

DAFTAR ISI

Sampul Dalam.....	i
Halaman Awal Disertasi	ii
Halaman Prasyarat Gelar	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vi
RINGKASAN	ix
<i>SUMMARY</i>	xii
<i>ABSTRACT</i>	xv
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR ARTI LAMBANG, SINGKATAN, DAN ISTILAH.....	xxii

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.3.1 Tujuan umum.....	8
1.3.2 Tujuan khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.4.1 Manfaat teoritis.....	9
1.4.2 Manfaat praktis	9

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 <i>Spinal Cord Injury</i> (SCI)	10
2.1.1 Definisi <i>Spinal Cord Injury</i> (SCI)	10
2.1.2 Klasifikasi <i>Spinal Cord Injury</i> (SCI).....	11
2.1.3 Patofisiologi.....	12
2.2 Proses Inflamasi pada <i>Spinal Cord Injury</i> (SCI)	15
2.2.1 Sitokin pro-inflamasi terhadap SCI	18
2.2.2 Sitokin anti-inflamasi terhadap SCI	21
2.3 Patofisiologi <i>Wound Healing</i> pada <i>Spinal Cord Injury</i>	25
2.3.1 Fase inflamasi	25
2.3.2 Fase proliferasi	26
2.3.3 Fase <i>remodelling</i>	29
2.4 <i>Molecular Pattern</i> Terkait Inflamasi dan Antiinflamasi	31
2.4.1 <i>Pathogen-associated molecular patterns</i> (PAMP).....	31
2.4.2 <i>Damage-associated molecular patterns</i> (DAMP).....	33
2.4.3 <i>Resolution-associated molecular patterns</i> (RAMP).....	36
2.4.4 <i>Patterns recognition receptors</i> (PRR).....	38
2.4.5 Mekanisme kerusakan jaringan	41
2.5 Peran Metilprednisolon pada SCI.....	45
2.6 Peran ACTH 4-10 pada SCI.....	48

2.6.1	Peran ACTH 4-10 dalam neuroproteksi <i>spinal cord</i>	48
2.6.2	Peran ACTH 4-10 terhadap sitokin.....	50
2.7	Model Cedera SCI pada Hewan Coba (Tikus <i>Sprague-Dawley</i>)	54

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual.....	56
3.2	Hipotesis Penelitian	57

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1	Jenis/Rancangan Penelitian yang Digunakan	59
4.2	Unit Eksperimen dan Replikasi	60
4.2.1	Unit eksperimen	60
4.2.2	Replikasi	60
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	61
4.3.1	Variabel bebas	61
4.3.2	Variabel tergantung	61
4.3.3	Variabel kendali.....	61
4.3.4	Variabel definisi operasional	61
4.4	Bahan dan Alat Penelitian	63
4.5	Instrumen Penelitian	64
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	64
4.7	Prosedur Penelitian	64
4.7.1	Persiapan bahan penelitian	64
4.7.1.1	ACTH 4-10.....	64
4.7.2	Persiapan alat penelitian	65
4.7.2.1	Alat kompresi	65
4.7.3	Persiapan hewan coba.....	66
4.7.3.1	Pemilihan hewan coba.....	66
4.7.3.2	Aklimatisasi hewan coba.....	66
4.7.4	Prosedur pembiusan.....	66
4.7.5	Prosedur analisis laboratorium	67
4.7.5.1	Pembuatan parafin blok jaringan.....	67
4.7.5.2	Proses deparafinisasi	68
4.7.5.3	Pewarnaan ekspresi TLR-2	68
4.7.5.4	Pewarnaan ekspresi NF-kB	68
4.7.5.5	Pewarnaan ekspresi IL-8	69
4.7.5.6	Pewarnaan ekspresi TNF- α	70
4.7.5.7	Pewarnaan neutrofil.....	70
4.8	Pengolahan Data dan Analisis Statistik	71
4.9	Alur Penelitian	72

