



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PNBP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2007

**STRATEGI PENGHAMBATAN Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK)
PADA NYERI INFLAMASI DENGAN SB 203580 DAN PD 98059
PADA HEWAN COBA MENCIT**

Peneliti:

Bambang S. Zulkarnain, M.Clin.Pharm.
Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D.
Dra. Yulistiani, M.Si., Apt.

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh DIPA Penerimaan Negara Bukan Pajak
Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2007
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4960/J03/PG/2007
Tanggal 4 Juni 2007
Nomor Kontrak 678/J03.2/PG/2007
Tanggal 7 Juni 2007
Nomor Urut: 33

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

November, 2007

IR
UNIVERSITAS AIRLANGGA

IR
UNIVERSITAS AIRLANGGA

IR
UNIVERSITAS AIRLANGGA



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PNBP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2007

**STRATEGI PENGHAMBATAN Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK)
PADA NYERI INFLAMASI DENGAN SB 203580 DAN PD 98059
PADA HEWAN COBA MENCIT**

Peneliti:

**Bambang S. Zulkarnain, MClín.Pharm.
Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D.
Dra. Yulistiani, M.Si., Apt.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh DIPA Penerimaan Negara Bukan Pajak
Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2007
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4960/J03/PG/2007
Tanggal 4 Juni 2007
Nomor Kontrak 678/J03.2/PG/2007
Tanggal 7 Juni 2007
Nomor Urut: 33

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

November, 2007



IR - UNIVERSITAS AIRLANGGA

UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995247, 5995248 Fax. (031) 5962066

Website : <http://lppm.unair.ac.id> - Email : infolemlit@unair.ac.id

IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

- | | | | | | |
|----|--------------------------------|---|--|----------------------------------|---------------------------------------|
| 1. | Judul Penelitian | : | STRATEGI PENGHAMBATAN <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i> (MAPK) PADA NYERI INFLAMASI DENGAN SB 203580 DAN PD 98059 PADA HEWAN COBA MENCIT | | |
| | a. Macam Penelitian | : | <input type="checkbox"/> Fundamental | <input type="checkbox"/> Terapan | <input type="checkbox"/> Pengembangan |
| | b. Katagori Penelitian | : | <input type="checkbox"/> I | <input type="checkbox"/> II | <input type="checkbox"/> III |
| 2. | Kepala Proyek Penelitian | : | | | |
| | a. Nama lengkap dan Gelar | : | Bambang Subakti Zulkarnain, S.Si., M.Clin.Pharm. | | |
| | b. Jenis Kelamin | : | Laki-Laki | | |
| | c. Pangkat/Golongan/NIP | : | Penata / IIIc / 132230979 | | |
| | d. Jabatan Sekarang | : | Lektor | | |
| | e. Fakultas/Puslit/Jurusan | : | Farmasi | | |
| | f. Univ./Ins/Akademi | : | Universitas Airlangga | | |
| | g. Bidang ilmu yang diteliti | : | Biomedik Farmasi | | |
| 3. | Jumlah Tim Peneliti | : | 3 (Tiga) orang | | |
| 4. | Lokasi Penelitian | : | Fakultas Farmasi Universitas Airlangga | | |
| 5. | Kerjasama dengan Instansi Lain | : | | | |
| | a. Nama Instansi | : | - | | |
| | b. A l a m a t | : | - | | |
| 6. | Jangka waktu penelitian | : | 5 (Lima) bulan | | |
| 7. | Biaya yang diperlukan | : | Rp 7.500.000,- (Tujuh Juta Lima Ratus Ribu Rupiah) | | |

Surabaya,



Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor

Kontra Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga,

Prof. Dr. Bambang Sektiari Lukiswanto, DEA., drh.
NIP 131 837 004

RINGKASAN**STRATEGI PENGHAMBATAN *MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE* (MAPK) PADA NYERI INFLAMASI DENGAN SB 203580 DAN PD 98059 PADA HEWAN COBA MENCIT**

Bambang Subakti Zulkarnain, Junaidi Khotib, Yulistiani, tahun 2007, 47 halaman

Nyeri merupakan rasa atau pengalaman yang menyakitkan karena adanya kerusakan jaringan atau adanya potensi kerusakan jaringan. Lebih dari 90% penyakit selalu disertai oleh rasa nyeri dimana 40% kasus berkembang pada nyeri kronik atau nyeri neuropati. Nyeri inflamasi yang merupakan salah satu nyeri kronik dapat menimbulkan gejala allodynia ataupun hyperalgesia. Saat ini dan masa yang akan datang, penderita nyeri akan terus meningkat namun tanpa disertai dengan pilihan terapi yang optimal. Tata laksana penanganan nyeri WHO masih belum dapat mengatasi nyeri secara meneluruh dan strategi terapi masih difokuskan pada blokade ikatan ligan reseptor penghantaran nyeri. Pengembangan anti nyeri ke arah molekuler sangat diperlukan untuk mengatasi hal ini.

Proses penghantaran nyeri tingkat molekuler melibatkan salah satunya adalah melibatkan aktivasi dari MAP kinase oleh mediator-mediator inflamasi. Dimana aktivasi dari MAP kinase ini akan memfasilitasi terjadinya *upregulation* dari COX-2 dan produksi prostaglandin melalui jalur Erk1/2 dan p38. Pemberian inhibitor spesifik pada kedua jalur tersebut akan dapat menghambat terjadinya nyeri inflamasi pada tingkat molekuler. PD 98059 merupakan inhibitor spesifik MAP kinase Erk1/2 dan SB 203580 merupakan inhibitor spesifik MAP kinase p38.

Terjadinya nyeri inflamasi dilakukan dengan menggunakan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) yang diinjeksikan secara intraplantar. Nyeri inflamasi yang terjadi diamati selama 7 hari. Efektivitas kedua senyawa tersebut diatas dalam menghambat nyeri dilakukan dengan menggunakan metode yaitu *hot plate test*. Inhibitor MAP kinase PD 98059 dan SB 203580 dengan dosis 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol diberikan secara intratekal selama 7 hari berturut-turut setelah injeksi intraplantar CFA. Respon *hyperalgesia* diukur pada hari ke 0, 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14 dan 21.

KINERJA

KADANYERINIBARASIDENGANRISIKODANPADAHTAWAN
COBAZINON

Bambang Sulah Zulkarnain, Tamaidi Khotib, Yulianisri, tahun 2007, 47 halaman

Proses metabolisme zat gizi dalam tubuh merupakan salah satu proses yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses metabolisme adalah ketersediaan zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh. Salah satu zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh adalah asam lemak esensial. Asam lemak esensial adalah asam lemak yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh manusia dan harus diperoleh dari makanan. Salah satu jenis asam lemak esensial adalah asam lemak omega-3. Asam lemak omega-3 memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, terutama bagi kesehatan jantung. Salah satu sumber asam lemak omega-3 adalah ikan. Ikan mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis ikan yang kaya akan asam lemak omega-3 adalah ikan salmon. Ikan salmon mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis asam lemak ikan adalah asam lemak omega-3. Asam lemak omega-3 memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, terutama bagi kesehatan jantung. Salah satu sumber asam lemak omega-3 adalah ikan. Ikan mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis ikan yang kaya akan asam lemak omega-3 adalah ikan salmon. Ikan salmon mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis asam lemak ikan adalah asam lemak omega-3.

Proses metabolisme zat gizi dalam tubuh merupakan salah satu proses yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses metabolisme adalah ketersediaan zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh. Salah satu zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh adalah asam lemak esensial. Asam lemak esensial adalah asam lemak yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh manusia dan harus diperoleh dari makanan. Salah satu jenis asam lemak esensial adalah asam lemak omega-3. Asam lemak omega-3 memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, terutama bagi kesehatan jantung. Salah satu sumber asam lemak omega-3 adalah ikan. Ikan mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis ikan yang kaya akan asam lemak omega-3 adalah ikan salmon. Ikan salmon mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis asam lemak ikan adalah asam lemak omega-3.

Proses metabolisme zat gizi dalam tubuh merupakan salah satu proses yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses metabolisme adalah ketersediaan zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh. Salah satu zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh adalah asam lemak esensial. Asam lemak esensial adalah asam lemak yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh manusia dan harus diperoleh dari makanan. Salah satu jenis asam lemak esensial adalah asam lemak omega-3. Asam lemak omega-3 memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, terutama bagi kesehatan jantung. Salah satu sumber asam lemak omega-3 adalah ikan. Ikan mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis ikan yang kaya akan asam lemak omega-3 adalah ikan salmon. Ikan salmon mengandung asam lemak omega-3 dalam bentuk asam lemak ikan. Salah satu jenis asam lemak ikan adalah asam lemak omega-3.

Nyeri inflamasi berhasil dilakukan dengan menggunakan injeksi intraplantar CFA dimana hal ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan waktu ketahanan terhadap stimulus panas secara bermakna kelompok injeksi CFA dibandingkan dengan kelompok yang mendapatkan injeksi intraplantar NS ($F_{(1,32)}=13,668$; $p=0,001$). Hyperalgesia yang merupakan pertanda nyeri kronik ditunjukkan dengan menurunnya waktu ketahanan terhadap stimulus panas.

Pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 dan SB 203580 diberikan secara intratekal dengan dosis 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol setelah 7 hari pemberian CFA. Pemberian inhibitor PD 98059 pada dosis 0,1 dan 1,0 nmol kelompok injeksi CFA menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna dengan kelompok injeksi CFA yang mendapatkan plasebo ($p=0,059$ untuk dosis 0,1 nmol dan $p=0,101$ untuk dosis 1,0 nmol) dalam hal peningkatan waktu ketahanan terhadap hot plate test. Hal sebaliknya ditunjukkan dengan pemberian dosis 5,0 nmol yang menunjukkan peningkatan waktu ketahanan terhadap hot plate test yang bermakna dibandingkan kelompok injeksi plasebo ($F_{(3,26)}=6,881$; $p=0,001$). Pada inhibitor MAP kinase SB 203580 memperlihatkan bahwa pemberian SB 203580 dosis 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol pada kelompok injeksi CFA menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan kelompok injeksi CFA yang mendapatkan plasebo ($F_{(3,25)}=4,934$; $p=0,002$ untuk dosis 0,1 nmol; $p=0,001$ untuk dosis 1,0 nmol dan $p=0,039$ untuk dosis 5,0 nmol) dalam peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas. Peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas menunjukkan bahwa pemberian kedua inhibitor PD 98059 dan SB 203580 memberikan efek terhadap penghambatan perkembangan nyeri yang ditunjukkan dengan adanya pengurangan keadaan *hyperalgesia*.

Dalam penelitian ini terlihat bahwa penghambatan nyeri dengan menggunakan PD 98059 dan SB 203580 pada keadaan nyeri inflamasi bersifat parsial. Hal ini dapat dipahami karena masing-masing inhibitor bekerja secara spesifik pada jalur tertentu pada jalur MAP kinase sedangkan jalur aktivasi nyeri inflamasi bersifat kompleks. Walaupun demikian, dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian inhibitor MAP kinase Erk1/2 dan p38 dapat mengatasi nyeri inflamasi.

bagi orang-orang yang lain yang:

bersifat: a. orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah dari orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi; b. orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah dari orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi; c. orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah dari orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi.

dan lain-lain yang dapat diartikan sebagai berikut:

yang dimaksud dengan orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah adalah orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah dari orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi. Yang dimaksud dengan orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi adalah orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi dari orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah.

dan lain-lain yang dapat diartikan sebagai berikut: yang dimaksud dengan orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah adalah orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih rendah dari orang-orang yang dianggap sebagai orang-orang yang mempunyai kedudukan yang lebih tinggi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan. Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada :

1. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Unair yang telah menyediakan dana DIPA UNAIR tahun 2007 untuk melaksanakan penelitian dengan baik.
2. Pimpinan Fakultas Farmasi Unair dan Kepala Bagian Ilmu Biomedik Farmasi Fakultas Farmasi Unair yang telah memberikan fasilitas penelitian.
3. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.

Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat atas segala kebaikan dan bantuan yang diberikan. Kami berharap semoga penelitian ini memberikan informasi yang bermanfaat.

Surabaya, November 2007

Penyusun

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Nyeri	5
2.2. Inflamasi.....	5
2.3 Penatalaksanaan nyeri	6
2.4 Mitogen Activated Protein kinase (MAP).....	7
2.5 SB 203580 dan PD 98059.....	9
2.6. Model Nyeri Inflamasi Pada Hewan Coba.....	10
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
3.1 Tujuan Penelitian	11
3.2 Manfaat Penelitian.....	11
BAB IV BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN	12
4.1 Bahan.....	12
4.2 Alat.....	12
4.3 Metode Penelitian.....	12
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	15
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	25
6.1 Kesimpulan	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi dan tata nama <i>MAP kinase</i>	8
Tabel 5.1 Waktu ketahanan mencit yang mendapatkan injeksi intraplantar CFA.....	15
Tabel 5.2 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.....	16
Tabel 5.3 Nilai <i>p</i> uji <i>two way</i> ANOVA pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 pada waktu ketahanan mencit yang mengalami inflamasi.....	17
Tabel 5.4 Nilai <i>p</i> uji <i>one way</i> ANOVA pada tiap hari pengukuran setelah diberikan inhibitor MAP kinase PD 98059.....	18
Tabel 5.5 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase SB 203580 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.....	18
Tabel 5.6 Nilai <i>p</i> uji <i>two way</i> ANOVA pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase SB 203580 pada waktu ketahanan mencit yang mengalami inflamasi.....	19
Tabel 5.7 Nilai <i>p</i> uji <i>one way</i> ANOVA pada tiap hari pengukuran setelah diberikan inhibitor MAP kinase SB 203580.....	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Jalur <i>MAP kinase cascade</i>	7
Gambar 4.1. Diagram pengelompokan hewan coba.....	13
Gambar 5.3 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.....	17
Gambar 5.4 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase SB 203580 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas....	31
Lampiran 2. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas Hari ke-3 Setelah Injeksi.....	32
Lampiran 3. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas Hari ke-8 hingga ke-14 Setelah Injeksi PD 98059.....	33
Lampiran 4. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas Hari ke- 8 Setelah Injeksi.....	35
Lampiran 5. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas Hari ke-8 Hingga 14 Setelah Injeksi SB 203580.....	36

BAB I

PENDAHULUAN

Nyeri merupakan suatu sensasi subyektif yang tidak nyaman dan biasanya dihubungkan dengan kerusakan suatu jaringan yang bersifat aktual atau potensial (Siddal & Cousins, 1998; Page *et al*, 2002). Nyeri dapat dibedakan berdasarkan lamanya yaitu nyeri akut dan nyeri kronik. Nyeri akut terjadi selama kurang dari 3 bulan dan berhubungan dengan adanya rangsangan pada saraf nyeri (nociceptor). Sedangkan nyeri kronik sensasinya lebih dari batas tersebut atau bahkan bersifat menahun (Jennings, 2003; Harden, 2005). Nyeri kronik dapat disebabkan oleh inflamasi (*inflammatory pain state*) atau kerusakan sel saraf baik perifer maupun sentral (*neuropathic pain state*). Adanya kerusakan jaringan perifer akan mengaktivasi pelepasan mediator-mediator nyeri dan inflamasi yang akan meningkatkan sensitifitas serabut saraf C dan A-delta untuk menghantarkan rangsangan yang diterima. Pada perkembangannya, nyeri kronik yang disebabkan inflamasi akan berlanjut menjadi nyeri neuropati dan keadaan ini akan mengakibatkan rangsangan yang secara normal tidak dapat menimbulkan nyeri akan dirasakan sebagai suatu nyeri (*allodynia*) atau timbulnya suatu respon nyeri yang berlebihan (*hyperalgesia*) bila ada rangsangan nyeri yang normal (Dipiro, 2005; Harden, 2005).

