Perhubungan.

D. Riwayat Keluarga

1. Nama orang tua Ayah : Abdul Manan (Almarhum)
Ibu : Yunani
2. Nama Istri : Silvia Libra Yusita
3. Nama Anak : Azalea Sagita Rofi (Tata)
Hasydam Mursyidan (Adam)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan tugas dalam rangka mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I di Bagian / SMF Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / Rumah Sakit Dr. Kariadi dan Program Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Tesis ini dibuat dalam rangka menyelesaikan pendidikan spesialisasi Anestesiologi dan magister Ilmu Biomedik yang kami tempuh. Adapun judul tesis adalah “ **Perbandingan kadar IL-10 serum dengan dan tanpa infiltrasi Levobupivakain pada nyeri pasca insisi** “. Dengan tesis ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pengetahuan tentang pengaruh infiltrasi Levobupivakain terhadap kadar IL-10 serum pada nyeri pasca insisi.

Pada kesempatan yang baik ini , ingin kami menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Prof. dr. Kabulrachman , SpKK(K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
2. **dr. Hariyo Satoto , SpAn(K)** selaku Kepala Bagian / SMF Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang sekaligus sebagai pembimbing I dalam tesis ini. Kami mengucapkan terima kasih karena telah memberikan semua petunjuk , bimbingan serta kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi dan Program Magister Ilmu Biomedik.

3. **dr. Uripno Budiono , SpAn(K)** selaku Ketua Program Studi Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan pada kami untuk menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi dan Program Magister Ilmu Biomedik.
4. **dr. Edi Dharmana , MSc , PhD , SpParK** selaku guru sekaligus pembimbing II dalam penelitian ini , atas segala waktu , tenaga dan bimbingan yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai , kami mengucapkan terima kasih.
5. **Prof. Dr. dr. I. Riwanto , SpB , KBD dan Prof. dr. MI. Widiastuti S , MKes , SpS(K) , PAK** , selaku pembimbing metodologi penelitian yang telah meluangkan waktu , tenaga dan pikiran dalam membantu penyelesaian tesis ini.
6. Kepada guru-guru kami , staf pengajar Bagian Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro : **Prof. dr. Soenarjo , SpAn KIC ; dr. H. Marwoto , SpAn KIC ; dr. H. Witjaksono , SpAn(K) , MKes ; dr. H. Abdul Lian Siregar , SpAn(K) ; dr. Ery Leksana , SpAn KIC ; dr. Heru Dwi Jatmiko , SpAn(K) ; dr. M. Sofyan Harahap , SpAn ; dr. Widya Istanto Nurcahyo , SpAn dan dr. Jati Listiyanto P , SpAn** yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan ilmu di bidang Anestesiologi kepada kami.
7. **Prof. Dr. dr. H. Soeharjo Hadisaputro , SpPD , KPTI** selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
8. **Prof. dr. H. Soebowo , SpPA(K)** selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
9. **Prof. Dr. dr. Tjahjono , SpPA(K) , FIAC** selaku pengelola Program Studi Magister Ilmu Biomedik Kelas Khusus PPDS I Program Pascasarjana Universitas

- Diponegoro, atas motivasi yang diberikan kepada kami untuk menyelesaikan studi ini.
10. Guru-guru Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang telah memberi pengetahuan dan bimbingan kepada kami serta memberikan motivasi selama mengikuti program pendidikan magister dan penyusunan tesis ini.
 11. **Dra. Dyah Ratna Budiani** , MSi staf pengajar Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNS Surakarta, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penyelesaian tesis ini.
 12. Semua rekan sejawat Residen Bagian Anestesiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro , karyawan karyawan Bagian Anestesiologi , karyawan karyawan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro serta staf yang telah membantu kami selama dalam penelitian sehingga penyusunan tesis ini dapat selesai , kami mengucapkan terima kasih.
 13. Karyawan karyawan Laboratorium Histologi , Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Laboratorium Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta dan Laboratorium PAU Universitas Gadjah Mada yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

Pada kesempatan ini pula dengan penuh kerendahan hati dan rasa cinta yang dalam, kami menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada **Ibu** kami, **Bapak** kami (Almarhum), **Papa dan Mama** kami, yang dengan penuh kesabaran dan

kasih sayang senantiasa memberikan semangat dan dorongan sehingga kami dapat menyelesaikan tesis ini.

Ucapan khusus dan rasa cinta yang paling dalam ingin saya sampaikan untuk istri saya tercinta **Silvia Libra Yusita** atas segala pengertian dan kesabaran serta cinta kasih, pengorbanan yang telah diberikan, memberi semangat moril maupun materiil dalam menyelesaikan studi ini. Khusus buat **Azalea Sagita Rofi (Tata) dan Hasydam Mursyidan (Adam)** yang papa sayangi, kalian berdua adalah semangat papa.

Kami menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami mengharapkan saran dan kritik untuk kesempurnaan tesis ini.

Akhir kata, kami mohon maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan, sengaja maupun tidak sengaja baik itu perkataan atau perbuatan yang kami lakukan selama kami menyelesaikan tesis ini.

Hormat kami,

dr. Mochamad Rofii

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan	iii
Riwayat Hidup	iv
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Grafik	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran	xv
Abstrak	xvi
<i>Abstract</i>	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang masalah	1
1.2. Rumusan masalah	2
1.3. Tujuan penelitian	3
1.3.1. Tujuan umum.....	3
1.3.2. Tujuan khusus.....	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Sitokin	4
2.2. IL - 10	6
2.3. Levobupivakain	10
2.4. Patofisiologi nyeri.....	11
2.4.1. Transduksi.....	11
2.4.2. Transmisi.....	12
2.4.3. Modulasi.....	13
2.4.4. Persepsi.....	13
2.5. Proses penyembuhan luka.....	14
2.5.1. Fase inflamasi.....	15

2.5.2. Fase proliferasi.....	16
2.5.3. Fase maturasi.....	18
2.6. Pengaruh pemakaian anestesi lokal pada penyembuhan luka.....	19
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	22
3.1. Kerangka teori	22
3.2. Kerangka konsep	23
3.3. Hipotesis	23
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	24
4.1. Rancangan penelitian	24
4.2. Sampel penelitian	25
4.3. Waktu dan lokasi penelitian	26
4.4. Variabel penelitian	26
4.4.1. Variabel bebas	26
4.4.2. Variabel tergantung	26
4.4.3. Definisi operasional.....	27
4.5. Bahan dan alat penelitian.....	27
4.5.1. Bahan penelitian.....	27
4.5.2. Alat untuk pengambilan serum.....	27
4.5.3. Persiapan sample.....	28
4.5.4. Persiapan reagen.....	28
4.5.5. Cara pemeriksaan kadar IL – 10 serum.....	29
4.5.6. Pembacaan hasil.....	30
4.6. Pelaksanaan penelitian.....	30
4.6.1. Cara perlakuan.....	30
4.7. Alur kerja.....	33
4.8. Analisis data.....	34
BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	35
5.1. Hasil penelitian.....	35
5.2. Analisis data.....	37
5.2.1. Uji homogenitas.....	37
5.2.2. Uji normalitas.....	37

5.2.3. Uji beda.....	38
BAB 6. PEMBAHASAN.....	39
6.1. Pembahasan.....	39
BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN.....	42
7.1. Simpulan.....	42
7.2. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka.....	19
Tabel 2. Hasil pengamatan rerata berat badan tikus.....	35
Tabel 3. Hasil pengamatan rerata \pm simpang baku kadar IL-10 serum (pg/ml).....	36
Tabel 4. Hasil pengamatan rerata \pm simpang baku berat badan tikus.....	37
Tabel 5 Hasil uji normalitas kadar IL-10 serum.....	37
Tabel 6. Hasil uji beda kadar IL-10 serum.....	38

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Kurva standard IL-10.....	30
Grafik 2. Kadar IL-10 serum(pg/ml).....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Cukur bulu tikus.....	54
Gambar 2. Infiltrasi levobupivakain.....	54
Gambar 3. Pembiusan tikus.....	55
Gambar 4. Penetasan larutan standart.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komisi Etika Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang- <i>' Ethical Clearence '</i>	46
Lampiran 2. Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK. Undip Formulir Pengajuan Etik Penelitian Pemanfaatan Hewan Percobaan Untuk Penelitian Kesehatan.....	47
Lampiran 3. Data-data SPSS.....	53

ABSTRAK
PERBANDINGAN KADAR IL-10 SERUM DENGAN DAN TANPA INFILTRASI
LEVOPUIVAKAIN PADA NYERI PASCA INSISI

Latar belakang : Nyeri insisi menyebabkan peningkatan hormon glukokortikoid yang memperlama penyembuhan luka. Transmisi nyeri dapat dihambat dengan infiltrasi Levobupivakain 0,25 %. Terapi ini akan mengurangi supresi imunitas seluler sehingga fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T tidak terhambat. Aktivasi sel T ini diduga akan meningkatkan kadar IL-10 serum.

Tujuan : Membandingkan kadar IL-10 serum dengan dan tanpa infiltrasi Levobupivakain 0,25 %.

Metode : Dilakukan penelitian eksperimental laboratorik dengan disain “*Randomized Post test only control group design*”, pada tigapuluh lima ekor tikus *Wistar*. Kelompok penelitian dibagi menjadi tiga kelompok secara acak. Kelompok kontrol (K) lima ekor tikus, kelompok Perlakuan 1 (P1) dan kelompok Perlakuan 2 (P2) masing-masing limabelas ekor tikus. Kelompok kontrol (K) tikus dibius, tanpa insisi dan tanpa infiltrasi lalu diperiksa kadar IL-10 serumnya pada hari pertama. Kelompok Perlakuan 1 (P1) tikus dibius lalu dilakukan insisi sepanjang 2 cm dipunggung kedalaman subkutis dan injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % disekitar luka. Kelompok Perlakuan 2 (P2) tikus dibius lalu dilakukan insisi sepanjang 2 cm dipunggung kedalaman subkutis dan infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % disekitar luka. Injeksi pada kelompok P1 dan infiltrasi pada kelompok P2 diulangi dua kali tiap 8 jam selama 24 jam. Kadar IL-10 serum kelompok P1 dan kelompok P2 diperiksa pada hari ke pertama, kedua dan ketiga. Dibandingkan kadar IL-10 serum antara ketiga kelompok. Analisis statistik dengan *program SPSS 10,0 for windows*.

Hasil : Dari hasil pengamatan rerata berat badan tikus pada ketiga kelompok berbeda tidak bermakna dengan $p = 0,874$ ($p > 0,05$). Kadar IL-10 serum pada kelompok K $0,13 \pm 0,02$ pg/ml, sedangkan kelompok perlakuan 1 (P1) hari pertama $0,16 \pm 0,12$ pg/ml ; hari kedua $0,16 \pm 0,06$ pg/ml dan hari ketiga $0,18 \pm 0,07$ pg/ml. Terjadi kenaikan sebesar 23 % pada hari pertama dan hari kedua serta 38 % pada hari ketiga pada kelompok perlakuan 1 (P1). Kadar IL-10 serum kelompok P2 pada hari pertama, kedua dan ketiga adalah $0,21 \pm 0,15$ pg/ml : $0,30 \pm 0,11$ pg/ml ; $0,29 \pm 0,13$ pg/ml. Terjadi kenaikan sebesar 61 % pada hari pertama, 130 % pada hari kedua dan 123 % pada hari ketiga. Data parameter klinis ketiga kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$). Kadar IL-10 serum pada ketiga kelompok berbeda bermakna dengan nilai $p < 0,000$ ($p < 0,05$). Kenaikan kadar IL-10 serum tertinggi adalah pada kelompok dengan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % pada hari kedua yaitu sebesar 130 %.

Kesimpulan : Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % disekitar luka insisi meningkatkan kadar IL-10 serum. Terjadi kenaikan sebesar 23 % pada hari pertama dan hari kedua serta 38 % pada hari ketiga pada kelompok perlakuan 1 (P1). Dan pada kelompok perlakuan 2 (P2) terjadi kenaikan sebesar 61 % pada hari pertama, 130 % pada hari kedua dan 123 % pada hari ketiga. Kenaikan kadar IL-10 serum tertinggi adalah pada kelompok infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % yang terjadi pada hari kedua yaitu sebesar 130 %.

Kata kunci: Kadar IL-10 serum, infiltrasi levobupivakain 0,25 % , nyeri insisi.

ABSTRACT
COMPARISON OF IL-10 SERUM LEVEL WITH AND WITHOUT LEVOBUPIVACAINE INFILTRATION POST INCISION PAIN

Background : Incision pain provokes the increase of glucocorticoid hormone that extends periode of the wound healing. Pain transmission will be inhibited by Levobupivacaine 0,25 % infiltration. This therapy will decrease the cellular immunity suppression so the macrophage function in helping the T cell activation are not inhibited. This cell activation will increase the IL-10 serum level.

Objective : To compare IL-10 serum level with and without Levobupivacaine 0,25 % infiltration post incision.

