

**PERBEDAAN SKOR HISTOLOGI C-erbB-2, PROLIFERASI  
ENDOTEL PEMBULUH DARAH : DENGAN DAN TANPA  
INFILTRASI LEVOBUPIVAKAIN PADA PENYEMBUHAN LUKA  
TIKUS WISTAR**

*THE DIFFERENCE BETWEEN HISTOLOGIC SCORE OF C-erbB-2, PROLIFERATION  
OF ENDOTHELIAL BLOOD VESSEL : WITH AND WITHOUT LEVOBUPIVACAINE  
INFILTRATION IN WISTAR RAT WOUND HEALING*



**Tesis**

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

**Curniawati Trisari**

**PROGRAM PASCA SARJANA MAGISTER ILMU BIOMEDIK DAN  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I ANESTESIOLOGI  
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG  
2006**

## Tesis

### **PERBEDAAN SKOR HISTOLOGI CerbB-2, PROLIFERASI ENDOTEL PEMBULUH DARAH : DENGAN DAN TANPA INFILTRASI LEVOBUPIVAKAIN PADA PENYEMBUHAN LUKA TIKUS WISTAR**

disusun  
oleh

**Curniawati Trisari**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 5-Juni-2006 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

**Dr. H. Marwoto, SpAn KIC**  
NIP. 130 516 880

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

Mengetahui :

Ketua  
Program Studi PPDS I Anestesiologi  
Universitas Diponegoro

Ketua  
Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Program Pasca Sarjana  
Universitas Diponegoro

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

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

## **PERNYATAAN**

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

Semarang, Maret 2006

Penulis

## **RIWAYAT HIDUP SINGKAT**

### **A. Identitas**

Nama : Dr. Curniawati Trisari  
NIM Magister Biomedik : G4A002045  
NIM PPDS I Anestesiologi : G3F002064  
Tempat / Tgl lahir : Wonosobo / 13 April 1968  
Agama : Islam  
Jenis kelamin : Wanita

### **B. Riwayat Pendidikan**

1. SD Negeri II Wonosobo Jawa Tengah : Lulus tahun 1980
2. SMP Negeri 1 Wonosobo Jawa Tengah : Lulus tahun 1983
3. SMA Negeri 1 Wonosobo Jawa Tengah : Lulus tahun 1986
4. FK UNDIP Semarang Jawa Tengah : Lulus tahun 1993
5. PPDS I Anestesiologi UNDIP Semarang Jawa Tengah
6. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang Jawa Tengah

### **C. Riwayat Pekerjaan**

1. Dokter PTT RSUD Selong , Lombok Timur NTB : 1994 – 1997
2. Supervisor Health Insurance, PT Lippo General Insurance, tbk : 1997 – 1998
3. Rotating Doctor at ' International SOS' An AEA Company : 1999- 2002

### **C. Riwayat Keluarga**

Nama Orang tua Ayah : Sukandar, BA Ibu : Murtinah

## KATA PENGANTAR

Rasa syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhannahuwataala atas limpahan rahmat dan anugerahNya sehingga dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Perbedaan skor histologis c-erbB-2 ,proliferasi endotel pembuluh darah : dengan dan tanpa infiltrasi levobupivakain pada penyembuhan luka tikus Wistar”

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

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

Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih kepada :

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

5. Dra. Dyah Retno Budiani,MSi dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UNS Surakarta.
6. Dr. Udadi S, M Kes dan seluruh staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
7. Tim penguji dan nara sumber yang telah berkenan memberi masukan, arahan dalam penelitian dan penulisan tesis ini.
8. Semua rekan sejawat residen ilmu anestesi dan reanimasi FK UNDIP, pegawai UPHP UGM Yogya dan PA UNS Surakarta.
9. Ucapan terima kasih khususnya kepada kedua orang tua saya, kakak dan adik-adik saya yang selama ini memberikan dorongan moril maupun materiil untuk keberhasilan studi saya.

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

Semarang, Juni 2006

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT .....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang masalah.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	3
1.3. Tujuan penelitian.....	3
1.4. Manfaat penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Levobupivakain.....	5
2.2. Patofisiologi nyeri.....	6
2.2.1. Proses terjadinya nyeri.....	7
2.3. Penyembuhan luka.....	11
2.3.1. Fase inflamasi.....	14
2.3.2. Fase proliferasi.....	15
2.3.3. Fase maturasi.....	16
2.4. Peran sitokin dan faktor pertumbuhan dalam penyembuhan luka.....	17
2.5. Proses angiogenesis.....	20
2.5.1. c-erbB-2.....	24
2.5.2. AgNOR .....	26
2.6. Pengaruh anestesi lokal terhadap penyembuhan luka ..	27
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	29
3.1. Kerangka teori.....	29
3.2. Kerangka konsep.....	31
3.3. Hipotesis penelitian.....	32
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	33
4.1. Rancangan penelitian.....	33
4.2. Sampel penelitian.....	34
4.2.1. Kriteria inklusi.....	34
4.2.2. Kriteria eksklusi.....	34
4.2.3. Besar sampel.....	34
4.2.4. Randomisasi.....	34