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1	Gambaran Umum Pelaksanaan Penelitian.....	72
5.2	Kadar TLR Inflamasi Pada Model Cedera Medula Spinalis pada Tikus <i>Sprague-Dawley</i>	72
5.3	Kadar Sitokin Inflamasi pada Model Cedera Medula Spinalis pada Tikus <i>Sprague-Dawley</i>	76

5.3.1	Kadar <i>NF-κB</i> pada Model Cedera Medula Spinalis pada Tikus <i>Sprague-Dawley</i>	76
5.3.2	Kadar <i>IL-8</i> pada Model Cedera Medula Spinalis pada Tikus <i>Sprague-Dawley</i>	80
5.3.3	Kadar <i>TNF-α</i> pada Model Cedera Medula Spinalis pada Tikus <i>Sprague-Dawley</i>	84
5.4	Pengamatan Neutrofil pada Model Cedera Medula Dpinalis pada Tikus <i>Sprague-Dawley</i>	88

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1	Ekspresi <i>TLR-2</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-3	93
6.2	Ekspresi <i>TLR-2</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-6	95
6.3	Ekspresi <i>NF-kB</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-3	96
6.4	Ekspresi <i>NF-kB</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-6	98
6.5	Ekspresi <i>IL-8</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-3	99
6.6	Ekspresi <i>IL-8</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-6	101
6.7	Ekspresi <i>TNF- α</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-3	102
6.8	Ekspresi <i>TNF- α</i> pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan SCI, pada jam ke-6	104
6.9	Jumlah Neutrofil pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan Perlakuan SCI, pada jam ke-3	105
6.10	Jumlah Neutrofil pada Hewan Coba Tikus <i>Sprague-Dawley</i> dengan SCI, pada jam ke-3	108
6.11	Inflamasi Spada <i>Spinal Cord Injury</i>	109
6.11.1	Inflamasi sekunder pada SCI memperberat kerusakan jaringan	110
6.12	Pemberian ACTH 4-10 Intranasal	112
6.13	Keterbatasan Penelitian	113
6.14	Temuan Baru	113

