

TESIS

**EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL EPITEL
SQUAMOUS DENGAN INFILTRASI *ROPIVACAINE* PADA DAERAH
SEKITAR LUKA INSISI OPERASI
(STUDI EKSPERIMENTAL LABORATORIK PADA TIKUS WISTAR)**



Oleh:

Abdurrahman
NIM. 011718066310

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL EPITEL
SQUAMOUS DENGAN INFILTRASI *ROPIVACAINE* PADA DAERAH
SEKITAR LUKA INSISI OPERASI
(STUDI EKSPERIMENTAL LABORATORIK PADA TIKUS WISTAR)**

Oleh:

Abdurrahman
NIM. 011718066310

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL EPITEL
SQUAMOUS DENGAN INFILTRASI *ROPIVACAINE* PADA DAERAH
SEKITAR LUKA INSISI OPERASI
(STUDI EKSPERIMENTAL LABORATORIK PADA TIKUS WISTAR)**

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar **Magister Kedokteran Klinik**
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:
Abdurrahman
NIM. 011718066310

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI UNTUK

DIUJIKAN PADA 19 April 2022

Oleh :

Pembimbing Pertama



Dr. Prananda Surya Airlangga, dr., M.Kes., SpAn., KIC
NIP. 19760423 200801 1 006

Pembimbing Kedua



Dr. Imam Susilo, dr., Sp. PA (K)., FISC.M., MIAP
NIP. 19650810 199702 1 001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Dr. Iwanto, dr., Sp.A (K)
NIP. 19581101 198610 1 002

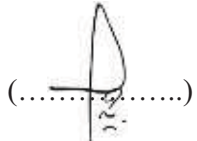
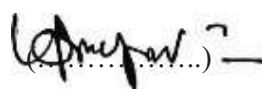
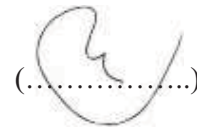
HALAMAN PENGESAHAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Abdurrahman, dr.
NIM : 011718066310
Program Studi : Magister Kedokteran Klinik
Judul : **EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL
EPITEL *SQUAMOUS* DENGAN INFILTRASI
ROIIVACAIN PADA DAERAH SEKITAR LUKA INSISI
OPERASI**

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada PROGRAM
STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA pada
tanggal 19 April 2022

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN

1. Pembimbing Ketua :
Dr. Prananda Surya Airlangga, dr., M.Kes., SpAn., KIC  (.....)
2. Pembimbing Anggota :
Dr. Imam Susilo, dr., Sp.PA.(K).,FISCM., MIAP  (.....)
3. Penguji :
Dr. Christrijogo Sumartono, dr., Sp.An.KAR  (.....)
4. Penguji :
Dedi Susila, dr.,Sp.An.KMN  (.....)
5. Penguji :
Dr. Budi Utomo, dr.,M.Kes  (.....)

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Abdurrahman, dr.

NIM : 011718066310

Program Studi : Magister Kedokteran Klinik

Judul Tesis :

**“EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL EPITEL
SQUAMOUS DENGAN INFILTRASI *ROPIVACAINE* PADA DAERAH
SEKITAR LUKA INSISI OPERASI
(STUDI EKSPERIMENTAL LABORATORIK PADA TIKUS WISTAR)”**

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (*Plagiarism*) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 11 Mei 2021



Abdurrahman
NIM. 011718066310

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim,

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah Yang Maha Esa atas segala rizki dan karuniaNya sehingga sampai saat ini saya diberikan kesempatan untuk menempuh Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga serta menyusun tesis berjudul **“EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL EPITEL *SQUAMOUS* DENGAN INFILTRASI *ROPIVACAIN* PADA DAERAH SEKITAR LUKA INSISI OPERASI”** ini sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan magister.

Pada kesempatan ini tidak berlebihan kiranya saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh civitas akademika Departemen dan Program Studi Anestesiologi dan Reanimasi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, kepada segenap guru yang telah membimbing, serta kepada pihak-pihak yang memberikan dukungan selama proses penyusunan penelitian ini, yaitu kepada yang terhormat:

1. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
2. Bambang Pujo Semedi, dr.,Sp.An.KIC selaku Ketua Departemen Anestesiologi dan Reanimasi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya
3. Dr.Prananda Surya Airlangga, dr., M.Kes.,SpAn.KIC selaku Ketua Program Studi PPDS-1 Anestesiologi dan Reanimasi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya serta sebagai dosen pembimbing penelitian yang dengan

penuh perhatiandan dan pengorbanan, memberikan pemikiran, tenaga, serta meluangkan waktunya mendidik sampai saat penyusunan tesis ini.