	4.3.	Waktu dan lokasi penelitian.....	35
	4.4.	Variabel penelitian.....	35
		4.4.1. Variabel bebas.....	35
		4.4.2. Variabel terikat.....	35
		4.4.3. Variabel perantara.....	35
		4.4.4. Definisi operasional.....	35
	4.5.	Bahan dan alat penelitian.....	36
		4.5.1. Bahan untuk perlakuan.....	36
		4.5.2. Bahan untuk eksisi biopsi.....	36
		4.5.3. Bahan pemeriksaan c-erbB-2.....	36
		4.5.4. Bahan pemeriksaan AgNOR.....	37
	4.6.	Pelaksanaan penelitian.....	38
		4.6.1. Alur kerja.....	38
	4.7.	Prosedur pemeriksaan.....	39
		4.7.1. Prosedur eksisi-biopsi.....	39
		4.7.2. Prosedur pembuatan preparat c-erbB-2.....	39
		4.7.3. Prosedur pembuatan preparat AgNOR.....	40
	4.8.	Cara pengumpulan data.....	41
	4.9.	Analisis data.....	41
BAB 5		HASIL PENELITIAN.....	42
	5.1.	Hasil penelitian.....	42
	5.2.	Deskripsi data.....	42
BAB 6		PEMBAHASAN.....	50
BAB 7		SIMPULAN DAN SARAN.....	53
	6.1.	Simpulan.....	53
	6.2.	Saran.....	53
		DAFTAR PUSTAKA.....	54
		LAMPIRAN	



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Peran sel pada fase penyembuhan luka .....	13
Tabel 2. Ringkasan sitokin, asal dan fungsinya .....	19
Tabel 3. Stimulator dan inhibitor endogen proses angiogenesis .....	23
Tabel 4. Data berat badan tikus.....	42
Tabel 5. Skor histologi c-erbB-2 pada hari ke-5.....	42
Tabel 6. Angka AgNOR (mAgNOR,pAgNOR) pada hari ke-5.....	43
Tabel 7. Nilai rerata c-erbB-2 dan mAgNOR,pAgNOR.....	43
Tabel 8. Uji normalitas rerata c-erbB-2 dan mAgNOR,pAgNOR.....	44
Tabel 9. Uji beda antara kelompok c-erbB-2 dan mAgNOR,pAgNOR.....	45
Tabel 10. Analisis hubungan c-erbB-2 dan mAgNOR,pAgNOR.....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase penyembuhan luka.....	13
Gambar 2. Pembentukan kapiler baru pada proses angiogenesis.....	21
Gambar 3. Proses angiogenesis.....	22
Gambar 4. Skema aktivasi c-erbB-2/Her-2/Neu .....	25
Gambar 5. Skema rancangan penelitian .....	26
Gambar 6. Diagram nilai rerata C-erbB-2, mAgNOR, pAgNOR.....	47
Gambar 7. Gambar mikroskopis C-erbB-2 .....	48
Gambar 8. Gambar mikroskopis AgNOR.....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

1. *Ethical clearance* penelitian pada binatang coba ..... L1
2. Lampiran Gambar mikroskopis hasil penelitian ..... L2

## ABSTRAK

**Latar belakang** : Nyeri akut pasca bedah memicu timbulnya gejala klinis patofisiologis, menekan respons imun, sehingga menyebabkan penurunan sistem imun yang akan menghambat penyembuhan luka. Levobupivakain, anestetik lokal durasi panjang efektif mengurangi nyeri akut. Proses angiogenesis merupakan pilar utama penyembuhan luka. C-erbB-2 adalah reseptor mitogenik yang ekspresinya pada endotel pembuluh darah bila berikatan dengan *ligand* yang sesuai menyebabkan sel berproliferasi. Infiltrasi levobupivakain akan meningkatkan ekspresi c-erbB-2 dan proliferasi sel endotel pembuluh darah sehingga mempercepat penyembuhan luka.

**Tujuan** : Membuktikan adanya perbedaan skor histologi c-erbB-2 dan proliferasi endotel pembuluh darah antara tikus yang diinfiltrasi levobupivakain dengan yang tidak pada proses penyembuhan luka tikus Wistar.