Lebih dari 90% penyakit selalu disertai oleh rasa nyeri dimana 40% kasus berkembang pada nyeri kronik atau nyeri neuropati. Kondisi ini pada negara-negara maju menimbulkan masalah kesehatan karena menurunnya kualitas hidup, besarnya biaya pengobatan dan penurunan produktivitas (Bowsher, 1991; Harden, 2005; Raja *et al*, 2005; Von Kroff *et al*, 1990). Dewasa ini prevalensi terjadinya nyeri kronik semakin meningkat. Pada tahun 2003 dilaporkan bahwa di Amerika Serikat sekitar 2 juta orang menderita nyeri kronik dan meningkat menjadi 3,75 juta orang pada tahun 2005 (Foley, 2003; Harden, 2005). Peningkatan ini sangat berpengaruh terhadap jumlah anggaran yang digunakan untuk pengobatan nyeri atau diperlukan penambahan sekitar US \$100 milyar pertahunnya. Faktor lain yang menjadi sebab peningkatan prevalensi nyeri kronik adalah adanya peningkatan usia harapan hidup, dimana pada populasi usia lanjut lebih rentan menderita nyeri kronik yang bersifat kompleks. Data di Inggris pada tahun 2002 menunjukkan nyeri kronik yang terjadi pada usia lanjut (>75 tahun) sebesar 10,6% (Mallen, 2005). Nyeri kronik ini juga berkaitan erat dengan berbagai penyakit baik yang penyakit infeksi (HIV/AIDS dan Herpes

Zoster) maupun penyakit degeneratif seperti diabetes, kanker dan beberapa penyakit akibat gangguan imun sistem.

Secara fisiologis nyeri inflamasi terjadi akibat adanya rangsangan pada jalur perifer maupun jalur sentral. Rangsangan pada jalur perifer terjadi saat sel mengalami kerusakan atau terjadinya inflamasi sehingga dilepaskan mediator nyeri dan inflamasi seperti prostaglandin, serotonin, bradikinin, substansi P, ion hidrogen, histamin dan nitrit oksida. Mediator-mediator yang dilepaskan ini akan merangsang reseptor nyeri sehingga menimbulkan sensasi nyeri pada daerah yang mengalami kerusakan (*primary hyperalgesia*). Pada perangsangan jalur sentral akan mengakibatkan terjadinya *secondary hyperalgesia* dan *allodynia* yang merupakan gejala perkembangan nyeri kronik (Siddal & Cousins, 1998; Mashford, 2002).

Salah satu mekanisme yang mendasari terjadinya nyeri kronik adalah adanya peningkatan pelepasan glutamat dan aspartat dari presinap dan peningkatan kuantitas dari reseptor NMDA (*N-Methyl D-Aspartate*) dan non-NMDA pada paska sinap termasuk AMPA. Aktivasi dari reseptor NMDA dan AMPA menyebabkan pembukaan saluran ion sehingga menyebabkan peningkatan masuknya ion kalsium dan kalium ke dalam membran paska sinap. Akibatnya akan terjadi depolarisasi dan peningkatan sensitivitas reseptor nyeri. Selain itu juga terjadi aktivasi reseptor neurokinin yang mengakibatkan munculnya proses sekunder yang sangat penting pada terjadinya perkembangan respon abnormal. Aktivasi dari reseptor neurokinin ini akan menyebabkan pengaktifan dari *second messengers* yaitu fosfolipase C dan *diacylglycerol* (Siddall & Cousins, 1998).

Pelepasan glutamat sebagai mediator penghantar nyeri dalam waktu yang lama, aktivasi reseptor non-NMDA dan reseptor neurokinin secara terus menerus dapat merangsang reseptor NMDA untuk berada dalam keadaan siap diaktivasi. Aktivasi ini mengakibatkan pemindahan ion Mg^{2+} yang dalam keadaan normal mengblok kanal natrium dan kalsium serta menghambat masuknya ion Ca^{2+} . Pemindahan ion Mg^{2+} ini menyebabkan masuknya ion Ca^{2+} sehingga mengakibatkan terjadinya aktivasi *Nitric Oxide Synthetase* (NOS) dan fosfolipase C dimana kedua senyawa ini akan mengaktifasi *second messenger* (Kuno, 1995; Siddall & Cousins, 1998). Adanya ion Ca^{2+} akan mengaktifasi lima enzim yaitu 2 enzim membran fosfolipase (fosfolipase C / PLC dan fosfolipase A_2 / PLA_2) dan 3 enzim sitosolik (*calpain*, *protein kinase C* dan *calmodulin-dependent kinase*). Ca^{2+} dalam jumlah mikromolar sudah dapat menstimulasi PLC secara langsung. *Calpain* yang teraktivasi oleh

Zoster) maupun penyakit degeneratif seperti diabetes, kanker dan beberapa penyakit lainnya
gangguan umum sistem

secara fisik. Jika sistem ini tidak terdapat akibat adanya gangguan pada jalur perifer maupun
jalur sensor, gangguan pada jalur perifer terdapat dan sel mengalami kerusakan akan
terjadi gangguan fungsi dan informasi seperti yang sudah disebutkan. Mekanisme ini
sistem ini terdapat pada sistem perifer. Mekanisme ini terdapat pada sistem perifer
yang dipaparkan ini akan menunjukkan bahwa gangguan sistem perifer menunjukkan bahwa
pada daerah yang merupakan bagian dari sistem perifer. Pada gangguan pada jalur
sensor akan mengakibatkan terdapatnya gangguan sistem perifer yang
menyebabkan gejala perifer. (Rizki & Conalia, 1998, Kalsiana, 2002)

Salah satu mekanisme yang mendasari terjadinya nyeri kronik adalah adanya perubahan
pelepasan glutamat dan aspartat dan protein dan peningkatan jumlah dan ukuran
NMDA (N-methyl-D-aspartate dan non-NMDA pada pusat saraf termasuk AHA).
Amino acid reseptor NMDA dan AHA merupakan perubahan jumlah dan ukuran
menghasilkan peningkatan konsentrasi ion kalsium dan kalium ke dalam membran posts
sintap. Akibatnya akan terjadi depolarisasi dan peningkatan konsentrasi reseptor yang
ini juga terjadi akibat reseptor beroligonukleotida yang mengaktifkan mekanismenya proses
sekunder yang sangat penting pada terjadinya perkembangan abnormal. Akibat dari
reseptor, kemudian akan mengakibatkan terdapatnya gangguan sistem perifer yang
plasma (Rizki & Conalia, 1998)

Pelepasan glutamat sebagai mediator terdapat di sisi dalam waktu yang lama akibat adanya
reseptor non-NMDA dan reseptor non-NMDA akan menimbulkan suatu mekanisme dapat meningkatkan
reseptor NMDA untuk berada dalam keadaan siap diaktifkan. Akibatnya ini mengakibatkan
perubahan ion Ca^{2+} yang dalam keadaan normal terdapat dalam jumlah yang kecil
akan meningkatkan konsentrasi ion Ca^{2+} . Peningkatan ion Ca^{2+} ini mengakibatkan peningkatan
ion Ca^{2+} sehingga mengakibatkan terjadinya aktivasi WAVE (WAVE-2) dan
fosfolipase C dimana kedua senyawa ini akan mengaktifkan protein kinase C (PKC). (Rizki & Conalia, 1998)
Adanya ion Ca^{2+} akan meningkatkan jumlah ion Ca^{2+} dalam
menyebabkan terdapatnya fosfolipase C (PLC) dan fosfolipase C (PLC) akan meningkatkan jumlah
protein kinase C (PKC) dan protein kinase C (PKC) akan meningkatkan jumlah
menyebabkan terdapatnya fosfolipase C (PLC) secara langsung yang mengakibatkan

Ca^{2+} , dengan aksi proteolitiknya akan menimbulkan berbagai mekanisme seluler, salah satu aksinya adalah memodulasi protein kinase C (PKC). (Kuno, 1995). Protein kinase C yang mengalami fosforilasi akan mengaktifasi jalur MAP kinase (MAPK) (Tsuda, 2004). MAPK yang termasuk dalam keluarga serine/threonine kinase berperan dalam menyalurkan rangsangan ekstraseluler yang berpengaruh terhadap perubahan ekspresi gen serta berperan dalam berbagai kejadian seluler seperti proliferasi dan diferensiasi. Adanya ekspresi gen ini dapat mempengaruhi secara tidak langsung aktivitas elektrik pada paska sinap dalam jangka waktu yang lama (Pulves *et al*, 1997).

Pada mamalia terdapat tiga jalur MAPK yang dapat teraktivasi yaitu *extracellular signal regulated kinase 1 dan 2* (Erk 1/2), p38 dan *c-jun N terminal kinase (JNK)/stress activated protein kinase* (SAPK). Faktor pertumbuhan dapat menginduksi Erk 1/2, stress mengaktifasi p38 dan JNK serta rangsangan ekstraseluler akan meningkatkan aktifitas protein kinase melalui fosforilasi threonine dan tirosine (Nieminen *et al*, 2005). Dalam perkembangan nyeri, stimulus nyeri baik bersifat *noxious* maupun *unoxious* akan merangsang pengeluaran sitokin dan substansi-substansi lain yang memfasilitasi transmisi nyeri (Karim *et al*, 2006). Aktivasi dari MAPK (Erk1/2 dan p38) akan memfasilitasi *upregulation* ekspresi COX-2 dan produksi prostaglandin (PGE_2) yang mana kedua faktor tersebut sangat berperan dalam perkembangan terjadinya inflamasi (Nieminen, 2005). Adanya hambatan pada MAPK akan berakibat pada penghambatan siklooksigenase, lipooksigenase dan biosintesis sitokin. Beberapa penelitian melaporkan bahwa penggunaan inhibitor MAPK berefek pada penghambatan metabolisme asam arakidonat dan aktivasi platelet (Haubold *et al*, 1998). Dari berbagai mekanisme yang ada diharapkan bahwa adanya hambatan pada MAPK dengan memberikan inhibitor MAPK pada perkembangan nyeri kronik diharapkan dapat menghambat proses terjadinya nyeri inflamasi.

Selama ini penanganan nyeri hanya difokuskan pada blokade klasik dari ikatan ligan-reseptor, yang dimaksudkan untuk mengurangi input nosiseptif atau sensasi nyeri. Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, penanganan nyeri bergeser ke arah molekuler, yaitu dengan pengembangan obat yang meregulasi ekspresi gen dan secara selektif memodifikasi ekspresi dari reseptor spesifik yang terlibat dalam transmisi nosiseptif dan neuropati (Siddall & Cousins, 1998). Selain itu, pengobatan pada nyeri kronik dengan menggunakan NSAIDs (*Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs*) dan opioid tidak memberikan respon yang baik seperti halnya pada nyeri akut (Harden, 2005). Bahkan pada

penggunaan opioid secara berulang akan menyebabkan terjadinya toleransi dan ketergantungan. Beberapa obat yang digunakan untuk nyeri kronik selama ini adalah kombinasi antara analgesik atau NSAIDs dengan obat yang diindikasikan untuk penyakit lain seperti antikonvulsan, antidepresi, epilepsi atau aritmia jantung.

Berdasarkan kondisi tersebut maka diperlukan suatu strategi baru dalam pengobatan nyeri kronik terutama karena nyeri inflamasi. Salah satu obat yang dikembangkan dalam pengatasan nyeri inflamasi adalah obat yang bekerja dengan penghambatan jalur MAP kinase dengan menggunakan inhibitor seperti SB 203580 dan PD 98059.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nyeri

Nyeri merupakan suatu sensasi subyektif yang tidak nyaman dan biasanya dihubungkan dengan kerusakan suatu jaringan yang bersifat aktual atau potensial (Siddal & Cousins, 1998; Page *et al*, 2002). Pada sebagian besar pasien, sensasi nyeri ditimbulkan oleh suatu cedera atau rangsangan yang cukup kuat untuk berpotensi mencederai (berbahaya). Pada kasus cedera atau berpotensi mencederai, nyeri memiliki fungsi protektif, memicu respon terhadap stres berupa penarikan, melarikan diri dari bahaya atau imobilisasi bagian tubuh (misalnya, menarik diri dari kompor panas) (Hartwig & Wilson, 2002). Berdasarkan durasinya nyeri dapat diklasifikasikan sebagai nyeri akut dan nyeri kronik. Nyeri akut adalah nyeri yang bersifat sementara yang biasanya disebabkan oleh faktor subyektif dan obyektif. Nyeri akut biasanya bersifat terbatas dan dapat diobati dengan baik dengan menggunakan obat golongan NSAID atau opioid (Hartwig & Wilson, 2002; Harden, 2005). Nyeri kronik adalah nyeri yang berlangsung secara terus-menerus dalam jangka waktu lebih dari 6 bulan. Pada nyeri kronik akan menimbulkan berbagai perubahan yang signifikan dalam hal perilaku, gaya hidup dan kemampuan (Jennings, 2003). Pada perkembangannya, nyeri kronik yang disebabkan inflamasi akan berlanjut menjadi nyeri neuropati. Hal ini terjadi karena adanya lesi pada saraf perifer maupun saraf pusat yang disebabkan oleh sensitisasi terus-menerus dari mediator inflamasi. Nyeri neuropati secara tipikal mempunyai kualitas seperti terbakar, kesemutan atau tersengat listrik. Pasien dengan nyeri neuropati menderita akibat instabilitas susunan saraf otonom. Dengan demikian nyeri sering bertambah parah oleh adanya stress, emosi atau fisik (dingin atau kelelahan) dan mereda oleh relaksasi. Gambaran paling khas pada nyeri neuropati yang tidak dijumpai pada nyeri akibat kerusakan jaringan adalah *allodynia*. *Allodynia* adalah nyeri yang dipicu oleh rangsangan yang pada keadaan biasa tidak merugikan (Hartwig & Wilson, 2002).

2.2. Inflamasi

Proses inflamasi biasanya dibagi dalam 3 fase : inflamasi akut, respon imun, dan inflamasi kronik. Inflamasi akut merupakan respon awal terhadap cedera jaringan, hal tersebut terjadi melalui media rilisnya *autocoid* serta pada umumnya didahului oleh pembentukan repon imun. Sejumlah *autocoid* yang terlibat seperti histamin, prostaglandin, bradikinin, dsb. Respon imun terjadi bila sejumlah sel yang mampu menimbulkan kekebalan diaktifkan untuk

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nyeri

meningkatkan suatu serasi subjektif yang tidak terapan dan biasanya dihindarkan dengan tindakan suatu program yang berfokus pada aspek potensial (Cohen & Cohen, 1983; Page et al, 2002). Pada sebagian besar program, keserasi nyeri dihindarkan oleh suatu coba dan kegagalan yang cukup kuat untuk memperoleh keberhasilan (Kabat-zinn, 1982). Nyeri atau perasaan tidak nyaman memiliki fungsi protektif, memperingatkan individu terhadap stres berupa berbahaya, melindungi diri dari bahaya, atau melindungi bagian tubuh (misalnya, memukul diri dan kedinginan) (Harwig & Wilson, 2002). Berlawanan dengan nyeri yang dapat diklasifikasikan sebagai nyeri akut dan nyeri kronik (Nyeri akut adalah nyeri yang bersifat sementara yang biasanya disebabkan oleh faktor subjektif dan objektif). Nyeri akut biasanya bersifat terapan dan dapat diobati dengan baik dengan menggunakan obat-obatan (Nyeri akut (Harwig & Wilson, 2002). Nyeri kronik adalah nyeri yang berlangsung secara terus-menerus dalam jangka waktu lebih dari 6 bulan). Pada nyeri kronik, akan menyebabkan berbagai perubahan yang signifikan dalam hal perilaku, gaya hidup dan kemampuan (Lemmon, 2003). Pada perkembangan nyeri kronik yang disebabkan karena akan berujung menjadi nyeri neuropatik. Hal ini terjadi karena adanya lesi pada saraf perifer maupun saraf pusat yang disebabkan oleh sensitisasi teras-meneras dan mediator inflamasi. Nyeri non-kanon secara tidak mempunyai kualitas seperti terbakar, kesemutan atau rasa gatal lainnya. Karena dengan nyeri neuropatik penderita akan mengalami gangguan saraf otonom. Dengan demikian nyeri sering berdampak pada oleh adanya stress emosi atau fisik (kadang akan terdapat) dan mereka oleh keluhan. Kemudian paling banyak pada nyeri neuropatik yang tidak terapan pada nyeri akibat kerusakan jaringan adalah nyeri kronik (Woolf, 1983). Nyeri yang cukup oleh menggunakan suatu pada keadaan ini tidak terapan (Harwig & Wilson, 2002).

