

PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ropivakain Infiltrasi Terhadap Tampilan Kolagen Di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Wistar

Effect Of Ropivacaine Infiltration On Collagen Density Arround The Incision Wound On Wistar Rat Model

Wisnu Budi Pramono ✉*, Ery Leksana**, Hari Hendriarto Satoto**

* RSUD Margono Sukaryo, Purwokerto

**Bagian Anestesi dan Terapi Intensif Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kari-adi Semarang.

✉Korespondensi/ Correspondence: wisnubudi-pramono@gmail.com

ABSTRACT

Background : Post operative pain whereas β endorphin concentration increases and suppresses macrophage, decreasing macrophage's activity affected by IFN γ which altered wound healing process. Commonly wound healing process divided into some phases that connected to each other, e.g. inflammation, prolifiration, and maturation phase. Collagen is a key component in wound healing phase. Infiltration of local anesthetic such as ropivacaine will reduce pain intensity by inhibiting the pain impulse transmission, thus decreasing the glucocorticoid hormone and eliminating one of wound healing inhibiting factor.

Objective: To prove the effects of ropivacaine infiltration on collagen density in wistar rats's incision wound.

Method : An experimental study was done using Randomized Post Test Only Control Group Design. 15 rats divided into 3 groups, K Group as control group, P1 Group is allocated with an incision and infiltration of 0,9% NS on the wound's surrounding tissue, P2 Group is allocated with an incision and infiltration of Ropivacaine. Samples were taken from the three groups on 5th day and getting histopathological examination to assess collagen density. Data distribution tested with Saphiro-Wilk, then followed by differensial test using Kruskal Wallis and Mann-Whitney Test.

Result : Kruskal Wallis test on collagen density of the three study group resulted in P value = 0,07. Mann-Whitney test on P1 to P2 study group resulted in p = 0,011, P1 to control study group resulted in p = 0,008, and P2 to control study group resulted in p = 0,242.

Conclusion : There is a significant difference in collagen density of wound tissue infiltrated with Ropivacaine versus wound tissue that is not infiltrated with Ropivacaine.

Keywords : collagen density, incision wound, ropivacaine.

ABSTRAK

Latar Belakang : Nyeri pasca bedah adalah nyeri akut yang diawali oleh kerusakan jaringan akibat tindakan pembedahan. Dalam keadaan nyeri, kadar β endorfin meningkat dan mensupresi makrofag sehingga aktifitas makrofag yang dipengaruhi oleh IFN γ menurun sehingga mengganggu penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka pada umumnya dibagi atas beberapa fase yang masing-masing saling berkaitan yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Kolagen adalah komponen kunci pada fase dari penyembuhan luka. Infiltrasi anestetik lokal seperti ropivakain mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri, sehingga menurunkan sekresi hormon glukokortikoid dan menghilangkan salah satu faktor penghambat penyembuhan luka.

Tujuan : Membuktikan pengaruh pemberian infiltrasi anestetik lokal Ropivakain terhadap tampilan kolagen pada luka operasi tikus Wistar.

Metode : Dilakukan penelitian eksperimental dengan desain Randomized Post Test Only Control Group. Sebanyak 15 ekor tikus wistar dibagi menjadi 3 kelompok, kelompok K sebagai kontrol, Kelompok P1 diberi luka insisi dan infiltrasi Nacl 0,9% disekitar luka, Kelompok P2 diberi luka insisi dan infiltrasi Ropivakain disekitar luka. Ketiga kelompok diambil sampel dari jaringan luka pada hari ke 5 kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi untuk menilai kepadatan kolagen. Distribusi data diuji dengan Shapiro Wilk. Dilanjutkan dengan Uji beda Kruskal Wallis dan Mann Whitney.

Hasil : Hasil uji Kruskal Walis kepadatan kolagen pada ketiga kelompok didapatkan nilai $P = 0,07$. Hasil Uji Mann Whitney P1 terhadap P2 nilai $p = 0,011$, P1 terhadap kontrol nilai $p = 0,008$, P2 terhadap kontrol nilai $p = 0,242$.

Kesimpulan : Terdapat perbedaan bermakna kepadatan kolagen jaringan luka yang diberi infiltrasi Ropivakain dibandingkan yang tidak diberi infiltrasi Ropivakain.

Kata kunci : kepadatan kolagen, luka insisi, ropivakain.