Methods : This laboratoric experimental study was designed with randomized post test only control group method on thirty five *Wistar* rats. The experimental group was devided randomly into three groups. The control group (K) contained 5 *Wistar* rats, group P1 and P2 contained 15 *Wistar* rats of each. In the group K, the rats were anesthesized without incision and without Levobupivacaine 0,25 % infiltration, the IL-10 serum level was examined on the day one. In the group P1, the rats were anesthesized followed with 2 cm subcutaneous depth incision and without Levobupivacaine 0,25 % injection. And in the group P2 , the rats were anesthesized followed by 2 cm subcutaneous depth incision and Levobupivacaine 0.25 % infiltration was administered. The reinfiltration on the group P1 and P2 was administered every 8 hour twice daily. IL-10 serum level was examined on the day 1, 2 and 3. And then compared among three group. The statistic datas were analysed with SPSS 10,0 for windows programme.

Results : The mean of rats body weight among three groups were not significantly different ($p = 0,874$). IL-10 serum level in the group K was $0,13 \pm 0,02$ pg/ml. The level of IL-10 serum in the group P1 on day one was $0,16 \pm 0,12$ pg/ml ; day two was $0,16 \pm 0,06$ pg/ml and day three was $0,18 \pm 0,07$ pg/ml. There were 23 % increased of IL-10 serum level on the day one and day two, 38 % on the day three in the group P1. The IL-10 serum level in group P2 on day one, two and three were $0,21 \pm 0,15$ pg/ml ; $0,30 \pm 0,11$ pg/ml ; $0,29 \pm 0,13$ pg/ml respectively. And in the group P2 there were 61 % increased of IL-10 serum level on the day one, 130 % on the day two and 123 % on the day three respectively. IL-10 serum level among three groups were significantly different with $p = 0,000$. The clinical parameter datas in the three groups were normaly distributed. The increase of IL-10 serum level was highest in group with Levobupivacaine 0,25 % infiltration on day two ($p < 0,05$ was considered significant).

Conclusions : Infiltration of Levobupivacaine 0,25 % is increased IL-10 serum level. There are 23 % increased of IL-10 serum level on the day one and day two, 38 % on the day three in the group P1. And in the group P2 there are 61 % increased of IL-10 serum level on the day one, 130 % on the day two and 123 % on the day three respectively. The highest IL-10 serum level is 130 % that achieve in group with Levobupivacaine 0,25 % infiltration on day two.

Keywords : IL-10 serum level, Levobupivacaine 0,25 % infiltration, incision pain.

BAB 1

PENDAHULUAN

1. 1. Latar belakang masalah

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

Terdapat faktor sistemik dan lokal yang mempengaruhi penyembuhan luka. Salah satu faktor sistemik yang berperan adalah hormon glukokortikoid (kortisol). Hormon ini mempunyai efek anti inflamasi, supresi netrofil, menghambat pembentukan fibroblas dan mengganggu sintesis kolagen¹. Elenkov dkk melaporkan bahwa glukokortikoid, katekolamin dan histamin akan menyebabkan supresi imunitas seluler dan imunitas humoral. Pembedahan menimbulkan respon stres berupa peningkatan sekresi hormon katabolik yaitu glukokortikoid, hipermetabolisme, aktifasi sistem otonom, peningkatan kerja jantung, rasa nyeri, gangguan terhadap paru, saluran cerna, gangguan sistem koagulasi, fibrinolitik dan imunosupresi^{4,5}.

Pedersen mengurangi respon stres pembedahan dengan teknik pembedahan non invasif, penggunaan analgetik opioid dan blok saraf. Cara ini mampu menurunkan katabolisme protein, gangguan paru, mengurangi pelepasan katekolamin, kortisol dan glukosa⁵. Bardram melaporkan teknik laparoskopi, anestesi ekstradural, nutrisi dini, mobilisasi dini, dan analgetik yang adekuat terbukti mampu mengurangi respon stres⁶.

Terjadinya proses penyembuhan luka tidak terlepas dari peran faktor pertumbuhan dan sitokin, salah satunya yaitu interleukin 10 (IL-10)^{1,2}. IL-10 adalah salah satu sitokin anti inflamasi yang berfungsi menghambat produksi beberapa jenis sitokin lain (TNF, IL-1, *chemokine*, dan IL-12) selain itu juga menghambat fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T. Hasil akhir dari aktivasi IL-10 adalah hambatan reaksi imun non spesifik maupun spesifik yang diperantarai oleh sel T. **Sato Y dkk** melaporkan bahwa kadar IL-10 mencapai puncak 3 jam setelah insisi kulit kemudian turun ke normal sampai 24 jam, dan meningkat lagi serta mencapai puncak kedua pada 72 jam^{6,7,8}.

Infiltrasi Bupivakain 0,25 % dosis tunggal dapat mengurangi nyeri selama 24 jam pasca operasi sehingga akan menurunkan sekresi hormon glukokortikoid⁸. Penggunaan konsentrasi 0,25 % lebih efektif dibandingkan 0,5 % namun berbeda tidak bermakna dengan konsentrasi 0,125 %^{9,10}. Penggunaan infiltrasi Bupivakain pada dosis berulang dengan menyisipkan kateter subkutan pada ujung luka terbukti efektif mengurangi nyeri, tanpa komplikasi infeksi dan inflamasi lokal^{10,11}.

1. 2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut

- Apakah infiltrasi Levobupivakain 0,25 % meningkatkan kadar IL-10 serum.

1. 3. Tujuan penelitian

1. 3. 1. Tujuan umum

- Membuktikan efek infiltrasi Levobupivakain 0,25 % terhadap peningkatan kadar IL-10 serum.

1. 3. 2. Tujuan khusus

- Mengukur kadar IL-10 serum kelompok kontrol pada hari pertama.
- Mengukur kadar IL-10 serum kelompok injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % dan kelompok infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % pada hari pertama, hari kedua dan hari ketiga pasca insisi.
- Menbandingkan kadar IL-10 serum kelompok kontrol, kelompok injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % dan kelompok infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25% pada hari pertama, hari kedua dan hari ketiga pasca insisi.

1. 4. Manfaat penelitian

- Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan teori untuk mengungkap mekanisme peningkatan kadar IL-10 serum akibat infiltrasi Levobupivakain 0,25 %.
- Sebagai landasan penelitian lebih lanjut tentang hubungan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % dengan proses penyembuhan luka.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Sitokin

Sitokin adalah polipeptida yang diproduksi sebagai respon terhadap mikroba dan antigen lain, yang berfungsi sebagai mediator pengatur respon imun dan reaksi inflamasi. Pada reaksi inflamasi banyak substansi serupa hormon yang dilepaskan oleh limfosit T dan B maupun oleh sel-sel lain, yang berfungsi sebagai sinyal interseluler yang mengatur respon inflamasi lokal maupun sistemik terhadap rangsang dari luar. Sitokin berperan dalam pengendalian hemopoiesis maupun limfopoiesis dan juga berfungsi dalam mengendalikan respon imun dan reaksi inflamasi dengan cara mengatur pertumbuhan, serta mobilitas dan diferensiasi leukosit maupun sel-sel lain⁷. Sifat-sifat umum sitokin :

1. Sekresi sitokin pada umumnya terjadi singkat dan membatasi diri, tidak pernah disimpan sebagai molekul yang *preformed* dan sintesis sitokin biasanya diawali dengan transkripsi gen yang terjadi akibat stimuli.

2. Setiap jenis sitokin biasanya diproduksi oleh lebih dari satu jenis sel, dan memberikan dampak yang berbeda pada berbagai sel sasaran dan sebaliknya sitokin memberikan dampak yang berbeda pada satu jenis sel sasaran yang sama.
3. Sitokin sering mempengaruhi sintesis dan aktifitas sitokin lainnya yang memungkinkan terjadinya suatu kaskade.
4. Aktifitas sitokin dapat lokal maupun sistemik. Sebagian besar beraksi dekat dengan tempat diproduksi.
5. Sitokin merupakan mediator respon imun yang sangat poten dan mampu berinteraksi dengan reseptor pada permukaan sel.

Karakteristik sitokin adalah :

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

9. Beraksi sebagai regulator pada beberapa sel target, seperti faktor-faktor pertumbuhan.
10. Respon sel akibat sitokin tergantung pada konsentrasi lokal sitokin, tipe sel dan sel regulator lainnya ⁷.

Beberapa sitokin dibuat terlebih dahulu (*presynthesized*) dan disimpan dalam granula sitoplasma, sehingga tersedia sitokin pada saat terjadi kerusakan atau perbaikan jaringan dengan cepat. Misalnya *transforming growth factor beta-1* (TGF- β 1) yang disimpan di granula alfa platelet dan dilepaskan dengan stimulasi trombin ⁷.

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

Reseptor-reseptor sitokin terkenal sebagai protein *transmembrane*. Daerah ekstrasel mengikat sitokin, dengan demikian sinyal ekstrasel terdeteksi dan daerah intrasel terjadi aktifitas enzimatik, mengikat molekul lain atau digunakan sebagai sistim *second messenger* ¹³. Respon sitokin akibat pembedahan yaitu inflamasi non-spesifik, respon imun spesifik, hematopoesis dan perbaikan jaringan.

2. 2. IL-10

IL-10 akhir-akhir ini diidentifikasi sebagai sitokin yang diproduksi oleh subpopulasi sel T yaitu sel T helper 2 yang menghambat sintesis sitokin imunostimulatori yang diproduksi oleh oleh sel T helper 1. *Human IL-10* diproduksi oleh sel B dan sel T,

sel mast yang teraktifasi, makrofag, monosit dan keratinosit. **Human IL-10** adalah protein yang terdiri dari 178 asam amino dengan berat molekul 17 kDa dengan dua ikatan N glikosilasi.

IL-10 mempunyai efek penghambatan yang besar terhadap monosit termasuk **downregulation** ekspresi antigen MHC kelas II, IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, GM-CSF, G-CSF dan produksi TNF α . IL-10 menunjukkan efek sinergisme dengan IL-2 dan IL-4 untuk meningkatkan proliferasi thimosit, IL-10 juga menunjukkan aksi dalam hubungannya dengan IL-3 dan IL-4 untuk memperpanjang daya tahan hidup *sel mast*.

Meskipun IL-10 memegang peranan yang penting dalam beberapa fenomena *in-vitro*, deteksi IL-10 secara *in-vivo* menggunakan **bioassay** atau **imunoassay** masih sulit dikerjakan. Pengobatan pada tikus dengan antibodi anti IL-10 menghasilkan deplesi reversibel Ly-1⁺ sel B, turunnya kadar serum IgM dan IgA serta melemahnya respon antibodi terhadap antigen hapten. Pada tikus ini juga menunjukkan meningkatnya kadar antibodi IgG_{2a} dan IgG_{2b} dalam sirkulasi dan TNF α . Berkurangnya lokus gen IL-10 pada tikus tidak ditunjukkan oleh efek-efek diatas, diduga kompleks imun memegang peranan dalam perubahan yang diamati pada tikus yang diterapi dengan anti IL-10. Produksi IL-10 dapat di rangsang dengan **mitogenic lectin** dan LPS (lipopolisakarida). Agen-agen yang menghambat produksi IL-10 antara lain IL-4 dan IFN γ .

Efek supresif IL-10 pada monosit dan sintesis sitokin oleh sel T helper 1 diduga karena IL-10 mempunyai efek supresi secara umum fungsi imun. IL-10 akhir-akhir ini digunakan pada penelitian preklinik untuk mengevaluasi potensinya sebagai immunosupresif pada berbagai penyakit seperti penyakit infeksi, transplantasi dan kanker. Sebagai tambahan IL-10 mungkin berguna untuk meningkatkan imunitas humoral yang

dimediasi oleh sel T helper 2. Seperti diketahui pada proses perkembangan penyakit, pasien yang terinfeksi HIV menunjukkan pergeseran sel T helper 1 ke sel T helper 2. Karena IL-10 adalah sitokin T helper 2 yang mempunyai efek *downregulation* terhadap respon sel T helper 1 maka mempunyai peran yang penting dalam pergeseran ini.

IL-10 adalah salah satu sitokin yang mempunyai struktur empat heliks domain globuler dan terikat pada reseptor sitokin tipe II. Diproduksi terutama oleh makrofag yang teraktifasi dan selanjutnya menghambat fungsi makrofag. Ini merupakan contoh mekanisme umpan balik negatif. Tidak jelas apakah stimulus lain dapat merangsang produksi IL-10 atau efektor sitokin lain seperti TNF, IL-12 serta stimulus yang sama akan menekan produksi dari sitokin-sitokin tadi dengan cara yang berbeda. Limfosit T juga mensekresi IL-10 yang diproduksi oleh sel non-limfosit seperti Keratinosit^{7, 12}.

IL-10 merupakan sitokin yang diproduksi oleh karena aktivasi makrofag dan sel-sel T helper. Fungsi utama IL-10 adalah menghambat aktifitas makrofag dan memainkan peran penting dalam homeostasis yang diperantarai oleh sel-sel imun^{7, 12}.