2.2. Infamasi

Proses inflamasi biasanya dibagi dalam 3 fase. Infamasi akut respon imun dan inflamasi kronik. Infamasi akut merupakan respon awal terhadap cedera jaringan dan respon inflamasi adalah proses dimana sel-sel pada jaringan yang terdapat oleh pembentukan respon imun yang melibatkan sel-sel seperti histamin, prostaglandin, bradikinin, dan respon imun adalah sel yang mampu menanggapi dan melindungi jaringan.

merespon organisme asing atau substansi antigenik yang terlepas selama respon terhadap inflamasi akut atau kronik. Respon imun ini bersifat merusak bila menjurus pada inflamasi kronik tanpa penguraian dari proses cedera yang mendasarinya. Inflamasi kronik melibatkan keluarnya sejumlah mediator yang tidak menonjol dalam respon akut. Beberapa mediator inflamasi kronik diantaranya interleukin, interferon, TNF α , dsb. Kerusakan sel yang terkait dengan inflamasi berpengaruh pada selaput membran sel yang menyebabkan leukosit mengeluarkan enzim lisosomal *arachidonic acid* kemudian dilepas dari persenyawaan yang terdahulu dan berbagai *eicosanoid* disintesis (Katzung, 2002). Berbagai kinin, neuropeptida dan histamin juga dikeluarkan ditempat cedera jaringan sebagaimana juga komponen komplemen, sitokin dan produk lain dari leukosit dan platelet. Rangsangan dari selaput neutrofil menghasilkan radikal-radikal bebas yang berasal dari oksigen. Anion superoksida dibentuk melalui reduksi dari oksigen molekuler, yang bisa merangsang produksi molekul-molekul reaktif lainnya seperti halnya hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Interaksi dari bahan-bahan ini dengan *arachidonic acid* menghasilkan pembentukan substansi-substansi kemotaksis, selanjutnya secara berkesinambungan meneruskan proses inflamasi (Katzung, 2002).

2.3. Penatalaksanaan nyeri

Mengurangi nyeri dan meminimalkan efek samping merupakan tujuan umum pemberian terapi nyeri. Terdapat dua metode umum untuk terapi nyeri yaitu metode non farmakologik dan farmakologik (Hartwig & Wilson, 2002). *Transcutaneous electrical nerve stimulation* (TENS) dan teknik akupuntur adalah dua metode non farmakologik yang sering digunakan dalam mengatasi nyeri kronik (Anonim, 2000). Pada nyeri yang bersifat kronik penanganan dengan pengeblokan secara sederhana tidaklah membantu dalam mengatasi nyeri, hal ini disebabkan karena pada nyeri kronik mempunyai beberapa mekanisme patofisiologis (Nurmiko *et al*, 1998). Karena sulitnya dalam pengontrolan nyeri maka WHO memberikan rekomendasi dalam penanganan nyeri, yang meliputi 3 tahap. Tahap pertama tata laksana terapi menurut WHO untuk mengatasi nyeri adalah pemberian parasetamol, aspirin atau NSAID (*Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs*) lain sebagai langkah pertama untuk nyeri ringan sampai sedang. Bila nyeri tetap berlangsung atau semakin meningkat dapat digunakan opioid lemah seperti codein, hydrocodon dan oxycodon yang juga direkomendasikan pada tahap kedua. Pada tahap kedua digunakan opioid dengan pemberian yang intensif yang dikombinasi dengan parasetamol atau aspirin. Pada tahap ketiga digunakan opioid untuk nyeri yang bersifat sedang dan berat yaitu morfin, oxycodon,

menyebabkan terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang masuk ke dalam saluran pernapasan bagian atas. Infeksi ini biasanya disebabkan oleh virus yang masuk ke dalam saluran pernapasan bagian atas. Gejala yang timbul antara lain demam, sakit tenggorokan, dan batuk. Pada umumnya, infeksi saluran pernapasan bagian atas akan sembuh sendiri dalam waktu beberapa hari. Namun, jika gejala berlanjut atau memburuk, diperlukan pengobatan dengan antibiotik. Menurut penelitian yang dilakukan oleh beberapa ahli kesehatan, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi antibiotik. Oleh karena itu, penggunaan antibiotik harus sesuai dengan indikasi yang diberikan oleh dokter. Selain itu, penerapan protokol pencegahan infeksi saluran pernapasan bagian atas dapat membantu mengurangi penyebaran infeksi. Protokol ini meliputi penggunaan masker, mencuci tangan dengan sabun, dan menghindari kontak langsung dengan penderita infeksi saluran pernapasan bagian atas (Kusnadi, 2002).

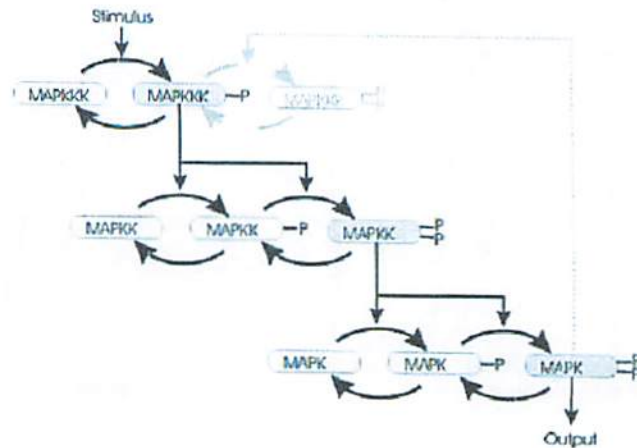
3.2.1.1. Mencegah Penyebaran Infeksi

Mencegah penyebaran infeksi saluran pernapasan bagian atas dapat dilakukan dengan menerapkan protokol pencegahan infeksi. Protokol ini meliputi penggunaan masker, mencuci tangan dengan sabun, dan menghindari kontak langsung dengan penderita infeksi saluran pernapasan bagian atas. Selain itu, penerapan protokol pencegahan infeksi saluran pernapasan bagian atas dapat membantu mengurangi penyebaran infeksi. Protokol ini meliputi penggunaan masker, mencuci tangan dengan sabun, dan menghindari kontak langsung dengan penderita infeksi saluran pernapasan bagian atas (Kusnadi, 2002). Dalam mencegah penyebaran infeksi saluran pernapasan bagian atas, peran keluarga juga sangat penting. Keluarga harus memastikan bahwa semua anggota keluarga mematuhi protokol pencegahan infeksi. Selain itu, keluarga juga harus memastikan bahwa lingkungan rumah tetap bersih dan sehat. Dengan menerapkan protokol pencegahan infeksi, diharapkan penyebaran infeksi saluran pernapasan bagian atas dapat dikendalikan dan diturunkan (Kusnadi, 2002).

hidromorfon atau fentanil. *Adjuvant* atau obat tambahan seperti antidepresan trisiklik, anti konvulsan, anastesi lokal dan steroid bisa ditambahkan untuk efikasi dan untuk memperoleh aktivitas analgesik yang spesifik berdasarkan tipe nyeri (Harden, 2005).

2.4. Mitogen Activated Protein Kinase (MAP)

Mitogen activated protein (MAP) kinase merupakan sekelompok enzim yang termasuk dalam bagian dari keluarga *serine/threonin kinase* yang merupakan bagian dari jalur sinyal transduksi yang menghubungkan faktor inflamasi berbagai sinyal ekstraseluler dari membran sel menuju nukleus dan mempengaruhi ekspresi gen (Nieminen *et al*, 2005). Jalur MAP kinase mengkoordinasi transkripsi gen, sintesis protein, siklus sel, kematian sel dan diferensiasi (Kyriakis & Avruch, 2001). MAP kinase *cascade* terdiri dari 3 kinase yaitu MAPK kinase kinase (MAKKK), MAPK kinase dan MAP kinase. Jalur ini teraktivasi oleh ikatan protein G atau oleh kinase yang lain seperti protein kinase C (PKC) sebagai input yang mengaktifkan MAKKK. MAKKK yang teraktivasi memfosforilasi MAPK pada 2 residu serin. MAPKK yang terfosforilasi ganda bekerja sebagai threonine/tyrosine kinase dan memfosforilasi MAP pada 2 *conserved loci*. MAPK utamanya bekerja sebagai kinase pada faktor transkripsi tetapi juga dapat memfosforilasi protein kinase dan fosfolipase secara langsung. Tiga langkah *cascade* ini terdapat pada semua eukariota dan memiliki fungsi yang luas dalam transduksi sinyal seperti respon stress, pengendalian siklus sel, pembentukan membran sel, osmosensing, pertumbuhan dan diferensiasi (Bluthgen & Herzelt, 2001).



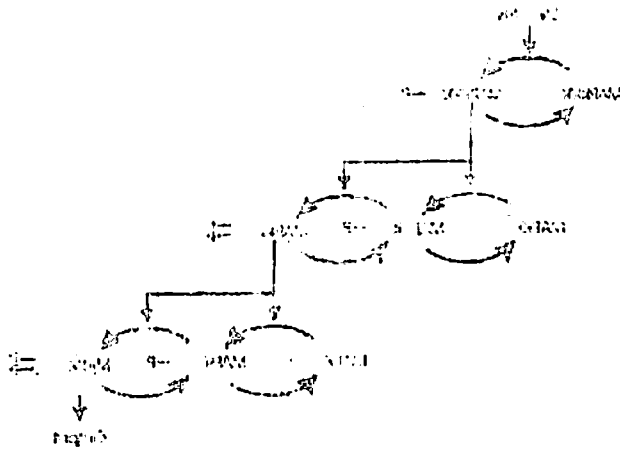
Gambar 1. Jalur *MAP kinase cascade* (Bluthgen & Herzelt, 2001)

Pada mamalia jalur MAP kinase dapat diaktivasi oleh aktivitas rangsangan berbagai keluarga reseptor yang berbeda, termasuk hormon dan faktor pertumbuhan atau reseptor sitokin ke peptida vasoaktif yang mengaktifkan ikatan protein G, tujuh reseptor

inhibitor atau koaktivator. (Bhargava & Ghosh, 2001). Analisis lokal dan global dilakukan untuk uji sel dan untuk memperoleh kualitas analisis yang lebih baik (Bhargava & Ghosh, 2001).

2.4. Analisis Jalur (Pathway Analysis) (JAI)

Analisis Jalur (Pathway Analysis) (JAI) adalah metode yang digunakan dalam bagian dari biologi molekuler yang mempelajari bagaimana molekul-molekul yang terlibat dalam jalur metabolisme dan sinyal selular berinteraksi satu sama lain. (Bhargava & Ghosh, 2001). Analisis Jalur (Pathway Analysis) (JAI) adalah metode yang digunakan dalam bagian dari biologi molekuler yang mempelajari bagaimana molekul-molekul yang terlibat dalam jalur metabolisme dan sinyal selular berinteraksi satu sama lain. (Bhargava & Ghosh, 2001). Analisis Jalur (Pathway Analysis) (JAI) adalah metode yang digunakan dalam bagian dari biologi molekuler yang mempelajari bagaimana molekul-molekul yang terlibat dalam jalur metabolisme dan sinyal selular berinteraksi satu sama lain. (Bhargava & Ghosh, 2001).



Gambar 1. Jalur Jalur (Pathway Analysis) (JAI) (Bhargava & Ghosh, 2001)

Terdapat banyak jalur JAI yang dapat digunakan oleh analisis menggunakan berbagai metode statistik yang berbeda-beda untuk menganalisis data seluler dan jaringan. (Bhargava & Ghosh, 2001). Analisis Jalur (Pathway Analysis) (JAI) adalah metode yang digunakan dalam bagian dari biologi molekuler yang mempelajari bagaimana molekul-molekul yang terlibat dalam jalur metabolisme dan sinyal selular berinteraksi satu sama lain. (Bhargava & Ghosh, 2001).

transmembran, *transforming growth factor(TGF)- β -related polipeptides*, aktivitas reseptor *Serine-Thyrosine kinase*, faktor inflamasi sitokin dari keluarga *tumor necrosis factor (TNF)* dan tekanan dari luar seperti kerusakan osmotik, ionisasi radiasi dan kerusakan iskemik (Kyriakis & Avruch, 2001).

Terdapat tiga karakteristik jalur MAPK yaitu *extracellular signal regulated kinase 1 dan 2 (Erk 1/2)*, p38 dan *c-jun N terminal kinase (JNK)/stress activated protein kinase (SAPK)*. Ada berbagai faktor yang dapat menginduksi jalur tersebut. Faktor pertumbuhan menginduksi Erk 1/2, tekanan mengaktifasi p38 dan JNK protein kinase terfosforilasi merespon konversi treonine dan tirosine dari rangsangan esktraseluler (Nieminen *et al*, 2005).

Tabel 2.1. Klasifikasi dan tata nama *MAP kinase* (Kyriakis & Avruch, 2001)

Name	Alternate Names	Substrates
ERK1	p44-MAPK	MAPKAP-K1, MNKs, MSKs, Elk1
ERK2	p42-MAPK	MAPKAP-K1, MNKs, MSKs, Elk1
SAPK- α	JNK2, SAPK1a	c-Jun, JunD, ATF2, Elk1
SAPK-p54 α 1	JNK2 β 2	
SAPK-p54 α 2	JNK2 α 2	
SAPK-p46 α 1	JNK2 β 1	
SAPK-p46 α 2	JNK2 α 1	
SAPK- β	JNK3, SAPK1b	c-Jun, JunD, ATF2, Elk1
SAPK-p54 β 1	JNK3 β 2	
SAPK-p54 β 2	JNK3 α 2	
SAPK-p46 β 1	JNK3 β 1	
SAPK-p46 β 2	JNK3 α 1	
SAPK- γ	JNK1, SAPK1c	c-Jun, Jun D, ATF2, Elk1
SAPK-p54 γ 1	JNK1 β 2	
SAPK-p54 γ 2	JNK1 α 2	
SAPK-p46 γ 1	JNK1 β 1	
SAPK-p46 γ 2	JNK1 α 1	
p38 α	SAPK2a, CSBP1	MAPKAP-K2/3, MSKs, ATF2, Elk1, MEF2C
p38 β	SAPK2b, p38-2	MAPKAP-K2/3, MSKs, ATF2
p38 γ	SAPK3 ERK3	ATF2
p38 δ	SAPK4	ATF2

Salah satu karakteristik pada nyeri kronik adalah terjadinya *allodynia*. *Allodynia* ini disebabkan karena adanya kerusakan pada saraf atau karena perangsangan yang berlangsung lama. Pada beberapa penelitian dikatakan bahwa terjadinya *allodynia* disebabkan karena adanya aktivasi dari p38MAPK yang merupakan kelompok dari MAPK (Tsuda, 2004).

Dua penyebab yang diidentifikasi dapat mengakibatkan aktivasi dari p38 α adalah stress dan IL-1 yang dapat memfosforilasi dan mengaktifkan *MAPK-activated protein kinase-1 (MAPKAP kinase-2)* (Kyriakis & Avruch, 2001). Aktivasi Raf dapat memfosforilasi MEK yang memfosforilasi Erk1 dan Erk2 pada tirosine dan treonine residu. ERKs termasuk jenis yang meregulasi meiosis dan mitosis serta deferensiasi sel, ERK juga mengintegrasikan berbagai fungsi *postmitotik*. Disamping itu, ERK

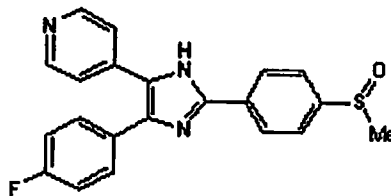
juga mempunyai peranan penting dalam mempelajari plastisitas nosiseptif pada spinal cord dan dorsal horn ganglia yang merupakan 2 bagian penting dalam sensitisasi nosiseptif. Sebagai tambahan bahwa rangsangan yang berbeda dan rangsangan elektrik yang tinggi dapat merangsang serabut C yang juga mengaktivasi ERK di spinal cord dorsal horn. Dimana serabut C merupakan bagian terpenting dalam pelepasan transmitter yang akan mengaktivasi ERK pusat pada spinal cord (Karim *et al*, 2006).

2.5. SB 203580 dan PD 98059

Inhibitor MAP kinase SB 203580 memiliki rumus kimia $C_{21}H_{16}FN_3OS$ dengan berat molekul 377,4. Nama kimia dari SB 203580 adalah 4-(4-fluorofenil)-2-(4-metilsulfonilfenil)-5-(4-piridil)1h-imidazol atau 4-(5-(4-fluorofenil)-2-(4-methanesulfinylfenil)-3,4-imidazol-4-yl)pyridine. SB 203580 merupakan inhibitor MAP kinase p38 yang selektif dengan mekanisme aksi melalui penghambatan kompetitif pada pengikatan ATP. Dasar dari penghambatan ini adalah karena struktur kristal dari p38 yaitu Thr-106 pada sisi pengikatan ATP mampu membentuk kompleks dengan atom fluorin dari SB 203580 (Kyriakis & Avruch, 2001).

Kelarutan : Larut dalam DMSO pada konsentrasi 50 mg/mL.

Penyimpanan: Pada suhu $-20^{\circ}C$, dalam bentuk larutan penyimpanan pada suhu $-20^{\circ}C$ stabil sampai 3 bulan.



