

**DISERTASI**

**BIOKOMPATIBILITAS PEMANFAATAN  
MEMBRAN AMNION BEKU KERING  
SEBAGAI PENGGANTI DURAMATER  
PADA DURAPLASTI**



**RAHADIAN INDARTO SUSILO**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**DISERTASI**

**BIOKOMPATIBILITAS PEMANFAATAN  
MEMBRAN AMNION BEKU KERING  
SEBAGAI PENGGANTI DURAMATER  
PADA DURAPLASTI**



**RAHADIAN INDARTO SUSILO**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**DISERTASI**

**BIOKOMPATIBILITAS PEMANFAATAN  
MEMBRAN AMNION BEKU KERING  
SEBAGAI PENGGANTI DURAMATER  
PADA DURAPLASTI**

**RAHADIAN INDARTO SUSILO**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**BIOKOMPATIBILITAS PEMANFAATAN  
MEMBRAN AMNION BEKU KERING  
SEBAGAI PENGGANTI DURAMATER  
PADA DURAPLASTI**

**DISERTASI**

**Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor  
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
telah dipertahankan di hadapan  
Panitia Ujian Doktor Terbuka  
Pada hari : Jumat  
Tanggal : 13 Desember 2019  
Pukul : 09.00 – 11.00 WIB**

**Oleh:**

**RAHADIAN INDARTO SUSILO  
011317017309**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**LEMBAR PENGESAHAN**

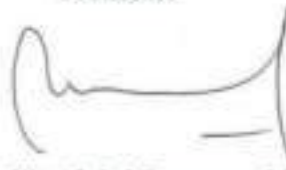
**BIOKOMPATIBILITAS PEMANFAATAN  
MEMBRAN AMNION BEKU KERING  
SEBAGAI PENGGANTI DURAMATER  
PADA DURAPLASTI**

TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 3 NOPEMBER 2020

Oleh :

Promotor



Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh, M.Sc  
NIP. 195910031987011001

Ko-Promotor



Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)  
NIP. 196406021990031007

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai  
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)  
pada Tanggal 19 November 2019**

**Panitia penguji:**

- Ketua : 1. Dr. Asra Al Fauzi, dr., SE.,MM.,SpBS(K),FICS,IFAANS
- Anggota : 2. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh, M.Sc  
3. Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)  
4. Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si  
5. Prof. Dr. Sri Maliawan, dr., SpBS(K)FICS  
6. Dr. Ferdiansyah, dr., SpOT(K)  
7. Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Dekan fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
Tentang Panitia Penguji Disertasi  
Nomor : 385/UN3.1.1/KD/2019  
Tanggal : 19 November 2019

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : RAHADIAN INDARTO SUSILO  
NIM : 011317017309  
Program Studi : Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor  
Alamat : Jl. Bendul Merisi Selatan Airdas No. 47 Surabaya

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Disertasi ini adalah asli dan benar-benar saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatasnamakan saya, serta bukan merupakan plagiat dari hasil karya orang lain. Disertasi ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik baik di Universitas Airlangga maupun di Perguruan Tinggi lainnya.
2. Dalam disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan mencantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar kepustakaan.
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis Disertasi ini, serta sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku

Surabaya, 1 Oktober 2019  
Yang membuat pernyataan



RAHADIAN INDARTO SUSILO  
011317017309

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmannirrahim,

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Alhamdulillah rabbil 'alamin, segala puji syukur ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan sehingga amanah untuk menjalani seluruh proses pendidikan, penelitian dan penyusunan disertasi ini dapat diselesaikan hingga tahap sekarang ini.

Disertasi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Promotor, Ko-Promotor, Tim Penguji dan banyak pihak yang dengan atau tanpa disadari menjadi inspirasi dan pendukung proses pendidikan ini. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

**Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh., M.Sc.** sebagai Promotor yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dukungan mental, meluangkan banyak waktu untuk berdiskusi dan memberikan masukan, memberi ruang kreatif yang cukup luas, dan banyak kemudahan kepada saya untuk menjalani seluruh proses pendidikan ini. Sekali lagi saya sampaikan hormat dan terima kasih yang tulus dan mendalam;

**Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)** sebagai Pembimbing Akademik dan Ko-Promotor yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar sesuai bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini. Ketelitian dan kedalaman proses berpikir beliau turut membentuk penelitian dan disertasi ini. Selain itu, ucapan terima kasih yang tulus dan mendalam juga saya sampaikan kepada beliau selaku Guru dan Senior saya yang telah membukakan pintu ke dunia Bedah Syaraf kepada saya sejak saya masih di pendidikan dokter;

