

SKRIPSI

**PROFIL ALKALIN FOSFATASE DARAH DALAM
PROSES PENYEMBUHAN FRAKTUR TULANG
JENIS TIDAK STABIL PADA METACARPAL
DOMBA (*Ovis aries*)**



Oleh

KHOLIK

NIM 060333131

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

**PROFIL ALKALIN FOSFATASE DARAH DALAM PROSES
PENYEMBUHAN FRAKTUR TULANG JENIS TIDAK STABIL PADA
METACARPAL DOMBA (*Ovis aries*)**

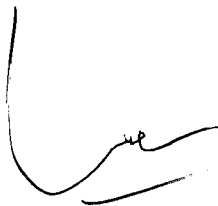
Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

KHOLIK
NIM 060333131

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Dr. Bambang Purnomo S, drh., M.S.)
Pembimbing pertama



(Tatik Hernawati, drh., M.Si.)
Pembimbing kedua

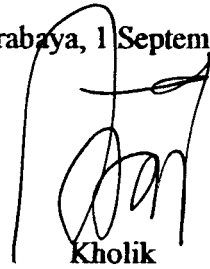
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Profil Alkalin Fosfatase Darah Dalam Proses Penyembuhan Fraktur Tulang
Jenis Tidak Stabil Pada Metacarpal Domba (*Ovis aries*)**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 1 September 2006



Kholik

NIM 060333131

Telah dinilai pada Hasil Penelitian

Tanggal : 25 September 2006

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Retno Bijanti, drh., M. S.

Sekretaris : Djoko Galiono, drh., M. S.

Anggota : Gracia Angelina H, drh., M. Kes.

Pembimbing I : Bambang Purnomo S, drh., M. S.

Pembimbing II : Tatik Hernawati, drh., M. Si.

Telah diuji pada

Tanggal : 9 Oktober 2006

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Retno Bijanti, drh., M. S.

Anggota : Gracia Angelina H, drh., M. Kes.

: Bambang Purnomo S, drh., M. S.

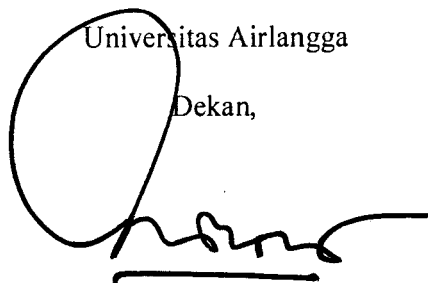
: Tatik Hernawati, drh., M. Si.

Surabaya, 17 Oktober 2006

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, drh., M. S.

NIP. 130 687 297

**BLOOD ALKALINE PHOSPHATASE PROFILE ON HEALING PROCESS
OF BONE FRACTURE UNSTABLE TYPE IN SHEEP (*Ovis aries*)
METACARPAL**

Kholik

ABSTRACT

The aim of this study was to definite the profile of alkaline phosphatase value on fracture healing with unloading, loading and partial loading treatment. 15 male sheeps (*Ovis aries*), 8 months old were subjected to this study. The sheeps were treated reposition of metacarpal sinister fractured with intramedullary pin and slotted plate screw fixation. The sheeps model devide evenly random into two factors. They are treatment and bleeding times. The first factor consist of three treatment, they are unloading, partial loading and loading. Treatment had given at second days post operation. The second factor consist of four groups of bleeding are 3 days, 7 days, 15 days and 30 days post operation. The blood samples were taken directly from Jugularis vein for alkaline phosphatase analyzed. The data were analyzed by univariate Anova and Tukey test using SPSS for windows program. The result indicated that alkaline phosphatase activity increased significantly ($p < 0,05$) for partial loading treatment. The bleeding time factor show highly significant increased ($p < 0,01$) at 15 days post operation.

Key words: Alkaline phosphatase, fracture healing

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat, rahmat serta hidayah yang diberikan kepada penulis hingga tersusunnya skripsi dengan judul **PROFIL ALKALIN FOSFATASE DARAH DALAM PROSES PENYEMBUHAN FRAKTUR TULANG JENIS TIDAK STABIL PADA METACARPAL DOMBA (*Ovis aries*)**.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada: Bapak Prof. Dr. Ismudiono, MS., Drh selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan para Pembantu Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Bapak Dr. Bambang Purnomo S, MS., Drh, dan Ibu Tatik Hernawati, M.Kes., Drh selaku pembimbing yang telah membimbing dan memberikan masukan-masukan pada penelitian serta penyusunan skripsi berakhir.

Bapak Dr. Achmad Sjarwani Sp.OT, dr., Bapak Dr. Pudji Srianto, M.Kes. Drh., Ibu Dr. Auliani'am, DEA, Drh. dan seluruh staf di Laboratorium Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan teknik maupun materi selama proses penelitian ini.

Ibu Retno Bijanti, M.S., Drh selaku Dosen wali dan Seluruh staf di Laboratorium Patologi Klinik yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis serta seluruh staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas

wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kedua orang tua saya yang telah memberi dukungan hingga saat ini, dan selalu ada disaat dibutuhkan. Kepada sahabat seperjuangan Yossy Sigit Pamungkas, Inkai Dasa Wahono, Davit Viter Olele, Sri Danar Dana, M. Faiz Karimy, Bapak Supardi Rais, dan Bapak Suyanto serta teman-teman alih jalur angkatan 2003 dan seluruh teman-teman kost, serta pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari sempurna. Meskipun demikian, semoga skripsi ini dapat menjadi informasi yang berharga bagi dunia kedokteran hewan.