Aksi biologi IL-10 menurut Abul K Abbas :

1. Menghambat produksi IL-12 dan TNF dengan cara mengaktifasi makrofag. Mekanisme hambatan ini tidak jelas.
2. IL-10 menghambat kostimulator dan MHC kelas II pada makrofag. Karena aksi ini maka terjadi inhibisi aktivasi limfosit T dan akan mengakhiri reaksi imunitas seluler.
3. Pada kultur, IL-10 merangsang proliferasi dari limfosit B. Mekanisme rangsangan ini juga belum diketahui.

Penelitian pada mencit membuktikan bahwa dua subpopulasi limfosit T, yaitu Th1 dan Th2 dapat dibedakan dari satu dengan yang lain karena jenis sitokin yang dihasilkannya berbeda. Setelah diaktifasi, sel Th1 akan mensekresi IL-2 dan IFN- γ , sedangkan Th2 memproduksi IL-4 dan IL-5. IFN- γ terbukti menghambat respon Th2 dan akhir-akhir ini telah ditemukan suatu produk dari Th2 yang memiliki kemampuan untuk menghambat produksi sitokin oleh sel Th1. Substansi ini kemudian diisolasi dan diberi nama IL-10. Substansi ini hanya dijumpai pada sel Th2 dan hampir tidak terdapat pada sel Th1 ⁷.

IL-10 dapat bekerja sama dengan sitokin lain untuk merangsang proliferasi. Dua fungsi utama IL-10 adalah menghambat produksi beberapa jenis sitokin lain (TNF, IL-1, *chemokine*, dan IL-12), dan menghambat fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T. Hambatan fungsi makrofag terjadi karena IL-10 menekan ekspresi molekul MHC kelas II pada makrofag dan mengurangi ekspresi ko-stimulator (antara lain B7-1 dan B7-2) sel B dan sel mastosit pada mukosa. IL-10 bersama-sama dengan TGF- β meningkatkan produksi IgA oleh sel B. Yang menarik adalah homologi sebanyak 70% dengan gen BCRF1 dari virus Epstein barr. Implikasinya pada virus adalah kemampuan produk BCRF1 untuk menekan produksi IFN- γ dan menekan aktifitas makrofag bersamaan dengan kemampuan virus untuk meningkatkan survival dan pertumbuhan sel B yang merupakan hal penting untuk kehidupan virus ⁷.

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

infiltrasi neutrofil dan makrofag⁸. Dampak akhir dari aktivasi IL-10 adalah hambatan reaksi inflamasi non spesifik maupun spesifik yang diperantarai oleh sel T, karena itu IL-10 juga disebut *cytokine synthesis inhibitory factor* dan sitokin anti inflamasi⁷.

Sato Y et al, mengemukakan bahwa kadar IL-10 mencapai puncak pada 3 jam setelah insisi kulit tikus, lalu menurun normal sampai 24 jam, dan meningkat lagi serta mencapai puncak kedua pada 72 jam⁸.

2. 3. Levobupivakain 0,25 %

Levobupivakain 0,25 % adalah obat anestetik lokal golongan amida (CONH-) dengan atom karbon asimetrik dan isomer Levo (-). Levobupivakain 0,25 % memiliki pKa 8,1. Peningkatan pH akan meningkatkan molekul basa bebas yang akan melintasi membran akson dengan mudah dan beraksi lebih cepat. Sebaliknya pada pH rendah hanya sedikit molekul basa bebas yang melintasi membran akson sehingga aksi farmakologis lebih lambat misalnya pada infeksi lokal. Ikatan dengan protein lebih dari 97 % terutama pada asam α 1 glikoprotein dibandingkan pada albumin. Pada pasien hipoproteinemi, sindrom nefrotik, kurang kalori protein, bayi baru lahir dengan sedikit kadar protein, menyebabkan kadar obat bebas dalam plasma tinggi sehingga efek toksik terlihat pada dosis rendah^{13,14}. Metabolisme obat terjadi di hepar oleh enzim sitokrom P 450. Bersihan obat dalam plasma akan menurun bila terjadi gangguan fungsi hepar¹⁵.

Mekanisme aksi Levobupivakain 0,25 % sama dengan Bupivakain atau obat anestetik lokal lain. Apabila *minimum local analgesic concentration* (MLAC) tercapai, obat akan melingkupi membran akson, menutup kanal natrium dan berakibat hambatan permeabilitas kanal natrium, sehingga tidak tercapai ambang aksi potensial dan menghambat depolarisasi. Terjadilah hambatan transmisi impuls saraf ^{15,17}. Levobupivakain 0,25 % menimbulkan depresi jantung lebih sedikit dibandingkan Bupivakain dan Ropivakain. Gejala toksisitas sistem saraf pusat pada Bupivacain terjadi pada dosis yang lebih rendah dibandingkan Levobupivakain ¹⁵.

Levobupivakain dapat digunakan untuk epidural, blok subaraknoid, blok saraf perifer, infiltrasi lokal, analgesi obstetri dan untuk pengelolaan nyeri setelah operasi. Dosis tunggal maksimum yang digunakan adalah 2 mg / kg BB dan 5,7 mg / kg BB (400 mg) dalam 24 jam ^{14, 15}. Dosis infiltrasi maksimal adalah 175 mg dalam dosis tunggal. Efek samping obat diantaranya hipotensi, bradikardi, mual, muntah, gatal, nyeri kepala, pusing, telinga berdenging, gangguan buang air besar dan kejang ¹⁵.

2. 4. Patofisiologi nyeri

Nyeri merupakan gejala umum dari penyakit, bersifat subyektif dengan gejala psikologis bervariasi. Nyeri merupakan suatu pengalaman hidup kompleks, menyatu dengan emosi dan pikiran yang berproses menghasilkan pengalaman nyeri ¹⁶. Nyeri merupakan sensasi tidak nyaman ¹⁷, pengalaman sensorik dan emosional tidak menyenangkan akibat terjadinya kerusakan jaringan ¹⁸.

Luka insisi menimbulkan nyeri akibat adanya kerusakan jaringan. Terjadi proses inflamasi yang terlokalisir, serta hilang bila inflamasi jaringan sembuh. Nyeri merupakan

reaksi sensoris sistem nosiseptif mendadak dan merupakan sinyal mekanisme pertahanan tubuh²¹. Kerusakan di jaringan kulit atau jaringan perifer menyebabkan terlepasnya mediator kimiawi dan mensensitisasi nosiseptor sehingga terjadi penurunan nilai ambang nyeri. Mediator kimiawi seperti bradikinin dan substansi P turut mempengaruhi dalam proses terjadinya impuls nosiseptif¹⁹.

Tahap proses terjadinya nyeri adalah sebagai berikut :

2. 4. 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 lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler lokal. Stimulasi dan sensitisasi terus menerus menyebabkan hiperalgesia, alodina dan akan berakhir sesudah terjadi penyembuhan. *Lekotrien D4* melepas substansi P sedangkan lekosit *polymorphonuclear* (PMN) melepaskan *lekotrien B4*. Keduanya berperan dalam sensitisasi nosiseptor. Pada inflamasi, sistem imun akan melepaskan sitokin proinflamasi antara lain : IL-1 β , IL-6, TNF- α dan IFN- γ yang selanjutnya akan berinteraksi dengan saraf perifer melalui mediator. *Platelet* dan *sel mast* melepas serotonin yang langsung mengaktifkan atau mensensitisasi nosiseptor dan menimbulkan hiperalgesia. Proses transduksi dapat dihambat oleh obat anti inflamasi non steroid^{17, 18, 19}.

2. 4. 2. Transmisi

Impuls akan ditransmisi oleh serabut aferen primer nosiseptif lewat radiks posterior menuju kornu posterior medula spinalis. Serabut perifer terdiri dari serabut sensorik, motorik somatik dan motorik otonomik. Serabut aferen primer nosiseptif khusus yang menghantarkan impuls nosiseptif terdapat di kulit, periosteum, sendi, ligamen, otot dan visera. Serabut yang menghantarkan impuls nosiseptif hanya serabut A dan C yang tidak bermielin atau bermielin halus. Stimulus yang dapat direspon adalah stimulus mekanik, mekanotermal dan polimodal. Impuls dari serabut aferen primer melewati radiks posterior menuju medula spinalis pada berbagai tingkat dan membentuk badan sel dalam ganglia radiks posterior. Serabut aferen primer ini berakhir pada lamina I, substansia gelatinosa (lamina II, III), lamina V dan lamina IV. Selanjutnya impuls ditransmisi ke neuron sekunder dan masuk ke traktus spinotalamikus lateralis. Kornu posterior berfungsi sebagai jalur masuk desendens dari otak untuk melakukan modulasi impuls dari perifer. Impuls selanjutnya disalurkan ke daerah somatosensorik di korteks serebri. Proses transmisi ini dapat dihambat oleh obat anestesi lokal ^{18, 19}.

2. 4. 3. Modulasi

Impuls setelah mencapai kornu posterior medula spinalis, akan mengalami penyaringan intensitas oleh sistem pengendali modulasi. Sistem pengendali modulasi ini adalah sistem gerbang kendali spinal atau *the gate control theory of pain*. Apabila impuls melebihi ambang maka akan melewati sistem kendali gerbang spinal dan selanjutnya diteruskan ke pusat supraspinal di korteks somatosensoris. Substansi yang bekerja

sebagai modulator penghambat nyeri di medula spinalis yaitu dinorfin, enkefalin, noradrenalin, dopamin, serotonin dan *gamma amino butyric acid* (GABA). Sedangkan substansi yang meningkatkan nyeri yaitu substansi P, *adenosin triphosphate* (ATP) dan asam amino eksitatori^{17,18,19}.

2. 4. 4. Persepsi

Hasil proses integrasi pada pusat kognisi, afeksi dan impuls nyeri yang dirasakan oleh individu dan bagaimana cara individu menghadapinya akan menimbulkan persepsi nyeri^{17, 18, 19}.

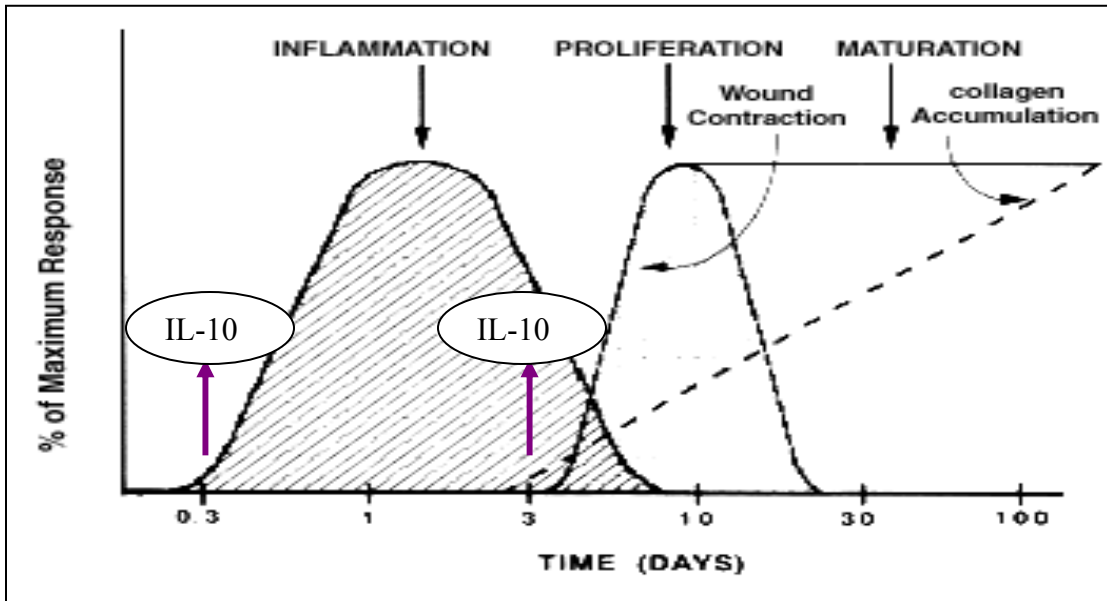
Nyeri sebagai mekanisme protektif bersifat subyektif dalam derajat, kualitas nyeri, individu dan periode²⁰. Pengelolaan nyeri yang tidak adekuat akan berakibat penurunan gerak pernapasan, penurunan kemampuan batuk, ketakutan mobilisasi, kecemasan dan peningkatan pelepasan katekolamin. Katekolamin yang tinggi akan berefek terutama terhadap pemanjangan fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortikoid dan resistensi insulin²¹.

2. 5. Proses penyembuhan luka

Sitokin bersama faktor pertumbuhan seperti *platelet derived growth factor* (PDGF) dan *fibroblast growth factor* (FGF) aktif berperan dalam melaksanakan proses penyembuhan. Beberapa macam sitokin yang 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, fibroblas, plasenta, tulang dan ginjal segera melepas dimer biologis aktif dari komponen molekul laten. TGF- β juga menstimulasi kemotaksis fibroblas,

inhibisi produksi kolagen dan fibronektin, menghambat degradasi kolagen karena peningkatan atau penurunan inhibitor protease. Pada inflamasi kronis TGF- β terlibat dalam pertumbuhan fibrosis^{1,2,7}.