Struktur SB 203580

Inhibitor MAP Kinase PD 98059 memiliki rumus kimia $C_{16}H_{13}NO_3$ dengan berat molekul 267,3. Nama kimia dari PD 98059 adalah 2-amino-3-metilflavon atau 2-(2-amino-3-metoksifenil)chrom-en-4-one. PD 98059 merupakan inhibitor MAP kinase kinase (MEK) yang poten dan selektif dengan cara memblokir aktivasi MEK sehingga menghambat fosforilasi dan aktivasi MAP kinase. PD 98059 (inhibitor jalur Erk 1/2) menekan IL-1 yang menginduksi ekspresi COX-2 dan PGE₂ (Nieminen *et al*, 2001).

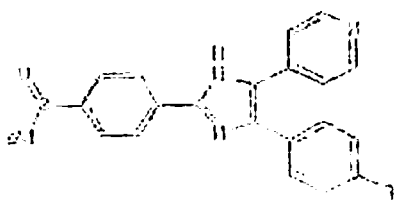
dan mempunyai peranan penting dalam mempelajari plastisitas neokorteks pada spinal cord dan dorsal horn ganglia yang merupakan 2 bagian penting dalam sensorik neokorteks. Sebagai tambahan bahwa neokorteks yang berbeda dan tanggapan listrik yang tinggi dapat menganggu serabut yang juga mengaktivasi ERK di spinal cord dorsal horn. Untuk serabut C merupakan bagian terpenting dalam tanggapan transien yang akan mengaktivasi ERK pada spinal cord (Lisman et al, 2000).

2.1. 213 307280 dan PD 98050

Inhibitor MAP kinase SB 303280 memiliki rumus kimia C₂₁H₂₇N₃O₅ dengan berat molekul 377,4. Rumus kimia lain SB 303280 adalah 4-(4-(4-fluorofenil)-2-(4-metoksifenil)-5-(4-piperidin-1-yl)-imidazol-2-yl)-piperidine. SB 303280 merupakan inhibitor MAP kinase yang selektif dengan mekanisme aksi melalui pengikatan kompetitif pada pengikatan ATP. Dalam cara penghambatan ini adalah karena struktur kimia dari SB 303280 yaitu 100 pada sisi pengikatan ATP mampu membentuk kompleks dengan sisi domain dari SB 303280 (Zinkis & Avuch, 2001).

Kandungan dalam 100 mg tablet adalah 50 mg/ml.

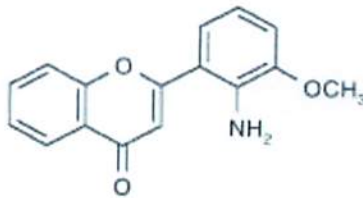
Perhitungan: pada suhu -20°C dalam bentuk larutan pengaliran pada suhu -20°C.



Struktur SB 303280

Inhibitor MAP kinase PD 98050 memiliki rumus kimia C₂₁H₂₇N₃O₅ dengan berat molekul 377,4. Rumus kimia lain PD 98050 adalah 2-amino-7-metoksifenol. SB 303280 merupakan inhibitor MAP kinase yang potes dan selektif dengan cara mengblok aktivitas ERK sehingga menghambat koleras dan aktivasi MAP kinase. PD 98050 (inhibitor jalan ERK 1, 2) memiliki H-1 yang menginduksi ekspresi COX-2 dan PGE₂ (Nishimura et al, 2001).

Kelarutan: Larut dalam DMSO pada konsentrasi 6,4 mg/mL, larut dalam konsentrasi 25 mg/mL dalam DMSO anhirat, larut dalam etanol 0,6 mg/mL.



Struktur kimia PD 98059

2.6. Model Nyeri Inflamasi Pada Hewan Coba

Penggunaan hewan coba sebagai model telah banyak dilakukan untuk mengetahui efektifitas analgesik terhadap berbagai tipe nyeri, baik untuk nyeri akut seperti yang disebabkan oleh inflamasi maupun nyeri kronik seperti yang disebabkan oleh neuropati. Untuk mengetahui efektifitas analgesik pada nyeri neuropati dapat dilakukan dengan metode *tail flick*, *hot plate* dan *paw pressure* (Eaton, 2003). Pembuatan model inflamasi pada hewan coba dapat menggunakan injeksi *Complete Freud's Adjuvant* (CFA). *Complete Freud's Adjuvant* (CFA) adalah suatu larutan antigen yang berbentuk emulsi air dalam minyak yang digunakan sebagai imunopotensiasi. CFA merupakan emulsi yang terdiri dari komponen dinding sel mikobakteri yang biasanya adalah *Mycobacterium tuberculosis*. CFA digunakan untuk meningkatkan reaksi antigen dan dapat merangsang respon imun yang lebih besar dari pada antigen itu sendiri (Anonim³, 2006). Konsentrasi mikobakteri dalam emulsi CFA adalah 0,5 mg/ml atau kurang (Haughton *et al*, 2006). Pemberian CFA harus di injeksikan secara subkutan atau intraperitoneal, sebab penggunaan secara intradermal dapat menyebabkan ulser dan nekrosis kulit. Injeksi intramuskular dapat berkembang menjadi luka yang permanen, dan injeksi secara intervena dapat menyebabkan terjadinya penyumbatan pembuluh darah (Haughton *et al*, 2006).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

1. Tujuan Penelitian

Mengetahui efektifitas SB 203580 dan PD 98059 dalam mengatasi nyeri kronik inflamasi pada model hewan coba mencit.

2. Manfaat Penelitian

- a. Mengetahui peran *Mitogen Activated Protein* (MAP) Kinase inhibitor SB 203580 dan PD 98059 pada penanganan nyeri kronik inflamasi**
- b. Mendapatkan suatu metode penanganan nyeri inflamasi yang tepat**

BAB IV**BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN****Bahan**

- Inhibitor MAP kinase
 - PD 98059 *p.a* (inhibitor *MAP kinase kinase*, Calbiochem)
 - SB 203580 *p.a* (inhibitor *MAP kinase p38*, Calbiochem)
- *Complete Freund's Adjuvant p.a* (Sigma)
- Eter (E. Merck)
- Dimethyl Sulfoxide (DMSO)
- Normal Saline Steril
- Alkohol 70%

Alat

- Alat-alat gelas
- *Hot/Cold plate* 35100 (Ugo Basile)
- Neraca analitik
- Jangka sorong
- S spuit injeksi insulin (Terumo)
- Jarum suntik 30 G (Terumo)
- Kandang mencit beserta tutupnya

Metode Penelitian**Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan subjek penelitian mencit sebanyak 64 ekor. Mencit dibagi secara random dalam 8 kelompok, masing-masing 8 ekor. Mencit ditempatkan dalam kandang dengan temperatur ruangan $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman dijaga dalam jumlah yang cukup. Sebelum diberi perlakuan mencit diadaptasikan dengan lingkungan selama satu minggu. Adapun skematik rancangan penelitian sebagai berikut:

BAB IV

DAFTAR PUSTAKA

Daftar Pustaka

- Indikator ZAP (ZAP)
- • (1993) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (2002) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)

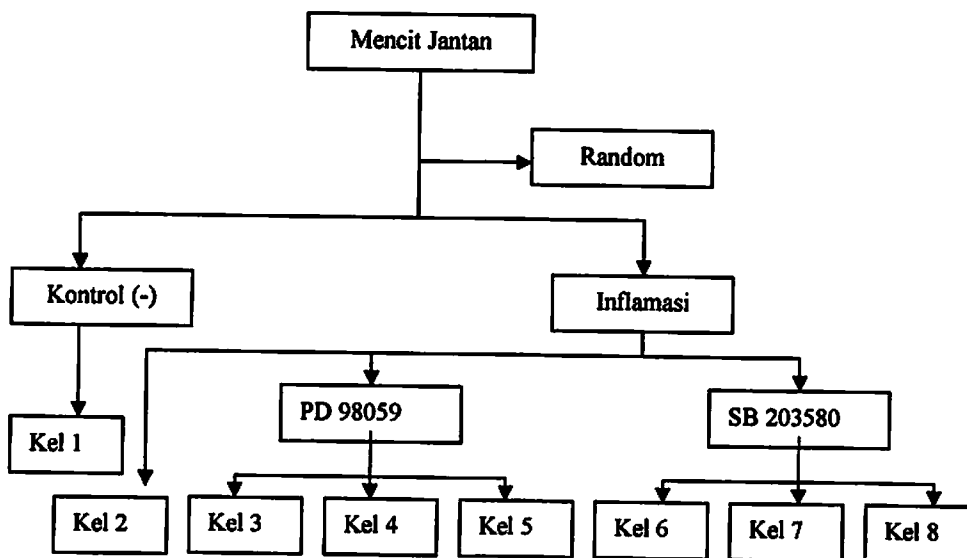
Daftar Pustaka

- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)
- • (1992) Analisis Kimia Farmasi (Jakarta: CV Citra)

Daftar Pustaka

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan objek penelitian manusia sebanyak 60 orang. Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian obat antiinflamasi non steroid (AINS) terhadap keluhan nyeri pada pasien dengan keluhan nyeri pada persendian. Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian obat antiinflamasi non steroid (AINS) terhadap keluhan nyeri pada pasien dengan keluhan nyeri pada persendian. Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian obat antiinflamasi non steroid (AINS) terhadap keluhan nyeri pada pasien dengan keluhan nyeri pada persendian.



Gambar 4.1. Diagram pengelompokan hewan coba.

Keterangan :

Kel 1: Kelompok mencit injeksi intraplantar Normal Saline

Kel 2: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi plasebo (DMSO 30%)

Kel 3: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi PD 98059 0,1 nmol

Kel 4: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi PD 98059 1,0 nmol

Kel 5: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi PD 98059 5,0 nmol

Kel 6: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi SB 203580 0,1 nmol

Kel 7: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi SB 203580 1,0 nmol

Kel 8: Kelompok mencit injeksi intraplantar CFA yang diberi SB 203580 5,0 nmol

Prosedur operasi untuk model nyeri inflamasi

Model nyeri inflamasi dengan cara dilakukan injeksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Sebelumnya mencit dianestesi dengan pemberian eter, kemudian ditempatkan pada papan bedah dengan posisi tengkurap, selanjutnya disiapkan injeksi sebanyak 0,05 mL. Injeksi dilakukan pada daerah intraplantar tungkai kaki sebelah kanan atau kiri. Jarum spuit disuntikan kedalam ruang antara kulit dan otot secara hati-hati dan perlahan-lahan. Injeksi yang dilakukan tidak boleh mencederai jaringan dibawah kulit untuk mencegah masuknya CFA kedalam pembuluh darah (efek sistemik). Keadaan inflamasi didapatkan pada hari ketiga dan akan mencapai puncaknya pada hari ke tujuh. Pada kelompok kontrol dilakukan perlakuan yang sama dengan injeksi normal saline sebagai pengganti CFA.

Pemberian PD 98059 dan SB 203580

PD 98059 dan SB 203580 dilarutkan dalam DMSO 30% sehingga didapatkan konsentrasi 10,0 nmol. Larutan PD 98059 dan SB 203580 dengan dosis 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol dibuat dengan cara mengencerkan larutan induk 10,0 nmol melalui pengenceran bertingkat.

Larutan PD 98059 dan SB 203580 disuntikan secara intratekal. Injeksi intratekal dilakukan mengikuti prosedur Hylden and Wilcox (1980). Jarum disisipkan pada ruang antar tulang belakang diantara lumbal 5 dan lumbal 6 dari korda spinalis, bila jarum sudah masuk ke coudum spinalis dengan cepat ekor mencit akan menunjukkan gerakan *flick*. PD 98059 atau SB 203580 diinjeksikan pada hari ke 7, 8, 9, 10, 11, 12 dan 13 sesudah dilakukan induksi CFA. Injeksi PD 98059 dan SB 203580 dilakukan sekali sehari dengan volume 10 μ l menggunakan jarum injeksi 30G. Adapun untuk kontrol hanya mendapatkan larutan DMSO 30% 10 μ l dengan frekuensi pemberian mengikuti kelompok perlakuan.

Evaluasi respon nyeri

Respon nyeri yang dilihat berdasarkan pengamatan visual terhadap perilaku-perilaku yaitu mendekatkan kedua tungkai ke depan, menjilat tungkai ke depan, gerakan meliuk, berusaha melompat keluar area *hot plate* dan menghentakkan tungkai belakang.

Pengujian waktu ketahanan terhadap stimulasi panas

Mencit ditempatkan pada *hot plate* yang diatur pada suhu $51 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. kemudian penghitung waktu segera diaktifkan. Perilaku mencit kemudian diamati, bila mencit telah menunjukkan respon nyeri maka penghitung waktu dimatikan dan mencit segera dikeluarkan dari *hot plate*. Besaran waktu yang didapatkan dicatat. Pengujian waktu ketahanan terhadap stimulus panas dilakukan pada hari ke 0, 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14 dan 21. *Baseline* juga ditentukan terlebih dahulu sebelum injeksi dilakukan pada hari ke-0. Evaluasi nyeri dilakukan dengan cara:

Pengukuran hiperalgesia dengan rangsangan panas (*thermal stimulus*) dengan metode *Hot Plate Test*. Hiperalgesia dengan metode *Hot Plate Test* dilakukan dengan mengamati gerakan mencit terhadap panas yang diberikan pada telapak kaki (Modifikasi Alat *Hot Plate*) dengan suhu diatur konstan $51 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Waktu 30 detik digunakan sebagai *cut off time*. Pengukuran dilakukan pada hari 0, serta hari 3, 5, 7, 9, 11 dan 14 hari setelah operasi pengikatan.

Analisa Data

Waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas pada tiap kelompok dosis dibandingkan dengan kontrol negatif dan positif dengan uji statistik pada hari ke 0, 1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14 sampai 21. Uji statistik yang digunakan adalah *two way ANOVA*. Untuk membandingkan data dari kelompok yang sama digunakan uji *paired sample t-test* sedangkan untuk membandingkan data dari kelompok yang berbeda digunakan uji *independent sample t-test*. Jika ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$), analisis statistik dilanjutkan dengan Least Square Design (LSD).

... dan ST 303250 dilakukan secara fortuitus. Uji t dilakukan
... (1980). Untuk disisi lain pada masing-masing
... dan kedua spinaris. Jika pada masing-masing
... dan masing-masing. Untuk ST 303250 dan ST 303250
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml
... untuk masing-masing. Untuk ST 303250 dan ST 303250
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml

Analisis respon over

... yang dilakukan berdasarkan penggunaan mesin-
... dan masing-masing. Untuk ST 303250 dan ST 303250
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml

Pengujian waktu kelambatan terhadap suhu panas

... dan masing-masing. Untuk ST 303250 dan ST 303250
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml

Pengukuran

Analisis data

... dan masing-masing. Untuk ST 303250 dan ST 303250
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml
... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml

... dan ST 303250 dilakukan sebagai berikut dengan volume 10 ml

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

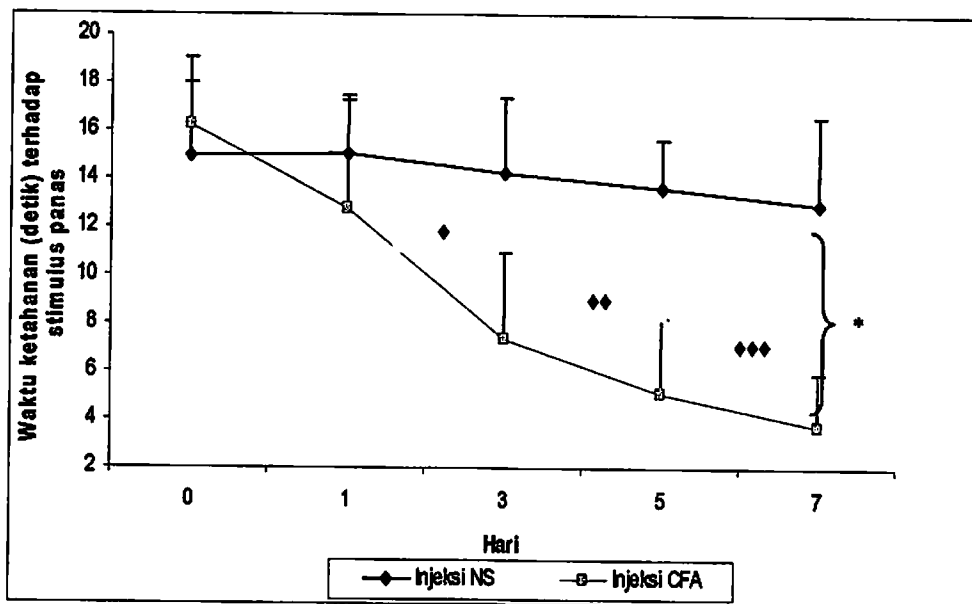
Perkembangan nyeri inflamasi diamati dengan mengukur waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas (*hyperalgesia*) pada 10 ekor mencit kelompok kontrol (injeksi NS) dan 52 kelompok perlakuan (injeksi CFA). Kelompok perlakuan mendapatkan induksi inflamasi dengan injeksi CFA intraplantar pada kaki kanan (*ipsilateral*).