Surabaya, 1 September 2006

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN IDENTITAS	iii
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang Penelitian	1
Rumusan Masalah.....	3
Landasan Teori.....	3
Tujuan Penelitian.....	5
Manfaat Penelitian.....	6
Hipotesis.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tulang dan Komponennya.....	7
2.2. Ossa Metacarpal	8
2.3. Klasifikasi Tulang	9
2.4. Definisi dan Pembagian Jenis-jenis Fraktur.....	9
2.5. Osteogenesis	10
2.6. Proses dan Konsep Penyembuhan Fraktur	12
2.7. Efek Gerakan Terhadap Proses Penyembuhan Fraktur	13
2.8. Alkalin Fosfatase	16
2.9. Peran Alkalin Fosfatase dalam Penyembuhan Tulang.....	17
BAB 3 MATERI DAN METODE	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.2. Sifat Penelitian	19
3.3. Bahan dan Materi Penelitian.....	19
3.3.1. Hewan Percobaan.....	19
3.3.2. Bahan Penelitian.....	20
3.3.3. Alat-alat Penelitian	20

3.4. Metode Penelitian	21
3.4.1. Persiapan Percobaan	21
3.4.2. Pelaksanaan Operasi	21
3.4.3. Variabel Penelitian	27
3.5. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	27
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	29
4.1. Data Penelitian	29
4.2. Analisis Hasil Penelitian	31
BAB 5 PEMBAHASAN.....	34
5.1. Kadar Alkalin Fosfatase pada Tiap Perlakuan	34
5.2. Kadar Alkalin Fosfatase pada Tiap Waktu Pengambilan Darah.....	35
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
6.1. Kesimpulan	39
6.2. Saran	39
RINGKASAN	40
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1.	Rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase dengan pengaruh perlakuan (<i>loading, parsial loading, unloading</i>) dan pengaruh waktu pengambilan darah pada hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).....	31
4.2.	Perbedaan rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase hasil uji Tukey pada setiap macam perlakuan (<i>loading, partial loading, dan unloading</i>) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).....	32
4.3	Perbedaan rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase hasil uji Tukey pada setiap waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Skema pengaruh gerakan pada proses penyembuhan tulang.....	14
3.1. Gambar peralatan operasi	21
3.2. Gambar pre-medikasi.....	22
3.3. Gambar pengambilan X-Ray.....	22
3.4. Gambar desinfeksi lapangan operasi.....	23
3.5. Gambar difleksi tulang setelah fraktur.....	23
3.6. Gambar penjahitan luka operasi.....	24
3.7. Gambar domba dengan tiga macam perlakuan berturut-turut (<i>Partial loading, Unloading, Loading</i>)	25
3.8. Gambar kaki domba dengan tiga macam perlakuan berturut-turut (<i>partial loading, unloading, loading</i>)	26
3.9. Gambar spektrofotometer dan sentrifus yang digunakan dalam pemeriksaan alkalin fosfatase.....	26
4.1. Gambar fraktur tulang pada pertengahan ossa metacarpal sinister domba yang telah direposisi dan diberi sistem penanganan intramedullary pin dan slotted plate screw.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Metode pemeriksaan alkalin fosfatase dengan <i>nitrophenyl phosphat</i>	46
2. Uji univariate ANOVA terhadap variabel alkalin fosfatase darah oleh perlakuan (<i>unloading, loading dan partial loading</i>) dan waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi.....	48
3. Hasil pengukuran kadar alkalin fosfatase darah pada pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).....	49
4. Rataan kadar alkalin fosfatase darah terhadap perlakuan (<i>unloading, loading dan partial loading</i>) dalam Internasional Unit (IU).....	50
5. Rataan kadar alkalin fosfatase darah terhadap waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).....	52
6. Uji Tukey dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap variabel alkalin fosfatase darah oleh perlakuan (<i>unloading, loading dan partial loading</i>).....	57
7. Uji Tukey dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap variabel alkalin fosfatase darah oleh waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi.....	58

DAFTAR SINGKATAN

BMP	= Bone Morphogenetic Protein
BDGF	= Bone Derivide Growth Factor
DNA	= Dioxyribo Nucleid Acid
Univariate ANOVA	= Univariate Analyzise of Varian
BNJ	= Beda Nyata Jujur
OPG	= Osteoprotegrin
RANKL	= Receptor Activator Nuclear Kappa-B factor Ligand
RANK	= Receptor Activator Nuclear Kappa-B factor
TGF β	= Transforming Growth Factor- β
TNF	= Tumor Nekrosis Factor

BAB I

PENDAHULUAN

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Fraktur atau patah tulang merupakan salah satu kasus yang dapat dijumpai di klinik hewan maupun pada dokter hewan praktek. Salah satu pembagian jenis patah tulang adalah patah tulang sederhana (stabil) dan patah tulang komplit (tidak stabil). Patah tulang sederhana adalah patah tulang dimana kulit di atas tulang yang patah tidak rusak. Patah tulang komplit adalah patah tulang dimana tulang yang patah rusak keseluruhan secara melintang (Frandsen, 1996).

Sjarwani (2006) menyatakan, bahwa patah tulang mempunyai waktu penyembuhan lebih lama, yaitu sekitar enam sampai sembilan bulan. Mengingat adanya insidensi kasus fraktur tulang panjang jenis tidak stabil, penulis mencoba menganalisis tentang salah satu cara penanganan pada kasus fraktur dengan membahas efek gerakan antara ujung fraktur yang terdapat pada sistem perlakuan *loading* (posisi berdiri/ menapak) dan *partial loading* (posisi berdiri satu jam dan menggantung satu jam) terhadap proliferasi osteoblas dibandingkan dengan sistem penanganan *unloading* (posisi menggantung).

Gerakan antara ujung tulang yang mengalami fraktur dapat mempertahankan konsentrasi *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dengan cara menjaga gerakan jaringan lunak misalnya dengan traksi (Frost, 1998). BMP dapat merangsang berkembangnya sel-sel osteoprogenitor. *Bone Derived Growth Factor* (BDGF), yang disekresikan sel-sel osteoprogenitor merupakan

protein hidrofilik yang merangsang *Deoxyribo Nucleid Acid* (DNA) dan proliferasi sel-sel osteoprogenitor. BMP dan BDGF tampaknya penting untuk generasi dan regenerasi tulang. Ada dua jenis sel osteoprogenitor, yaitu preosteoblas dan preosteoklas, preosteoblas akan menghasilkan osteoblas dan preosteoklas akan menjadi osteoklas. Osteoblas mengandung enzim alkalin fosfatase, menandakan bahwa alkalin fosfatase tidak saja berhubungan dengan pembuatan matrik, tetapi juga dengan proses kalsifikasinya (Lesson *et al.*, 1996)

Menurut Djojosoebagio (1990), enzim alkalin fosfatase bekerja pada substrat tertentu yang menyebabkan hasil dari $\text{Aca}^{++} \cdot \text{AHPO}_4$ meningkat yang berakibat terjadinya deposisi garam tersebut pada tulang. Enzim ini di dalam tulang menyebabkan meningkatnya konsentrasi fosfat dan karena hukum massa garam kalsium fosfatase akhirnya mengendap di dalam tulang tersebut.