PENDAHULUAN

Nyeri pasca bedah adalah nyeri akut yang diawali oleh kerusakan jaringan akibat tindakan pembedahan. Nyeri akut tidak menguntungkan bagi penderita seperti kegelisahan, perubahan hemodinamik, gangguan pernafasan, retensi urin, ileus dan lain-lain. Keadaan tersebut mengakibatkan

penyembuhan luka yang lambat, gangguan mobilisasi dan jangka waktu rawat di rumah sakit semakin bertambah.

Setiap pasien yang mengalami trauma berat atau post-operasi harus dilakukan penanganan nyeri yang sempurna, karena dampak dari nyeri itu sendiri akan menimbulkan *Metabolic*

Stress Respons (MSR) yang mempengaruhi sistem tubuh penderita salah satunya terjadi perubahan neuroendokrin yang memperpanjang fase katabolik, karena meningkatnya katekolamin diikuti peningkatan hormon katabolik seperti glukagon, kortikosteroid dan terjadi resistensi insulin.¹

Aktivasi sistem simpatoadrenal dan perubahan pada neuroendokrin akan mengakibatkan peningkatan kortisol, ADH, aldosteron, epinefrin/norepinefrin, hiperglikemia dan menekan sistem imun tubuh yang dampak akhirnya akan memperlambat penyembuhan luka.²

Proses penyembuhan luka pada umumnya dibagi atas beberapa fase yang masing-masing saling berkaitan yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Kolagen adalah komponen kunci pada fase dari penyembuhan luka. Segera setelah terjadi trauma jaringan, paparan kolagen *fibriler* ke darah akan menyebabkan agregasi dan aktivasi trombosit dan melepaskan faktor-faktor kemotaksis yang memulai proses penyembuhan luka. Fragmen-fragmen kolagen melepaskan kolagenase leukositik untuk menarik fibroblas ke daerah trauma jaringan. Selanjutnya kolagen menjadi pondasi untuk matriks ekstraseluler yang baru.²

Dalam keadaan nyeri, kadar β endorfin yang disekresi kelenjar pituitari meningkat dan mensupresi makrofag sehingga aktifitas makrofag

yang dipengaruhi oleh IFN γ menurun. Penurunan aktivitas makrofag ini akan berakibat aktivitas sitokin yang dilepaskan oleh makrofag seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, TGF β menurun. Penurunan beberapa faktor pertumbuhan ini akan berakibat hambatan penyembuhan luka. Pada keadaan nyeri juga terjadi peningkatan hormon kortisol dan menghambat faktor pertumbuhan lain yaitu IL-1 yang bekerja menstimuli sel untuk pembentukan prokolagenase guna proses kolagenase.³

Nyeri merupakan stresor yang memicu timbulnya gejala klinis patofisiologis, memicu modulasi respon imun, sehingga menyebabkan penurunan sistem imun yang berakibat pemanjangan proses penyembuhan luka.⁴ Nyeri bila tidak dikelola dengan tepat akan berakibat memperpanjang fase katabolik berupa peningkatan glukagon, kortikosteroid dan resistensi insulin. Peningkatan hormon glukokortikoid menjadi salah satu faktor sistemik yang menghambat proses penyembuhan luka.⁵

Infiltrasi anestesi lokal ropivakain mengurangi intensitas nyeri dengan menghambat jalur transmisi impuls nyeri, sehingga menurunkan sekresi hormon glukokortikoid dan menghilangkan salah satu faktor penghambat penyembuhan luka. Penelitian yang dilakukan pada hewan dan manusia menunjukkan bahwa efek toksik ropivakain lebih sedikit

dibandingkan dengan bupivakain.⁶

METODE

Penelitian eksperimental dengan desain *Randomized Post test only control group design* menggunakan tikus Wistar galur murni. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dan Laboratorium Patologi Anatomi Waspada Semarang.

Hewan coba dibagi secara acak menjadi 3 kelompok yaitu: Kelompok K (kontrol), tidak dilakukan luka insisi dan tidak diberi infiltrasi ropivakain; Kelompok P1 dilakukan insisi luka sepanjang 2 cm dan infiltrasi sekitar jaringan luka dengan NaCl 0,9%; Kelompok P2 dilakukan insisi luka sepanjang 2 cm dan infiltrasi sekitar jaringan luka dengan ropivakain 2,52 mg.

Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel jaringan luka pada hari ke 5 untuk dihitung kepadatan kolagen melalui pemeriksaan histopatologis. Preparat dibuat dengan pewarnaan HE dan thricrom kemudian dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop.

HASIL

Telah dilakukan penelitian pada hewan coba mengenai perbedaan tampilan kolagen di sekitar luka insisi pada tikus Wistar yang diberi infiltrasi anestesi lokal Ropivakain dan yang tidak diberi infiltrasi Ropivakain.

