



Comparative Study on TGF- β Expression of Large Continues and Small Continues Stitch Technique Using Polyglecaprone 25 on Abdominal Skin Incision in *Rattus Novergicus*

Dhyas Munandar AS^{1*}, Imam Sofii², Akhmad Mahmudi³

*Email: dz_munandar@yahoo.com

¹Departemen Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Ahmad Dahlan

²Divisi Bedah Digestif, Departemen Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada

³Divisi Bedah Anak, Departemen Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada

ARTICLE INFO

ABSTRACT (ENGLISH,CAMBRIA,10PT)

Article history

Received 31 Dec 2020

Revised 18 May 2021

Accepted 29 May 2021

Keywords

polyglecaprone 25

large stitch

small stitch

TGF- β

Ideal closing of the abdominal wound will provide strength and prevent infection. Abdominal wall closure method is an important aspect of effective incision closure, besides the choice of suture material. TGF- β generally involved in wound healing process. The suture technique is also important in wound healing process. This study aims to compare the large stitch technique with the small stitch technique for abdominal skin closure. Twenty rats were used in 4 groups. The small stitch group received small tissue bites of 5 mm from wound edge, and the large tissue group received large bites of 10 mm from wound edge. The incision of the skin was closed by running suture using polyglecaprone 25. Animal model were euthanized on the 4th and 7th day post incision. Tissue section were examined using immunohistochemistry method to measure TGF- β expression. The results were analyzed using t-test and the effect size. Rats in the small stitch group had higher TGF- β expression on day 4th and 7th than those in the large stitch group. TGF- β expressions in the small stitch group were 0,87 -fold greater on day 7th than day 4th and were 0,71 -fold greater in the large stitch group ($p = 0,410$). The significance analysis on day 4th with a result of 0,082 and day 7th with a result of 1.48, which means day 7th showed high effect (Cohen's $d > 0.8$) on wound healing than day 4th. In conclusion, polyglecaprone 25 use as a suture material on the day 7th showed a high effect in terms of TGF- β expression.

This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



PENDAHULUAN

Pendahuluan

Dehisensi luka dapat timbul pada fase awal setelah masa operasi (Van Ramshorst *et al.*, 2012). Spiliotis *et al.* (2009) mengartikan dehisensi luka adalah suatu kegagalan mekanik saat

proses penyembuhan pada luka, hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa macam faktor, diantaranya adalah faktor usia, malnutrisi, anemia, hipoalbumin, infeksi luka operasi, keganasan, operasi emergensi, obesitas serta diabetes (Van Ramshorst *et al.*, 2012).

Fase penyembuhan luka merupakan suatu proses yang tidak selalu berjalan dengan baik (Smeltzer & Bare, 2010). Ada kalanya suatu keterlambatan dari fase penyembuhan luka berada pada tepi jaringan yang bergranulasi sehingga menjadikan luka sukar untuk sembuh atau dijahit kembali akibat adanya suatu infeksi. Pada fase infeksi, bakteri dapat memproduksi enzim yang dapat merusak suatu jaringan, sehingga jaringan yang rusak dapat memacu terjadinya suatu dehisensi luka. Perkiraan waktu terjadinya dehisensi antara empat sampai empat belas hari setelah operasi dengan rata-rata kejadian pada hari ke tujuh paska operasi (Kenig *et al.*, 2013).

Irisan operasi dengan arah median pada abdomen yang ditutup dengan jahitan kontinyu, akan memiliki rasio panjang benang dibandingkan panjang luka paling sedikit (Millbourn, 2009). Rasio ini dapat dicapai jika interval antar jahitan pada luka diperkecil dengan *small stitch* karena interval antar jahitan mempengaruhi penyembuhan luka (Harlaar, 2010). Telaah sistematis menyatakan bahwa benang *absorbable* menurunkan resiko dehisensi luka pada jahitan kulit daripada menggunakan benang *non absorbable* (Sajid *et al.*, 2014).

Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) diketahui berperan mengatur diferensiasi sel, menginduksi kemotaksis sel inflamasi dan akumulasi protein matriks ekstraseluler *in vivo*, merangsang perbaikan jaringan lunak dan jaringan keras serta berperan sebagai alat imunosupresan yang poten (Beck *et al.*, 2003). Marston (2006), membuktikan bahwa TGF- β memulai dan mengakhiri perbaikan jaringan. TGF- β bertindak bersamaan sebagai stimulator seluler untuk meningkatkan sintesis sebagian besar protein matriks beberapa kali lipat, supresor seluler untuk menurunkan produksi inhibitor protease kolagen dan modulator ekspresi integrin tertentu dengan cara meningkatkan adhesi seluler ke matriks.

Sebuah penelitian mengenai perbandingan pengaruh interval jahitan *large stitch* dan *small stitch* kontinyu dengan benang *polyglycolide* terhadap ekspresi TGF- β pada garis insisi fascia abdomen tikus albino galur wistar (*Rattus norvegicus*) menyimpulkan ekspresi TGF- β pada kelompok *large stitch* atau *small stitch* tidak bermakna signifikan (Heryu *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian diatas, peneliti tertarik untuk membandingkan perbedaan ekspresi TGF- β pada luka paska insisi abdomen dengan teknik jahitan kontinyu interval *large stitch* dan *small stitch* menggunakan benang *polyglecaprone 25*.

Metode Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental dengan *posttest only control group design*. Penelitian dilakukan di Pusat Studi Antar Universitas di Universitas Gadjah Mada dengan

menggunakan hewan coba. Penelitian dimulai Maret 2018 setelah *ethical approval* diterbitkan komisi etik FK-KMK UGM dengan nomor Ref: KE/FK/0151/EC/2018.

Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah 20 ekor tikus albino galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 170-200 gram, usia 2-3 bulan, diperoleh dari unit pengembangan hewan coba Universitas Gajah Mada yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 170-200 gram, kondisi umum baik dan aktif, tidak ada tanda luka. Kriteria eksklusi subyek sakit selama masa adaptasi 7 hari, infeksi dan mati selama perlakuan berlangsung. Tikus ditempatkan dalam kandang dengan siklus gelap terang 12 jam.

Perlakuan Hewan Coba

Besar sampel ditetapkan dengan menggunakan rumus Federer (1963) yaitu 20 ekor yang secara acak dibagi menjadi 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok satu adalah kelompok yang dijahit dengan benang polyglecaprone 25 dengan teknik *large sticth* kontinyu, dilakukan *euthanasia* pada hari ke 4. Kelompok dua adalah kelompok yang dijahit dengan benang *polyglecaprone 25* dengan teknik *small sticth* kontinyu, dilakukan *euthanasia* pada hari ke 4. Kelompok tiga adalah kelompok yang dijahit dengan teknik *large sticth* kontinyu dilakukan *euthanasia* pada hari ke 7. Kelompok empat adalah kelompok yang dijahit dengan teknik *small sticth* kontinyu dilakukan *euthanasia* pada hari ke 7. Dilakukan *euthanasia* pada tikus menggunakan teknik dekapitasi setelah sebelumnya dilakukan anestesi menggunakan ketamin 60-100mg/kgBB intramuskuler (i.m).

Proses pengujian ekspresi TGF- β dilakukan dengan metode pewarnaan imunohistokimia lalu dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Ekspresi TGF- β dapat dilihat dengan adanya warna kecoklatan pada sel yang dapat diamati di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada. Penghitungan jumlah ekspresi TGF- β menggunakan *counter* pada aplikasi *Adobe Reader*.