Pada deposisi matrik ekstraseluler sintesis kolagen diperbanyak oleh faktor pertumbuhan, sitokin (PDGF, FGF, TGF- β dan IL-1, IL-4) dan *immunoglobulin G1* (IgG1) yang diproduksi oleh leukosit dan limfosit pada saat sintesis kolagen. Pada proses remodeling jaringan faktor pertumbuhan seperti PDGF, FGF, TGF- β 1 dan IL-1 akan menstimulasi sintesis kolagen serta memodulasi sintesis dan aktivasi *metaloproteinase*, suatu enzim yang berfungsi untuk degradasi komponen *extra cellular matrix* (ECM). Hasil sintesis dan degradasi ECM merupakan remodeling kerangka jaringan ikat. Struktur ini merupakan gambaran pokok penyembuhan luka pada inflamasi kronis. Proses degradasi kolagen dan protein ECM lain dilaksanakan oleh *metaloproteinase* yang terdiri atas kolagenase dan gelatinase yang diproduksi oleh fibroblas, makrofag, neutrofil, sel sinovial dan sel epitel. Untuk melepaskan perlu stimulus tertentu yaitu PDGF, FGF, IL-1, TNF- α , fagosit dan stres fisik^{1,3}. Proses penyembuhan luka dapat dibedakan menjadi 3 fase yaitu : fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi, seperti terlihat pada gambar 1.



Gambar 1 : Skema fase penyembuhan luka.

2. 5. 1. Fase inflamasi

Fase inflamasi terjadi pada hari ke 0 – 5. Kerusakan sel akan memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat dengan pembuluh darah. Reaksi ini berguna sebagai mekanisme proteksi terhadap jaringan yang mengalami kerusakan agar tidak mengalami infeksi dan meluas tak terkendali. Proses inflamasi sangat erat berhubungan dengan penyembuhan luka. Inflamasi dan penyembuhan luka cenderung menimbulkan nyeri. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan dan luka akan tetap menjadi sumber nyeri¹. Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadi luka. Luka mengakibatkan kerusakan struktur jaringan dan perdarahan. Darah akan mengisi jaringan cedera dan terjadi degranulasi trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Terjadi pengaktifan komplemen kinin, kaskade pembekuan dan

pembentukan plasmin. Keadaan ini memperkuat sinyal dari daerah yang terluka, dan hal ini tidak saja mengaktifkan pembentukan bekuan yang menyatukan tepi luka tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan akan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas dari pembuluh darah. Hal ini menyebabkan edema dan menimbulkan pembengkakan dan nyeri. Sel PMN terutama netrofil adalah sel pertama yang menuju ke daerah luka. Jumlahnya meningkat cepat dan mencapai puncak pada 24–48 jam. Netrofil akan melakukan fagositosis dan mencerna organisme patologis dan sisa jaringan^{3,7}.

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

2. 5. 2. Fase proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3 – 14. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi, bersamaan dengan timbulnya kapiler baru yang tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronektin dan asam hialuronik. Fibroblas muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblas pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Fibroblas ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural. Fibroblas juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, yang merupakan unsur utama matriks ekstraseluler dan berguna untuk membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Proses proliferasi fibroblas dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia^{1,3}.

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 sel endotelial pembuluh darah mulai bermigrasi sebagai respon stimulasi angiogenik. Proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi. Sitokin merupakan stimulan potensial pada neovaskularisasi, termasuk *acidic fibroblast growth factor* (a-FGF), TGF- β dan *epidermal* FGF (e-FGF)^{1,3,7}.

Pada permukaan luka juga terjadi pembentukan epitel beberapa jam setelah luka. Sel epitel tumbuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Ikatan sel basal dari dermis di dekatnya menjadi longgar. Sel basal membesar dan bermigrasi ke permukaan luka. Sel basal membelah cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel berubah bentuk menjadi lebih kolumnar dan meningkat aktifitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna terjadi kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. Stimulator reepitelisasi ini belum diketahui secara lengkap^{1, 3, 7}.

2. 5. 3. Fase maturasi

Fase ini berlangsung dari hari ke 7 sampai dengan 1 tahun. Segera setelah matriks ekstrasel terbentuk dimulailah reorganisasi. Pada mulanya matriks ekstrasel kaya akan fibronectin. Terjadi migrasi dan pertumbuhan sel ke dalam, penumpukan kolagen oleh fibroblas. Terbentuk asam hialuronidase dan proteoglikan dengan berat molekul besar yang berperan dalam pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matriks. Serabut kolagen pada permulaan terdistribusi acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi bundel fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Sesudah 5 hari periode jeda, dimana saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks yang sebagian besar tersusun dari fibronectin dan asam hialuronidase, terjadi peningkatan cepat dari kekuatan tahanan luka karena fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Bagaimanapun, kekuatan akhir luka tetap lebih lemah dibanding dengan kulit utuh, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh^{1,3}.

Pengembalian kekuatan tegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus menerus, remodeling serabut kolagen membentuk bundel kolagen lebih

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

Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka

Fase	Sel-sel yang berperan
Proses koagulasi	Platelet
Inflamasi	Platelet Neutrofil Makrofag
Migrasi / proliferasi / granulasi	<i>Limfosit</i> Fibroblas Sel epithelial Sel endotel
Maturasi / remodeling	Fibroblas

2. 6. Pengaruh pemakaian anestetik lokal pada penyembuhan luka

Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % dapat mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri. Infiltrasi Bupivakain 0,25 % dosis tunggal di sekitar luka insisi dapat mengurangi nyeri pada pasien yang menjalani seksio sesaria 24 jam pasca operasi⁶. Infiltrasi Bupivakain 0,25 % dosis tunggal di sekitar luka telah

terbukti mampu mengurangi nyeri pasca operasi dan mengurangi kebutuhan analgetik opioid. Penggunaan konsentrasi 0,25 % lebih efektif dibandingkan 0,5 %, namun berbeda tidak bermakna dengan 0,125 %^{29,30}. Penggunaan infiltrasi Bupivakain pada dosis berulang dengan menyisipkan kateter epidural di bawah luka, efektif mengurangi nyeri, tanpa komplikasi infeksi, inflamasi lokal dan efek samping mual muntah⁹.

Nyeri secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun lewat peptida hipotalamus, pituitaria dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis. Substansi yang merupakan penghubung antara kedua sistem (otak dan sistem imun) adalah *Corticotropine Releasing Hormone* (CRH), *Adreno Corticotropine Hormone* (ACTH), β -endorfin, substansi P, dan lain-lain. Otak memberikan respon terhadap stres dengan melepas CRH yang dilakukan oleh *Paraventricularis Nucleus* (PVN), dan diperkirakan berperan sebagai mediator primer dari beberapa perubahan yang diinduksi nyeri. Perubahan tersebut termasuk aktivasi *hypophyse pituitary axis* (HPA) dan aksis *sympathetic adrenal medulary* (SAM). Pada nyeri hebat sinyal berjalan melewati aksis HPA, menimbulkan disregulasi sistem imun sehingga terjadi penurunan ketahanan tubuh. Sinyal tersebut juga melewati aksis (SAM), menimbulkan gejala patofisiologis berupa respon otonom, yaitu suatu respon biologis yang diekspresikan dalam bentuk peningkatan tekanan darah, nadi, respirasi, keringat dingin dan spasme otot. Respon ini disebut sebagai respon darurat^{1,2}.

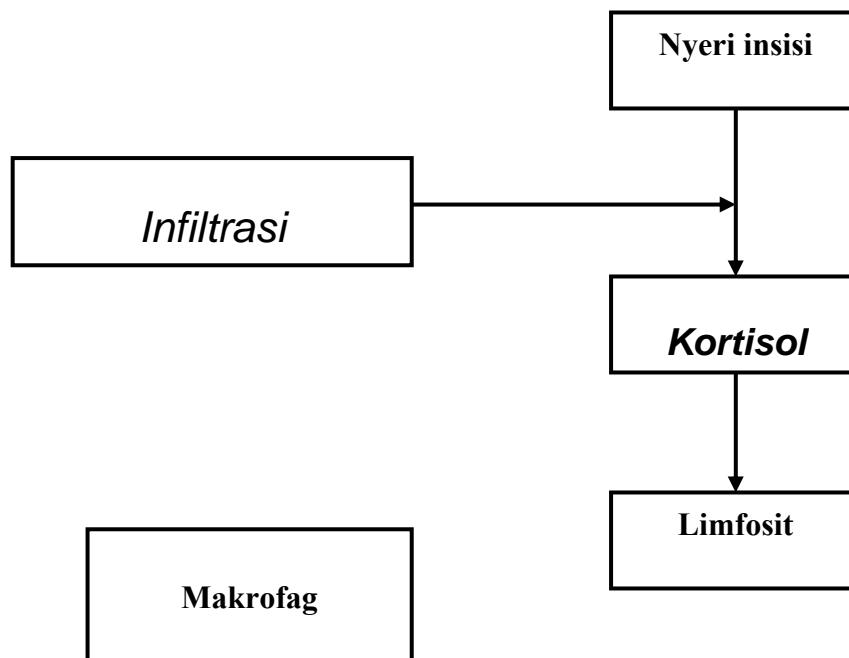
Impuls nyeri yang dihambat oleh anestetik lokal pada jalur transmisi bersifat lebih terkendali serta tidak bersifat darurat. Otak akan memproyeksikan impuls ini dan memberikan sinyal ke hipokampus, amigdala dan hipotalamus. Dalam sel PVN hipotalamus terjadi aktivasi dan berespon dengan melepaskan CRH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

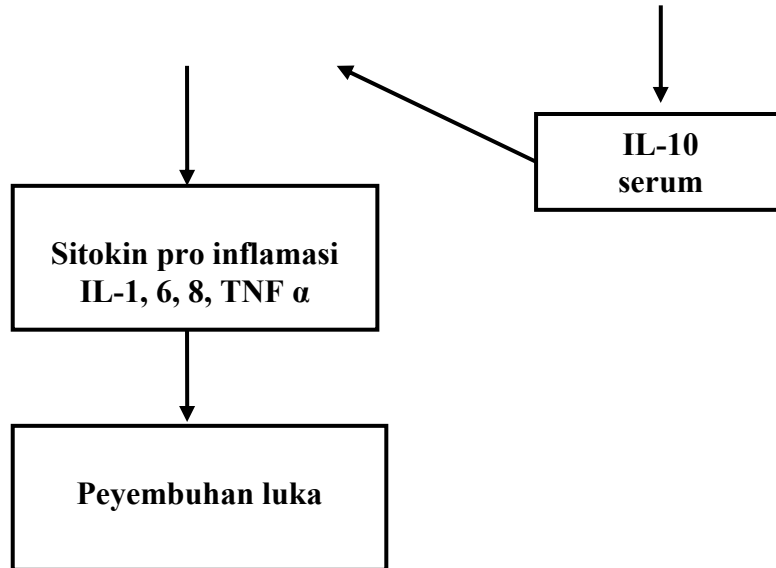
darurat. Selanjutnya CRH mengaktifkan kelenjar pituitari untuk melepaskan ACTH dan β -endorfin masuk ke sirkulasi darah. Hormon CRH melalui serabut preganglioner simpatis mengaktifkan medula adrenal untuk melepaskan katekolamin dalam kadar normal sehingga tidak menimbulkan respon stres berlebihan. Hormon ACTH sampai ke adrenal, mengaktifkan korteks adrenal dan melepaskan glukokortikoid (kortisol) dalam dosis tidak tinggi. Kadar kortisol yang tidak tinggi tersebut tidak lagi menimbulkan supresi atau inhibisi tetapi berubah menimbulkan stimulasi atau eksitasi^{1,31}. ***Cluster of Differentiation 4⁺*** (CD4⁺) akan terstimulasi oleh kortisol menjadi lebih banyak dan aktif, begitu pula ***T helper*** (Th1 dan Th 2) semuanya menjadi lebih aktif. Peningkatan aktivitas sel B dibantu juga oleh Th 2 yang mendapat stimulasi dari Th 1 karena Th 2 mengandung IL-2R dan berkaitan dengan IL-2 yang disekresi oleh Th 1. Jumlah dan aktifitas IFN- γ yang disekresi Th 1 juga meningkat, sitokin ini bekerja dalam sel B dan aktif menginduksi perubahan ***imunoglobulin*** (Ig) menjadi ***imunoglobulin G1*** (IgG1), suatu isotipe Ig yang berikatan erat dengan reseptor dari permukaan makrofag, sehingga dapat bekerja sebagai opsonin yang poten^{1,7}. Pada saat yang sama makrofag aktif melepaskan beberapa sitokin untuk pertahanan tubuh dan penyembuhan jaringan yang rusak⁷.