**Prof. Dr. Moh. Nasih, S.E., MT., Ak.** selaku Rektor Universitas Airlangga; **Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt,** selaku mantan Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan **Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes.,Sp.PD, K-EMD, FINASIM** selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)** selaku Direktur Utama RSUD Dr. Soetomo, dan **Harsono, dr.,** serta **Dodo Anondo, dr., MPH** selaku mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Prof. Dr. Joewono Soeroso, dr., M.Sc., Sp.PD-KR, FINASIM** selaku Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran



Universitas Airlangga, dan **Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., SpA(K), Sp.JP., FIHA**, selaku mantan Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan fasilitas dan dukungan bagi penulis selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Tim Penguji Usulan Penelitian, penialaian Disertasi dan Ujian Tahap 1 (Tertutup) yaitu **Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh, M.Sc., Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K), Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si, Prof. Dr. Sri Maliawan, dr., SpBS(K)FICS, Dr. Ferdiansyah, dr., SpOT(K), Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes, dan Dr. Asra Al Fauzi, dr., SE.,MM.,SpBS(K),FICS,IFAANS.** yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar sesuai bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini;

**Dr. Agus Turchan, dr., Sp.BS** selaku Ketua Departemen Ilmu Bedah Syaraf Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan dan dorongan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Seluruh senior, guru, sejawat, dan saudara saya di Departemen Bedah Syaraf: **Prof. Basoeki Wirjowidjojo, dr., Sp.BS (alm), Prof. H.M. Sajid Darmadipura, dr., Sp.BS, Prof. Dr. Umar Kasan, dr., Sp.BS (alm.), Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr, Sp.BS, Dr. M. Arifin Parenrengi, dr, Sp.BS, Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS, Dr. Eko Agus Subagio, dr., SpBS, Dr. Asra Al Fauzi, dr., SpBS, Dr. Wihasto Suryaningtyas, dr., SpBS, Muhammad Faris, dr., Sp.BS, Ahmad Fahmi, dr., SpBS, Irwan Barlian Immadoel Haq, dr., Sp.BS, Nur Setiawan Suroto, dr., Sp.BS, Tedy Apriawan, dr., Sp.BS, Heri Subiyanto, dr., Sp.BS**, saya mengucapkan terima kasih atas ilmu, doa dan dukungannya. Begitu pula untuk saudara-saudara saya di *Surabaya Neuroscience Institute* antara lain **Let.Kol (Laut) Amiril Mukminin, dr., Sp.BS, Ananda Haris, dr., SpBS, Erliano, dr., Sp.BS, Zaky Bajamal, dr., Sp.BS;**

**Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si** Ketua Lab Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Unit Mikroskop elektron dan **Bu Endah Sujani, Mbak Ayu, Pak Mukid** yang telah membantu dalam interpretasi hasil dan penyediaan fasilitas mikroskop beserta perangkatnya;

**Dr. Purwati, dr., SpPD., K-PTI, FINASIM** Ketua Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga, **Mbak Helen, Mbak Risti, Mbak Dea, Mas Igo** serta semua rekan dalam tim penelitian yang telah menjadi teman diskusi dan membantu dengan tulus ikhlas dan penuh kesabaran selama saya melakukan proses penelitian di laboratorium;

**Prof. rer.nat. Tri Yudani Mardining Raras, MApp, Sc.** Selaku kepala Laboratorium Sentral Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian dan sejawat Dr. med. Tommy Alfandy Nazwar, Sp.BS yang telah banyak membantu perijinan serta Mbak Ami dan tim yang telah bersedia meluangkan waktu membantu penelitian serta berdiskusi.

**Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT (K)** selaku Kepala Instalasi Pusat Biomaterial Dan Bank Jaringan RSUD. Dr. Soetomo Surabaya atas kesediannya membantu dalam penyediaan membran amnion untuk keperluan penelitian.

Semua **staf pengajar** pada Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu dasar dan ilmu terapan yang sangat bermanfaat serta kritik, saran dan perbaikan pada proposal penelitian untuk penulisan disertasi penulis sampai akhirnya disertasi ini dapat terselesaikan;

**Seluruh rekan Angkatan 2013** pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah bekerja sama dan saling memberikan motivasi untuk menyelesaikan pendidikan ini;

**Retno Rifianti Adiputri, Dra., Lita Andari Willianti, SE, Agustin Kusumaningtyas, SE, Rendi Winardi, Arief Rosidi, Fika Wulansari, S.I.Kom** yang banyak membantu administrasi di Departemen Bedah Syaraf;