Analisis Data

Setelah dilakukan penyusunan data, data kemudian dianalisis secara statistik menggunakan *independent t-test* bila data terdistribusi secara normal, atau *Mann Whitney* bila data tidak terdistribusi secara normal. Untuk memastikan ada perbedaan secara signifikan atau tidak, dilakukan uji *effect's size* menggunakan *software effect size calculator* dengan uji Cohen:

$$\text{Cohen's } d = \frac{(M_2 - M_1)}{\sqrt{((SD_1^2 + SD_2^2)/2)}}$$

Klasifikasi Cohen (1988), nilai 0.2 mempunyai efek kecil, nilai 0.5 adalah efek sedang, nilai 0.8 adalah efek besar. Nilai dibawah 0.2 di anggap *trivial* atau tidak signifikan.

Hasil

Tabel 1 menunjukkan perbedaan rerata jumlah ekspresi TGF- β pada insisi abdomen tikus yang dijahit menggunakan benang *polyglecaprone 25* dengan teknik *large stitch* kontinyu dan *small stitch* kontinyu pada hari 4 dan hari 7 paska insisi.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Ekspresi TGF-B

| Hari paska insisi | <i>Large Stitch</i> | <i>Small Stitch</i> |
|-------------------|---------------------|---------------------|
| 4 | 76,67 | 81,33 |
| 4 | 25,67 | 25,67 |
| 4 | 20,00 | 18,33 |
| 4 | 35,00 | 22,67 |
| 4 | 28,33 | 44,00 |
| 7 | 95,00 | 75,67 |
| 7 | 28,67 | 11,33 |
| 7 | 29,67 | 122,00 |
| 7 | 40,67 | 34,33 |
| 7 | 97,67 | 99,67 |

Pada hari ke-4 paska insisi, didapatkan jumlah ekspresi TGF- β pada subjek dengan teknik interval *small stitch* lebih tinggi daripada yang menggunakan teknik *large stitch*. Pada hari ke 7 paska insisi, didapatkan ekspresi TGF- β dengan teknik interval *small stitch* juga mengalami kenaikan dibandingkan dengan hari ke 4 paska insisi. Rerata ekspresi TGF- β pada subjek dengan teknik interval *large* dan *small stitch* pada hari ke 7 paska insisi mengalami peningkatan nilai dibandingkan dengan hari ke 4.

Tabel 2 menunjukkan bahwa perbedaan rerata nilai TGF- β pada hari 4 paska insisi pada subjek yang dijahit dengan teknik *large stitch* dan *small stitch* tidak signifikan secara statistik (p value > 0.05).

Dari tabel 3, dapat disimpulkan perbedaan rerata ekspresi TGF- β pada hari 7 paska insisi pada subjek yang dijahit dengan teknik *large stitch* dan *small stitch* tidak signifikan secara statistik (p value > 0.05).

Perbedaan rerata tingkat ekspresi TGF- β pada hari ke 4 paska insisi diketahui melalui uji *effect's size* dengan uji Cohen menggunakan *software effect size calculator* dan didapatkan hasil 0,082, menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna kecil. Sedangkan pada hari ke 7 paska insisi berdasarkan uji *effect's size* didapatkan hasil 1,48 yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna besar.

Tabel 2. Uji t Perbedaan Ekspresi TGF-β Large dan Small Stitch Hari ke 4

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | 95% Confidence Interval of the Difference | |
|-----------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | Lower | Upper |
| Nilai TGF pada hari 4 | Equal variances assumed | 1,787 | ,218 | -1,298 | 8 | ,230 | -9,33333 | 7,18873 | -25,910 | 7,243 |
| | Equal variances not assumed | | | -1,298 | 5,357 | ,247 | -9,33333 | 7,18873 | -27,448 | 8,78166 |

Tabel 3. Uji t Perbedaan Ekspresi TGF-β Large dan Small Stitch Hari ke 7

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | 95% Confidence Interval of the Difference | |
|-----------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|---------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | Lower | Upper |
| Nilai TGF pada hari 7 | Equal variances assumed | ,078 | ,786 | -2,336 | 8 | ,480 | -12,40000 | 5,30848 | -24,641 | -,15861 |
| | Equal variances not assumed | | | -2,336 | 7,503 | ,050 | -12,40000 | 5,30848 | -24,784 | -,01591 |