Beberapa peneliti telah menemukan aktivitas enzim alkalin fosfatase ini paling besar di dalam area pembentukan tulang baru, tempat kolagen disintesis dan pertumbuhan tulang bermula. Namun metode histokimia mengungkapkan bahwa enzim tersebut terdapat dalam osteosit yang terlibat dalam penghancuran tulang. Meskipun tidak seluruh alkalin fosfatase plasma berasal dari kerangka, terdapat variasi yang nyata dalam titer ini beredar pada penyakit tulang tertentu (Turner dan Bagnara, 1988).

1.2. Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah sistem penanganan manakah yang menunjukkan tingginya kadar alkalin fosfatase sebagai salah satu enzim yang terlibat pada pembentukan tulang dalam proses penyembuhan patah tulang metacarpal domba berdasarkan jenis perlakuan dengan sistem *unloading*, *partial loading* dan *loading*, serta dalam hari keberapakah alkalin fosfatase mencapai kadar tertinggi dalam darah ?

1.3. Landasan teori

Gerakan antara fragmen menghasilkan efek bioelektrik dan mengeluarkan mediator biokimia seperti PGE_2 (*Prostaglandin E₂*) dan *GF* (*Growth Factor*) yang diperlukan untuk pembentukan kartilago. Sedangkan terapi pada plat kompresi akan sembuh dengan sedikit kalus, proliferasi osteoblas dan remodeling yang besar. Pada penggunaan *intramedullary nailing* dengan terjadi pengurangan vaskuler intramedular dan sedikit bagian luar medular. Kerusakan ini merangsang lingkungan untuk menumbuhkan vaskuler dan osteogenesis periosteum (Frost, 1998).

BMP (*Bone Morphogenetic Protein*) adalah golongan super famili dari *Transforming Growth Factor Beta* ($TGF\beta$). BMP telah di identifikasikan sebagai protein reguler dalam proses penyembuhan tulang untuk pertumbuhan, diferensiasi, kemosistaksis dan apoptosis beberapa tipe sel, misalnya sel

masenkim, sel epitel, sel neuron dan sel hemapoetik (Sampath *and* Reddi, 1981).

Distraksi akibat gaya gravitasi bumi akan mempertahankan reaksi vaskuler secara independen. Distraksi osteogenesis akan menstimulir produksi faktor angiogenik seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *Basic Fibroblast Growth Factor* (BDGF) dalam pembentukan tulang. Distraksi osteogenesis bukan hanya meningkatkan ekspresi lokal VEGF, tapi juga meningkatkan VEGF pada jaringan sekitarnya, diasumsikan bahwa distraksi akibat gaya gravitasi bumi bisa menginduksi respon sistemik seperti pelepasan faktor pertumbuhan, sitokin, hormon dan stem sel dalam proses penyembuhan tulang (Li, 2005).

Menurut Carter yang dikutip oleh Yudaniayanti (2005), menyatakan bahwa selama proses penyembuhan tulang berlangsung, sel osteoblas aktif menghasilkan jaringan osteoid dan mengsekresikan sejumlah alkalin fosfatase yang memegang peranan penting dalam mengendapkan kalsium dan fosfat kedalam matriks tulang,

Orthopedic Basic Science menjelaskan bahwa kalus merupakan fungsi relatif dari gerakan halus antara fragmen tulang yang patah, gerakan yang lebih besar akan menghasilkan jaringan antara yang lebih lunak. Pada keadaan terjadi gerakan yang sangat besar akan mencegah proses penyembuhan menghasilkan *non union* (Gressink *et al.*, 1999).

Schaztner (1989), telah meneliti efek gerakan pada penyembuhan tulang spongiosa menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan pola penyembuhan pada derajat stabilitas yang berbeda dari fragmen fraktur. Pada kondisi stabil *absolute* maka tulang spongiosa akan sembuh dengan formasi langsung dari tulang muda (*direct healing*), jaringan mesenkim primitif akan mengisi gap fraktur dan akan mengalami transformasi langsung menjadi tulang tanpa mengalami fase kartilago.

Willard *et al.* (1991) menyatakan bahwa serum alkalin fosfatase merupakan indikator umum untuk penyakit sistemik termasuk penyakit tulang, Serum alkalin fosfatase akan meningkat apabila ada *bone disease* dan menurun apabila tubuh mengalami hypotiroidism (tidak signifikan). Alkalin fosfatase akan meningkat apabila ada penyakit tulang dengan peningkatan aktifitas osteoblas seperti: fraktur, tumor tulang, hiperparathyroid primer dan sekunder, riketsia dan periostitis (Duncan *et al.*, 1994).

1.4. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui aktifitas alkalin fosfatase sebagai salah satu enzim yang terlibat pada pembentukan tulang dalam proses penyembuhan tulang yang mengalami fraktur jenis tidak stabil dengan sistem perlakuan *unloading*, *partial loading* dan *loading* pada metacarpal domba dan untuk mengetahui pada hari ke berapa alkalin fosfatase mencapai kadar tertinggi.

1.5. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan yang bermanfaat untuk mengembangkan ilmu pengetahuan mengenai sistem penanganan kasus fraktur dengan mempertimbangkan alkaline fosfatase sebagai salah satu enzim yang terlibat pada pembentukan tulang dalam proses penyembuhan tulang dalam dunia kedokteran umum dan kedokteran hewan khususnya, sehingga dapat memilih sistem penyembuhan patah tulang yang terbaik antara perlakuan *unloading*, *partial loading* dan *loading* pada *metacarpal* domba.

1.6. Hipotesis penelitian

Berdasarkan landasan teori yang ada, maka hipotesis penelitian ini adalah dalam proses penyembuhan fraktur tulang metacarpal domba jantan jenis tidak stabil dengan sistem perlakuan *partial loading* akan lebih meningkatkan kadar alkaline fosfatase dalam darah dibanding dengan sistem *loading* dan *unloading*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tulang dan komponennya

Tulang atau jaringan *oseosa*, merupakan bentuk kaku jaringan ikat yang membentuk sebagian besar kerangka vertebrata yang lebih tinggi. Jaringan ini terdiri atas sel-sel dan matrik inter sel. Matrik mengandung unsur organik, yaitu terutama serat-serat kolagen, dan unsur anorganik yang merupakan dua per tiga berat tulang. Garam-garam anorganik yang bertanggung jawab atas kaku dan kerasnya tulang adalah kalsium fosfat (kira-kira 85%), kalsium karbonat (10%), dan sejumlah kecil kalsium flourida dan magnesium flourida (Lesson *et al.*, 1996).