BAB 3

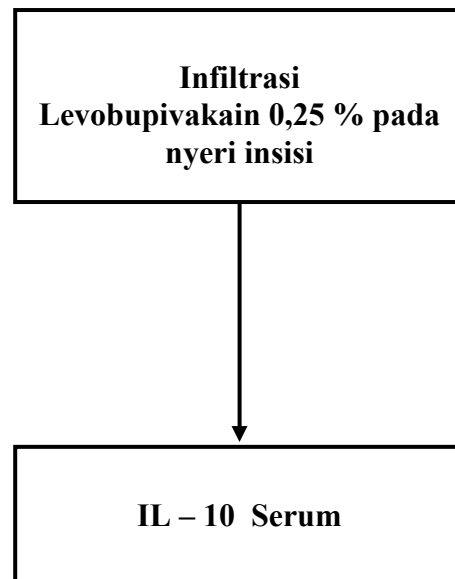
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3. 1. Kerangka teori





3. 2. Kerangka konsep



3. 3. Hipotesis

- Kadar IL-10 serum kelompok infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % lebih tinggi dibandingkan kelompok injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 %.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4. 1. Rancangan penelitian

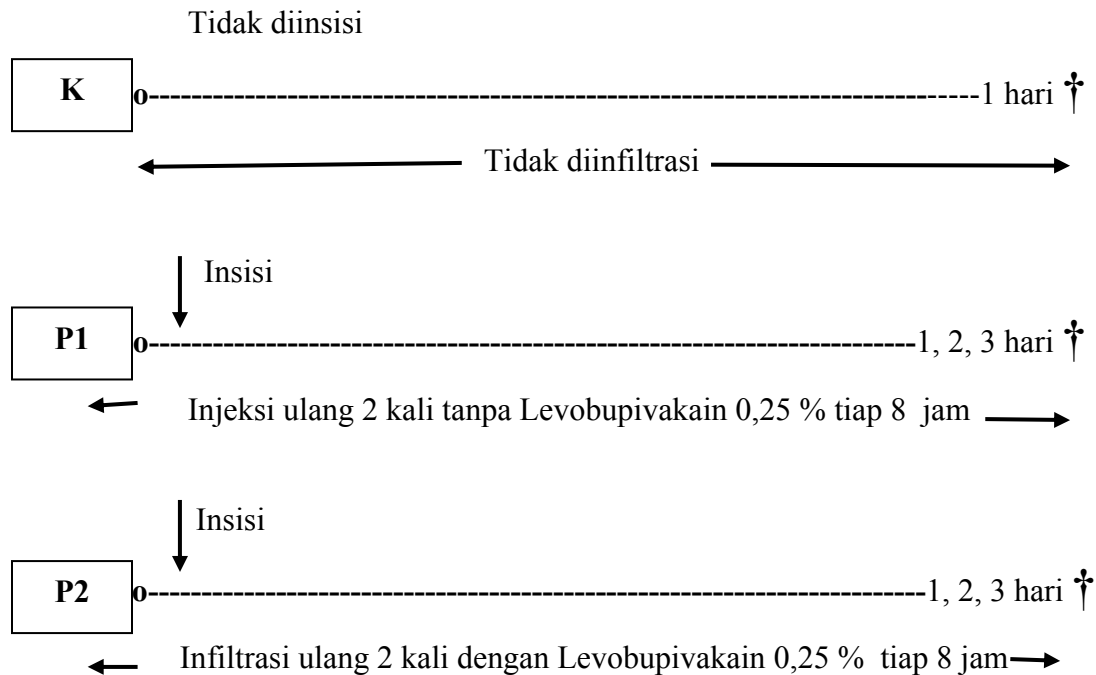
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan disain “*Randomized Post test only control group design*”. Kelompok penelitian dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol (K) ada 5 ekor tikus, kelompok perlakuan 1 (P1) ada

15 tikus dibagi lagi menjadi 3 kelompok (masing-masing 5 ekor tikus tiap kelompok untuk pemeriksaan pada hari pertama sampai hari ketiga) dan kelompok perlakuan 2 (P2) ada 15 ekor tikus dibagi juga menjadi 3 kelompok (masing-masing 5 ekor tikus tiap kelompok untuk pemeriksaan hari pertama sampai hari ketiga). Jumlah total tikus yang digunakan ada 35 ekor tikus. Penjelasan nya adalah sebagai berikut :

- K (kelompok kontrol) ada 5 ekor tikus yang tidak dilakukan insisi dan tidak diinfiltrasi kemudian dibius dan diambil darahnya pada hari pertama. Setelah diambil darahnya tikus dibius lagi dengan ether sampai mati.
- P1 (kelompok perlakuan 1) ada 15 ekor yang terdiri dari 3 kelompok masing-masing kelompok 5 ekor untuk pemeriksaan pada hari pertama, kedua dan ketiga. Sebelum perlakuan tikus dibius dengan ether kemudian dilakukan insisi dipunggung sepanjang 2 cm kedalaman subkutis dan diinjeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % disekitar luka. Dilakukan injeksi ulang 2 kali tanpa Levobupivakain 0,25 % setiap 8 jam selama sehari. Darah diambil pada hari pertama sampai hari ketiga. Setelah diambil darahnya tikus dibius lagi dengan ether sampai mati.
- P2 (kelompok perlakuan 2) ada 15 ekor tikus yang terdiri dari 3 kelompok masing-masing kelompok 5 ekor untuk pemeriksaan pada hari pertama, kedua dan ketiga. Sebelum perlakuan tikus dibius dengan ether kemudian yang dilakukan insisi dipunggung sepanjang 2 cm kedalaman subkutis dan diinfiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % disekitar luka. Dilakukan infiltrasi ulang 2 kali dengan Levobupivakain 0,25 % setiap 8 jam selama sehari. Darah

diambil pada hari pertama sampai hari ketiga. Setelah tikus diambil darahnya lalu dibius lagi dengan ether sampai mati

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



4. 2. Sampel penelitian

Hewan coba adalah tikus betina jenis *Wistar* yang diperoleh dari

Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas

Muhammadiyah Surakarta.

Kriteria inklusi :

- Tikus *Wistar* betina.
- Keturunan murni.

- Umur 2 - 2,5 bulan.
- Berat badan 250 - 300 gram.
- Tidak ada abnormalitas anatomis.

Kriteria eksklusi :

- Sakit (gerakan tidak aktif) selama masa adaptasi.
- Mati selama masa adaptasi.
- Sakit selama masa perlakuan.
- Mati selama masa perlakuan.

Besar sampel menurut rumus WHO tiap kelompok minimal 5 ekor tikus. Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah 35 ekor tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok²². Randomisasi dilakukan dengan menggunakan tabel random menjadi tiga kelompok yaitu:

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

4. 3. Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 6 (enam) bulan. Perlakuan pada tikus, proses pengambilan darah / serum dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Dan untuk pembacaan hasil dilakukan di Laboratorium PAU (Pusat Antar Universitas) Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4. 4. Variabel penelitian

4. 4. 1. Variabel bebas

- Infiltrasi Levobupivakain 0,25 %.

4. 4. 2. Variabel tergantung

- Kadar IL-10 serum.

4. 4. 3. Definisi operasional

1. Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % adalah pemberian suntikan obat anestesi lokal yang mempunyai masa kerja panjang berupa larutan 0,5 % **Chirokain** yang diencerkan menjadi larutan 0,25 % (diambahkan **aqua proinjeksi** dalam jumlah yang sama) di sekitar luka \pm 0,5 cm dari tepi luka dengan spuit tuberkulin sepanjang luka insisi sampai kedalaman sub kutis. Dilakukan jahitan sebanyak 5 jahitan sederhana setiap \pm 0,5 cm untuk menghilangkan celah antar luka.
2. Kadar IL-10 serum adalah kadar IL-10 dalam serum yang ditegakkan dengan metode **solid phase ELISA** dan dinyatakan dengan satuan pg/ml.

4. 5. Bahan dan alat penelitian

4. 5. 1. Bahan penelitian

- Tikus **Wistar** betina.
- Keturunan murni.
- Umur 2 sampai 2,5 bulan.

- Berat badan antara 250-300 gram.
- Tidak ada abnormalitas anatomis.

4. 5. 2. Alat untuk pengambilan serum

- a) Pipet dengan ujung yang *disposable* dengan ukuran 50 μ l, 100 μ l dan 1,00 ml.
- b) Tabung tes *disposable* dari bahan *polypropylene*.
- c) Silinder pengukur 2 L.
- d) Air yang didistilasi atau dideiodnisasi.
- e) *Centrifuge*.
- f) *Plate reader* yang mampu untuk membaca pada 450 nm.

4. 5. 3. Persiapan sampel

- Serum atau plasma yang akan diperiksa dalam waktu 24 jam harus disimpan pada suhu 2-8 derajat Celcius.
- Spesimen yang akan diperiksa dalam waktu lebih lama harus disimpan dalam *frozen* atau *freezer* pada suhu -70 derajat Celcius untuk mencegah hilangnya aktifitas biologi sitokin.
- Hindarkan menyimpan atau mencairkan sampel lebih dari sekali.
- Sampel harus diperiksa menggunakan salinan 50 μ l sampel tiap sumur.

4. 5. 4. Persiapan reagen

- a). Buffer konsentrat pencuci

Siapkan larutan buffer pencuci yang telah diencerkan 30 kali untuk mendapatkan 1.500 ml larutan pencuci dan simpan pada suhu 2-8 derajat Celcius.

b). Larutan buffer ***streptavidin-HRP***

Siapkan larutan ***streptavidin-HRP*** 15 menit sebelum digunakan. Larutan ini berfungsi untuk memisahkan material ke bagian bawah tabung. Tambahkan 30 µl ***streptavidin-HRP concentrate*** kedalam larutan 12 ml streptavidin-HRP buffer dalam tabung plastik 15 ml dan campur secara merata.

c). ***Microtitre plate*** IL-10 yang berisi 96 ***microtitre plate polystyrene*** yang dilapisi antibodi IL-10.

d). Reagen antibodi yang telah dibiotinilasi, adalah antibodi IL-10 yang telah dikonjugasi dengan biotin.

e). ***Streptavidin-HRP concentrate*** , adalah streptavidin yang telah dikonjugasi dengan HRP.

f). Pengencer standart.

g). Reagen substrat ***pre-mixed TMB*** yang berisi metanol.

h). ***Stop solution***, yang berisi asam sulfur 0,18 M.

i). ***Plate covers***.

4. 5. 5. Cara pemeriksaan kadar IL-10 serum

a). Sebanyak 0,5 ml darah perifer diambil dari hewan percobaan.

b). Darah kemudian di ***centrifuge*** selama 10 menit dengan kecepatan 1.500 rpm dalam suhu 4 derajat Celcius.

c). Serum diambil dan diencerkan dengan pengencer standart dengan perbandingan

1 : 100 (1 µl serum + 99 µl pengencer standart).

d). Serum diteteskan pada **microtitre plate** kemudian diinkubasi selama 15 menit.

e). Dicuci dengan buffer pencuci sebanyak 2 kali.

f). **Microtitre plate** ditetesi 100 µl reagen antibodi yang telah dibiotinilasi dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (20-25 derajat Celcius).

g). Dicuci dengan buffer pencuci sebanyak 2 kali.

h). Ditetesi dengan **streptavidin-HRP** dan didiamkan selama 30 menit.

i). Dicuci dengan buffer pencuci sebanyak 2 kali.

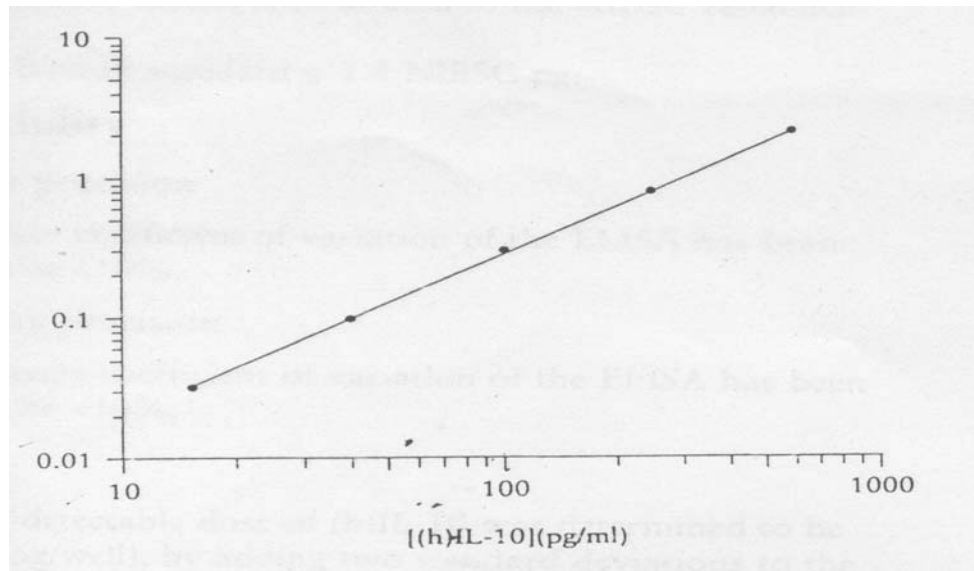
j). Ditambahkan substrat **pre-mix TMB**.

k).Ditetesi dengan 100 µl **stop solution**.

l). Ditutup dengan **plate covers** dan dibaca dengan **ELISA reader** (**spectrophotometer**) yang diatur pada 450 nm.

4. 5. 6. Pembacaan hasil

- Dibandingkan densitas optikal antara kurva standart dengan sampel yang diperiksa, dibaca berapa serapannya dan berapa kadar IL-10 standartnya. Seperti terlihat pada grafik 1.