BAB 7 PENUTUP

7.1	Kesimpulan	114
7.2	Saran	114

DAFTAR PUSTAKA	115
-----------------------------	-----

LAMPIRAN	126
-----------------------	-----

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Jenis makrofag dalam penyembuhan luka pada SCI.....	31
Tabel 2.2	Data penelitian NASCIS seri I, II, dan III mengenai peran metilprednisolon pada SCI	46
Tabel 5.1	Kadar <i>TLR</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i> diamati dalam kurun waktu 3 dan 6 jam	74
Tabel 5.2	Uji beda ekspresi <i>TLR</i> antar kelompok dengan metode Mann-Whitney	76
Tabel 5.3	Kadar <i>NF-κB</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i> diamati dalam kurun waktu 3 dan 6 jam.....	79
Tabel 5.4	Uji beda ekspresi <i>NF-κB</i> antar kelompok dengan metode Mann-Whitney.....	80
Tabel 5.5	Kadar <i>IL-8</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i> diamati dalam kurun waktu 3 dan 6 jam.....	82
Tabel 5.6	Uji beda ekspresi <i>IL-8</i> antar kelompok dengan metode Mann-Whitney	84
Tabel 5.7	Hasil uji komparasi ANOVA kadar <i>TNF-α</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i> diamati dalam kurun waktu 3 dan 6 jam	86
Tabel 5.8	Uji beda ekspresi <i>TNF-α</i> antar kelompok dengan metode Bonferoni.....	88
Tabel 5.9	Jumlah neutrofil pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i> diamati dalam kurun waktu 3 dan 6 jam	90
Tabel 5.10	Uji beda jumlah netrofil antar kelompok dengan metode Mann-Whitney.....	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kategori pasien SCI berdasarkan tingkat dan derajat deficit neurologis menurut sistem ASIA.....	12
Gambar 2.2	Patofisiologi dan perubahan gen pada SCI	14
Gambar 2.3	Proses inflamasi pada SSP	21
Gambar 2.4	Ekspresi gen IL-11 dan IL-1ra pasca SCI.....	24
Gambar 2.5	Fase penyembuhan luka pada kulit dan otot dibandingkan dengan pada SCI	30
Gambar 2.6	Kinetik dari respons imun molekular dan selular terhadap cedera SSP.....	33
Gambar 2.7	Peran DAMP terhadap sitokin proinflamasi	34
Gambar 2.8	Peran RAMP dalam respons inflamasi	38
Gambar 2.9	Influks Ca ²⁺ dan asam arakhidonat.....	42
Gambar 2.10	Konversi <i>phosphatidylcholine</i> (PC) menjadi <i>lysophosphatidylcholine</i> (lysoPC).....	42
Gambar 2.11	Interaksi AA dan LysoPC	43
Gambar 2.12	COX	44
Gambar 2.13	PGE2 dan ROS.....	45
Gambar 2.14	Sirkuit antiinflamasi ACTH	52
Gambar 2.15	Efek antiinflamasi melanocortin	53
Gambar 3.1	Kerangka konseptual	58
Gambar 4.1	Rancangan penelitian	58
Gambar 4.2	<i>Yasargil Clip</i> yang sudah dimodifikasi	64
Gambar 4.3	Alur penelitian.....	71
Gambar 5.1	Tikus model cedera tulang belakang.....	72
Gambar 5.2	(Ekspresi TLR-2) Jaringan medula spinalis tikus pasca penjepitan klip yang diberi anti TLR-2. Sel yang mengekspresikan TLR-2 bereaksi dengan anti TLR,	

	ditandai oleh sitoplasma warna cokelat (tanda panah) dengan metode IHC, dilihat pada pembesaran 400x.....	73
Gambar 5.3	Grafik nilai median <i>TLR</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i>	74
Gambar 5.4	(Ekspresi <i>NF-κB</i>) Jaringan medula spinalis tikus paska penjepitan klip yang diberi anti <i>NF-κB</i>). Sel yang mengekspresikan <i>NF-κB</i> bereaksi dengan anti <i>NF-κB</i> , ditandai oleh sitoplasma warna cokelat (tanda panah) dengan metode IHC, dilihat pada pembesaran 400x.....	77
Gambar 5.5	Grafik nilai median <i>NF-κB</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i>	78
Gambar 5.6	(Ekspresi <i>IL-8</i>) Jaringan medula spinalis tikus paska penjepitan klip yang diberi anti <i>IL-8</i> . Sel yang mengekspresikan <i>IL-8</i> bereaksi dengan anti <i>IL-8</i> , ditandai oleh sitoplasma warna cokelat (tanda panah) dengan metode IHC, dilihat pada pembesaran 400x.	81
Gambar 5.7	Grafik nilai median <i>IL-8</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i>	82
Gambar 5.8	(Ekspresi <i>TNF-α</i>) Jaringan medula spinalis tikus paska penjepitan klip yang diberi anti <i>TNF-α</i> . Sel yang mengekspresikan <i>TNF-α</i> bereaksi dengan anti <i>TNF-α</i> , ditandai oleh sitoplasma warna cokelat (tanda panah) dengan metode IHC dilihat pada pembesaran 400x.....	85
Gambar 5.9	Grafik nilai rerata ekspresi <i>TNF-α</i> pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i>	86
Gambar 5.10	(Neutrofil) Jaringan medula spinalis tikus paska penjepitan klip yang diberi pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Sel neutrofil terwarnai oleh pewarna HE, ditandai oleh sitoplasma warna gelap (tanda panah) dilihat pada pembesaran 400x.....	89
Gambar 5.11	Grafik nilai median netrofil pada model cedera medula spinalis pada tikus <i>Sprague-Dawley</i>	90
Gambar 6.1	Skema jalur perjalanan ACTH 4-10 melalui jalur intranasal menuju lokasi cedera	113