Pembahasan

Pada tabel ke 2, ekspresi TGF-β pada hari ke 4 paska insisi abdomen dengan teknik *small stitch* kontinyu lebih tinggi dibandingkan dengan teknik *large stitch* kontinyu tetapi tidak bermakna signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa teknik *small stitch* tidak lebih baik dalam penyembuhan luka kulit abdomen pada fase awal penyembuhan. Sedangkan rerata ekspresi TGF-β pada hari 4 paska insisi abdomen terdapat perbedaan antara kelompok dengan teknik *large stitch* dan *small stitch*. Jumlah rerata ekspresi TGF-β adalah 39 pada kelompok *large stitch* dan 48 pada kelompok *small stitch* (p=0,230). Hasil tersebut menunjukkan ekspresi TGF-β pada kelompok *small stitch* lebih tinggi namun tidak bermakna secara statistik. Harlaar *et al*, (2010) melakukan penelitian *randomized trial* dan menyimpulkan bahwa *small stitch* berhubungan dengan insidensi rendah infeksi luka operasi dan hernia insisional. Analisis multivariat menunjukkan bahwa risiko infeksi sebesar dua kali lipat dan risiko hernia insisional sebesar 4 kali lipat di kelompok *large stitch*.

Jumlah TGF- β yang sedikit pada kelompok *large stitch* dapat menyebabkan gangguan penyembuhan luka kulit. Defisiensi TGF- β menyebabkan gangguan imunitas melawan infeksi dan gangguan fase akut inflamasi setelah kerusakan jaringan dan infeksi (Kopf *et al.*, 1994). Penelitian eksperimental yang dilakukan oleh Lin (2003) menjelaskan bahwa pada tikus dengan defisiensi TGF- β terjadi penurunan jumlah faktor pertumbuhan angiogenik dan fibrogenik sehingga angiogenesis dan deposisi kolagen tertunda. Angiogenesis dan pengendapan kolagen sangat diperlukan untuk penyembuhan luka.

Tabel 3 menunjukkan perbedaan rerata ekspresi TGF- β pada hari 7 paska insisi abdomen. Jumlah rerata ekspresi TGF- β pada kelompok *large stitch* adalah 30 sedangkan pada kelompok *small stitch* didapatkan nilai 43 ($p=0,480$). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa jumlah ekspresi TGF- β pada kelompok *small stitch* lebih banyak dan bermakna secara statistik. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fortenyl *et al.* (2015) yang membandingkan hasil penutupan dinding abdomen berdasarkan teknik jahitan *long stitch* (interval 10 mm) dan *short stitch* (interval 5 mm) dengan menggunakan benang yang sama yaitu *extra-long term absorbable monofilament*. Studi tersebut menyimpulkan bahwa teknik jahitan *small stitch* 5 mm dengan benang elastik monofilamen terserap lebih baik daripada teknik jahitan *large stitch* 10 mm dalam mencegah terjadinya hernia insisional, satu tahun paska insisi laparotomi median. Monofilamen diketahui bersifat lebih kuat, lebih sedikit tarikan jaringan, dan kemungkinan menjadi tempat bertumbuhnya agen infeksi rendah, sehingga kemungkinan infeksi luka paska operasi juga lebih rendah daripada multifilamen (Dart *et al.*, 2011). Sifat benang monofilamen lebih unggul dibandingkan multifilamen dalam pencegahan infeksi luka operasi. Benang *polyglecaprone 25* adalah benang monofilamen dan bersifat lebih biostabil sehingga secara tidak langsung dapat mencegah defisiensi TGF- β .