Grafik 1. Kurva standart IL-10

4. 6. Pelaksanaan penelitian

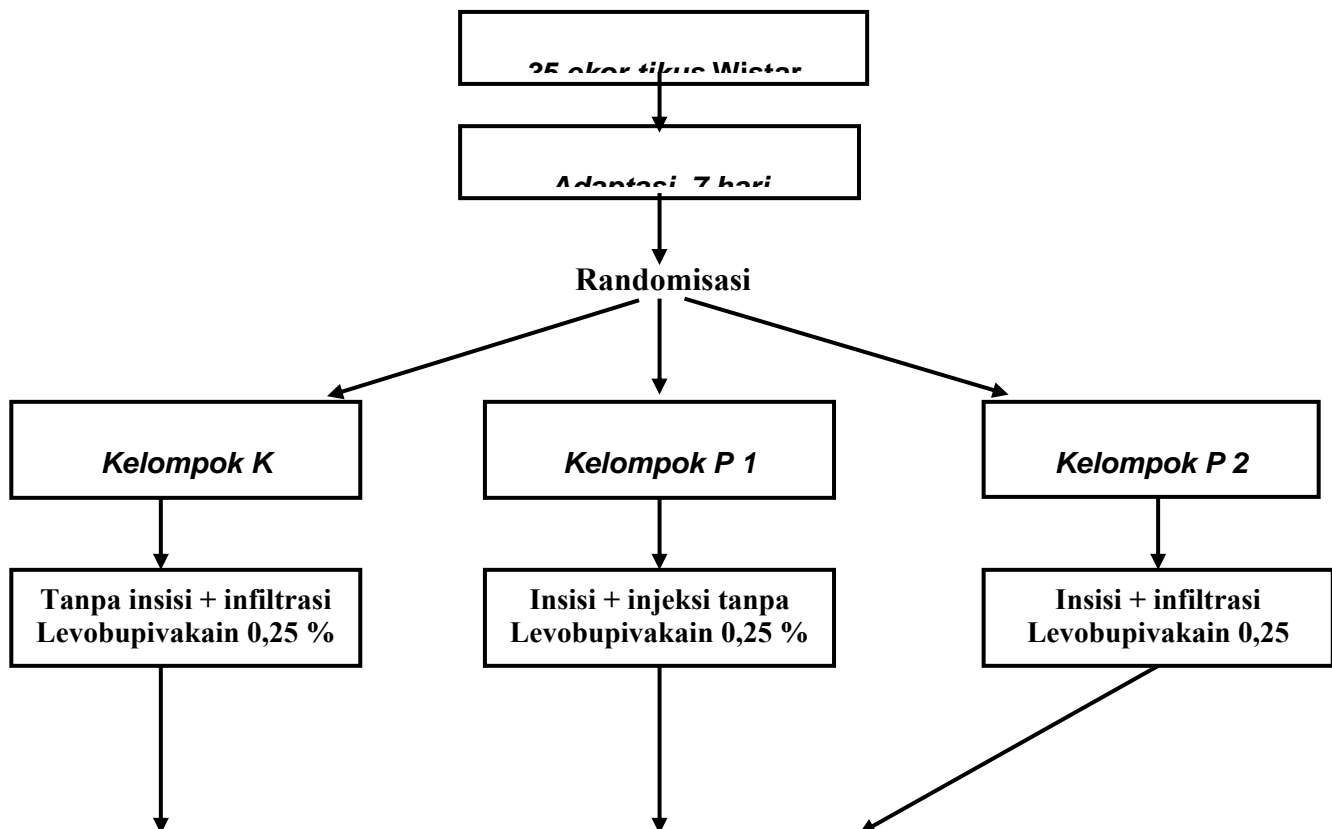
4. 6. 1. Cara perlakuan

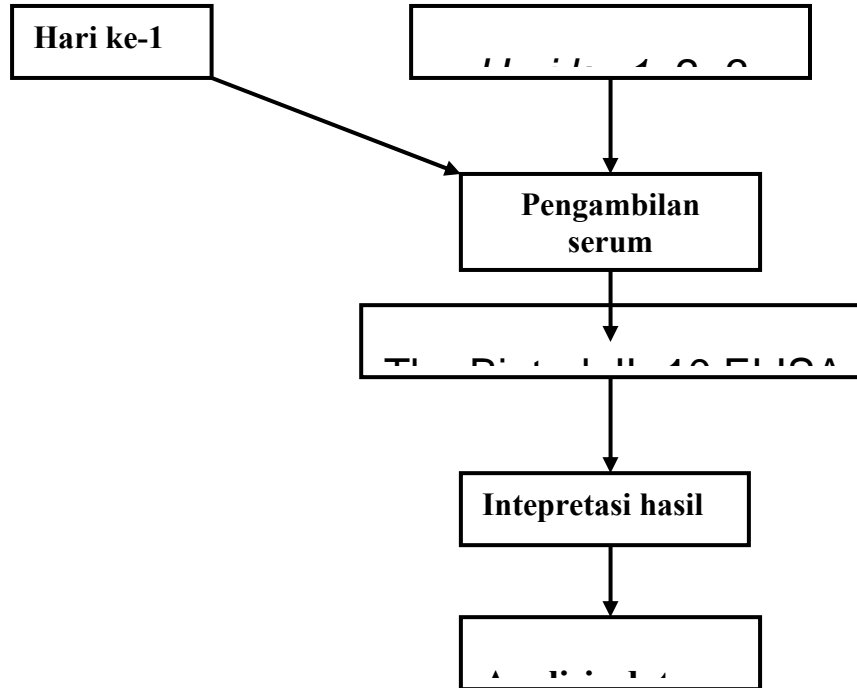
- **Sejumlah 35 ekor tikus *Wistar* betina dilakukan adaptasi di laboratorium dengan dikandangkan secara kelompok dan diberi pakan standart secukupnya selama 7 hari.**
- **Tikus dibagi menjadi tujuh kelompok masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yang ditentukan secara acak dengan menggunakan tabel random. Hasil pembagian adalah sebagai berikut :**
 1. K (kelompok kontrol = 5 ekor tikus), tidak diinsisi dan tidak diinfiltrasi.

2. P1 (kelompok perlakuan 1 = 15 ekor tikus) yang terdiri dari 3 kelompok masing-masing 5 ekor tikus. Diberi perlakuan dengan diinsisi dipunggung sepanjang 2 cm sampai kedalaman subkutan kemudian diinjeksi tanpa Levobupivakain 0,25 %. Injeksi di ulang 2 kali disekitar luka insisi setiap 8 jam berikutnya selama satu hari.
 3. P2 (kelompok perlakuan 2 = 15 ekor tikus) yang terdiri dari 3 kelompok masing-masing 5 ekor tikus. Diberi perlakuan dengan diinsisi dipunggung sepanjang 2 cm sampai kedalaman subkutan kemudian diinfiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 %. Infiltrasi di ulang 2 kali di sekitar luka insisi setiap 8 jam berikutnya selama satu hari.
- Setelah dilakukan pembagian kelompok, tikus dari kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2) maupun kelompok kontrol (K) dibius dengan menggunakan ether.
 - Bulu di sekitar punggung dicukur bersih dan didesinfeksi menggunakan betadine.
 - Selanjutnya dibuat insisi di punggung sepanjang 2 cm dan kedalaman sampai subkutan.
 - Luka insisi dibersihkan dan dioles larutan betadine, kemudian luka ditutup dengan 2 jahitan tunggal sederhana menggunakan benang nilon steril nomor 000.
 - Injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % dilakukan pada kelompok perlakuan 1 (P1) memakai jarum nomor 25 di sekitar luka insisi. Sedangkan pada kelompok perlakuan 2 (P2) dilakukan infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25% disekitar luka insisi. Pada kelompok kontrol tidak dilakukan insisi maupun infiltrasi.
 - Pasca perlakuan diberikan *penicillin oil* 15 mg intra muskular.

- Pengulangan injeksi maupun infiltrasi baik dengan atau tanpa Levobupivakain 0,25 % dilakukan sebanyak dua kali dengan tenggang waktu 8 jam selama satu hari.
- Pada hari pertama pasca perlakuan, pada ketiga kelompok masing-masing diambil 5 ekor dan dilakukan pembiusan dengan menggunakan ether.
- Setelah tikus terbius kemudian diambil darahnya dengan penyuntikan intra kardial memakai spuit 3 ml.
- Darah yang diambil lalu di *centrifuge* untuk memisahkan serumnya. Hal yang sama dilakukan pada tikus kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) pada hari kedua dan hari ketiga.
- Serum yang telah terpisah diperiksa dengan *Biotrak IL-10 ELISA system* dan dibaca dengan menggunakan *ELISA reader*.

4. 7. Alur kerja





4. 8. Analisis data

Setelah data terkumpul dilakukan *data cleaning, coding* dan tabulasi data. Data dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan program komputer *SPSS 10.0 for windows* dan dinyatakan dalam rerata \pm simpang baku (*mean* \pm SD). Kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk test* untuk mengetahui sebaran data dan uji beda kadar IL-10 serum antar kelompok dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Dengan batas derajat kemaknaan $p < 0.05$ atau dengan interval kepercayaan 95 %. Penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5. 1. Hasil penelitian

Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus *Wistar* betina, dari keturunan murni, berumur dua sampai dua setengah bulan dan berat badan 250-300 gram. Tabel 2 memperlihatkan berat badan tikus pada masing-masing kelompok.

Tabel 2. Hasil pengamatan rerata berat badan tikus

KELOMPOK	Rerata berat badan
-----------------	---------------------------

	(gram)
K	255,0
P 1	255,4
P 2	257,0

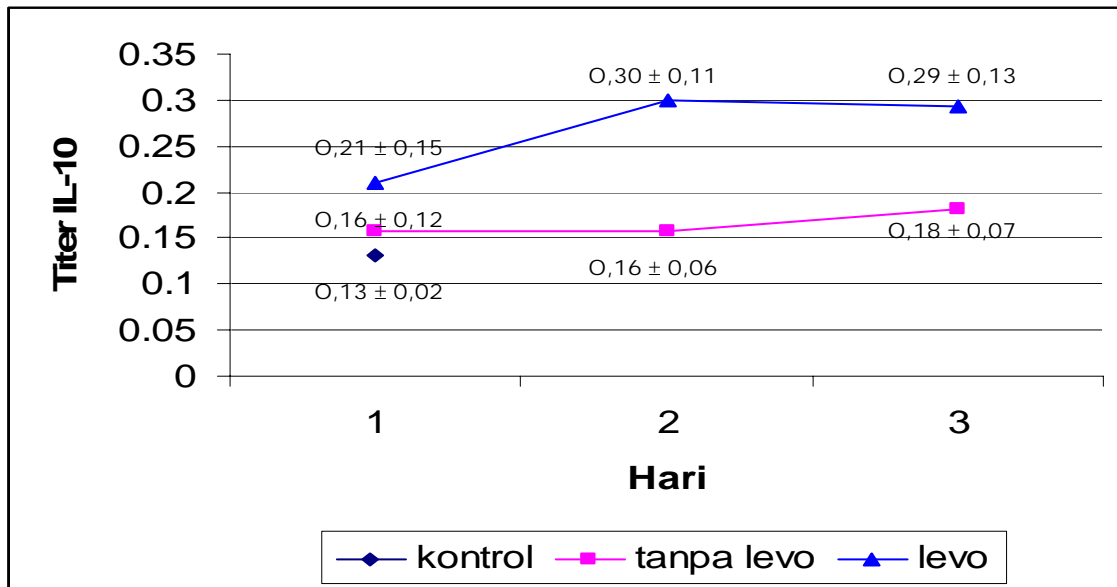
Hasil pengamatan rerata berat badan tikus pada ketiga kelompok secara umum hampir sama. Berat badan kelompok kontrol 255,0 gram, kelompok perlakuan 1 (P1) 255,4 gram dan kelompok perlakuan 2 (P2) 257,0 gram.

Ada 3 kelompok dalam penelitian ini yaitu kelompok kontrol (K) terdiri 5 ekor tikus yang tidak dilakukan insisi maupun infiltrasi. Kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) masing-masing terdiri 15 ekor tikus yang terbagi menjadi 3 kelompok untuk pemeriksaan pada hari pertama, kedua dan ketiga. Kemudian dilakukan insisi + injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % pada kelompok perlakuan 1 (P1) dan insisi + infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % disekitar luka pada kelompok perlakuan 2. Injeksi ulang pada kelompok perlakuan 1 (P1) dan infiltrasi ulang pada kelompok perlakuan 2 (P2) dilakukan dua kali tiap 8 jam selama sehari. Dibandingkan kadar IL-10 serum kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) pada hari pertama, kedua dan ketiga. Hasilnya terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan rerata \pm simpang baku kadar IL-10 serum (pg/ml).