Junqueira (1997), menyatakan bahwa tulang adalah jaringan ikat khusus yang terdiri atas materi inter sel yang mengapur, yaitu matrik tulang, dan 3 jenis sel osteosit yang terdapat dalam lakuna di dalam matrik, osteoblas yang membentuk komponen organik dari matrik, dan osteoklas yang merupakan sel raksasa berinti banyak yang berperan resorpsi dan pembentukan kembali jaringan tulang.

Sel-sel tulang dapat dibedakan menjadi empat jenis sel tulang yaitu: sel osteoprogenitor, osteoblast, osteosit, dan osteoklas. Sel osteoprogenitor merupakan populasi sel induk, berkembang dari mesenkim, yang memiliki daya mitotik dan berkemampuan untuk menjadi sel tulang dewasa. Ada dua jenis osteoprogenitor yaitu jenis preosteoblas yang memiliki sedikit retikulum

endoplasma yang akan menghasilkan osteoblas, dan preosteoklas yang lebih banyak mengandung mitokondria dan ribosom bebas serta menghasilkan osteoklas. Osteoblas adalah sel yang berhubungan dengan pembentukan tulang dan ditemukan pada permukaan tulang, yaitu tempat matrik tulang ditambahkan. Osteoblas mengandung enzim alkalin fosfatase, menandakan bahwa mereka tidak saja berhubungan dengan pembuatan matrik, tetapi juga berhubungan dengan proses kalsifikasinya. Osteosit merupakan osteoblas yang terpendam dalam matrik tulang. Sedangkan osteoklas adalah sel yang diperkirakan terlibat dalam resorpsi tulang, meskipun mekanisme kerjanya belum jelas. Osteoklas mengeluarkan kolagenase dan enzim proteolitik lain yang menyebabkan matrik tulang melepaskan bagian substansi dasar yang mengapur. Sesudah proses resorpsi selesai, osteoklas menghilang, mungkin berdegenerasi atau berubah lagi menjadi sel asalnya (Lesson *et al.*, 1996).

2.2. Tulang metacarpal

Tulang metacarpal tergolong tulang panjang yang terletak di antara baris distal tulang carpal dan phalanx proximal. Bersama-sama dengan phalanx proximal, tulang ini membentuk persendian *metacarpophalangea* (“hock joint”).

Jumlah *ossa metacarpal* yang berkembang pada masing-masing spesies hewan berbeda tergantung dari jumlah digiti yang berfungsi (Dhamayanti, 2004).

2.3. Klasifikasi tulang

Berdasar bentuk, tulang diklasifikasikan atas tulang panjang, tulang pendek, tulang pipih dan tulang irregular. Tulang panjang dibentuk dari model kartilago dan kemudian diubah kedalam tulang dengan osteogenesis yang dimulai dari korpus dan ujung tulang. Tulang panjang terbagi atas empat bagian yaitu diafisis, metafisis, epifisis dan kartilago epifisialis. Diafisis merupakan batang silindris pada tulang panjang, terletak diantara dua epifisis. Metafisis adalah bagian yang melebar di dekat epifisis. Epifisis yaitu bagian yang menunjukkan kedua ujung tulang. Ujung yang dekat dengan tubuh merupakan ujung proksimal dan ujung yang jauh dari tubuh merupakan ujung distal. Kartilago epifisis merupakan lapisan kartilago hialin yang memisahkan diafisis dan epifisis, terdapat dalam meta fisis (bagian yang melebar) pada tulang yang belum masak, hanya bagian ini yang dapat menyebabkan tulang bertambah panjang (Frandsen, 1996).

2.4. Definisi dan pembagian jenis-jenis fraktur

Fraktur dari tulang adalah semata-mata kerusakan pada tulang yang kontinyu (Frandsen, 1996). Bila sebuah tulang patah, matrik tulang rusak dan sel-sel tulang yang berdekatan dengan daerah fraktur akan mati. Pembuluh-pembuluh darah yang cedera mengakibatkan perdarahan setempat dengan pembentukan bekuan darah. Selama perbaikan, bekuan darah, sel-sel, dan matrik tulang yang rusak dibersihkan oleh makrofag. Periosteum dan

endosteum disekitar daerah fraktur memberi respon berupa proliferasi hebat dari sel-sel osteoprogenitor yang membentuk jaringan seluler sekeliling fraktur dan menyusup diantara ujung-ujung fraktur tulang itu (Junqueira, 1997).

Menurut Frandson (1996), menyatakan bahwa terdapat beberapa tipe fraktur yang terdiri dari simpel fraktur, kompond fraktur, greenstick fraktur, komplet fraktur, epifisial fraktur dan komminuted fraktur. simpel fraktur adalah fraktur dimana kulit diatas fraktur tidak rusak. kompond fraktur adalah fraktur dimana luka dari luar menyentuh tulang pada titik fraktur. Hal ini mungkin disebabkan oleh ujung kerusakan dari pelubangan tulang atau penetrasi suatu objek seperti peluru penyebab fraktur. Greenstick fraktur adalah fraktur dimana tulang rusak keseluruhan secara melintang. Epifisial fraktur adalah fraktur yang terjadi pada sambungan epifisis dan diafisis tulang, tipe ini juga terbatas untuk hewan muda, sedangkan komminuted fraktur adalah fraktur dimana sejumlah fragmen terbentuk karena tulang pecah atau remuk.

2.5. Osteogenesis

Tulang dapat dibentuk dalam dua cara yaitu : melalui mineralisasi langsung pada matrik yang disekresi oleh osteoblas (ossifikasi intramembranosa) atau melalui penimbunan matrik tulang pada matrik tulang rawan sebelumnya (ossifikasi endokondral) (Junqueira, 1997).