4. Dr. Imam Susilo, dr., Sp.PA.(K).FISCM., MIAP sebagai dosen pembimbing penelitian yang dengan penuh perhatian memberikan sumbangan pikiran, tenaga, serta telah meluangkan waktunya saat penyusunan tesis ini.
5. Dr. Christrijogo Sumartono, dr., Sp.An.KAR sebagai penguji penelitian yang dengan penuh perhatian memberikan sumbangan pikiran, tenaga, serta telah meluangkan waktunya untuk penyempurnaan tesis ini.
6. Dedi Susila, dr.,Sp.An.KMN sebagai penguji penelitian yang dengan penuh perhatian memberikan sumbangan pikiran, tenaga, serta telah meluangkan waktunya untuk penyempurnaan tesis ini.
7. Dr. Budi Utomo, dr.,M.Kes sebagai penguji penelitian yang dengan penuh perhatian memberikan sumbangan pikiran, tenaga, serta telah meluangkan waktunya sebagai konsultan statistik dan penyempurnaan tesis ini.
8. Seluruh guru-guru saya di Departemen dan Program Studi Anestesiologi dan Reanimasi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang dengan segala kesabaran dan cinta kasih telah membimbing saya menjalani proses pendidikan.
9. Seluruh perawat dan karyawan di lingkungan Departemen dan Pogram Studi Anestesiologi dan Reanimasi FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
10. Kedua orang tua saya, Ayahanda Imam Susilo, dan ibunda Dian Agami Islam; Istri saya Harmi Fitria; Anak saya Ashma dan Ibrahim yang dengan

doa, kesabaran dan kasih sayang telah memberikan dorongan moril dan materiil untuk menyelesaikan pendidikan.

11. Untuk seluruh teman sejawat PPDS 1 FK Unair / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, terutama Departemen dan Program Studi Anestesiologi dan Reanimasi, terus berjuang. Untuk teman sejawat seangkatan saya : Catur, Mahisa, Dani, Dana, Dini, Anggiat, Aria, Juniar, dan Pirhot, saya sampaikan terus semangat dan terimakasih banyak.

Akhir kata saya sampaikan maaf kepada semua pihak atas segala kesalahan baik yang disengaja maupun tidak. Saya berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu, khususnya di bidang Anestesiologi dan Reanimasi. Semoga Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan berkah dan rahmat-Nya kepada kita semua. Amin.

Surabaya, 2022

Penulis

ABSTRAK

**EKSPRESI PROTEIN *CASPASE 3* DAN *APOPTOSIS* SEL EPITEL
SQUAMOUS DENGAN INFILTRASI *ROPIVACAINE* PADA DAERAH
SEKITAR LUKA INSISI OPERASI**

Abdurrahman*, Prananda S. Airlangga*, Imam Susilo**

Latar Belakang: Penyembuhan luka dan regenerasi jaringan terdiri dari proses molekuler dan seluler yang terjadi tepat setelah luka terbentuk. Kematian sel terutama *apoptosis* sel *epitel squamous* terlihat pada proses penyembuhan luka pada luka insisi. Pada jalur intrinsik *apoptosis*, apoptosom diproduksi untuk menginisiasi pembentukan *caspase 3* dari pro-*caspase 3* yang berperan penting dalam proses *apoptosis*. Salah satu cara untuk mempercepat proses penyembuhan luka adalah dengan menghilangkan rasa sakit, yang dapat dilakukan dengan infiltrasi anestesi lokal (LA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh infiltrasi ropivacaine sebagai anestesi lokal terhadap ekspresi *Caspase 3* dan *apoptosis*.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized post-test only control group design*. Sampel penelitian ini adalah 24 ekor tikus Wistar yang terpilih di Unit Hewan Coba Departemen Farmakologi FK Unair yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus-tikus tersebut menjalani masa aklimatisasi, dibagi menjadi empat kelompok kemudian diinsisi, dilanjutkan dengan infiltrasi ropivacaine 0,2% sebanyak 1 ml, sedangkan yang lain tanpa diberikan perlakuan. Prosedur biopsi eksisi dilakukan pada hari ketiga dan ketujuh untuk diperiksa ekspresi protein *caspase 3* dan *apoptosis* sel epitel *squamous*. Data yang didapat kemudian dianalisis dengan program SPSS.

Hasil: Ekspresi protein *caspase 3* pada epitel sel *squamous* kelompok kontrol dan intervensi ditemukan berbeda secara statistik pada hari ke-3 ($p=0,024$) dan hari ke-7 ($p=0,041$). Jumlah *apoptosis* pada epitel sel *squamous* kelompok kontrol dan intervensi ditemukan berbeda secara statistik pada hari ke-7 ($p=0,031$), pada hari ke-3 terdapat penurunan jumlah *apoptosis* namun secara statistik tidak signifikan ($p=0,414$).