KELOMPOK	HARI KE 1	HARI KE 2	HARI KE 3
K	0,13 \pm 0,02		
P 1	0,16 \pm 0,12	0,16 \pm 0,06	0,18 \pm 0,07
P 2	0,21 \pm 0,15	0,30 \pm 0,11	0,29 \pm 0,13

Dari tabel 3 terlihat adanya perbedaan kadar IL-10 serum ketiga kelompok pada hari pertama, kedua dan ketiga. Kadar IL-10 serum kelompok kontrol (K) adalah $0,13 \pm 0,02$ pg/ml. Kelompok perlakuan 1 (P1) hari pertama $0,16 \pm 0,12$ pg/ml ; hari kedua $0,16 \pm 0,06$ pg/ml dan hari ketiga $0,18 \pm 0,07$ pg/ml. Kadar IL-10 serum kelompok perlakuan 2 (P2) berturut-turut pada hari pertama, kedua dan ketiga adalah $0,21 \pm 0,15$ pg/ml : $0,30 \pm 0,11$ pg/ml ; $0,29 \pm 0,13$ pg/ml. Perbedaan kadar IL-10 serum pada ketiga kelompok secara lebih jelas terlihat pada grafik 2.



Grafik 2. Kadar IL-10 serum (pg/ml).

5. 2. Analisis Data

5. 2. 1. Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah data klinis berat badan pada ketiga kelompok sama. Uji homogenitas ini dilakukan dengan menggunakan *Levene test*. Hasil uji homogenitas berat badan terlihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengamatan rerata \pm simpang baku berat badan tikus

Variabel	Kelompok			p
	K	P 1	P 2	
Berat badan (gram)	255,0 ± 10,00	255,4 ± 9,48	257,0 ± 8,72	0,874*

Dari tabel 4 untuk uji homogenitas nilai rerata berat badan pada ketiga kelompok berbeda tidak bermakna dengan nilai $p = 0,874$ ($p > 0,05$).

5.2.2. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data parameter klinis atau laboratoris terdistribusi normal. Uji normalitas kadar IL-10 serum dilakukan dengan tehnik *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas kadar IL-10 serum ini terlihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji normalitas kadar IL-10 serum

KELOMPOK	HARI	Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Sig.
K	1	.971	5	.837
	1	.913	5	.454
P 1	2	.858	5	.272
	3	.878	5	.339
P 2	1	.959	5	.744
	2	.963	5	.781
	3	.954	5	.708

Dari tabel 5 dapat dilihat bahwa parameter klinis dan laboratoris kadar IL-10 serum pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$.

5. 2. 2. Uji beda

Uji beda dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna kadar IL-10 serum pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2). Uji beda ini dilakukan dengan menggunakan *Kruskal Wallis Test*. Hasil uji beda kadar IL-10 serum pada ketiga kelompok terlihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji beda kadar IL-10 serum.

	IL-10 serum
Chi-Square	24,910
df	6
Asymp. Sig	.000

Dari tabel 5 dapat dilihat bahwa kadar IL-10 pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) maupun kelompok perlakuan 2 (P2) berbeda bermakna dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$).

BAB 6

PEMBAHASAN

6. 1. Pembahasan

Dari hasil pengamatan rerata berat badan tikus pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) secara umum hampir sama, seperti terlihat pada tabel 2. Pada uji homogenitas tentang data klinis berat badan tikus (tabel 4) pada ketiga kelompok menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $p = 0,874$ ($p > 0,05$). Hal ini berarti bahwa meskipun ada perbedaan berat badan tikus pada ketiga kelompok tetapi tidak bermakna atau bisa dianggap sama / homogen sehingga layak untuk dibandingkan. Adaptasi selama seminggu dengan memberikan makan dan minum standart yang sama serta asal tikus dari satu keturunan menyebabkan berat badan tikus pada ketiga kelompok secara umum hampir sama.

Dari tabel 3 dan grafik 2 terlihat adanya perbedaan kadar IL-10 serum ketiga kelompok pada hari pertama, hari kedua dan hari ketiga. Kadar IL-10 serum kelompok kontrol (K) adalah $0,13 \pm 0,02$ pg/ml , ini bisa dianggap sebagai kadar normal IL-10. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) kadar IL-10 hari pertama lebih tinggi dibanding kelompok kontrol (K) yaitu sebesar $0,16 \pm 0,12$ pg/ml atau terjadi kenaikan sebesar 23% pada hari pertama, sedangkan pada hari kedua relatif hampir sama dibandingkan dengan hari pertama ($0,16 \pm 0,06$ pg/ml). Pada hari ketiga terjadi kenaikan lagi kadar IL-10 menjadi $0,18 \pm 0,07$ pg/ml atau terjadi kenaikan sebesar 38% pada hari ketiga. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh **Sato Y**, bahwa kadar IL-10 meningkat dan mencapai puncak pertama setelah 3 jam insisi kemudian turun mendekati normal pada hari kedua dan meningkat lagi serta mencapai puncak kedua setelah 72 jam (3 hari). Kadar IL-10 serum kelompok perlakuan 2 (P2) pada hari pertama, hari kedua dan hari

ketiga adalah $0,21 \pm 0,15$ pg/ml : $0,30 \pm 0,11$ pg/ml dan $0,29 \pm 0,13$ pg/ml. Kadar IL-10 serum kelompok perlakuan 2 (P2) pada hari pertama lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 (P1) hari pertama. Demikian juga pada hari kedua dan hari ketiga kadar IL-10 kelompok perlakuan 2 (P2) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 (P1) hari kedua dan hari ketiga. Dapat dilihat disini terjadi kenaikan kadar IL-10 serum pada kelompok perlakuan 2 (P2) sebesar 61 % pada hari pertama, selanjutnya sebesar 130 % pada hari kedua serta sebesar 123 % pada hari ketiga.

Kenaikan kadar IL-10 serum pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan 1 (P1) baik itu pada hari pertama, hari kedua maupun hari ketiga terjadi akibat infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 %. Menurut **Constantinnides P**, nyeri akut bila tidak dikelola secara tepat akan berakibat memperpanjang fase katabolik dengan akibat terjadi peningkatan kortisol yang menimbulkan disregulasi sistem imun sehingga menghambat penyembuhan luka. Dengan menghambat jalur nyeri menggunakan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % disekitar luka insisi, maka sistem imun tidak terganggu sehingga kadar IL 10 serum meningkat dan fase inflamasi menjadi lebih pendek. Sebagai akibatnya penyembuhan luka menjadi lebih cepat. Seperti penelitian yang dilakukan oleh **Mulyata S**, stres pada hewan coba menyebabkan hambatan penyembuhan luka pasca episiotomi. Sedangkan pada hewan coba yang tidak stres penyembuhan lukanya lebih cepat. **Vintar N**, melaporkan penggunaan Bupivakain melalui kateter pada luka cukup efektif mengurangi nyeri setelah operasi hernia inguinalis dan penyembuhan luka menjadi lebih baik.

Kenaikan tertinggi kadar IL-10 serum adalah pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang terjadi pada hari kedua yaitu sebesar 130 % seperti terlihat pada grafik 2. Hal ini mempertegas peran IL-10 yang meningkat akibat infiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 % sehingga fase inflamasi pada proses penyembuhan luka menjadi lebih pendek. Dari analisis statistik dengan uji beda kadar IL-10 serum menggunakan *Kruskal Wallis test* didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti kadar IL-10 serum pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) berbeda bermakna.

Penelitian ini bertujuan membandingkan kadar IL-10 serum dengan dan tanpa infiltrasi Levobupivakain 0,25 % pada nyeri pasca insisi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hari kedua kadar IL-10 serum pada kelompok perlakuan 2 (P2) lebih tinggi (130 %) dibandingkan kelompok perlakuan 1 (P1) (123 %). Dengan kata lain ini menunjukkan bahwa pada luka insisi yang diinfiltrasi dengan Levobupivakain 0,25 %, IL-10 serumnya lebih cepat naik atau lebih cepat muncul dibandingkan tanpa infiltrasi Levobupivakain 0,25 %.

IL-10 terutama diproduksi oleh sel Th2 akibat rangsang dari makrofag yang teraktifasi. Sedangkan makrofag muncul pertama kali pada 48 – 96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke 3. Adanya IL-10 pada hari pertama baik pada kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) menunjukkan bahwa IL-10 juga diproduksi oleh sel-sel lain yaitu sel B, keratinosit serta Neutrofil meskipun dalam jumlah sedikit. **Hollman** (2000) mengemukakan bahwa makrofag tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Nyeri yang tak dikelola dengan baik menyebabkan kortisol tetap tinggi, hal ini mengakibatkan

depresi pada Th2 sehingga produksi IL-10 akan menurun. Akibatnya tidak ada yang menghambat makrofag teraktifasi untuk memproduksi sitokin proinflamasi sehingga fase inflamasi relatif menjadi lebih panjang . Dengan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % akan terjadi blokade atau terputusnya transmisi nyeri sehingga respon nyeri akibat insisi tidak terjadi.

Selain itu juga munculnya makrofag teraktifasi akan mengakibatkan Th2 memproduksi IL-10 dan selanjutnya IL-10 ini akan menekan makrofag untuk memproduksi sitokin proinflamasi (umpan balik negatif). Pada kelompok perlakuan 2 (P2) kadar IL-10 mencapai puncak tertinggi pada hari kedua, sedangkan kelompok perlakuan 1 (P1) puncak tertinggi terjadi pada hari ketiga. Artinya munculnya hambatan terhadap makrofag dalam memproduksi sitokin proinflamasi lebih cepat pada kelompok perlakuan 2 (P2) dibandingkan kelompok perlakuan 1 (P1). Percepatan hambatan ini memperpendek fase inflamasi menjadi dua hari (pada kelompok P1 tiga hari) dan menyebabkan proses penyembuhan menjadi lebih singkat.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

- Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % terbukti meningkatkan kadar IL-10 serum.
- Puncak tertinggi kenaikan kadar IL-10 serum dicapai pada hari kedua pada kelompok dengan insisi dan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % , yaitu sebesar 130 %.
- Fase inflamasi pada kelompok dengan insisi dan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % lebih pendek menjadi dua hari dibandingkan pada kelompok insisi dan injeksi tanpa Levobupivakain 0,25 % yaitu tiga hari.

7.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut diatas dapat disarankan sebagai berikut :

- Pada luka insisi / operasi sebaiknya dilakukan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % di sekitar luka karena kadar IL-10 serumnya akan meningkat dibandingkan tanpa

infiltrasi Levobupivakain 0,25 %, sehingga fase inflamasi menjadi lebih pendek dan penyembuhan luka akan menjadi lebih cepat.

- Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang hubungan infiltrasi Levobupivakain 0,25 % dengan faktor-faktor lain yang berpengaruh pada proses penyembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Pathology basic of disease. 6th ed. Philadelphia : WB Saunders Co, 1999 : p21-201.
2. Constantinnides P. General pathobiology. 1st ed. Norwalk Connecticut : Appleton and Lange, 1994 : p173-186.
3. Mast AB. Normal wound healing. In : Achauer BM, Eriksson E, eds. Plastic Surgery, Indications, Operations and Outcomes. Mosby : Mosby Inc, 2000 : p37-53
4. Elenkov IJ, Webster E, Torpy DJ, et al. Stress, corticotropin-releasing hormone, glucocorticoids, and the immune/inflammatory response : acute and cronic effects. Annals of the New York academy of sciences 1999 ; 876: 1-13. Available from: URL. <http://annalsnyas.org/cgi/876/1/1>

5. Pedersen D. Accelerated surgical stay programe. *Annals of Surgery* 1994 ; 219 : p374-81.
6. Bardram L, Funch-Jensen P, Kehlet H. Recovery after laparoscopic colonic surgery with epidural analgesia and early oral nutrition and mobilisation. *Lancet* 1995 ; 345 : p763-4.
7. Kresno SB. *Imunologi: Diagnosis dan prosedur laboratorium*. FKUI 2001;ed.4: p7-12.
8. Sato Y, Ohshima T, Kondo T. Regulatory of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflamatory response of murine wound healing. *Biochem Biophys Res Commun*.1999 Nov;265(1):194-9.
9. Christie JM, Chen GW. Secondary hyperalgesia is not affected by wound infiltration with bupivacaine. *Can J of An* 1993 ; 40 : 1034-37.
10. 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.
11. Pettersson N, Berggren P, Larsson M, et al. Pain relief by wound infiltration with bupivacaine or high dose ropivacaine after inguinal hernia repair. *Reg Anesth Pain Med* 1999 ; 24 : 569-75.
12. Bultmann M, Streich R, Risse A, et al. Postoperative analgesia in children after hernioplasty, wound infiltration with different concentrations of bupivacaine : a pilot study (German). *Anaesthesist* 1999 ; 48 : 439-43.