Menurut Prijosepoetro (2003), ada dua jenis osteogenesis yang dikenal yaitu : Osteogenesis intramembranosa (Osteogenesis desmali atau osteogenesis

primer) suatu proses penulangan langsung, yang sifatnya sederhana. Secara garis besar kejadiannya adalah bahwa osteoblas tumbuh menjadi osteosit, akan mempengaruhi zat sekitar matrik yang tadinya cair berubah kental dan memadat karena membentuk osteoid. Osteoid ini mengeras karena proses pengapuran (kalsifikasi), maka akan mengurung osteosit. Osteosit yang terkurung oleh osteoid adalah mula terjadinya pulau tulang pertama dan tempat kegiatan proses yang diberi nama titik penulangan atau *puctum ossificationis*. Proses penulangan akan meluas ke daerah sekitarnya sampai terbentuk suatu tulang tertentu. Untuk mencapai suatu bentuk tulang maka terdapat suatu sel yang disebut osteoklas yang berfungsi justru merusak atau menghancurkan lapisan tulang yang telah jadi. Atas keseimbangan osteoblas dan osteoklas, maka bentuk yang dikehendaki tercapai. Contoh tulang yang kejadiannya lewat proses ini, misalnya: Os frontalis, jaringan tulang subperiostal dari batang tulang panjang dan lain-lainnya.

Osteogenesis intracartilagenosa (osteogenesis endrokondralis) atau yang disebut osteogenesis sekunder adalah suatu proses penulangan tidak langsung, yang selalu didahului dengan terbentuknya tulang rawan (kartilago) sebelumnya yang sifat kejadiannya lebih kompleks. Jaringan mesenkim yang akan menjadi tulang dengan proses ini, terlebih dahulu membentuk tulang-tulang rawan hialin, yang juga merupakan pola tulang yang akan dibentuk (Priyosepetro, 2003).

2.6. Proses dan konsep penyembuhan tulang

Pemulihan jejas tulang pada dasarnya merupakan penyembuhan jaringan ikat. Perbedaan dengan penyembuhan jaringan lunak hanya pada pembentukan jaringan perkapuran yang khas untuk tulang tersebut, terjadi akibat aktifitas osteoblas dan osteoklas. Sel-sel pembentuk tulang berasal dari periosteum dan endosteum pada daerah jejas atau mungkin berasal dari sel-sel primitif atau berasal dari fibroblas jaringan ikat sekitarnya. Penyembuhan tulang bisa begitu sempurna, sehingga tidak lagi dapat ditunjukkan dengan sinar-X, bahkan dengan pemeriksaan histopatologi sekalipun (Robin dan Kumar, 2002).

Konsep kesembuhan fraktur didasarkan pada dua variabel yaitu suplai darah dan stabilitas. Suplai darah merupakan faktor penentu yang kritis terhadap fraktur tertentu seperti fraktur *neck femur* (Rodan and Martin, 2000).

Tahapan-tahapan penyembuhan tulang secara fisiologis menurut Buckwalter and Crues (1991), sebagai berikut : tahap inflamasi, tahap reparasi, tahap remodeling tulang. Tahap pertama adalah tahap inflamasi, merupakan respon terhadap adanya radang baik seluler maupun vaskuler, yang meliputi terjadinya pengeluaran banyak, vasodilatasi dan migrasi sel radang pada lokasi radang. Secara klinik dapat ditunjukkan adanya bengkak, eritema kenaikan suhu jaringan, rasa sakit dan kerusakan fungsi jaringan. Tahap reparasi merupakan tahapan dimana terjadi pergantian sel nekrotik dan bahan yang rusak melalui proliferasi sel-sel mesenkim endosteum dan sel-sel mesenkim periosteum. Berproliferasinya sel-sel mesenkim tersebut disebabkan oleh kombinasi dari

faktor pertumbuhan dalam hematoma yang dilepaskan oleh tulang yang rusak dan jaringan lunak, serta respon intrinsik dari endosteum dan periosteum untuk berproliferasi apabila secara fisik terganggu, sedangkan pada tahap remodeling, terjadi pembentukan kembali jaringan yang diperbaiki melalui pergerakan dan penempatan kembali sel-sel matrik.

2.7. Efek gerakan terhadap proses penyembuhan tulang

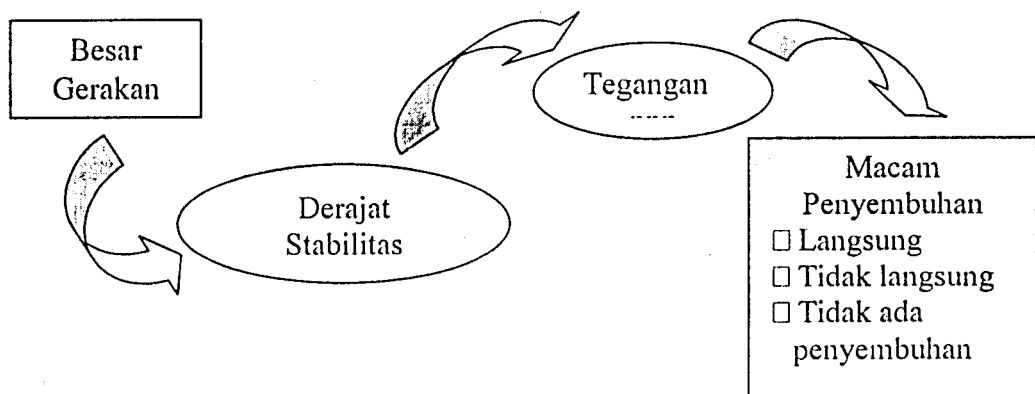
Induksi gerakan dimulai setelah minggu ke-1 sampai minggu ke-3 setelah terjadinya fraktur dapat menimbulkan respon kerusakan primer serta dapat mempertahankan eksudat fraktur yang dapat memberikan sinyal molekul jaringan lunak, kemudian sinyal-sinyal ini mempengaruhi matrik ekstraselluler untuk mempengaruhi diferensiasi dan proliferasi sel (Frost, 1989).

Dalam *orthopedic basic science* dijelaskan bahwa kalus merupakan fungsi relatif gerakan kecil antara fragmen tulang yang mengalami fraktur dimana gerakan yang lebih besar akan menghasilkan jaringan antara yang lebih lunak. Gerakan yang sangat besar akan mencegah proses penyembuhan menghasilkan *non union* (Greensink and Bulstra, 1999).

Schatzner *et al.* (1989), telah meneliti efek gerakan pada penyembuhan tulang kartilago menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan pola penyembuhan pada derajat stabilitas yang berbeda dari fragmen fraktur. Pada kondisi stabil absolut maka tulang kartilago akan sembuh dengan formasi langsung tulang muda (*direct healing*), dimana jaringan mesenkimal primitif akan mengisi gap

fraktur dan akan mengalami transformasi langsung menjadi tulang tanpa mengalami fase kartilago. Pada keadaan stabil yang tidak absolut, masih ada relatif gerakan fragmen namun tidak melebihi toleransi tegangan kartilago maka penyembuhan tercapai dengan menghasilkan kalus kartilago internal yang kemudian mature dan mengalami ossifikasi endokondral (Jay, 1998).