Kawan-kawan di **Unit Koordinasi Pendidikan Profesi PPDS FK Unair**, yang tanpa mereka saya tidak akan sanggup melaksanakan semua amanah pekerjaan dan pendidikan saya secara bersama-sama. Terima kasih telah menerima saya menjadi bagian dari keluarga besar UKPP PPDS FK Unair;

Staf pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga: **Dr. Soetopo, drg., M.Sc, bu Asmunah, S.Sos, mbak Adhdriyani, SE, mbak Fitriya Diah Isnaini, A.Md, mbak Paramita Kurnia Sari, A.Md, dan mas Sobkhi Mafakhir** yang telah sangat membantu kelancaran administrasi selama pendidikan;

Persembahkan terima kasih yang tulus, rasa hormat dan sembah sujud ananda kepada orang tua yang telah melahirkan saya dan yang telah membesarkan saya dengan segala kurang lebihnya. Hanya doa dan rasa terima kasih untuk hutang budi yang tak mungkin dapat terbalas dengan apapun untuk Papa **Susilo Rahardjo, dr., Sp.OG (alm.)** dan Mama **Ineke Rohana**, yang telah mengasuh, mendidik, mengayomi, mendampingi, memberi teladan yang baik dan penuh kasih sayang selama menjalani kehidupan; kedua mertua saya **Prof. Dr.Umar Kasan, dr., SpBS (Alm.)** dan **Ibu Endang Sumartiningsih** yang saya hormati;

Kepada istri saya **Neimy Novitasari, dr., Sp.S** yang telah dengan sangat sabar mendampingi saya dan anak-anak saya **Naura Salma Ramadhani** dan **Rania Perizade Susilo** yang kepada mereka semua saya berhutang banyak waktu dan kebahagiaan.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dukungan dan membantu hingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Dengan segenap kerendahan hati, penulis menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak kekurangan sehingga penulis mohon maaf sebesar-besarnya atas segala kekurangan tersebut. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran pada khususnya, semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi ini. Amin ya rabbal 'alamin.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Surabaya, Oktober 2019

Penulis

## RINGKASAN

### **Bio kompatibilitas Pemanfaatan Membran Amnion Beku Kering Sebagai Pengganti Duramater Pada Duraplasti**

Defek duramater merupakan masalah yang sering dihadapi oleh dokter bedah saraf. Defek ini dapat terjadi akibat proses tindakan pembedahan maupun karena proses patologis. Penutupan duramater secara primer merupakan metode ideal yang perlu dilakukan untuk mencegah terjadinya kebocoran cairan serebrospinal. Terdapat berbagai pilihan biomaterial yang dapat digunakan sebagai penutup defek, dapat dikelompokkan menjadi bahan *autologous*, *allograft*, *xenograft*, maupun bahan buatan atau sintetik. Komplikasi dari penutupan defek dura tersering adalah kebocoran cairan serebrospinal. Insiden kebocoran cairan serebrospinal menunjukkan angka yang bervariasi, 5-7%.

Syarat utama untuk memilih *scaffold* adalah biokompatibilitasnya. Biokompatibilitas adalah kompatibel secara biologis di mana tidak menghasilkan respon toksik, cedera, karsinogenik, atau imunologis pada jaringan sehat. Penggunaan biomaterial sebagai pengganti dura merupakan upaya untuk mencari biomaterial yang kompatibel dengan jaringan otak. Dari segi struktural, sel amnion berhubungan satu sama lainnya dengan desmosom dan merupakan susunan khusus dari filamen-filamen sitoskeletal intraseluler yang berperan dalam integritas struktural dan modulasi bentuk sel begitu pula dalam permeabilitas. Membran amnion dapat menjadi *scaffold* yang baik karena memiliki komponen matriks ekstraseluler yang dibutuhkan. Membran amnion mengandung kolagen tipe I, III, IV dan V, serta glikoprotein nonkolagen seperti laminin, nidogen, fibronektin yang membentuk membran basalis dari membran amnion. Membran amnion juga sudah sering dipertimbangkan sebagai jaringan yang tepat untuk digunakan sebagai graft pada transplantasi, sehubungan dengan beberapa karakteristiknya yang menguntungkan, antara lain yang utama yaitu efek anti inflamasi dan imunogenisitasnya yang rendah.