13. Amersham pharmacia biotech. Interleukin-10 [(h)IL-10] human, ELISA system. Biotrak cellular communication assays.
14. Wound healing. 2000. Available from: URL: <http://www.orthoteers.co.uk/Nrujp-ij33lm/orthwound.htm>
15. Galindo MA. Levobupivacain, a long acting local anaesthetic, with less cardiac and neurotoxicity. (Available from) : URL. <http://www.ndaa.ox.ac.uk/wfsa/html/u14/u1407-01.html>
16. Doctor's guide. Chirocaine anesthetic use to post op pain management. Global edition. 2000. [on line]: URL. <http://www.pslgroup.com/dg/195B36.htm>
17. Stoelting RK. Local Anesthetics. In : Stoelting RK. Pharmacology and physiology in anesthetic practice. 3rd ed. Philadelphia : JB Lippincott, 1999 : p45-67.
18. Devor M. Pain mechanism and pain syndrome. In : Champbell JN. Pain 1996 an update review. Seattle : IASP press, 1996 : p103-112
19. Raymond RG, William GB. Pain management. In : Morgans GE, Mikhail MS, eds. Clinical anesthesiology. 1st ed. New Jersey : Prentice hall int. Inc, 1992 : p269-73.
20. Melzacks R, Wall P. The gate control theory of pain. In : Melzacks R, Wall P. The challenge of pain. 1st ed. Penguin education, 1984 : p223-61.
21. Pleuvry BJ. The chemical modulation of nociceptive responses and pain. In : Healy TEJ, Cohen PJ, eds. A Practice of anesthesia. 6th ed. London : Edward Arnold, 1995 : p80-8.

22. 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 : p469-88.
23. Bonica JJ. Anatomic and physiologic basis of pain, nociception and pain. In : Bonica JJ. ed. The management of pain. Pennsylvania : Lea and Febiger, 1990 : p12-28
24. Notoedirdjo M. Nyeri dan tatalaksana penanggulangannya. Makalah pertemuan klinik Ikatan Ahli Kesehatan Jiwa cabang Surabaya.1996 Pebruari 19; Malang: 1996.
25. Hollmann, Markus W, Durieux E. Local anesthetics and the inflammatory response: A new therapeutic indication? *Anesthesiology* 2000;93:858-75.
26. Stites DP, Terr AT, Parslow TG. Medical immunology. 9th ed. Connecticut: Prentice-Hall International Inc, 1997 : 20-8.
27. Baratawidjaja KG. Sistem imun. Dalam : *Imunologi dasar*. 6th ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2004 : 3-48.
28. Rahardjo E. Analgesia pasca bedah, cara invasif atau non invasif, sebuah tinjauan klinis. Surabaya: Instalasi Anestesi dan Reanimasi RSUD Dr Soetomo,1997 : 2-7.
29. World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. New York : 1996 : p40-4
30. Edward W, Hahn CEW, Adams AP. Principle and practice series patients controlled analgesia. London : BMJ Publ group, 1995 : 1-11

31. 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

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO**

**FORMULIR PENGAJUAN ETIK PENELITIAN
PEMANFAATAN HEWAN PERCOBAAN UNTUK PENELITIAN**

(Formulir ini terdiri dari 4 halaman. Silahkan isi formulir dengan lengkap. Semua isi pernyataan hendaknya diketik. Formulir yang sudah diisi dikirimkan ke : Sekretariat Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RS. Dr. Kariadi Semarang. Kantor PD IV – Dekanat FK Undip Telp / Fax 024-8446905).

1. Nama Ketua Pelaksana penelitian :

dr. Eko Setijanto

2. Alamat Kantor dan Nomor Telepon / Fax / e-mail :

Bagian Anestesiologi FK. Undip / RS. Dr. Kariadi Semarang Telp. 024 – 8444346
Fax. 204 – 8444346.

3. Judul Proyek / Protokol :

Hubungan antara kadar kortisol serum, kuantitas neutrofil segmen , $CD8^+$, rasio $CD4^+ / CD8^+$, MHC I , c-erbB2 , pAgNOR , mAgNOR , titer IL-10 serum pada penyembuhan luka insisi tikus *Wistar* dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.

No. Proyek / Protokol :

--	--

 oleh Petugas

Tipe Proyek (beri tanda *V*) :

Proyek Baru

√

 Proyek Perubahan

--

Proyek Lanjutan

--

Apabila Proyek perubahan dan lanjutan, sebutkan No. Proyek / Protokol sebelumnya :

--	--

4. Data hewan yang akan digunakan :

Spesies hewan : Tikus <i>Wistar</i>	Umur : 2 – 2,5 bulan
Jenis kelamin : Betina	Jumlah : 35 ekor tikus
Asal hewan : Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.	

5. Keterangan mengenai prosedur yang akan dilakukan terhadap hewan.

a. Tujuan proyek.

Membuktikan adanya hubungan antara kortisol , neutrofil segmen , $CD8^+$, rasio $CD4^+ / CD8^+$, MHC I , c-erbB2 , pAgNOR , mAgNOR , titer IL-10 serum pada penyembuhan luka insisi tikus *Wistar* dengan infiltrasi anestetik lokal levobupivakain.

b. Alasan menggunakan hewan dalam kajian penelitian ini (silakan kemukakan dengan review literatur).

Sudah pernah dilakukan penelitian yang sama sebelumnya oleh orang lain dengan menggunakan obat yang berbeda.

Penelitian ini belum pernah dikerjakan pada manusia.

c. Prosedur yang akan dilakukan (termasuk pre, post, dan selama pelaksanaan)

Penelitian eksperimental laboratorik dengan disain “*randomized post test only control group design*”, pada tigapuluh lima ekor tikus *Wistar* yang telah diadaptasi dalam kandang secara berkelompok selama seminggu . Kelompok penelitian dibagi menjadi tiga kelompok secara acak dengan menggunakan tabel random. Kelompok kontrol (K) lima ekor tikus, Perlakuan 1 (P1) dan Perlakuan 2 (P2) masing-masing limabelas ekor tikus. Kelompok K tikus dibius tanpa insisi dan tanpa infiltrasi lalu diperiksa titer IL-10 serumnya pada hari pertama. Kelompok P1 tikus dibius lalu dilakukan insisi sepanjang 2 cm dipunggung kedalaman subkutis dan infiltrasi tanpa levobupivakain 0,25 %. Kelompok P2 tikus dibius lalu dilakukan insisi sepanjang 2 cm kedalaman subkutis dan infiltrasi dengan levobupivakain 0,25 %. Infiltrasi ulang pada kelompok P1 dan P2 dilakukan dua kali tiap 8 jam selama 24 jam. Titer IL-10 serum diperiksa pada hari ke pertama, kedua dan ketiga. Dibandingkan titer IL-10 antara ketiga kelompok. Analisis statistik dengan *program SPSS 10,0 for windows*.

d. Lama penelitian : 6 (enam) bulan (Juli s / d Desember 2005)

e. Apakah ada hewan yang akan dimusnahkan setelah penelitian selesai.

Ya

Tidak

Bila ya, silahkan beri penjelasan :

Karena tikus akan diperiksa darah dan jaringannya, maka setelah diambil darah dan jaringannya tikus dimusnahkan.

f. Cara hewan dimusnahkan :

Dibus dengan ether sampai mati.

6. Peralatan dan obat-obatan / Anestesi yang akan digunakan terhadap hewan :

a. Peralatan :

- Sduit *disposable* 3 ml dan spuit tuberculin 1 ml.
- *Scalpel* dengan *bisturi*.
- *Pinset anatomis* dan *chirurgis*.
- Ether dan penutup kaca (Toples)
- Alat cukur rambut

b. Obat penenang (Anestesi)

Nama obat : levobupivakain 0.25 % dosis 12,6 mcg / gram BB.

c. Obat-obatan lainnya

Nama obat : Penisillin oil injeksi, dosis 15 mg intra muskular.

7. Klasifikasi proyek (silahkan merujuk ke Tabel terlampir)

A

B

C

D

E

8. Lokasi dimana hewan akan ditempatkan.

Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

9. Apakah proyek ini telah dibahas dengan Penanggung Jawab / Ahli Hewan Percobaan / Komisi Penggunaan dan Pemeliharaan Hewan Percobaan (KPPH).

Ya

Tidak

10. Apakah ada rekomendasi KPPH tentang penelitian yang diajukan (harap dilampirkan)

Ya

Tidak

Semarang , Pebruari 2006

Peneliti Utama,

(dr. Eko Setijanto)

Untuk diisi oleh Petugas :

Formulir isian diterima tanggal :

Keputusan : Diterima

Diterima dengan perbaikan seperti terlampir

Ditolak

Pada tanggal :

Nomor Rujukan :

--	--

Semarang , Maret 2006

**Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan
FK.Undip / RS. Dr. Kariadi**

**(Prof. Dr. dr. Tjahjono , SpPA(K) , FIAC)
NIP. 130 368 076**

Tabel 1 : Katagori penelitian kesehatan yang didasarkan pada bobot penekanan etik penelitian pada hewan percobaan.

KATEGORI
<p>Kategori A</p> <p>Penelitian yang dilakukan pada hewan percobaan invertebrata, atau tumbuhan, bakteri, amuba (binatang bersel satu), atau pada hewan percobaan invertebrata lainnya.</p>
<p>Kategori B</p> <p>Penelitian pada hewan percobaan vertebrata yang diharapkan sedikit sekali atau sama sekali tidak menimbulkan rasa ketidaknyamanan.</p>
<p>Kategori C</p> <p>Penelitian dengan sedikit menimbulkan stres atau rasa sakit dengan jangka pendek.</p>
<p>Kategori D</p> <p>Penelitian yang dilakukan pada hewan percobaan vertebrata dimana stres dan rasa sakit tidak bisa dihindarkan.</p>
<p>Kategori E</p> <p>Prosedur yang menimbulkan rasa sakit di atas toleransi sakit pada hewan percobaan tanpa dianestesi dan dalam keadaan sadar.</p>

Descriptives

Kel	IL-10	Statistic	Std. Error	
K	Mean	.13140	3.9699E-03	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.12038	
		Upper Bound	.14242	
	5% Trimmed Mean	.13122		
	Median	.13100		
	Variance	7.880E-05		
	Std. Deviation	8.8769E-03		
	Minimum	.121		
	Maximum	.145		
	Range	.024		
	Interquartile Range	1.5000E-02		
	Skewness	.780	.913	
	Kurtosis	1.319	2.000	
	P1.1	Mean	.15660	2.0675E-02
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	9.9197E-02	
		Upper Bound	.21400	
5% Trimmed Mean		.15539		
Median		.16100		
Variance		2.137E-03		
Std. Deviation		4.6231E-02		
Minimum		.109		
Maximum		.226		
Range		.117		
Interquartile Range		8.2000E-02		
Skewness		.753	.913	
Kurtosis		.247	2.000	
P1.2		Mean	.15820	1.0101E-02
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.13015	
		Upper Bound	.18625	
	5% Trimmed Mean	.15717		
	Median	.15200		
	Variance	5.102E-04		
	Std. Deviation	2.2588E-02		
	Minimum	.139		
	Maximum	.196		
	Range	.057		
	Interquartile Range	3.6500E-02		
	Skewness	1.585	.913	
	Kurtosis	2.659	2.000	
	P1.3	Mean	.18140	1.1788E-02
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	.14867	
		Upper Bound	.21413	
5% Trimmed Mean		.18033		
Median		.17300		
Variance		6.948E-04		
Std. Deviation		2.6359E-02		
Minimum		.158		

	Maximum		.224	
	Range		.066	
	Interquartile Range		4.5000E-02	
	Skewness		1.341	.913
	Kurtosis		1.559	2.000
	Mean		.20900	2.5144E-02
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.13919	
		Upper Bound	.27881	
	5% Trimmed Mean		.20761	
	Median		.20000	
	Variance		3.161E-03	
P2.1	Std. Deviation		5.6223E-02	
	Minimum		.146	
	Maximum		.297	
	Range		.151	
	Interquartile Range		9.4500E-02	
	Skewness		.967	.913
	Kurtosis		1.542	2.000
	Mean		.30000	1.7026E-02
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.25273	
		Upper Bound	.34727	
	5% Trimmed Mean		.30039	
	Median		.30300	
	Variance		1.449E-03	
P2.2	Std. Deviation		3.8072E-02	
	Minimum		.243	
	Maximum		.350	
	Range		.107	
	Interquartile Range		5.7500E-02	
	Skewness		-.453	.913
	Kurtosis		1.999	2.000
	Mean		.29260	2.3449E-02
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.22749	
		Upper Bound	.35771	
	5% Trimmed Mean		.29333	
	Median		.29400	
	Variance		2.749E-03	
P2.3	Std. Deviation		5.2434E-02	
	Minimum		.219	
	Maximum		.353	
	Range		.134	
	Interquartile Range		9.7500E-02	
	Skewness		-.419	.913
	Kurtosis		-.596	2.000

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk			
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IL-10	K	.228	5	.200	.971	5	.837
	P1.1	.211	5	.200	.913	5	.454
	P1.2	.268	5	.200	.858	5	.272
	P1.3	.225	5	.200	.878	5	.339
	P2.1	.222	5	.200	.959	5	.744
	P2.2	.279	5	.200	.963	5	.781
	P2.3	.156	5	.200	.954	5	.708

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

NPar Tests Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
IL-10	35	.20417	7.2600E-02	.109	.353
Kelompok	35	23.29	10.39	1	33

Kruskal-Wallis Test Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
IL-10	K	5	5.40
	P1.1	5	11.60
	P1.2	5	11.80
	P1.3	5	17.40
	P2.1	5	20.20
	P2.2	5	30.60
	P2.3	5	29.00
	Total	35	

Test Statistics

IL-10	
Chi-Square	24.910
df	6
Asymp. Sig.	.000

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Kelompok