Kesimpulan: Infiltrasi ropivacaine pada daerah sekitar luka insisi menurunkan ekspresi protein *caspase 3* pada hari ke 3 dan 7; dan *apoptosis* pada hari ke 7 sel epitel *squamous*.

Kata kunci: Ropivacaine, Anestesi lokal, *Caspase 3*, *Apoptosis*

ABSTRACT

CASPASE 3 PROTEIN EXPRESSION AND SQUAMOUS EPITHELIAL CELL APOPTOSIS WITH ROPIVACAINE INFILTRATION IN THE AREA AROUND THE OPERATIONAL INCISION

Abdurrahman*, Prananda S. Airlangga*, Imam Susilo**

Background: Wound healing and tissue regeneration consist of molecular and cellular process that occur right after wound formation. Cell death, especially apoptosis of squamous cells, is seen in the wound healing process of incision wound. In the intrinsic pathway of apoptosis, apoptosome is produced to initiate the formation of Caspase 3 from Pro-caspase 3 that plays an important role in apoptosis. One of the methods that accelerates wound healing process is by eliminating pain, which can be achieved by infiltration of local anaesthesia (LA). This study aims to determine the effect of ropivacaine infiltration as local anaesthesia in the expression of Caspase 3 and apoptosis.

Methods: This study is an experimental study with a randomized post-test only control group design. The sample of this study was 24 Wistar rats selected in the Experimental Animal Unit of the Department of Pharmacology, Faculty Medicine of Unair that met the inclusion and exclusion criteria. The rats underwent a period of acclimatization, divided into four groups and then incised, followed by infiltration of 0.2% ropivacaine as much as 1 ml, while the others were not given any treatment. Excisional biopsy procedures were performed on the third and seventh days to examine caspase 3 protein expression and squamous epithelial cell apoptosis. The data obtained were then analyzed with the SPSS program.

Results: Expression of Caspase 3 on squamous cell epithel of control and intervention group was found statistically different on day 3 ($p=0.024$) and day 7 ($p=0.041$). Number of apoptosis on squamous cell epithel of control and intervention group was found statistically different on day 7 ($p=0.031$) on day 3 there was a decrease in the number of apoptosis but not statistically significant ($p=0.414$).

Conclusion: Ropivacaine infiltration on incision wound decreased the expression of Caspase 3 on day 3 and 7; and apoptosis on day 7.

Keywords: Ropivacaine, Local anaesthesia, Caspase 3, Apoptosis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PERSYARATAN MEMPEROLEH GELAR MAGISTER	iii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN PANITIA PENGUJI TESIS.....	v
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK.....	x
<i>ABSTRACT</i>	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum.....	4
1.3.2 Tujuan khusus.....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Nyeri.....	6
2.2 Mekanisme nyeri.....	6
2.2.1 Proses transduksi.....	7
2.2.2 Proses transmisi.....	8
2.2.3 Proses modulasi.....	8
2.2.4 Proses persepsi.....	9
2.3 Penyembuhan Luka.....	9

2.4 Fase Penyembuhan Luka.....	12
2.4.1 Fase inflamasi.....	12
2.4.2 Fase proliferasi.....	14
2.4.3 Fase maturase (<i>remodelling</i>)	16
2.5 <i>Apoptosis</i>	17
2.5.1 Pengertian <i>apoptosis</i>	17
2.5.2 Peranan <i>apoptosis</i>	18
2.5.3 Fungsi <i>apoptosis</i>	18
2.5.4 Mekanisme <i>apoptosis</i>	19
2.5.5 Signal penginduksi <i>apoptosis</i>	20
2.5.6 Regulator molekuler dari <i>apoptosis</i>	20
2.5.7 Target <i>caspase</i>	22
2.5.8 Tahap pelaksanaan <i>apoptosis</i> jalur intrinsik.....	22
2.6 <i>Ropivacain</i>	23
2.6.1 Mekanisme kerja.....	23
2.6.2 Farmakokinetik <i>ropivacain</i>	24
2.6.3 Farmakodinamik <i>ropivacain</i>	24
2.7 Pengaruh <i>ropivacain</i> terhadap Luka.....	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	27
3.1 Kerangka Konsep.....	27
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	28
3.3 Hipotesis Penelitian	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	31
4.1 Rancangan Penelitian	31
4.2 Sampel penelitian.....	32
4.3 Lokasi penelitian.....	33
4.4 Variabel Penelitian.....	34
4.4.1 Variabel bebas	34
4.4.2 Variabel tergantung	34
4.5 Definisi Operasional	34