Sitotoksitas biomaterial terhadap benda asing merupakan komplikasi tingkat seluler yang berimbas pada kelangsungan jaringan. Toksisitas sebuah biomaterial dapat mempengaruhi viabilitas dan proliferasi sel, serta mempengaruhi aktivitas apoptosis jaringan itu sendiri. Reaksi jaringan terhadap benda asing juga merupakan hal yang harus dipastikan pada setiap pemaparan biomaterial terhadap jaringan hidup. Beberapa biomaterial sintetik telah terbukti dapat memicu proses inflamasi, reaksi benda asing, graft encapsulation, dan pembentukan neo-membran. Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk menjelaskan proses penyembuhan graft duramater, baik menggunakan *autolog graft* maupun *artificial graft*.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji biokompatibilitas penggunaan membran amnion beku kering untuk menambal defek duramater terhadap jaringan otak di sekitarnya. Studi eksperimental ini terbagi atas dua tahap, invitro dan invivo. Penelitian dilakukan dengan tujuan menganalisis viabilitas, proliferasi, dan apoptosis secara invitro pada kultur sel otak tikus pasca pemaparan membran amnion dengan cara pajanan langsung dan medium yang dikondisikan. Penelitian

dilanjutkan secara *invivo* pada tikus *wistar* dengan penggantian defek dura menggunakan membran amnion. Jaringan otak tikus yang diambil secara *enbloc* diperiksa secara imunohistokimia untuk menganalisis reaksi inflamasi dengan pengukuran kadar IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2, serta iNOS.

Dari perhitungan diperoleh gambaran viabilitas sel menggunakan pewarnaan MTT berupa presentase sel yang hidup sebesar 76 – 90% setelah paparan membran amnion. Nilai rerata paparan kultur sel dengan paparan media kondisi ( $0,39 \pm 0,44$ ) lebih rendah secara bermakna dibandingkan dengan nilai rerata kontrol ( $0,48 \pm 0,02$ ) dengan nilai  $p=0,001$ .

Penelitian ini menggunakan pengecatan imunositokimia dengan antibodi DAPI untuk mengevaluasi proliferasi sel setelah terpapar membrane amnion. Hasil pembacaan dengan ImageJ menunjukkan bahwa rerata untuk kelompok kontrol sebesar  $5,49 \pm 2,6$  sedangkan kelompok pada kelompok perlakuan dengan medium kondisi sebesar  $6,10 \pm 2,56$  dan membran amnion sebesar  $3,75 \pm 1,53$ . Analisa statistik menunjukkan hasil uji yang berbeda bermakna pada perbandingan kelompok perlakuan membran amnion terhadap kontrol dan antar kelompok perlakuan membran amnion terhadap medium kondisi.

Selain pengecatan imunositokimia diatas, penelitian ini juga melakukan pengecatan dengan antibodi Annexin V untuk mengevaluasi terjadinya apoptosis sel setelah terpapar membran amnion. Hasil perhitungan menunjukkan nilai rerata untuk kelompok kontrol sebesar  $10,36 \pm 2,58$  sedangkan pada kelompok perlakuan dengan medium kondisi sebesar  $12,40 \pm 4,61$  dan perlakuan membran amnion sebesar  $10,01 \pm 1,89$ . Analisa statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kedua kelompok perlakuan.

Penelitian ini juga menunjukkan ekspresi IL-1 $\beta$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$  hari ke 4 pada kelompok kontrol lebih tinggi secara bermakna daripada kelompok perlakuan dengan  $p=0,001$ . Hasil berbeda ditunjukkan pada penilaian ekspresi pada pada hari ke-14 dimana kelompok kontrol menunjukkan ekspresi IL-1 $\beta$ , IL-6, dan TNF- $\alpha$  yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan. Hasil uji beda Mann-Whitney pada kelompok perlakuan 4 hari dan perlakuan 14 hari menunjukkan adanya penurunan ekspresi IL-1 $\beta$ , IL-6 dan TNF- $\alpha$  yang bermakna dengan  $p = 0,001$ .

Selain sitokin diatas, pada penelitian ini juga memberikan hasil berupa tidak ada perbedaan ekspresi COX-2 yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol. Paparan membran amnion meningkatkan ekspresi iNOS setelah paparan membran amnion pada hari ke-4 namun tidak memberikan perbedaan pada hari ke-14 pada perbandingan kelompok perlakuan terhadap kontrol.

Paparan membran amnion beku kering tidak menimbulkan efek toksik terhadap kultur sel dan tidak menimbulkan reaksi inflamasi yang berlebihan pada jaringan otak. Membran amnion beku kering merupakan bahan biomaterial yang kompatibel dan aman untuk digunakan dalam prosedur duraplasti.