DAFTAR ARTI LAMBANG, SINGKATAN DAN ISTILAH

AA	Asam Arakhidonat
ACTH	Adrenocorticotrophic Hormone
ACTH 4-10	ACTH 4-10 Pro ⁸ -Gly ⁹ -Pro ¹⁰
ALR	<i>AIM2-Like Receptors</i>
ASC	Adipose Stromal Cell
ASCI	<i>Acute Spinal Cord Injury</i>
ASIA	<i>American Spinal Injury Association</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BBB	<i>Blood-Brain Barrier</i>
BSCB	<i>Blood-Spinal Cord Barrier</i>
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotropic Factor</i>
CNS	<i>Central Nervous System</i>
COX	<i>Cyclooxygenase</i>
CRH	<i>Corticotrophic Releasing Hormone</i>
CSF	<i>Cerebrospinal Fluid</i>
CSS	Cairan Serebrospinal
CSPG	<i>Chondroitine Sulfate Proteoglycan</i>
DAB	<i>Diamino Benzydine</i>
DAMP	<i>Damage-Associated Molecular Pattern</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
GAP	<i>Growth Associated Protein</i>
GFAP	<i>Glial-Fibrillary-Acidic Protein</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
HMGB1	<i>High Mobility Group Box-1</i>
HPA	<i>Hypothalamus Pituitary Adrenal</i>
HSP	<i>Heat Shock Protein</i>
HSV	<i>Herpes Simplex Virus</i>
IFN	<i>Interferon</i>
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
IKB	<i>I Kappa Beta</i>
IKK	IKB Kinase
IL	<i>Interleukin</i>
IRF	<i>Interferon Regulatory Factor</i>
IRI	<i>Ischemia Reperfusion Injury</i>
ISNCSCI	<i>The International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury</i>
JAK	<i>Janus Activated Kinase</i>
MAP	<i>Microtubule Associated Protein</i>
MBP	<i>Myelin Basic Protein</i>
MCR	<i>Melanocortine Receptor</i>
MIP	<i>Macrophage Inflammatory Protein</i>
MOG	<i>Myelin-Oligodendrocyte Glycoprotein</i>
MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i>

MPSS	<i>Methylprednisolone Sodium Succinate</i>
MRNA	<i>Messenger-Ribonucleic Acid</i>
MS	<i>Multiple Sclerosis</i>
MSH	<i>Melanocyte Stimulating Hormone</i>
NASCIS	<i>National Acute Spinal Cord Injury Study</i>
NF	<i>Nuclear Factor</i>
NGF	<i>Nerve Growth Factor</i>
NLR	<i>Nod-like Receptors</i>
NO	<i>Nitrit Oksida</i>
OPCS	<i>Oligodendrocyte Progenitor Cell</i>
PAMP	<i>Pathogen-Associated Molecular Pattern</i>
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PGE	<i>Prostaglandin E</i>
PL	<i>Phospholipase</i>
PLA2	<i>Phospholipase A2</i>
POMC	<i>Pro-opiomelanocortine</i>
PRR	<i>Patterns Recognition Receptors</i>
RAGE	<i>Receptor for Advanced Glycosylation End Products</i>
RAMP	<i>Resolution-Associated Molecular Pattern</i>
RLR	<i>Rig-1-like Receptors</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SAA	<i>Serum Amyloid</i>
SD	<i>Sprague Dawley</i>
SCI	<i>Spinal Cord Injury</i>
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
STAT	<i>Signal Transducer and Activation of Transcription</i>
SSP	<i>Sistem Saraf Pusat</i>
TGF	<i>Tumor Growth Factor</i>
TLR	<i>Toll-like Receptor</i>
TH	<i>T-Helper</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRKB	<i>Tropomyosin Receptor Kinase B</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
XIAP	<i>X-Linked Inhibitor of Apoptosis Protein</i>