Hewan coba yang digunakan adalah 15 ekor tikus *Wistar*, umur kurang lebih 2-2,5 bulan, dengan berat badan 250-300 gram yang dibagi menjadi 3 kelompok (K, P1 dan P2).

Dari hasil uji normalitas data dengan menggunakan uji shapiro-wilk didapatkan untuk kelompok K mempunyai nilai $p < 0,05$ dan dari hasil uji homogenitas uji lavene didapatkan nilai $p < 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data tidak normal dan tidak homogen, untuk uji selanjutnya menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan Mann Whitney.

Dari uji Kruskal Wallis didapatkan nilai $p < 0,05$ atau signifikan yang berarti ada perbedaan yang bermakna dari ketiga kelompok perlakuan tersebut.

Dari tabel uji Mann Whitney didapatkan kelompok P1 signifikan terhadap kelompok P2 dan kelompok K yang artinya ada perbedaan yang bermakna antara perlakuan kelompok P1 terhadap kelompok K. Sedangkan untuk kelompok P2 tidak signifikan terhadap K.

PEMBAHASAN

Terdapat perbedaan yang bermakna dari tampilan kolagen antara kelompok K, Kelompok P1, dan kelompok P2. Pada kelompok kontrol tampilan kolagen nya lebih tinggi dibanding kelompok P1 dan P2 yang

membuktikan bahwa rangsang nyeri berpengaruh terhadap tampilan kolagen, hal tersebut dikarenakan bahwa kadar kortisol akan menghambat sintesis kolagen.⁷

Kepadatan kolagen antara kelompok P1 dan P2 terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,011$). Infiltrasi Ropivakain mampu mengatasi nyeri akut atau nyeri hebat karena insisi pembedahan pada punggung tikus sehingga β endorfin yang dilepaskan oleh pituitari kadarnya tidak terlalu tinggi. Pada akhirnya akan merangsang produksi sitokin dan faktor pertumbuhan yang berperan meningkatkan kolagenasi.

Hal tersebut diatas sesuai dengan teori sintesis kolagen, dimana sintesis kolagen dimulai pada hari ke 3 setelah perlukaan dan berlangsung cepat pada minggu ke 2 – minggu ke 4. Pengambilan sampel pada percobaan ini dilakukan pada hari ke 5 sehingga sintesis kolagen belum mencapai puncaknya. Sintesis kolagen dengan kecepatan yang tinggi terjadi selama waktu 6 bulan sampai dengan 1 tahun untuk kembali lagi ke jaringan normal. Kekuatan akhir penyembuhan luka tetap kurang jika dibandingkan jaringan yang tidak pernah mengalami luka, dengan kekuatan jaringan parut hanya 70% dari jaringan normal.

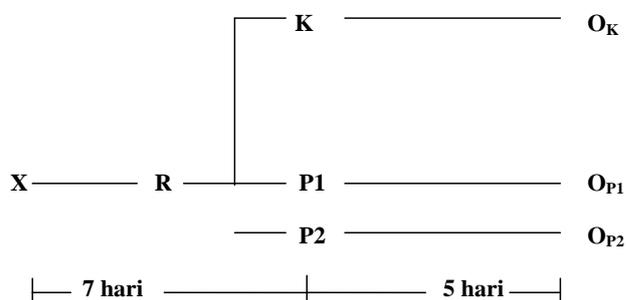
Ropivakain adalah obat anestesi lokal dengan durasi lama, termasuk golongan amid (CONH-) yang pertama kali diproduksi sebagai enansiomer

murni.

Ropivakain menghasilkan efek yang mirip dengan anestesi lokal lainnya melalui penghambatan reversibel dari masuknya ion natrium dalam serat saraf. Mekanisme aksi sama dengan bupivakain atau obat anestesi lokal lain. Apabila MLAC (*minimum local analgesic concentration*) tercapai, obat akan melingkupi membran akson sehingga memblok kanal natrium dan akan menghentikan transmisi impuls saraf. Ropivakain dapat digunakan untuk anestesi epidural, subaraknoid, blok pleksus brakialis, blok supra dan infra klavikuler, blok interkostal dan interskalenus, blok saraf perifer, blok peribulber dan retrobulber, infiltrasi lokal, analgesi obstetri, pengelolaan nyeri setelah operasi, pengelolaan nyeri akut dan kronis.^{8,9}