Pengaruh gerakan pada proses penyembuhan tulang dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2.1. Skema pengaruh gerakan pada proses penyembuhan tulang. Sumber : Perren *and* Cordey (1991).

Gerakan pada tulang yang menimbulkan tegangan, hal itu telah dijelaskan diatas dapat memberikan sinyal terhadap matrik ekstraselluler untuk mempengaruhi diferensiasi dan proliferasi sel-sel osteoprogenitor. Osteoblas merupakan sel primadona dalam rantai panjang proses kesembuhan tulang. Osteoblas sebagai sel pembentuk tulang yang berasal dari osteoprogenitor masuk bersama-sama dengan pembuluh darah membentuk lapisan utuh diatas matrik tulang rawan yang mengapur dan mulai menghasilkan matrik tulang.

Pembuluh darah yang membawa osteoblas masuk melalui lubang-lubang yang dibuat oleh osteoklas menerobos matrik tulang (Junqueira, 1997). Osteoblas selalu bekerja sama dengan osteoklas. Osteoklas berfungsi sebagai penghancur tulang yang menyediakan tempat pembentukan tulang oleh osteoblas yang mengikutinya, kerjasama ini disebut *coupling phenomenon*. Diketahui bahwa osteoblas berasal dari sel-sel stroma di sekitar tulang, sel-sel lain yang berasal dari sel-sel stroma di sekitar tulang yaitu: sel fibrosit, kondrosit, dan osteosit (Zamurovic, 2005).

Menurut Watson *and* Albert (1994), menyatakan bahwa fibroblas dapat berdeferensiasi oleh pengaruh sinyal dari seluler. Ketika jaringan mengalami trauma, maka fibroblas yang terdekat dengan daerah cedera akan bermigrasi kedalam luka, kemudian berdeferensiasi sesuai sinyal yang dikirim oleh matrik ekstraseluler, serta berproliferasi memproduksi banyak matrik kolagen yang membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak. Matrik ekstraseluler dapat mempengaruhi diferensiasi sel melalui efek fisik dan kimia. Hal ini telah ditunjukkan oleh penelitian terhadap sel-sel kartilago yang dikultur pada kondisi yang sesuai. Sel-sel ini akan berdeferensiasi dan berproliferasi dan mempertahankan karakter diferensiasinya yang akan berlanjut sebagai generasi sel yang mensintesis jumlah besar matrik kartilago yang mengelilingi itu sendiri (Kaspar, 2000).

2.8. Alkalin fosfatase

Darah adalah suspensi dari partikel dalam larutan encer yang mengandung elektrolit. Komponen cairan darah dinamakan plasma, 90% terdiri dari air sebagai media transpor dan 10% terdiri dari zat padat. Zat padat tersebut meliputi : protein, unsur anorganik berupa (natrium, kalsium, kalium, fosfor, besi dan yodium), unsur organik berupa (nitrogen non protein, urea, asam urat, xantin, asam amino, lemak netral, fosfolipid, kolesterol dan glukosa) dan enzim termasuk alkalin fosfatase (Bijanti dkk., 2002).

Murray *et al.*, (2003), menyebutkan bahwa alkalin fosfatase tergolong isoenzim, isoenzim yang dimaksud adalah bentuk-bentuk enzim yang berbeda secara fisik dan dapat dipisahkan, yang terdapat dalam berbagai tipe sel atau kompartemen subseluler manusia dan jaringan vertebrata, insekta, tumbuhan, dan organisme uniseluler tetapi mempunyai aktifitas katalisis yang sama.

Alkalin fosfatase adalah enzim yang dalam proses kerjanya mempunyai spesifisitas substrat yang luas, enzim ini dapat menghidrolisis dan mengkatalisasi *ester* dari monofosfat dan telah diketahui kecil fungsinya dalam interselluler. Alkalin fosfatase sebagai isoenzim dalam jaringan mempunyai aktifitas yang tinggi pada hati, tulang, usus, ginjal, dan plasenta yang didapat dengan cara elektrofotoelektrik (Duncan *and* Turner, 1994).

Analisis enzim pada tulang sangat sulit dibuat karena banyak perbedaan lokal didalam aktifitas metabolisme, populasi sel tulang yang heterogen dan masa matrik bermineral yang sangat besar dan harus dihadapi. Alkalin fosfatase

sangat banyak di dalam tulang dan telah dikaji banyak peneliti, namun masih terdapat ketidakpastian tentang peranannya di dalam jaringan (Turner dan Bagnara,1988).

Menurut Mitruka *et al.*, (1977), pemeriksaan kimia darah pada domba jantan hampir sama dengan pemeriksaan kimia darah pada domba betina. Untuk mendapat kestabilan dalam pemeriksaan sebaiknya menggunakan domba yang berumur diatas satu tahun dengan berat berkisar antara 40-60 kg. Untuk alkalin fosfatase mempunyai harga normal antara 45,0-125,0 IU/ l , dengan harga normal rata-rata untuk jantan adalah 85,4 IU/ l dengan standar deviasi 15,1 IU/ l. Untuk betina harga normal rata-ratanya adalah 82,9 IU/ l, dengan standar deviasi 16,2 IU/l.

2.9. Peran alkalin fosfatase dalam penyembuhan tulang

Peran alkalin fosfatase dalam proses mineralisasi tulang adalah menyiapkan suasana alkalis (basa) pada jaringan osteoid yang terbentuk, supaya kalsium dapat mudah terdeposit pada jaringan tersebut. Selain itu dalam tulang enzim ini menyebabkan meningkatnya konsentrasi fosfat, sehingga terbentuk ikatan kalsium-fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit dan berdasarkan hukum massa (*law of mass action*) kristal tersebut pada akhirnya akan mengendap di dalam tulang (Djojosoebagio, 1990).