Kesimpulan

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi TGF- β dengan teknik *large stitch* dan *small stitch* kontinyu menggunakan benang *polyglecaprone 25* pada tikus albino galur wistar (*Rattus norvegicus*) pada hari ke 4 dan ke 7 paska insisi kulit abdomen. Sedangkan rerata nilai TGF- β hari ke 7 dengan teknik *large stitch* dan *small stitch* kontinyu dengan uji *effect size* menunjukkan perbedaan yang bermakna besar.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada pusat studi antar Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan seluruh asisten laboratorium Patologi Anatomi FK-KMK UGM yang telah berkontribusi dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Beck, P. L. *et al.* (2003) 'Transforming growth factor-beta mediates intestinal healing and susceptibility to injury in vitro and in vivo through epithelial cells'. *Am J Pathol*. 2003 Feb;162(2):597-608. doi: 10.1016/s0002-9440(10)63853-9. PMID: 12547717; PMCID: PMC1851153.
- Dart, A. J. *et al.* (2011) 'Suture Material: Conventional and Stimuli Responsive', *Comprehensive Biomaterials*, pp. 573–587. doi: 10.1016/B978-0-08-055294-1.00245-2.
- Fortelny, R. H. *et al.* (2015) 'Effect of suture technique on the occurrence of incisional hernia after elective midline abdominal wall closure: Study protocol for a randomized controlled trial', *Trials*, 16(1), pp. 1–8. doi: 10.1186/s13063-015-0572-x.
- Prima, H. *et al.* (2020) 'The impact of different suturing techniques for abdominal fascia closure on the Interleukin-6 expressions in Rattus norvegicus', *BMC Research Notes*, 13(1), p. 502. doi: 10.1186/s13104-020-05349-y.
- Kenig, J, *et al.* (2013) 'Risk factors for wound dehiscence after laparotomy-Clinical control trial'. [Pol Przegl Chir.](#) ;84(11):565-73. doi: 10.2478/v10035-012-0094-0.
- Kopf, M. *et al.* (1994) 'Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice', *Nature*, 368(6469), pp. 339–342. doi: 10.1038/368339a0.
- Lin, Z.-Q. *et al.* (2003) 'Essential involvement of IL-6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6-deficient mice', *Journal of Leukocyte Biology*, 73(6), pp. 713–721. doi: 10.1189/jlb.0802397.
- Marston WA (2006), 'Dermagraft Diabetic Foot Ulcer Study Group. Risk factors associated with healing chronic diabetic foot ulcers: the importance of hyperglycemia'. *Ostomy/wound Management*. Mar;52(3):26-8, 30, 32 passim.
- Harlaar, J. J. *et al.* (2010) 'Effect of stitch length on wound complications After Closure of Midline Incisions A Randomized Controlled Trial', *Archives of Surgery*, 145(6), p. 599. doi: 10.1001/archsurg.2010.78.
- Sajid, M *et al.*, (2014) 'Systematic review of absorbable vs non-absorbable sutures used for the closure of surgical incisions'. [World J Gastrointest Surg.](#); 6(12): 241–247. doi: [10.4240/wjgs.v6.i12.241](#)
- Smeltzer, S.C., & Bare, B.G. (2010) 'Post operative nursing wound management'. In *Brunner & Suddart's Textbook of medicalsurgical nursing* (12th ed.). Philadelphia: J.B. Lippincott Company.
- Spiliotis, J., T siveriotis, K., Datsis, A.D., Vaxevanidou, A., Zacharis, G., Konstantinos, G. Rogdakis, A. (2009) 'Wound Dehiscence : is still a problem in the 21th century : a restropective study'. *World Journal of Emergency Surgery*, 4(12), 1–5. doi:10.1186/1749-7922-4-12.
- Van Ramshorst, G. H. *et al.* (2012) 'Impact of incisional hernia on health-related quality of life and body image: A prospective cohort study', *American Journal of Surgery*. doi: 10.1016/j.amjsurg.2012.01.012.