Nyeri adalah pengalaman sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan atau keadaan yang cenderung merusak jaringan. Luka irisan bedah termasuk nyeri klinis. Pada nyeri klinis terjadi perubahan kepekaan sistem saraf terhadap rangsang nyeri, sebagai akibat kerusakan jaringan yang disertai proses inflamasi, terlokalisir, hilang bila inflamasi dan jaringan sembuh. Nyeri klinis termasuk nyeri akut, yaitu reaksi sensoris sistem nosiseptif mendadak yang merupakan sinyal mekanisme pertahanan tubuh. Nyeri dan cemas

Skema Penelitian



Keterangan :

X - R = Aklimatisasi (masa adaptasi selama 1 minggu)

R = Randomisasi

K = kelompok kontrol tikus wistar yang tidak dilakukan insisi luka dan tidak diberi infiltrasi ropivakain.

P1 = kelompok perlakuan 1, tikus wistar yang diberikan luka insisi sepanjang 2 cm tanpa diberikan infiltrasi ropivakain dan diberikan suntikan dengan Nacl 0,9%.

P2 = kelompok perlakuan 2, tikus wistar yang diberikan luka insisi sepanjang 2 cm dan diberikan infiltrasi ropivakain dengan dosis 2,52 mg sebelum luka insisi dijahit.

OK = Observasi perlakuan kelompok tikus yang tidak dilakukan luka insisi sepanjang 2 cm dan tidak diberi infiltrasi ropivakain.

OP1 = Observasi perlakuan kelompok tikus yang diberikan luka insisi sepanjang 2 cm tanpa diberikan infiltrasi ropivakain dan disuntikan dengan Nacl 0,9 %.

OP2 = Observasi perlakuan kelompok tikus yang diberikan luka insisi sepanjang 2 cm dan diberikan infiltrasi ropivakain infiltrasi dengan dosis 2,52 mg.

Tabel 1.1 Hasil Normalitas Data

Kelompok	Mean ± SD	Median	Normalitas	Homogenitas
		(min – maks)		
P1	1,16 ± 0,17	1,2 (1 – 1,4)	0,314	
P2	2,28 ± 0,61	2,4 (1,4 – 3)	0,940	0,032
K	2,68 ± 0,18	2,8 (2,4 – 2,8)	0,046	

Tabel 1.2 Uji Beda Kepadatan Kolagen pada 3 Kelompok Penelitian.

Kelompok	Median (min – maks)	P
P1	1,2 (1 – 1,4)	
P2	2,4 (1,4 – 3)	0,007*
K	2,8 (2,4 – 2,8)	

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Tabel 1.3 Uji Beda Kepadatan Kolagen Antar Kelompok.

Kelompok	P2	K
P1	0,011*	0,008*
P2	–	0,242

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

secara langsung dapat menimbulkan stres pada sistem imun, atau lewat peptida hipotalamik, kelenjar pituitari dan katekolamin sebagai produk cabang simpatis.

Penyembuhan luka adalah proses yang kompleks dan berkesinambungan. Hemostasis atau penghentian perdarahan adalah proses pertama dalam proses penyembuhan luka. Trombosit dan faktor-faktor pembekuan merupakan faktor hemostatik intravaskuler yang utama. Kolagen merupakan agen hemostatik yang sangat efisien, sebab trombosit melekat pada kolagen, membengkak dan melepaskan substansi yang

memulai proses hemostasis.

Remodelling kolagen selama fase maturasi tergantung pada berlangsungnya sintesis kolagen dan adanya degradasi kolagen. Kolagenase dan metalloproteinase di dalam luka membuang kelebihan kolagen sementara sintesis kolagen yang baru tetap. Selama *remodelling*, kolagen menjadi lebih terorganisir. Fibronectin secara bertahap menghilang dan asam hialuronidase dan glikosaminoglikan diganti tempatnya oleh proteoglikan. Air diserap dari *scar*. Pada saat ini serabut-serabut kolagen menutup bersama, menyebabkan kolagen *cross-linking* dan akhirnya mengurangi

ketebalan *scar*. Kolagen intermolekul dan intramolekul *cross-link* menghasilkan peningkatan kekuatan luka. Dalam penelitian ini variabel yang dipakai untuk menilai proses penyembuhan luka adalah tampilan kolagen, karena kolagen dipandang memegang peranan yang sangat penting pada setiap tahap proses penyembuhan luka. Kolagen mempunyai kemampuan antara lain homeostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang pada proliferasi epidermis.