Beberapa peneliti telah menemukan aktivitas enzim alkalin fosfatase ini paling besar di dalam area pembentukan tulang baru, tempat kolagen disintesis

Beberapa peneliti telah menemukan aktivitas enzim alkalin fosfatase ini paling besar di dalam area pembentukan tulang baru, tempat kolagen disintesis dan pertumbuhan tulang bermula. Namun metode histokimia mengungkapkan bahwa enzim tersebut terdapat dalam osteosit yang terlibat dalam penghancuran tulang. Meskipun tidak seluruh alkalin fosfatase plasma berasal dari kerangka, terdapat variasi yang nyata dalam titer ini beredar pada penyakit tulang tertentu. Teknik histokimiawi menunjukkan bahwa fosfatase asam di dalam area tulang yang mengalami reabsorpsi oleh osteoklas (Turner dan Bagnara, 1998).

Nulend *et al.*, (2005) menyatakan bahwa osteosit yang berada pada matrik tulang akan mensekresikan alkalin fosfatase dalam kadar yang rendah sebagai respon terhadap proses *loading*.

BAB III

MATERI DAN METODE

BAB 3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada bulan September 2005 sampai Mei 2006. Operasi dilaksanakan di Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pemeriksaan kadar alkalin fosfatase dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3.2. Sifat penelitian

Penelitian adalah bersifat eksperimental dengan pendekatan tinjauan alkalin fosfatase dalam darah.

3.3. Bahan dan materi penelitian

3.3.1. Hewan coba

Pada penelitian ini, hewan coba yang digunakan adalah 15 ekor domba jantan (*Ovis aries*) dengan umur 8 bulan dan berat rata-rata 18 kg. Masing-masing domba ditempatkan dalam kandang individu dan telah diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan (sudah mendapatkan surat ijin *etical clearence*).

3.3.2. Bahan penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah : Atropin Sulfat, Xylazine, Ketamine HCl, Alkohol 70%, Metamphyronum, Amphisilin Sodium, Povidone Iodine, Rumput, Pelet susu A, Air PDAM, Obat anti lalat, Rivanol, Garamicine (salep mata), Laktat-Ringer, Lysol, sabun cair antiseptik, Formalin 10%, Film Rontgen, EDTA, Cresolphthalien, Nitrophenylphosphat, Larutan Buffer pH 10,3, Standart p-Nitrophenol 2mM, Larutan p-Nitrophenylphosphat 7,7 mM, Aquades, serum.

3.3.3. Alat-alat Penelitian

Kandang panggung, kandang jepit, katrol, tampar plastik, *stop watch*, Baju fiksasi, sabuk, *bandage*, kasa, kasa steril, kapas, spuit 3cc, 5cc, 10cc, gunting bedah, scalpel, pinset, boor listrik, *needle*, benang jahit *non absorbable*, *needle holder*, *retractor*, *towel clamp*, *artery clamp*, *intramedullary pin*, *screw*, *slotted plate*, *drape*, gaun operasi, *glove surgery*, *clipper*, *autoclave*, palu, meja operasi, tali fiksasi, lampu bedah, ruang operasi, ember, alat rontgen, kamera digital, *ependrof*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, sentrifus, *refrigerator*, kertas label, tameng Pb, plester, termometer, rak dan tabung reaksi, spektrofotometer, gelas objek dan kover glas, sapu, geligi, sekop, selang air, alarm, sabit, gelangsing, grobak, gergaji listrik, gergaji besi, obeng, kunci L, timbangan, *hair drayer*, *film hanger* dan *Waterbath*.



Gambar 3.1. Gambar peralatan operasi

3.4. Metode penelitian

3.4.1. Persiapan percobaan

Domba jantan yang akan dijadikan sampel sebanyak 15 ekor ditempatkan kandang panggung selama masa adaptasi dan dilakukan pemberian nomor pada telinga untuk pengacakan masing-masing perlakuan, setelah operasi ditempatkan dalam kandang fiksasi individual. Domba tersebut diadaptasikan pada masing-masing kandang selama satu bulan.

3.4.2. Pelaksanaan operasi

Perlakuan diberikan 2 hari setelah operasi. Operasi percobaan untuk satu ekor domba, dilaksanakan pada tanggal 11 Maret 2006 selanjutnya operasi dilaksanakan pada tanggal 14, 16 dan 18 Maret 2006. Teknik operasi menggunakan *intramedullary pin dan slotted plate screw*. Anastesi yang

digunakan adalah kombinasi antara ketamin dan xylazine. Prosedur operasi pembedahan, sebelum dilakukan operasi domba dipuasakan minimal selama 12 jam, pengukuran berat badan dan pencukuran bulu pada kaki depan kiri (bagian yang akan dibedah). Premedikasi diberikan atropin sulfat 0,1-1 mg/kg berat badan (BB), sedangkan untuk anestesi diberikan xylazine 0,01-0,22 mg/kg BB dan ketamin HCl 2 mg/kg BB secara intramuskuler. Dilakukan *X-ray* posisi lateral dan anterior-posterior (AP), untuk lebih jelasnya mengenai premedikasi dan posisi *X-Ray* yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar (3.2 dan 3.3) di bawah ini:



Gambar 3.2. Gambar pre-medikasi Gambar 3.3. Gambar pengambilan X-Ray

Domba dibawa ke ruang operasi dan diposisikan secara *dexter lateral recumbency*, sisi kiri hewan pada bagian atas. Desinfeksi pada lapangan operasi menggunakan Povidone Iodine dan dikeringkan, kemudian dioleskan betadine. Desinfeksi lapangan operasi dapat dilihat pada Gambar 3.4 di bawah ini:



Gambar 3.4. Gambar desinfeksi lapangan operasi

Pembedahan diawali dengan insisi kulit lurus digaris tengah sesuai sumbu tulang. Tulang metacarpal dibebaskan terhadap periosteum dengan rasparatorium melingkari tulang metacarpal. Kemudian dilakukan osteotomi transversal dengan gerjaji listrik melalui titik tengah tulang. Kanal medula pada fragmen distal diperlebar dengan bor listrik sampai menembus sendi metacarpal yang difleksikan. Difleksi tulang setelah fraktur dapat di lihat pada Gambar 3.5 di bawah ini:

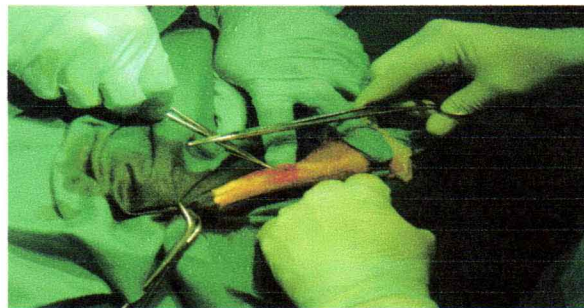


Gambar 3.5. Gambar difleksi tulang setelah fraktur

Reposisi dan fiksasi diawali dengan memasukkan nail ujung konkaf ke bagian fragmen distal hingga menembus kulit daerah sendi metacarpal yang

diinsisi. Kemudian *nail* ujung konkaf didorong dengan palu ke dalam lubang sumsum tulang. *Slotted plate* empat lubang dipasang dengan empat skrew di empat titik tengah kortek.