**Metode** : Merupakan penelitian eksperimental pada hewan coba, *randomized post test only control group design*, menggunakan tikus Wistar. Sampel 15 ekor dibagi menjadi 3 kelompok; kelompok I kontrol, kelompok II insisi subkutis tanpa infiltrasi levobupivakain, kelompok III insisi subkutis dan infiltrasi levobupivakain setiap 8 jam selama 24 jam. Ekspresi c-erbB-2 dan nilai AgNOR yang dihitung sebagai mAgNOR dan pAgNOR pada sekitar luka insisi dinilai dengan skor histologi dengan menggunakan pengecatan secara imunohistokimia, yang diambil dari biopsi jaringan pada hari kelima. Data dianalisis dengan uji beda *Kruskal-wallis*. Hubungan antara C-erbB-2, mAgNOR dan pAgNOR dianalisis menggunakan uji korelasi *Spearman*.

**Hasil** : Rerata skor histologi c-erbB-2 dan mAgNOR pada kelompok infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibanding kelompok tanpa infiltrasi levobupivakain, yaitu untuk c-erbB-2  $7,2 \pm 2,16$  vs  $9,9 \pm 1,29$  dan mAgNOR  $5,94 \pm 0,15$  vs  $11,86 \pm 1,02$ , dan secara statistik berbeda bermakna ( $p=0,015$  dan  $p=0,02$ ). Hubungan antara c-erbB-2 dan mAgNOR secara statistik bermakna ( $r=0,693$ ;  $p=0,004$ ). Pada pAgNOR tidak didapat perbedaan yang bermakna antara kelompok tersebut.

**Simpulan** : Ekspresi c-erbB-2 dan indeks proliferasi sel yang dinyatakan dengan mAgNOR pada kelompok dengan infiltrasi levobupivakain lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa infiltrasi levobupivakain. Terdapat hubungan antara c-erbB-2 dan mAgNOR pada proses penyembuhan luka.

**Kata kunci** : Levobupivakain, c-erb-2, AgNOR, penyembuhan luka

## ABSTRACT

### THE DIFFERENCE BETWEEN HISTOLOGIC SCORE OF C-erbB-2, PROLIFERATION OF ENDOTHELIAL BLOOD VESSEL : WITH AND WITHOUT LEVOBUPIVACAINE INFILTRATION IN WISTAR RAT WOUND HEALING.

**Background :** Postoperative acute pain stimulates clinical pathophysiologic symptoms, depress immune responses which leads to delayed wound healing process. Levobupivacaine is a long acting local anaesthetic, proven good for pain control. Angiogenesis plays an important role in wound healing. C-erbB-2 is a family of epidermal growth factor receptor that becomes actively mitogenic when binds to EGFR ligands, and stimulates cell proliferation. Levobupivacaine infiltration enhances c-erbB-2 expression , leads to endothelial blood vessel proliferation and improves wound healing.

**Objective :** To prove the difference between histologic score of c-erbB-2 , endothelial blood vessel proliferation of the wound healing process with and without levobupivacaine infiltration and to prove the correlation between c-erbB-2 and endothelial blood vessels proliferation.

**Methods :** This study was an animal experimental study with randomized post test only control group design. Randomly 15 Wistar rats were divided into 3 groups. Group I was the group for control without treatment. Group II, rats that got incisions without levobupivacaine infiltration. Group III, rats that got incisions and levobupivacaine infiltration every 8 hours for 24 hours. C-erbB-2 at the site of the wound was analyzed using the histologic score from samples with immunohistochemistry staining and the amount of AgNOR expressed by mAgNOR and pAgNOR. The samples were taken from tissue biopsy on 5<sup>th</sup> day. Data were analyzed using Kruskal-Wallis test. The correlation between histologic score c-erbB-2 and the amount of AgNOR were analyzed using Spearman's correlation test.

**Results :** This study showed that the tissue with levobupivacaine had higher c-erbB-2 histologic score ( $7.2 \pm 2.16$  vs  $9.9 \pm 1.29$ ), and mAgNOR ( $5.94 \pm 0.15$  vs  $11.86 \pm 1.02$ ), than tissue without levobupivacaine that significantly different ( $p = 0,015$  and  $p = 0,02$ ). There was a correlation between c-erbB-2 and mAgNOR ( $\pi = 0.693$ ).

**Conclusions :** The expression levels c-erbB-2 and mAgNOR in levobupivacaine infiltration group are higher than without levobupivacaine infiltration group. There is a correlation between the c-erbB-2 and mAgNOR

**Key words :** Levobupivacaine, c-erbB-2, AgNOR, wound healing.