Tabel 5.1 Waktu ketahanan mencit yang mendapatkan injeksi intraplantar CFA.

KELOMPOK	hyperalgesia (detik) pada mencit setelah injeksi CFA				
	0	1	3	5	7
Injeksi NS (n=10)	14.99±3.05	15.03±2.48	14.28±3.15	13.69±1.94	12.97±3.68
Injeksi CFA (n=24)	16.23±2.84	12.79±4.53	7.43±3.52	5.17±3.09	3.77±2.11

Keterangan:

NS = Normal Saline; CFA=Complete Freund's Adjuvant



Keterangan :

* $F_{(1,22)}=13,668$; $p=0,001$ dengan uji *two way ANOVA*

◆ $p = 0,001$ dengan uji *independent sample t-test* pada hari ke-3

◆◆ $p = 0,001$ dengan uji *independent sample t-test* pada hari ke-5

◆◆◆ $p=0,001$ dengan uji *independent sample t-test* pada hari ke-7

Gambar 5.1 Perkembangan nyeri inflamasi pada mencit yang diinjeksi CFA intraplantar dengan parameter waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas.

Pada kelompok kontrol tidak mengalami inflamasi ditandai dengan tidak berubahnya waktu ketahanan terhadap stimulus panas (*hot plate test*) sedangkan kelompok perlakuan menunjukkan penurunan waktu ketahanan terhadap stimulus panas. Hasil uji statistik memperlihatkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok injeksi intraplantar CFA dan kelompok injeksi NS pada parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas yang ditunjukkan mulai hari ke 3 setelah diinjeksi CFA ($F_{(1,22)}=13,668$; $p=0,001$). Dari hasil statistik dengan menggunakan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas dapat dikatakan bahwa pada hari ke-3 setelah mendapatkan injeksi intraplantar CFA mencit telah mengalami nyeri inflamasi.

Pengaruh Pemberian Inhibitor MAP Kinase PD 98059 dan SB 203580 Pada Mencit Yang Mengalami Nyeri Inflamasi.

Setelah mengalami inflamasi, mencit kemudian dilakukan perlakuan dengan pemberian PD 98059 dan SB 203580 pada dosis 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol secara intratekal. Perlakuan diberikan untuk menguji seberapa besar pengaruh inhibitor MAP kinase PD 98059 dan SB 203580 terhadap penghambatan perkembangan nyeri inflamasi. Perlakuan dimulai pada hari ke-7 setelah mencit mendapatkan injeksi intraplantar CFA, selanjutnya berturut-turut setiap hari selama tujuh hari sampai hari ke-13. Setelah dilakukan penghentian pemberian inhibitor MAP kinase, uji waktu ketahanan terhadap stimulus panas selanjutnya dilakukan pada hari ke-21 atau seminggu setelah pemberian dihentikan.

a. Inhibitor MAP kinase PD 98059

Tabel 5.2 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.

Hr Kel	Waktu ketahanan terhadap stimulus panas (detik) setelah injeksi						
	0	7	Treatment	8	10	12	14
NS (n=10)	14.99 ± 3.05	12.97 ± 3.68	NS	12.57±2.28	13.42±1.63	13.47±3.00	13.76±2.92
CFA (n=24)	16.23 ± 2.84	3.77 ± 2.11	Plasebo	5.65±2.18	4.19±1.75	5.61±1.75	5.76±4.07
			PD 0,1nmol	5.35±3.43	7.40±4.42	6.93±3.04	7.93±2.60
			PD 1,0 nmol	6.18±2.93	6.18±2.81	7.23±2.55	7.16±1.91
			PD 5,0 nmol	7.35±4.08	8.81±4.07	11.07±5.40	9.45±2.39

Keterangan:

NS = Injeksi Normal saline; CFA=Injeksi Complete Freund's Adjuvant; PD= Injeksi PD 98059

Pada kelompok kontrol tidak mengalami peningkatan dengan tidak berubahnya waktu kelambatan terhadap stimulus pada *low dose* ($p > 0.05$) sedangkan kelompok perlakuan menunjukkan penurunan waktu kelambatan terhadap stimulus pada *high dose* yang signifikan ($p < 0.001$). Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok injeksi intraperitoneal (IP) dan kelompok injeksi intravena (IV) pada parameter waktu kelambatan terhadap stimulus pada *high dose* yang ditunjukkan oleh nilai F setelah diuji Uji CPA ($F_{(1,22)} = 17.668, p < 0.001$). Hasil uji statistik dengan menggunakan parameter waktu kelambatan terhadap stimulus pada dapat dilakukan, bahwa pada hari ke-7 setelah mendapatkan injeksi intraperitoneal (IP) maupun intravena (IV) telah menunjukkan *recovery* infamasi.

Pengaruh Pemberian Inhibitor MMP Kinase PD 98059 dan SB 203580 Pada Zebrafish yang Mengalami Tyrosin Infamasi

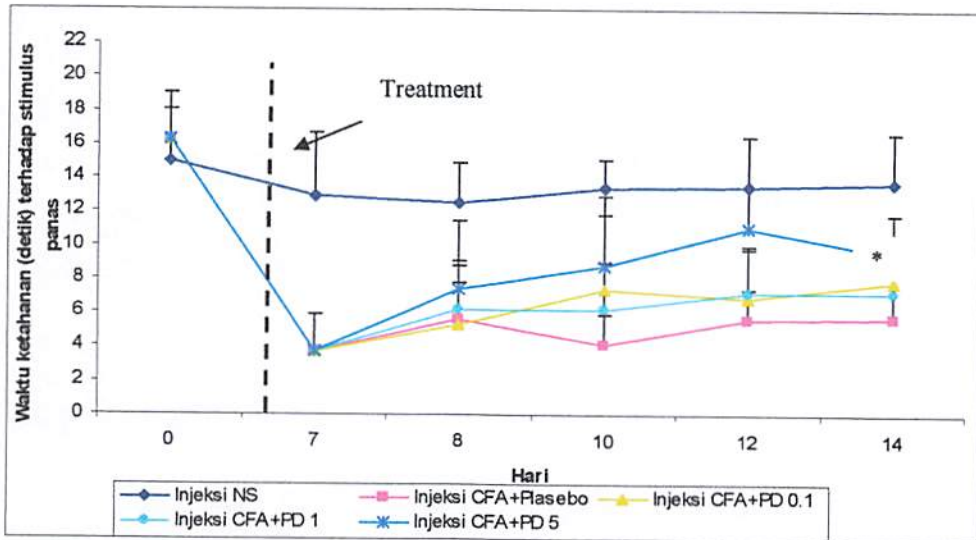
Setelah mengalami infeksi awal, semua ikan dalam kelompok perlakuan dengan pemberian PD 98059 dan SB 203580 pada dosis 0.1, 1.0, dan 5.0 mg/ml secara intramuskular dilakukan pemberian untuk menguji seberapa besar pengaruh inhibitor MMP kinase PD 98059 dan SB 203580 terhadap pengembangan perkembangan tyrosin infamasi. Perlakuan dimulai pada hari ke-7 setelah infeksi mendapatkan injeksi intraperitoneal (IP), selanjutnya perlakuan setiap hari selama tujuh hari sampai hari ke-14 setelah dilakukan pengamatan perkembangan infamasi MMP kinase di waktu kelambatan terhadap stimulus panas selanjutnya dituliskan pada hari ke-14 dan kemudian setelah pemberian diberikan.

in Inhibitor MMP Kinase PD 98059

Tabel 2.3 Pengaruh pemberian inhibitor MMP kinase PD 98059 pada infeksi yang menggunakan tyrosin infamasi dengan parameter waktu kelambatan terhadap stimulus panas

K ₀	K ₁	K ₂	Waktu kelambatan terhadap stimulus panas (detik) setelah infeksi		
			0	10	15
0.00	-	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
			0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.10	-	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
			0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.20	-	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
			0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.30	-	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
			0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.40	-	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
			0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0.50	-	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
			0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

0.00 = injeksi intramuskular (IM) dengan (0.1 mg/ml) Tyrosin, 0.00 = injeksi PD 98059



Keterangan :

* $F_{(3,26)} = 6,881$; $p=0,001$ dengan uji *two way* ANOVA antara plasebo dengan PD 98059 5,0 nmol

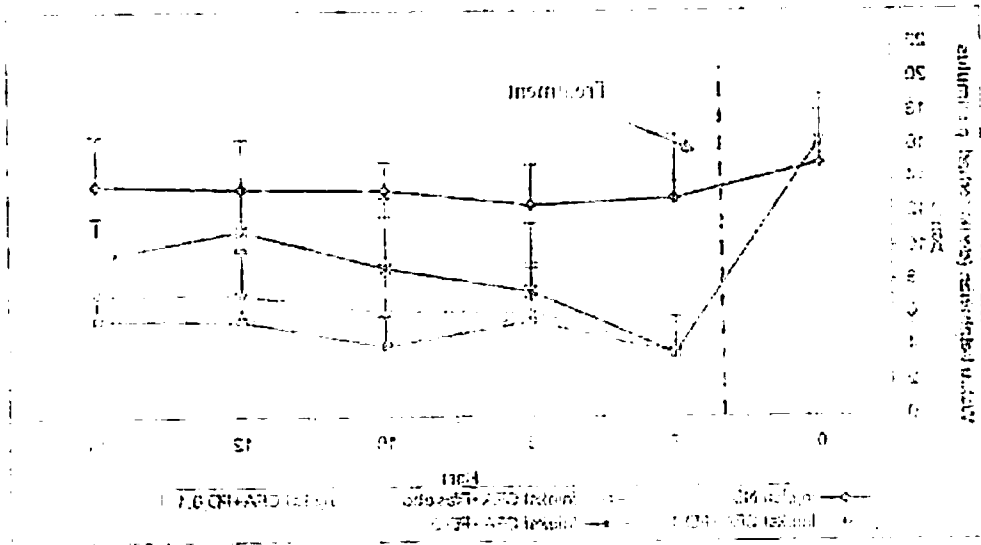
Gambar 5.3 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.

Tabel 5.3 Nilai *p* uji *two way* ANOVA pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 pada waktu ketahanan mencit yang mengalami inflamasi.

Perlakuan	Nilai <i>p</i>	Keterangan
Plasebo vs PD 98059 0,1 nmol	0.059	Tidak bermakna
Plasebo vs PD 98059 1,0 nmol	0.101	Tidak bermakna
Plasebo vs PD 98059 5,0 nmol	0.001	Bermakna
PD 98059 1,0 nmol vs PD 98059 5,0 nmol	0.004	Bermakna

Berdasarkan hasil analisis statistik didapatkan bahwa pemberian dosis inhibitor MAP kinase PD 98059 0,1 dan 1,0 nmol pada kelompok injeksi CFA tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok injeksi plasebo ($p=0,059$ untuk dosis 0,1 nmol dan $p=0,101$ untuk dosis 1,0 nmol). Sedangkan pemberian dosis 5,0 nmol menunjukkan perbedaan yang bermakna pada peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas dibandingkan kelompok plasebo ($p=0,001$). Perbedaan bermakna juga ditunjukkan pada pemberian dosis 1,0 nmol dibandingkan dengan dosis 5,0 nmol ($p=0,004$).

Analisis statistik kemudian dilakukan untuk masing-masing hari pengukuran yaitu pada hari ke 8, 10, 12 dan 14 menggunakan uji *one way* ANOVA. Uji statistik ini untuk menunjukkan



Gambar 2

Pengaruh pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5

Pengaruh pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 terhadap jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20.

Pengaruh pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 terhadap jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20.

Pada menit ke	Waktu	Pada menit ke
5	0,001	5
10	0,001	10
15	0,001	15
20	0,001	20

Pengaruh pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 terhadap jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 berpengaruh signifikan terhadap jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 efektif dalam mengurangi jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20.

Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 terhadap jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian antibiotik NAB Kinase PD 0829 pada menit ke 5 berpengaruh signifikan terhadap jumlah bakteri yang berkembang biak pada menit ke 5, 10, 15, dan 20.

mula efektifitas inhibitor MAP kinase dalam penghambatan terhadap perkembangan nyeri inflamasi. Hasil uji yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Nilai *p* uji *one way* ANOVA pada tiap hari pengukuran setelah diberikan inhibitor MAP kinase PD 98059.

Perbandingan	Hari setelah injeksi			
	Hari ke-8		Hari ke-10	
	<i>p</i>	Keterangan	<i>p</i>	Keterangan
P vs PD 0,1 nmol	0.856	Tidak bermakna	0.082	Tidak bermakna
P vs PD 1,0 nmol	0.754	Tidak bermakna	0.217	Tidak bermakna
P vs PD 5,0 nmol	0.334	Tidak bermakna	0.018	Bermakna
PD1,0 nmol vs 5,0 nmol	0.491	Tidak bermakna	0.152	Tidak bermakna

Perbandingan	Hari setelah injeksi			
	Hari ke-12		Hari ke-14	
	<i>p</i>	Keterangan	<i>p</i>	Keterangan
P vs PD 0,1 nmol	0.461	Tidak bermakna	0.150	Tidak bermakna
P vs PD 1,0 nmol	0.371	Tidak bermakna	0.344	Tidak bermakna
P vs PD 5,0 nmol	0.006	Bermakna	0.021	Bermakna
PD 1,0 nmol vs 5,0 nmol	0.039	Bermakna	0.129	Tidak bermakna

Keterangan :

P=Injeksi Plasebo; PD=Injeksi PD 98059

b. Inhibitor MAP kinase SB 203580

Tabel 5.5 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase SB 203580 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.

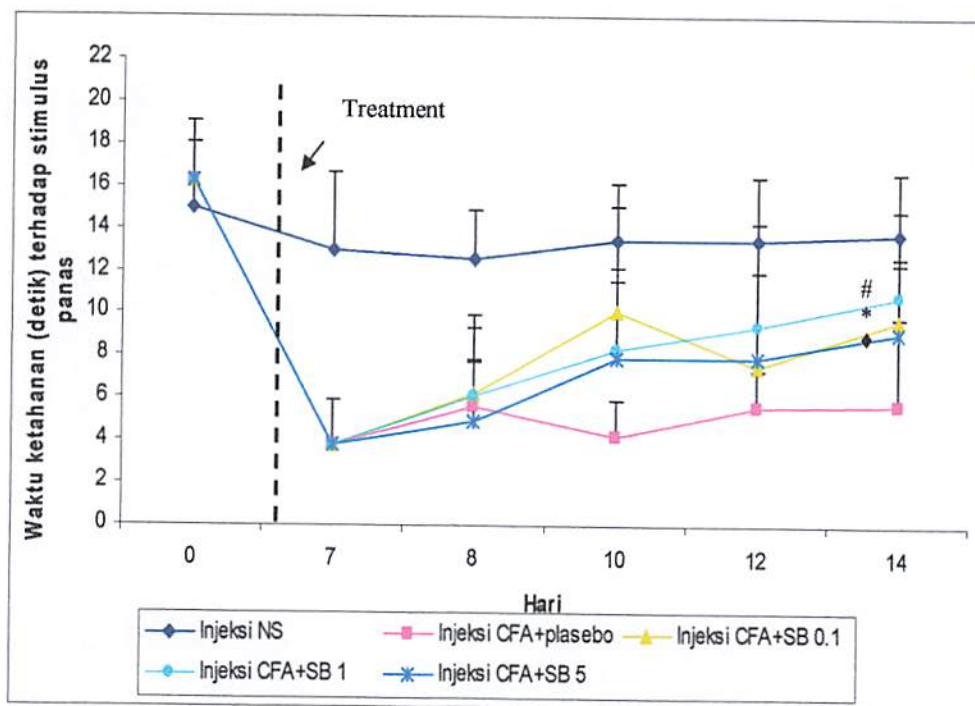
Hr Kel	Waktu ketahanan terhadap stimulus panas (detik) mencit setelah injeksi						
	0	7	Treatment	8	10	12	14
NS (n=10)	14.99 ± 3.05	12.97 ± 3.68	NS	12.57±2.28	13.42±1.63	13.47±3.00	13.76±2.92
CFA (n=24)	16.23 ± 2.84	3.77 ± 2.11	Plasebo	6.65±2.18	4.19±1.75	5.61±1.75	5.76±4.07
			SB 0,1 nmol	6.26±3.10	10.16±6.06	7.57±4.42	9.74±2.91
			SB 1,0 nmol	6.17±3.75	8.29±3.28	9.40±4.89	10.89±4.00
			SB 5,0 nmol	4.95±2.79	7.95±4.22	7.91±4.03	9.11±3.27

Keterangan:

NS = Injeksi Normal saline; CFA=Injeksi Complete Freund's Adjuvant; SB= Injeksi SB 203580

Tabel 5.6 Nilai *p* uji *two way* ANOVA pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase SB 203580 pada waktu ketahanan mencit yang mengalami inflamasi.