## Summary

### ***Biocompatibility of Freeze-Dried Amniotic Membrane as Dural Graft Biomaterial Replacement in Duraplasty***

**Rahadian Indarto Susilo**

*Duramater defects are a problem that is often faced by neurosurgeons. This defect can occur due to the process of surgery or because of the pathological process. Duramater closure is the primary method that is ideal that needs to be done to prevent cerebrospinal fluid leakage. There are various choices of biomaterials that can be used as a defect cover, can be grouped into autologous, allograft, xenograft, or artificial or synthetic materials. Complications from the closure of the most common dura defects are cerebrospinal fluid leakage. The incidence of cerebrospinal fluid leakage shows varying figures, 5-7%.*

*The main requirement for choosing a scaffold is its biocompatibility. Biocompatibility is biologically compatible where it does not produce toxic, injury, carcinogenic, or immunological responses to healthy tissue. The use of biomaterials as a substitute for dura is an attempt to find biomaterials that are compatible with brain tissue. Structurally, amniotic cells are related to each other with desmosomes and are a special arrangement of intracellular cytoskeletal filaments that play a role in structural integrity and modulation of cell shape as well as permeability. Amniotic membrane can be a good scaffold because it has the required extracellular matrix components. Amniotic membranes contain collagen types I, III, IV and V, as well as non-collagen glycoproteins such as laminin, nidogen, fibronectin which form the basement membrane of the amnion membrane. Amniotic membrane has also often been considered as the right tissue to be used as a graft in transplants, due to several beneficial characteristics, including the main one, the anti-inflammatory effect and low immunogenicity.*

*Biomaterial cytotoxicity to foreign matter is a cellular level complication which impacts tissue survival. The toxicity of a biomaterial can affect cell viability and proliferation, as well as affect the activity of tissue apoptosis itself. Tissue reaction to foreign matter is also something that must be ensured at each exposure of biomaterials to living tissue. Several synthetic biomaterials have been shown to trigger inflammatory processes, foreign body reactions, graft encapsulation, and neo-membrane formation. A number of studies have been conducted to explain the healing process of duramater graft, both using autologous graft and artificial graft.*

*This study aims to examine the biocompatibility of the use of freeze-dried amniotic membranes to patch dura mater defects against surrounding brain tissue. This experimental study is divided into two stages, invitro and in vivo. The study was conducted with the aim of analyzing viability, proliferation, and apoptosis in vitro in mouse brain cell culture after exposure to amniotic membranes by direct exposure and conditioned medium. In vivo research was continued in witstar rats with dura defect replacement using an amniotic membrane. Enbloc rat brain tissue taken immunohistochemically was examined to*



analyze inflammatory reactions by measuring levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2, and iNOS.

Cell viability was observed using MTT staining in the form of a living cell percentage of 76 - 90% upon amniotic membrane exposure. The mean value of cell culture exposure with media exposure conditions ( $0.39 \pm 0.44$ ) was significantly lower than the mean control value ( $0.48 \pm 0.02$ ) with a value of  $p = 0.001$ .

This study used immunocytochemical staining with DAPI antibodies to evaluate cell proliferation after exposure to amniotic membranes. The results of reading with ImageJ showed that the mean for the control group was  $5.49 \pm 2.6$  while the group in the treatment group with medium conditions was  $6.10 \pm 2.56$  and the amniotic membrane was  $3.75 \pm 1.53$ . Statistical analysis showed that the test results were significantly different in the comparison of the amniotic membrane treatment group to the control and between the amniotic membrane treatment groups to the condition medium.

In addition to the immunocytochemical staining above, this study also carried out Annexin V antibody staining to evaluate the occurrence of cell apoptosis after the exposure of amniotic membrane. Analysis showed mean value of  $10.36 \pm 2.58$  for the control group while in the treatment group with the condition medium is  $12.40 \pm 4.61$  and the amniotic membrane treatment is  $10.01 \pm 1.89$ . Statistical analysis showed no significant difference between the control group and two treatment groups.

This study also showed that expression of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  on day 4 in the control group was significantly higher than the treatment group with  $p = 0,001$ . Different results were shown in the 14-day of observation in which the control group showed non-significant difference of expression of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  compared to the treatment group. Mann-Whitney test results of the 4-day treatment group and 14-day treatment group showed a significant decrease in expression of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  with  $p=0,001$ .

In addition to the cytokines above, this study also produced results in the form of no significant difference in COX-2 expression between the treatment and control group. Amniotic membrane exposure also increased iNOS expression on day 4 ( $p=0,001$ ) while no difference was observed on day 14 between treatment and control group.

Amniotic membrane exposure did not show toxic effect on cell culture and did not overproduce inflammatory response on mouse brain tissue. Freeze-dried amniotic membrane is a safe and compatible biomaterial for duraplasty.