4.6 Bahan dan Alat Penelitian	35
4.7 Prosedur Penelitian	36
4.8 Kerangka Operasional.....	40
4.9 Analisis Data	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	42
5.1 Karakteristik Subyek Penelitian.....	42
5.2 Ekspresi Protein <i>Caspase 3</i>	44
5.3 Jumlah <i>Apoptosis</i>	48
BAB 6 PEMBAHASAN.....	51
BAB 7 PENUTUP.....	55
7.1 Kesimpulan.....	55
7.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi Operasional.....	34
Tabel 5.1 Tabel Hasil Ekspresi <i>Caspase 3</i> dan Jumlah <i>Apoptosis</i> Sel	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Lintasan Nyeri	9
Gambar 2.2 Grafik Fase Penyembuhan Luka.	12
Gambar 2.3 Proses Kematian Selular	17
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	27
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.	31
Gambar 4.2 Kerangka Operasional	40
Gambar 5.1 Ekspresi Protein <i>Caspase</i> 3 pada jaringan (panah hijau) Pemeriksaan Imunohistokimia dengan Pembesaran 400 X Kontrol pada Hari ke 3	44
Gambar 5.2 Ekspresi protein <i>Caspase</i> 3 (tanda panah hijau) Pada hari ke-3 dengan Pewarnaan Imunohistokimia (400x) pada kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B).	45
Gambar 5.3 Ekspresi Protein <i>Caspase</i> 3 (tanda panah hijau) Pada Hari ke-7 dengan Pewarnaan Imunohistokimia (400x) pada Kelompok Kontrol (C) dan Kelompok Perlakuan (D)	45
Gambar 5.4 Rata rata dan Standard Deviasi Dari Ekspresi Protein <i>Caspase</i> 3 pemeriksaan Imunohistokimia dengan Pembesaran 400 x, pada hari ke-3 dan hari ke-7	46
Gambar 5.5 Grafik perubahan rerata ekspresi protein <i>Caspase</i> 3 sel epitel squamous pada hari ke 3 dan ke 7 antara kelompok kontrol dan perlakuan.	47
Gambar 5.6 <i>Apoptosis</i> (gambar panah hijau) Pada Hari ke-3 dengan Pewarnaan HE (400x) pada Kelompok Kontrol (A) dan Kelompok Perlakuan (B)	48
Gambar 5.7 Sel <i>Apoptosis</i> (gambar panah hijau) pada hari ke-7 dengan Pewarnaan HE (400x) pada Kelompok Kontrol (C) dan Kelompok Perlakuan (D)	49
Gambar 5.8 Rerata dan Standard Deviasi dari Jumlah <i>Apoptosis</i>	49

DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: <i>Adreno Corticotrophic Hormone</i>
ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
APAF-1	: <i>Apoptotic protease activating factor 1</i>
ANOVA	: <i>Analysis Statistic of Variant</i>
bFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
BAK	: <i>Bcl-2 associated killer</i>
BAX	: <i>Bcl-2-associated X protein</i>
Bcl-2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
Bcl-xl	: <i>B-cell Lymphoma Extra Large</i>
CNS	: <i>Central Nervous System</i>
CRH	: <i>Corticotropic Releasing Hormone</i>
CYP	: <i>Cytokrom P40</i>
CYS	: <i>cysteine</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EPC	: <i>Endothelial Progenitor Cells</i>
eFGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
HPA	: <i>Hipotalamus Pituitaria Adrenal</i>
IASP	: <i>International Association for the Study of Pain</i>
ICAM-1/-2	: <i>Intracellular Adhesion Molecule -1/-2</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IGF λ	: <i>Insulin Like Growth Factor</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IL-1/-6/-8/-10	: <i>Interleukin-1 /-6 /-8/ -10</i>
IL-1R	: <i>Kompleks Receptor Interleukin</i>
IL-1RacP	: <i>Interleukin Receptor Accecory Protein</i>
MAP	: <i>A-Mitogen Activated Protein Kinase</i>
Na	: <i>Natrium</i>
NSAID	: <i>Non Steroid Anti Inflamasi</i>
NF- κ B	: <i>Kaskade kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
PDAF	: <i>Platelet Derived Angiogenic Factor</i>
PDGF	: <i>Platelet Derivate Grow Factor</i>
PMN	: <i>Polimorphonuclear</i>
RSUD	: <i>Rumah Sakit Umum Daerah</i>
TGF- $\alpha\beta$	: <i>Transforming growth factor alpha beta</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor beta</i>
TNF-a	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>