Perlakuan	Nilai <i>p</i>	keterangan
Plasebo vs SB 203580 0,1 nmol	0.002	Bermakna
Plasebo vs SB 203580 1,0 nmol	0.001	Bermakna
Plasebo vs SB 203580 5,0 nmol	0.039	Bermakna
SB 203580 1,0 nmol vs SB 203580 5,0 nmol	0.237	Tidak bermakna



Keterangan:

* $F(3,25) = 4,934; p = 0,002$ dengan uji *two way* ANOVA antara plasebo dengan SB 203580 0,1nmol

$F(3,25) = 4,934; p = 0,001$ dengan uji *two way* ANOVA antara plasebo dengan SB 203580 1,0 nmol

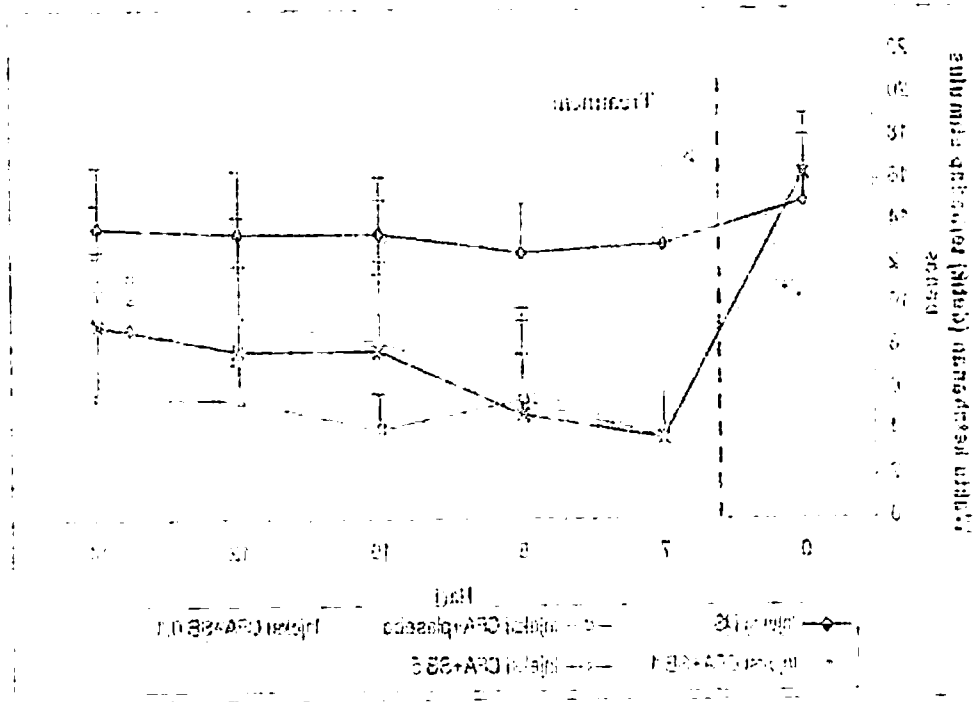
◆ $F(3,25) = 4,934; p = 0,039$ dengan uji *two way* ANOVA antara plasebo dengan SB 203580 5,0 nmol

Gambar 5.4 Pengaruh pemberian inhibitor MAP kinase SB 203580 pada mencit yang mengalami nyeri inflamasi dengan parameter waktu ketahanan terhadap stimulus panas.

Pada analisis statistik inhibitor MAP kinase SB 203580 didapatkan bahwa pemberian dosis inhibitor MAP kinase SB 203580 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol pada kelompok injeksi CFA menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok injeksi plasebo ($p = 0,002$ untuk dosis 0,1 nmol ; $p = 0,001$ untuk dosis 1,0 nmol dan $p = 0,039$ untuk dosis 5,0 nmol). Sedangkan perbandingan antara dosis 1,0 dan 5,0 nmol tidak menunjukkan perbedaan yang

Tabel 2.6 Nilai χ^2 pengujian perbedaan nilai MAE Kinase 2B 203280 pada waktu pemberian masing-masing dosis pemberian

Pemberian	MAE Kinase 2B 203280
0.1 mg	0.000
0.2 mg	0.001
0.5 mg	0.003
1.0 mg	0.008



Gambar 2.6 Pengaruh pemberian inhibitor MAE Kinase 2B 203280 pada jumlah telur dan jumlah larva *A. taeniorhynchus* pada masing-masing dosis pemberian. Nilai χ^2 pengujian perbedaan nilai MAE Kinase 2B 203280 pada waktu pemberian masing-masing dosis pemberian: $\chi^2(0.1) = 0.000$, $\chi^2(0.2) = 0.001$, $\chi^2(0.5) = 0.003$, dan $\chi^2(1.0) = 0.008$.

Gambar 2.7 Pengaruh pemberian inhibitor MAE Kinase 2B 203280 pada jumlah telur dan jumlah larva *A. taeniorhynchus* pada masing-masing dosis pemberian.

Hasil analisis statistik uji perbedaan nilai MAE Kinase 2B 203280 terhadap jumlah telur dan jumlah larva *A. taeniorhynchus* pada masing-masing dosis pemberian inhibitor MAE Kinase 2B 203280 (0.1, 0.2, 0.5, dan 1.0 mg) pada kelompok injeksi CPA menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok injeksi placebo ($\chi^2(0.002)$ nilai $\chi^2(0.1) = 0.000$, $\chi^2(0.2) = 0.001$, $\chi^2(0.5) = 0.003$, dan $\chi^2(1.0) = 0.008$) menunjukkan perbedaan yang signifikan pada masing-masing dosis pemberian.

bermakna pada peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas ($p=0,238$). Pada inhibitor MAP kinase SB 203580 analisis juga dilakukan untuk masing-masing hari pengukuran yaitu pada hari ke 8, 10, 12 dan 14 menggunakan uji *one way* ANOVA. Hasil uji yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Nilai p uji *one way* ANOVA pada tiap hari pengukuran setelah diberikan inhibitor MAP kinase SB 203580.

Perbandingan	Hari setelah injeksi			
	Hari ke-8		Hari ke-10	
	p	Keterangan	p	Keterangan
P vs SB 0,1nmol	0.706	Tidak bermakna	0.011	Bermakna
P vs SB 1,0 nmol	0.746	Tidak bermakna	0.071	Tidak bermakna
P vs SB 5,0 nmol	0.681	Tidak bermakna	0.119	Tidak bermakna
SB 1,0 nmol vs 5,0 nmol	0.466	Tidak bermakna	0.883	Tidak bermakna

Perbandingan	Hari setelah injeksi			
	Hari ke-12		Hari ke-14	
	p	Keterangan	p	Keterangan
P vs SB 0,1nmol	0.355	Tidak bermakna	0.043	Bermakna
P vs SB 1,0 nmol	0.081	Tidak bermakna	0.011	Bermakna
P vs SB 5,0 nmol	0.313	Tidak bermakna	0.106	Tidak bermakna
SB 1,0 nmol vs 5,0 nmol	0.501	Tidak bermakna	0.372	Tidak bermakna

Keterangan :

P=Injeksi Plasebo; SB=Injeksi SB 203580

Pada penelitian ini dilakukan uji untuk mengetahui peranan *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK) dalam menghambat perkembangan nyeri inflamasi pada hewan coba mencit. Untuk menghasilkan keadaan nyeri inflamasi secara patofisiologi seperti keadaan yang terjadi pada manusia, maka dilakukan injeksi intraplantar dengan menggunakan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 50 μ l pada kaki kanan mencit (ipsilateral). Sebelum dilakukan injeksi intraplantar, dilakukan pengukuran waktu ketahanan terhadap stimulus panas dengan menggunakan *Hot Plate*. Tujuan dari pengukuran ini adalah untuk mendapatkan data yang digunakan sebagai *base line*. Setelah dilakukan injeksi secara intraplantar, terjadi penurunan secara bermakna waktu ketahanan terhadap stimulus panas pada uji *Hot Plate* pada kelompok injeksi CFA dibandingkan dengan kelompok injeksi Normal Saline (NS) ($F_{(1,32)}=13,668$; $p=0,001$). Dari hasil analisis, penurunan waktu

ketahanan terhadap stimulus panas ini mulai terlihat pada hari ke-3 setelah injeksi ($p=0,001$). Terjadinya penurunan waktu ketahanan terhadap stimulus panas menunjukkan terjadinya *hyperalgesia*. *Hyperalgesia* merupakan tanda berkembangnya keadaan nyeri kronik..

Pemberian injeksi intraplantar CFA menyebabkan terjadinya proses inflamasi lewat pengaktifan respon seluler dan humoral antibodi tubuh (Grumpstrup-Scott & Greehouse, 1988). Pada keadaan inflamasi yang disebabkan injeksi CFA, agen sistem imun yang paling aktif adalah makrofag. Makrofag berasal dari monosit yang diproduksi di sumsum tulang dan beredar keseluruh jaringan melalui sirkulasi darah. Makrofag ini mempunyai kemampuan fagositosis dan fungsi sekresi dalam merespon adanya rangsangan seperti inflamasi. Pada proses ini akan dilepaskan mediator-mediator inflamasi seperti sitokin, IL-1 dan TNF- α (Larsson, 2003). Proses inflamasi yang terjadi dimulai setelah proses kemotaksis dan fagositosis. Pada proses ini fosfolipase yang terikat pada membran sel akan dilepaskan. Akibatnya terjadi pengaktifan jalur asam arakidonat. Metabolisme asam arakidonat melalui jalur siklooksigenase menghasilkan prostaglandin dan tromboksan. Pada beberapa penelitian, menunjukkan mediator yang berpengaruh dan paling dominan pada perkembangan inflamasi dan nyeri adalah PGE₂ dan PGI₂ (Simmons, 2004). Proses inflamasi yang terjadi juga menyebabkan ekstrasvasasi dan deposisi cairan plasma serta protein sehingga menimbulkan oedema. Tanda-tanda lain yang menyertai terjadinya inflamasi adalah kemerahan, peningkatan temperatur tempat inflamasi dan *hyperalgesia* (Katzung, 2002; Ji *et al*, 2002).

Pada tempat terjadinya inflamasi yang disebabkan induksi CFA akan dilepaskan mediator-mediator nyeri yang akan berikatan dengan reseptor nyeri di korda spinalis sehingga terjadi peningkatan sensasi nyeri dan hipereksitabilitas membran (Woolf, 2004). Selain itu, mediator yang dilepaskan juga akan mengaktifasi saraf *afferent* yang menyebabkan pelepasan dari glutamat, ion natrium, ion kalium dan lain sebagainya. Glutamat akan menyebabkan aktivasi reseptor NMDA sehingga memicu pelepasan neuropeptida seperti substansi P dan neurokinin. Adanya aktivasi reseptor ini menyebabkan terjadinya aktivasi dari *second messenger-second messenger* yang lain (Siddals & cousins, 1998). Salah satu *second messenger* yang teraktivasi adalah MAP kinase. MAP kinase merupakan keluarga *serine/threonine kinase* yang menghubungkan hantaran sinyal dalam merespon terjadinya inflamasi dan sinyal ekstraselular lain seperti ekspresi gen. MAP kinase sendiri mempunyai 3 karakteristik jalur penghantaran yaitu p38, *extracellular*

terhadap tindakan tersebut. Untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai perilaku tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku. Untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai perilaku tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku. Untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai perilaku tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku. Untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai perilaku tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku. Untuk mengetahui pengaruh dari tindakan tersebut terhadap perilaku, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai perilaku tersebut.

signal-regulated kinase 1 dan 2 (Erk1/2) dan *c-Jun N-terminal kinase (JNK)* (Nieminen, 2005). Aktivasi dari MAPK Erk1/2 dan MAPK p38 akan mengakibatkan terjadinya *upregulation* ekspresi dari COX-2 dan juga produksi prostaglandin (Haulbold, 1998). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa inflamasi perifer dapat mengaktivasi jalur Erk pada dorsal horn. Hal tersebut mempunyai kontribusi besar pada terjadinya ekspresi dari beberapa gen seperti prodinorfin dan neurokinin-1. Kedua gen tersebut berpengaruh besar pada terjadinya hipersensitifitas nyeri inflamasi (Ji *et al*, 2002).

Pada hari ke-7 setelah injeksi CFA, dilakukan uji untuk mengetahui peranan inhibitor MAP kinase dalam penghambatan perkembangan terjadinya nyeri. Pada penelitian ini inhibitor MAP kinase yang digunakan adalah PD 98059 dan SB 203580. Kelompok injeksi CFA dibagi menjadi 2 kelompok dan diberikan pelakuan injeksi PD 98059 dan SB 203580 secara intratekal sehari sekali selama tujuh hari berturut-turut. Dosis yang diberikan sebesar 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol. Hasil uji *Two Way* ANOVA memperlihatkan bahwa pemberian PD 0,1 dan 1,0 nmol pada kelompok injeksi CFA menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan kelompok injeksi CFA yang mendapatkan plasebo ($p=0,059$ untuk dosis 0,1 nmol dan $p=0,101$ untuk dosis 1,0 nmol) dalam hal peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas. Sementara pemberian dosis 5,0 nmol pada kelompok mencit yang mendapatkan injeksi CFA memberikan peningkatan yang bermakna waktu ketahanan terhadap stimulus panas dibandingkan dengan kelompok mencit yang mendapatkan injeksi plasebo ($F_{(3,26)}=6,881$; $p=0,001$) seperti ditunjukkan pada gambar 5.3. Dengan analisis yang sama juga terlihat bahwa pemberian PD 98059 pada dosis 1,0 nmol dan dosis 5,0 nmol memberikan perbedaan yang bermakna pada peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas ($F_{(3,26)}=6,881$; $p=0,004$). Pada inhibitor MAP kinase SB 203580 juga dilakukan analisis yang sama untuk mengetahui seberapa besar peranannya terhadap penghambatan perkembangan terjadinya nyeri inflamasi. Hasil uji *Two Way* ANOVA yang dilakukan memperlihatkan bahwa pemberian SB 203580 dosis 0,1; 1,0 dan 5,0 nmol pada kelompok injeksi CFA menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok injeksi CFA yang mendapatkan plasebo ($F_{(3,25)}=4,934$; $p=0,002$ untuk dosis 0,1 nmol; $p=0,001$ untuk dosis 1,0 nmol dan $p=0,039$ untuk dosis 5,0 nmol) dalam hal peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas. Beberapa penyimpangan hasil uji statistik terlihat pada tabel 5.5, dimana hasil yang didapatkan tidak sesuai dengan yang diharapkan. Uji statistik yang dilakukan seharusnya memberikan perbedaan yang bermakna untuk kelompok SB 203580 dosis 5,0 nmol terhadap kelompok plasebo. Adanya

... (mirrored text) ...

... (mirrored text) ...

penyimpangan ini disebabkan kelemahan metode pengujian dengan *Hot Plate* sendiri. Perlu diketahui bahwa metode *Hot Plate* dilakukan dengan menempatkan hewan coba pada papan panas dengan temperatur yang konstan dan disertai pengamatan aktivitas mencit terhadap stimulus panas yang direfleksikan berupa jilatan pada kaki atau loncatan/gerakan mengangkat tubuh. Gerakan ini sangat kompleks dan menyebabkan observasi dan identifikasi respon hewan coba lebih sulit serta merupakan tes yang kurang konsisten (Eaton, 2003).