Pemberian infiltrasi ropivakain di daerah sekitar luka insisi pada tikus *Wistar* ternyata mampu meningkatkan sintesis kolagen yang ditandai dengan meningkatnya tampilan kolagen pada tikus *Wistar* kelompok P2 dibanding dengan tikus *Wistar* pada kelompok P1. Dengan pemberian ropivakain ini, fase inflamasi akan dipersingkat sehingga fase proliferasi dan maturasi segera terjadi dan akan mempercepat dimulainya sintesis kolagen. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi, yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan

longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronektin dan asam hialuronik. Peningkatan jumlah fibroblas pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Fibroblas merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. Fibroblas juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ke 3. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Penumpukan kolagen pada saat awal terjadi berlebihan kemudian fibril kolagen mengalami reorganisasi sehingga terbentuk jaringan reguler sepanjang luka.

Hal ini didukung beberapa penelitian sebelumnya, Pada operasi hernia, infiltrasi ropivakain terbukti menurunkan nyeri pasca operasi yang ditunjukkan dengan skoring nyeri yang lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan infiltrasi ropivakain.¹⁰ VAS pada pasien pasca operasi tiroidektomi yang diberikan infiltrasi ropivakain lebih rendah daripada yang tidak mendapatkan infiltrasi ropivakain.¹¹ Penelitian lain yang membandingkan efek bupivacain, lidokain dan tramadol secara infiltrasi terhadap penyembuhan luka

menunjukkan bahwa skoring edema jaringan dan vaskuler dengan pemberian lidokain dan bupivakain lebih tinggi dibandingkan tramadol. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Bambang yang menyebutkan bahwa dengan infiltrasi levobupivakain tampilan kolagen pada luka insisi lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan infiltrasi levobupivakain.¹³

Dengan keterbatasan dalam penelitian ini, masih diperlukan penelitian lebih lanjut dengan observasi yang lebih lama lagi untuk waktu pengambilan sampel biopsi yang disesuaikan dengan waktu sintesis kolagen yang maksimal.

SIMPULAN

Hasil analisis kepadatan kolagen menunjukkan perbedaan yang bermakna kepada kelompok yang diberikan infiltrasi ropivakain sehingga dapat memfasilitasi luka penyembuhan operasi yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mercandetti M, Cohen A. Wound healing, healing and repair. EMedicine (cited 2002 Oct 7). Available from: URL: <http://www.eMedicine.com/Inc>
2. Wound healing. Available from: URL:<http://www.orthoteers.co.uk/Nrujpij331m/orthwound.htm>

3. Collagen Role. Biocore's collagen by increasing the concentrations of cellular and non cellular elements including fibroblast and growth factor. Diunduh 25 Agustus 2015. Tersedia dari : URL: <http://www.cyberadsstudio.com/envy/healing.htm>
4. McCrae AF, Mc Clure JH, Jozwiak H. Comparison of ropivacaine and bupivacaine in extradural analgesia for the relief of pain in labour. Br Anaesth 1995; 74 : 261-5
5. Ike SM Redjeki. Pengelolaan nyeri pascabedah. 1st National Congress Indonesian Pain Society ; 2001;58 – 62
6. Ronald D. Miller, Lars I Eriksson. Anesthetic Pharmacology : Local Anesthesia Millers Anesthesia. Seventh edition. 2009.
7. Vintar N, Pozlep G, Rawal N. Incisional self-administration of bupivacaine or ropivacaine provides effective analgesia after inguinal hernia repair. CJA. 2002 ; 49: 481-6
8. Hollmann , Markus W, Durieux E, Local anesthetics and the inflammatory response : A new therapeutic indication ?. Anesthesiology. 2000; 93 : 858-75
9. Collagen and the wound healing process. Available from :URL:<http://www.woundheal.com>
10. Kyung Ho K, Kim BS, Kang H. The Benefits Of Preincision Ropivacaine Infiltration For Reducing PostoperativenPain After Robotic Bilateral Axillo-breast Approach Thyroidectomy: A Prospective, Randomized, Double Blind, Placebo

- Controlled Study. *Annals Of Surgical Treatment and Research*. 2015 Apr; 88 (4): 193-199
11. Hanci V, et all. Comparison Of The Effects Of Bupivacaine, Lidocaine, and Tramadol Infiltration On Wound Healing In Rats. *Rev Bras Anesthesiol* 2012 Nov-Dec; 62(6): 799-810
12. Bambang T. Perbedaaas Tampilan Kolagen Di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Wistar Yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan Yang Tidak Diberi Levobupivakain Suatu Studi Histokimia [tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro. 2005