Adanya peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas menunjukkan bahwa pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 dan SB 203580 dapat menghambat perkembangan nyeri inflamasi. Hambatan yang terjadi disebabkan karena PD 98059 atau SB 203580 dapat menghambat secara spesifik jalur MAP kinase p38 dan Erk 1/2. Adanya hambatan ini dapat menurunkan konsentrasi dari asam arakidonat. PD 98059 dan SB 203580 menghambat konversi dari asam arakidonat menjadi tromboksan. Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa keduanya dapat menghambat COX-1 dan COX-2 secara reversibel (Haulbold, 1998). SB 203580 merupakan senyawa yang berpotensi besar digunakan sebagai anti inflamasi karena kemampuannya dalam menghambat enzim siklooksigenase, lipooksigenase dan biosintesis mediator inflamasi sitokin. SB 203580 yang merupakan inhibitor MAP kinase spesifik jalur p38 dapat menghambat protein COX-2 dan ekspresi mRNA pada sintesis prostaglandin E₂. Selain mekanisme diatas SB 203580 juga menghambat pelepasan nitrit oksida dan ekspresi sintesis nitrit oksida. Nitrit oksida dapat merangsang peningkatan pelepasan glutamat dan substansi P dan juga merupakan aktivator dari makrofag dan PMN yang berperan pada patogenesis inflamasi kronik (Chen & Wang, 1999; Hudspith *et al*, 2003). Sedangkan PD 98059 yang merupakan inhibitor MAP kinase spesifik pada jalur Erk1/2 dapat menekan IL-1. IL-1 dapat menginduksi ekspresi COX-2 dan produksi prostaglandin E₂ dimana efek itu tergantung dari dosis. PD 98059 juga mempunyai efek penghambatan terhadap aktivitas dari COX-2 (Nieminen, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa pemberian inhibitor MAP kinase baik PD 98059 maupun SB 203580 tidak dapat mengatasi terjadinya nyeri yang disebabkan karena inflamasi secara sempurna atau efek yang dihasilkan bersifat parsial. Hal tersebut ditunjukkan pada gambar 5.3 dan 5.4 dimana waktu ketahanan mencit terhadap stimulus panas, tidak bisa kembali ke keadaan normal jika dibandingkan dengan kelompok mencit yang tidak mengalami inflamasi (kelompok kontrol). Efek dari kedua inhibitor yang bersifat

penyempitan ini disebabkan kelenturan otot yang berkurang. Untuk mencegah terjadinya penyempitan ini, diperlukan latihan-latihan yang teratur dan teratur. Untuk mencegah terjadinya penyempitan ini, diperlukan latihan-latihan yang teratur dan teratur. Untuk mencegah terjadinya penyempitan ini, diperlukan latihan-latihan yang teratur dan teratur.

Salah satu penyebab utama terjadinya osteoarthritis adalah degenerasi tulang rawan. Degenerasi tulang rawan ini disebabkan oleh perubahan-perubahan yang terjadi pada struktur kimia tulang rawan. Perubahan-perubahan ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor yang berbeda-beda. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan degenerasi tulang rawan adalah faktor-faktor yang berbeda-beda. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan degenerasi tulang rawan adalah faktor-faktor yang berbeda-beda. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan degenerasi tulang rawan adalah faktor-faktor yang berbeda-beda.

Salah satu penyebab utama terjadinya osteoarthritis adalah degenerasi tulang rawan. Degenerasi tulang rawan ini disebabkan oleh perubahan-perubahan yang terjadi pada struktur kimia tulang rawan. Perubahan-perubahan ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor yang berbeda-beda. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan degenerasi tulang rawan adalah faktor-faktor yang berbeda-beda. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan degenerasi tulang rawan adalah faktor-faktor yang berbeda-beda.

parsial ini menunjukkan bahwa aktivasi terjadinya nyeri inflamasi ini disebabkan karena banyak faktor dan jalur aktivasi terjadinya nyeri yang kompleks. Berdasarkan literatur MAP kinase mempunyai 3 karakteristik jalur aktivasi sedangkan pada penelitian ini inhibitor PD 98059 hanya menghambat jalur MAPK ERK1/2 dan SB 203580 hanya menghambat jalur MAPK p38 sehingga hambatan perkembangan nyeri yang dihasilkan bersifat parsial (Nieminen, 2005).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. *Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase* mempunyai peran dalam perkembangan terjadinya nyeri inflamasi.
2. Peran MAP kinase terhadap nyeri ditunjukkan dengan pemberian inhibitor MAP kinase PD 98059 dan SB 203580 yang dapat menurunkan gejala *hyperalgesia* pada mencit yang ditandai dengan peningkatan waktu ketahanan terhadap stimulus panas.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, J.W. and Yaksh, T.L., 2004. Assesment of Acute Thermal Nociception in laboratory animals. *In: Luo, Z. D (Eds). Pain Research: Methods and Protocols*, New Jersey: Humana Press, p 11-23
- Anonim¹, 2006. Pain, www.wikipedia.org, diakses 21 Oktober 2006
- Anonim², 2006. Pain, www.courses.edu/coni/sensory/pain.html, diakses 5 September 2006
- Anonim³, 2007. Freund's Adjuvant, www.wikipedia.org, diakses 5 februari 2007
- Ataka T, Kumamoto E, Shimoji K, Yoshimura M, 2000, Baclofen inhibits more effectively C-afferent than A δ -afferent glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices, *Pain* 86: 273 - 282
- Ballantyne, J., Fishman, S. M., Abdi, S., and Fields, H.L., 2002. **The Massachusetts General Hospital Handbook of Pain Management** . 2nd , Philadelphia lippincott Williams & Wilkins Publishers
- Baumann, T. J., 2005. Pain Management, in : Dipiro, J. T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Wells, B.G, and Posey, L.M., (Eds), **Pharmacotherapy : a Pathophysiology Approach**. 6th edition, New York : McGraw-Hill Companies, inc., p. 1103-1116
- Bluthgen, N. and Herzl, H., 2001. MAP Kinase Cascade : Switch. Amplifier or Feedback Controller, Bluthgen, N. and Herzl, H (Eds) *in* : 2nd **Workshop on Computation of Biochemical Pathway and Genetic Networks**, Berlin : Logos-Verlag, p.55-62
- Boyle, D.L., Jones, T.L., Hammaker, D., Svensson, C.I., Rosengren, S., Albani, S., Sorkion, L., and Firestein, G.S., 2006. Regulation of Peripheral Inflammation by Spinal p38 MAP Kinase in Rats. *PLoS Medicine*, Vol 3 No 9 p. 338-49
- Bennet GJ, Xie YK, 1988, A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man, *Pain* 33: 87 - 107
- Bowery NG, 1993, GABA-B receptor pharmacology, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 33: 109 - 147
- Bowsher, D., 1991, Neurogenic pain syndromes and their management, *Br. Med. Bull.* 47: 644-666.
- Cheng, C.C., and Wang, J.K., 1999. p38 but not p44/42 Mitogen Activated Protein Kinase is Required for Nitric Oxide Synthase Induction Mediated by Lipopolysaccharide in RAW 264.7 Macrophages. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**. Vol 55 p.481-88
- Chung, J.M., Kim, H.K., and Chung, K., 2004. Tissue Injury Model of Nociception in Rats. *In* : Luo, Z.D., Ed. **Pain Research Methods and Protocols**. New Jersey: Humana Press, p.25-34
- Corwin, E.J., 1996. **Handbook of Pathophysiology**, Philadelphia; Lippincott-Raven Publisher, hal. 222-228
- Caraceni A, Portenoy RK 1999, An International Survey of Cancer Pain Characteristics and Syndromes. IASP Task Force on Cancer Pain. International Association for the Study of Pain, *Pain*, Vol. 82 (3): 263 - 74
- Chen H, *et al*, 2004, Contemporary Management of Neuropathic Pain for the Primary Care Physician, *Mayo Clin Proc*, Vol. 79:1533-1545, [cited 2005 December 18], available at: www.mayoclinicproceedings.com/inside.asp?AID=795&UID
- Eaton, M., 2003, Common Animal Models for Spacity and Pain, *J. Rehab. Res. Dev*, Vol.4., No.4.
- Enna SJ, Harstad EB, McCaeson KE, 1998, Regulation of neurokinin-1 receptor expression by GABA-B receptor agonists, *Life Sci* 62: 1525 - 1530

DAFTAR PUSTAKA

Allen, W. and Clark, J.L. 2004. Assessment of acute thermal nociception in laboratory animals. *Journal of Pain Research: Methods and Protocol*. New Jersey: Humana Press, 11-21.

Aronow, 2000. *Brain www.wikipedia.org* diakses 21 Oktober 2000.

Aronow, 2000. *Brain www.wikipedia.org* diakses 21 Oktober 2000.

Aronow, 2007. *Brain www.wikipedia.org* diakses 21 Oktober 2007.

Azaka, Y., Yamamoto, H., Shinoh, K., Shimizu, M., 2000. Factors in animals more effectively distinguish than 26- μ m diameter pharmacologic nociception in subcutaneous injection of adult rat spinal cord slices. *Neurosci Lett* 283: 221-224.

Balanyan, A., Fishman, S., J., Abdi, S., and Leslie, H.L., 2002. *The Massachusetts General Hospital Handbook of Pain Management*. 2nd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers.

Baumann, T.J., 2002. Pain Management in Diploid, J.T., Tallent, K.L., Yee, C.D., Wells, R.G., and Rosey, L.M., (Eds.) *Anesthesiology: A Pathology Approach*. 6th Edition, New York: McGraw-Hill Companies, Inc., p. 1102-1110.

Blaberg, N. and Hessel, H., 2001. *ATAP Kinase Cascade: Swiss Anesthetic or Feedback*. *Controlled Biologics*, 7, and Hessel, H. (Eds.) *2nd Workshop on Regulation of Neurochemical Pathways and Genetic Neurobiology*. Berlin: Logos-Verlag, p. 20-21.

Boyer, D.L., Jones, T.L., Hammaker, E., Swanson, C.J., Rossignol, S., Allen, J., Johnston, J., and Eisenstein, G.S., 2002. Regulation of peripheral inflammation by spinal p38 MAP kinase in mice. *Brain Research* 941: 249-259.

Bonnet, J.L., Zie, Y.L., 1988. A neuronal non-nociceptive role for p38 kinase in the pain sensation in mice. *Neuroscience* 83: 107-117.

Bonnet, J.L., 1992. OVA-H receptor pharmacology. *Journal of Pharmacology* 15: 109-117.

Bowsher, D., 1997. Neurogenic pain syndromes and their management. *BMJ* 315: 644-646.

Cheng, C.C. and Wong, J.C., 1999. *Cellular and Molecular Biology of Pain*. 2nd Edition. In: *Neuroscience: The American Society for Pharmacology and Therapeutics*. 7th ed. p. 471-488.

Chung, J.H., Lee, H.K., and Chung, H., 2004. *Brain Pain: Models and Therapeutic Targets*. Humana Press, p. 22-34.

Corvita, E.L., 1998. *Handbook of Biophysics*. Philadelphia: John Wiley & Sons, p. 212-228.

Garland, A., Portenoy, R.K., 1989. An international survey of cancer pain characteristics and symptoms. *Pain* 42: 101-107.

Chen, H., 2001. *Contemporary Management of Neuropathic Pain for the Primary Care Physician*. *Physician Clinician* 7: 1 (2001) 1-15. [Accessed 2002 December 18] available at www.medscape.com/inside.asp?AID=79264 ID.

Frank, M., 2002. *Genetic Animal Models for Spacing and Pain*. *J. Rehabil. Res.* 10: 107-114.

Frank, M., Frank, H.L., 2002. Regulation of neuronal TRP-1 receptor expression by GABA-B receptor agonists. *Neurosci Lett* 325: 1325-1330.

- Domer, F. R., 1971. **Animals Experimental in Pharmacological Analysis**, USA: Charles Thomas Publisher, p275-317
- Dorlan, W.A.N., 2002., **Kamus Kedokteran Dorlan**. Edisi 29, Koesoemawati, H., Hartanto, H., Salim I.N., Setiawan, L., Valeria, Suparman, W., (Eds.), Jakarta: EGC, hal 1584
- Foley, K. M., 2003. Opioids and Chronic Neurophatic Pain. *N Eng Med*, Vol 348, No 13, p.1279-81
- Fields HL, Rowbotham M, Baron R (1998) Postherpetic neuralgia: irritable nociceptors and deafferentation. *Neurobiol Dis* 5:209-227.
- Foley KM, 2003, Opioids and Chronic Neuropathic Pain, *N Engl J Med*, Vol. 348 (13): 1279 - 81
- Franek M, Vaculin S, Rokyta R, 2004, GABA-B Receptor Agonist Baclofen Has Non-Specific Antinociceptive Effect in the Model of Peripheral Neuropathy in the Rat, *Physiol. Res*. Vol. 53
- Ganiswara, S G., 1995. **Farmakologi dan Terapi Edisi 4** , Jakarta: Gaya Baru, hal 189-94,207-9
- Ganong, W.F. 2003. **Review of Medical Physiology 20th Ed.** Connecticut Appleton & Lange, hal.133-139
- Goucke , C.R., 2003. The Management of Persistent Pain, **Clinical Update**, Vol 178., p.444-47
- Gilron, I., *et al*, 2005, Morphine, Gabapentin or Their Combination for Neuropathic Pain, *N Engl J Med*, Vol.352., No. 13
- Gobel S, 1978, Golgi studies of neurons in layer II of the dorsal horn of the medulla (trigeminal nucleus caudalis), *J Comp Neurol* 180: 395 - 413
- Harden, R.N., 2005. Chronic Neuropathic Pain-Mechanism, Diagnosis and Treatment. **The Neurologist** , Vol 11, No 13
- Hartwig, M.S and Wilson, L.M., 2002. Pain, *in* : Price, S.A. and Wilson, L. M.(Eds), **Pathophysiology : Clinical Concepts of Disease Processes 6th Edition**, New York : Elsevier Science, p.10063-1104
- Haughton, C., Jennings, V., Huerkamp, M., and Mead, J. 1997. Guide for Research Use of Complete Freund's Adjuvant (CFA). **Institutional Animal Care and Use Committee**
- Haubold, A.G.B., Pasquet, S., and Waston, S.P., 1998. Direct inhibition of Cyclooxygenase-1 and -2 by the Kinase Inhibitors SB 203580 and PD 98059, **Journal Biol Chem**. Vol 273 No 44 p. 28766-72
- Honore, P., Menning, P.M., Rogrs, S.D., Nichols, M.L., Basbaum, A.I., Besson, J.M. and Manty, P.W., 1999. Spinal Substane P Reseptor Expression and Internalization in Acute, Short-Term and Long-Tem Inflammation Pain States, **The Journal of Neuroscience**. Vol 19 No 17 p. 7679-78
- Hudspith, M.J., Siddall, P.J and Munglani, R., 2003. **Physiology of Pain**, Philadelphia; Lippicott-Raven Publisher, p 267-85
- Harden, R.N., 2000, A clinical approach to complex regional pain syndrome, *Clin. J. Pain* 16: S26-S32.
- Harden, R. N., 2005, Chronic Neuropathic Pain – Mechanisms, Diagnosis, and Treatment, **The Neurologist**, Vol.11., No.2.
- Jenings, P.J., 2003. The Epidemiology of Pain, **Home Health Care Management and Practice**, Vol 15, No 3, p 192-97
- Ji, Ru-Rong., Befort, K., Brenner, G. J., and Woolf, C. J., 2002. ERK MAP Kinase Activation in Superficial Spinal Cord Neurons Induces Prodynorphin and NK-1 Upregulation and Contributes Persintent Inflammatory Pain Hipersensitivity, **The Journals of Neuroscience**, Vol 22, No 2, p 478-85

- Karim, F., Hu, H.J., Adwanikar, H., Kaplan, D., and Gereau A.W., 2006. Impaired Inflammatory Pain and Thermal Hyperalgesia in Mice Pressing Neuron-Specific Dominant Negative Mitogen Activated Protein Kinase (MEK). *Molecular Pain*. Vol 2 No 2 p.1-9
- Katzung, B.G., 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*, Ed 8th, New York: McGraw-Hill Companies Inc, p.6-20
- Kuno, M., 1995. *The Sinapse: Function, Plasticity, and Neurotrophism*, New York: Oxford University Press.
- Kyriakis, J.M., and Avruch, J., 2001. Mammalian Mitogen Activated Protein Kinase Signal Transduction Pathway Activated by Stress and Inflammation, *Pharmacological Review*, Vol 81, No 2, p. 807-69
- Knight AR, Bowery NG, 1996, The pharmacology of adenylyl cyclase modulation by GABA-B receptors in rat brain slices, *Neuropharmacology* 35: 703 - 712
- Meliala, L., 2004, *Terapi Rasional Nyeri: Tinjauan Khusus Nyeri Neuropatik*, Yogyakarta: Aditya Media
- Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S E., 2001. Animals Models of Nociception, *Pharmacological Review*, Vol 53, No 4. 598-621
- Levy, M.H., 1996. Pharmacology Treatment of Cancer Pain. *N Eng Med*. Vol. 335 No. 15 p. 1124-30
- Mashford, M.L., 2002. *Therapeutic Guidelines: Analgesic Version 4*. Melbourne: Therapeutic Guidelines limited.
- Mallen, C., Peat, G., Thomas, E., and Croft, P., 2005. Severely Disabling Chronic Pain in Young Adults: Prevalence from a Population-Based Postal Survey in North Staffordshire. *BMC Musculoskeletal Disorders*
Diakses 9 November 2006 dari <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/6/42>
- Nieminen, R., Leinonen, S., Lathi, A., Vuolteenaho, K., Jalonen, U., Kankaaranta, H., Goldring, M.B and Moilanen, E., 2005. Inhibitors of Mitogen Activated Protein Kinase Down Regulate COX-2 Expression in Human Chondrocytes, *Mediator of Inflammation*, Vol. 5, p.249-55
- Nurmikko, T.J., Nash, T.P., and Wiles, R., 1998. Recent Advances : Control of Chronic Pain. *Clinical Review.*, Vol 317 p.1438-41
- Otis TS, De Koninck Y, Mody I, 1993, Characterization of synaptically elicited GABA-B responses using patch-clamp recordings in rat hippocampal slides. *J Physiol Lond* 463: 391 - 407
- Page, C., Curtis, M., Suter, M., Walker, M., and Hoffmann, B, 2002. *Integrated Pharmacology 2nd*, London: Mosby.
- Payne, P., Miaskowski, C.A., and Jones, W.K., 2005. Breakthrough and Challenges in Management of Common Chronic Pain Condition : A Focus on Neuropathic Pain. *Clinical Courier* Vol 23 No. 23 p.1-8
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., Lamantia, A.S., and McNamara, J.O., 1997. *Neuroscience*. U.S.A: Sinauer Associates, Inc
- Price GW, Wilkin GP, Turnbull MJ, Bowery NG, 1984, Are baclofen-sensitive GABA-B receptors present on primary afferent terminals of the spinal cord? *Nature* 307: 71 - 74
- Siddal, P. J., and Cousins, M. J., 1998. *Introduction to Pain Mechanism: Implication for Neural Blokade*, Philadelphia; Lippicott-Raven Publisher, p. 675-97
- Simmons, D.L., Botting, R. M., and Hla, Timothy. 2004. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandins and Synthesis Inhibition, *Pharmacological Reviews*, Vol 56, No 3, p 387-437

- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal 2**, Surabaya; Airlangga University Press, hal,295-307
- South, S. S. and Smith, M T., 2001. Analgesic Tolerance to Opioid, **Pain Clinical Update**, Vol IX, No 5, p 1-4
- Raja, S. N., 2005, Combination Therapy for Neuropathic Pain – Which Drugs, Which Combination, Which Pain, *N Engl J Med*, Vol.352., No.13
- Sawynok J, 1987, GABAergic mechanisms of analgesia: an update, *Pharmacol Biochem Behav* 26: 463 - 474
- Slonimski M, Abram SE, Zuniga RE, 2004, Intrathecal Baclofen for Pain Management, *Reg Anesth Pain Med*, Vol. 29
- Tsuda, M., Mizokoshi, A., Mogami, Y. S., Koizumi, S., and Inoue, K., 2004. Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in Spinal Hyperactive Microglia Contributes to Pain Hypersensitivity Following Peripheral Nerve Injury. *Glia*, Vol 89, p, 89-95
- Turner, R.A., 1965. **Screening Method in Pharmacology Vol 1**. New York: Academic Press, p 100-17
- Twyman, R. M., 1998. **Advance Aconcise Reference Molecular Biology**, New Delhi , Viva Books Private Limited. p. 423-42
- Tjokroprawiro, A., *Hidup sehat dan bahagia bersama diabetes mellitus*, Jakarta: PT. Gramedia Pustaka, hal. 6
- Tsutomu Suzuki *et al*, 2005, Effect of a selective GABA-B receptor agonist baclofen on the mu-opioid receptor agonist-induced antinociceptive, emetic and rewarding effects, *Neuropharm*, Vol. 49., No. 8
- Von Kroff, M., Dworkin, S.F., Le Resche, L. (1990) Graded chronic pain status: an epidemiologic evaluation, *Pain* 40: 279-291.
- WHO, 1986, *Cancer Pain Relief*, Geneva
- Winarti, S., 2004. **Perbandingan aktivitas Analgesik Antara Asam o-Metoksisinamat Dengan Asam Asetilsalisilat Dengan Metode Writhing Test** . Skripsi. Universitas Airlangga Surabaya.
- Woolf, C. J., 2004, Pain; Moving from Symptom Control Toward Mechanism-Specific Pharmacology Management, **Annals of Internal Medicine**, Vol 140, No 6, p.441-51
- Woolf, C. J., and Costigan, M., 1999. Transcriptional and Posttranslational Plasticity and the Generation of Inflammatory Pain. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, Vol 96, p.7723-30
- Wu, J., Su, G., Zhang, X., Lei, Y., Lin, Q., Fang, L., and Li, J., 2005. Potein Kinase Mediate Increment of the Phosforylation of Cyclic AMP-Responsive Element Binding Protein in Spinal Cord of Rats Following Capsaicin Injection, **Molecular Pain** Vol 1 No 26 p.1-9
- Widjaja, L., 2006, Mekanisme Terjadinya Rasa Nyeri dan Tatalaksana Pengobatannya, In: Partoatmodjo, L.R., Islam, MS., dan Haryono, Y., (eds). *Nyeri Kepala, Nyeri dan Vertigo*, Surabaya: Airlangga University Press, hal. 125 – 134
- Wiesenfeld-Hallin Z, Aldskogius H, Grant G, Hao JX, Hskfelt, Xu XJ, Central Inhibitory Dysfunction: Mechanism and Clinical Implications, [cited 2005 April 18], available at: <http://www.bbsonline.org/Preprints/OldArchive/bbs.neur5.wiesenfeld.html>
- Wojcik WJ, Travagli RA, Costa E, Bertolino M, 1990, Baclofen inhibits with high affinity an L-type-like voltage-dependent calcium channel in cerebellar granule cell cultures, *Neuropharmacology* 29: 969 - 972
- Woolf CJ, Decosterd I (1999) Implications of recent advances in the understanding of pain pathophysiology for the assessment of pain in patients. *Pain* 82 (Suppl 1): S141-S147.

- Woolf, C.J., 2004, Pain: Moving from Symptom Control Toward Mechanism-Specific Pharmacologic Management, *Annals of Internal Medicine*, Vol. 140, No. 6, p. 441 - 451
- Woolf CJ, 2004, Dissecting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: implications for diagnosis and therapy. *Life Sci*. 74: 2605-2610.
- Writing Group for Therapeutic Guidelines, 2002, Therapeutic Guidelines: Analgesics, Version 4, Therapeutic Guidelines Limited, Melbourne
- Yajima Y *et al*, 2000, Modulation of NMDA and (+) TAN-67-induced nociception by GABA B receptors in the mouse spinal cord, *Lif Sci*, Vol. 68

Lampiran 1. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
hari pengukuran	1	hari ke 0	34
	2	hari ke 1	34
	3	hari ke 3	34
	4	hari ke 5	34
	5	hari ke 7	34
kelompok perlakuan	1	injeksi NS	50
	2	injeksi CFA	120

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: waktu ketahanan

	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3613.584(a)	9	401.509	38.904	.000
Intercept	19110.967	1	19110.967	1851.737	.000
hari	1045.227	4	261.307	25.319	.000
kelompok	920.281	1	920.281	89.170	.000
hari * kelompok	564.260	4	141.065	13.668	.000
Error	1651.290	160	10.321		
Total	24308.760	170			
Corrected Total	5264.874	169			

a R Squared = .686 (Adjusted R Squared = .669)

T-Test
Group Statistics

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Waktu	Injeksi NS	10	14.280	3.1534	.9972
	Injeksi CFA	24	7.433	3.5233	.7192

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Waktu	Equal variances assumed	.402	.530	5.314	32	.000	6.8467	1.2885	4.2221	9.4712
	Equal variances not assumed			5.569	18.807	.000	6.8467	1.2295	4.2715	9.4218

Waktu	Tinggi	Suhu	Kelembaban	Kecepatan Angin	Arah Angin	Perhitungan		Diferensial	Garis	Diferensial	Garis	Diferensial
						1	2					
08.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
09.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
10.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
11.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
12.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
13.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
14.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
15.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
16.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
17.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
18.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
19.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
20.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
21.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
22.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
23.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
00.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
01.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
02.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
03.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
04.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
05.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
06.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0
07.00	100	28.5	75	1.5	Timur	100	100	0	100	100	0	0

Perhitungan Suhu Test

Waktu	Tinggi	Suhu	Kelembaban	Kecepatan Angin	Arah Angin
08.00	100	28.5	75	1.5	Timur
09.00	100	28.5	75	1.5	Timur
10.00	100	28.5	75	1.5	Timur
11.00	100	28.5	75	1.5	Timur
12.00	100	28.5	75	1.5	Timur
13.00	100	28.5	75	1.5	Timur
14.00	100	28.5	75	1.5	Timur
15.00	100	28.5	75	1.5	Timur
16.00	100	28.5	75	1.5	Timur
17.00	100	28.5	75	1.5	Timur
18.00	100	28.5	75	1.5	Timur
19.00	100	28.5	75	1.5	Timur
20.00	100	28.5	75	1.5	Timur
21.00	100	28.5	75	1.5	Timur
22.00	100	28.5	75	1.5	Timur
23.00	100	28.5	75	1.5	Timur
00.00	100	28.5	75	1.5	Timur
01.00	100	28.5	75	1.5	Timur
02.00	100	28.5	75	1.5	Timur
03.00	100	28.5	75	1.5	Timur
04.00	100	28.5	75	1.5	Timur
05.00	100	28.5	75	1.5	Timur
06.00	100	28.5	75	1.5	Timur
07.00	100	28.5	75	1.5	Timur

Group 2020/2021

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
kelompok perlakuan	1.0	CFA-Plasebo	28
	2.0	CFA-PD 98059 0.1	32
	3.0	CFA-PD 98059 1	32
	4.0	CFA-PD 98059 5	28
hari pengukuran	1.0	8	30
	2.0	10	30
	3.0	12	30
	4.0	14	30

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: waktu ketahanan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	315.672(a)	15	21.045	2.008	.021
Intercept	5884.408	1	5884.408	561.352	.000
kelompok	216.387	3	72.129	6.881	.000
hari	50.934	3	16.978	1.620	.189
kelompok * hari	48.813	9	5.424	.517	.859
Error	1090.187	104	10.483		
Total	7291.740	120			
Corrected Total	1405.859	119			

a. R Squared = .225 (Adjusted R Squared = .113)

Post Hoc Tests

IR - UNIVERSITAS AIRLANGGA

Multiple Comparisons

Dependent Variable: waktu ketahanan
LSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CFA-Plasebo	CFA-PD 98059 0.1	-1.600	.8378	.059	-3.261	.062
	CFA-PD 98059 1	-1.388	.8378	.101	-3.049	.274
	CFA-PD 98059 5	-3.871(*)	.8653	.000	-5.587	-2.155
CFA-PD 98059 0.1	CFA-Plasebo	1.600	.8378	.059	-.062	3.261
	CFA-PD 98059 1	.212	.8094	.794	-1.393	1.817
	CFA-PD 98059 5	-2.272(*)	.8378	.008	-3.933	-.610
CFA-PD 98059 1	CFA-Plasebo	1.388	.8378	.101	-.274	3.049
	CFA-PD 98059 0.1	-.212	.8094	.794	-1.817	1.393
	CFA-PD 98059 5	-2.484(*)	.8378	.004	-4.145	-.822
CFA-PD 98059 5	CFA-Plasebo	3.871(*)	.8653	.000	2.155	5.587
	CFA-PD 98059 0.1	2.272(*)	.8378	.008	.610	3.933
	CFA-PD 98059 1	2.484(*)	.8378	.004	.822	4.145

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 4. Perhitungan Statistik Waktu Ketahanan Mencit Terhadap Stimulus Panas Hari ke- 8 Setelah Injeksi

IR UNIVERSITAS AIRLANGGA

Oneway

ANOVA

waktu ketahanan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.992	3	5.664	.542	.658
Within Groups	271.563	26	10.445		
Total	288.555	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: waktu ketahanan
LSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CFA-plasebo	CFA-SB 0.1	.3071	1.6726	.856	-3.131	3.745
	CFA-SB 1	-.5304	1.6726	.754	-3.989	2.908
	CFA-SB 5	-1.7000	1.7275	.334	-5.251	1.851
CFA-SB 0.1	CFA-plasebo	-.3071	1.6726	.856	-3.745	3.131
	CFA-SB 1	-.8375	1.6159	.609	-4.159	2.484
	CFA-SB 5	-2.0071	1.6726	.241	-5.445	1.431
CFA-SB 1	CFA-plasebo	.5304	1.6726	.754	-2.908	3.969
	CFA-SB 0.1	.8375	1.6159	.609	-2.484	4.159
	CFA-SB 5	-1.1696	1.6726	.491	-4.608	2.269
CFA-SB 5	CFA-plasebo	1.7000	1.7275	.334	-1.851	5.251
	CFA-SB 0.1	2.0071	1.6726	.241	-1.431	5.445
	CFA-SB 1	1.1696	1.6726	.491	-2.269	4.608

Univariate Analysis of Variance

Tests of Between-Subjects Effects
 Dependent Variable: waktu ketahanan

Between-Subjects Factors		Value Label	N
kelompok perlakuan	1.0	CFA-Plasebo	28
	2.0	CFA-SB 203580 0.1	32
	3.0	CFA-SB 203580 1	32
	4.0	CFA-SB 203580 5	24
hari pengukuran	1.0	8	29
	2.0	10	29
	3.0	12	29
	4.0	14	29

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	452.208(a)	15	30.147	2.147	.013
Intercept	6394.974	1	6394.974	455.469	.000
kelompok	207.839	3	69.280	4.934	.003
hari	141.513	3	47.171	3.360	.022
kelompok * hari	97.977	9	10.886	.775	.639
Error	1404.042	100	14.040		
Total	8471.560	116			
Corrected Total	1856.250	115			

a. R Squared = .244 (Adjusted R Squared = .130)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: waktu ketahanan
LSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CFA-Plasebo	CFA-SB 203580 0.1	-3.131(*)	.9696	.002	-5.055	-1.207
	CFA-SB 203580 1	-3.384(*)	.9696	.001	-5.308	-1.460
	CFA-SB 203580 5	-2.180(*)	1.0423	.039	-4.248	-.112
CFA-SB 203580 0.1	CFA-Plasebo	3.131(*)	.9696	.002	1.207	5.055
	CFA-SB 203580 1	-.253	.9368	.788	-2.112	1.605
	CFA-SB 203580 5	.951	1.0118	.350	-1.056	2.958
CFA-SB 203580 1	CFA-Plasebo	3.384(*)	.9696	.001	1.460	5.308
	CFA-SB 203580 0.1	.253	.9368	.788	-1.605	2.112
	CFA-SB 203580 5	1.204	1.0118	.237	-.803	3.212
CFA-SB 203580 5	CFA-Plasebo	2.180(*)	1.0423	.039	.112	4.248
	CFA-SB 203580 0.1	-.951	1.0118	.350	-2.958	1.056
	CFA-SB 203580 1	-1.204	1.0118	.237	-3.212	.803

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway
ANOVA

waktu ketahanan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.302	3	2.434	.260	.854
Within Groups	234.226	25	9.369		
Total	241.528	28			

Post Hoc Tests
Multiple Comparisons

Dependent Variable: waktu ketahanan
LSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CFA-plasebo	CFA-SB 0.1	-.6054	1.5842	.706	-3.868	2.657
	CFA-SB 1	-.5179	1.5842	.746	-3.780	2.745
	CFA-SB 5	.7071	1.7029	.681	-2.800	4.214
CFA-SB 0.1	CFA-plasebo	.6054	1.5842	.706	-2.657	3.868
	CFA-SB 1	.0875	1.5304	.955	-3.065	3.240
	CFA-SB 5	1.3125	1.6531	.435	-2.092	4.717
CFA-SB 1	CFA-plasebo	.5179	1.5842	.746	-2.745	3.780
	CFA-SB 0.1	-.0875	1.5304	.955	-3.240	3.065
	CFA-SB 5	1.2250	1.6531	.466	-2.180	4.630
CFA-SB 5	CFA-plasebo	-.7071	1.7029	.681	-4.214	2.800
	CFA-SB 0.1	-1.3125	1.6531	.435	-4.717	2.092
	CFA-SB 1	-1.2250	1.6531	.466	-4.630	2.180