Luka insisi operasi dijahit satu lapis dengan benang nilon (*non absorbable*) ukuran 3-0 secara *simple interrupted*. Luka ditutup dengan kasa steril dan diberi betadine, kemudian dilakukan penutupan dengan kasa dan dibalut perban. Proses penjahitan luka operasi dapat dilihat pada Gambar 3.6. di bawah ini:



Gambar 3.6. Gambar penjahitan Luka operasi

Setelah operasi domba ditempatkan dalam kandang individu dengan posisi penggantungan (*unloading*), setelah 2 hari kemudian baru diberikan perlakuan.

Macam perlakuan adalah sebagai berikut :

1. Perlakuan 1 (P₁)

Domba dengan sistem penggantungan (*unloading*).

2. Perlakuan 2 (P₂)

Domba dengan sistem 1jam dalam posisi berdiri dan 1 jam dalam posisi menggantung (*parsial loading*).

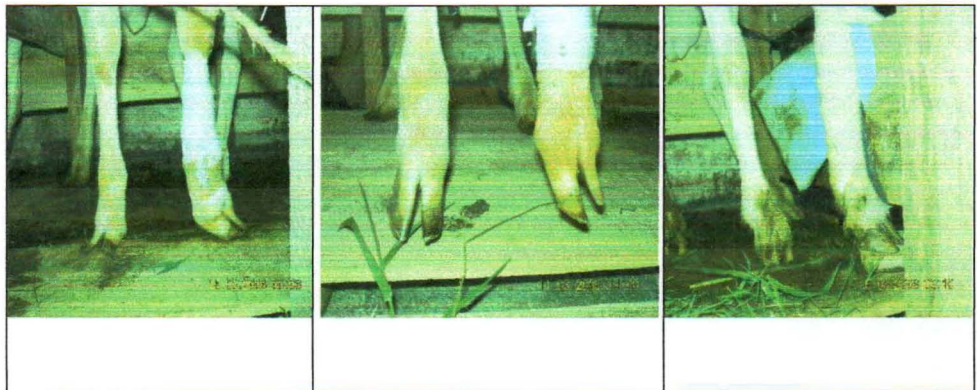
3. Perlakuan 3 (P₃)

Domba dengan sistem posisi berdiri (*loading*)

Untuk lebih jelasnya mengenai macam perlakuan yang diberikan pada domba-domba yang menjadi objek penelitian, dapat dilihat pada Gambar (3.7 dan 3.8) di bawah ini :

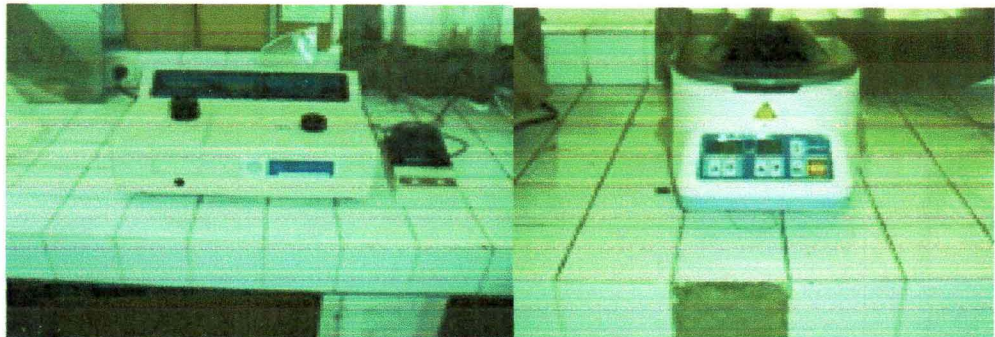


Gambar 3.7. Gambar domba dengan tiga macam perlakuan berturut-turut (*partial loading, unloading, loading*)



Gambar 3.8. Gambar kaki domba dengan tiga macam perlakuan berturut-turut (*partial loading, unloading, loading*)

Perawatan pasca operasi semua domba disuntik dengan Ampicilin Sodium sebanyak 1cc (5mg/kg BB) secara intra muskuler selama 5 hari dan Metamphyronum sebanyak 1,5cc (7mg/kg BB) secara intramuskuler apabila diperlukan. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-3, 7, 15 dan 30 hari setelah operasi, darah diambil melalui vena Jugularis. Teknik pemeriksaan alkalin fosfatase menggunakan spektrofotometer dan sentrifus yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.9. Gambar spektrofotometer dan sentrifus yang digunakan dalam pemeriksaan alkalin fosfatase

3.4.3. Variabel penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas

Perlakuan yang diberikan (*unloading, partial loading, loading*).

2. Variabel bergantung

Kadar alkalin fosfatase dalam proses penyembuhan patah tulang.

3. Variabel penghubung

Stabilitas dan jarak antara patahan tulang.

4. Variabel kendali

Umur, status gizi dan jenis kelamin.

3.5. Rancangan penelitian dan analisis Data

Penelitian ini menggunakan perancangan faktorial dengan 3 sistem penanganan fraktur (*loading, partial* dan *unloading*) dan 4 waktu pengambilan darah (pengambilan hari ke-3, 7, 15, dan 30) sebagai faktor A dan B dengan 5 ulangan. Pengambilan darah pada hari ke-3 dimaksudkan, pada hari tersebut diperkirakan masih berada pada tahap inflamasi pada proses penyembuhan tulang, sedangkan pada pengambilan darah dilakukan pada hari ke-7, 15, dan 30 diperkirakan berada pada tahap reparasi dan remodeling pada proses penyembuhan tulang. Rancangan faktorial bertujuan untuk mencari apakah adanya interaksi antara sistem penanganan fraktur dan jarak waktu pengambilan darah. Apabila terjadi interaksi dari faktor yang ada, maka analisis data tidak dapat dilanjutkan karena data yang ada tidak mempengaruhi hasil kesimpulan (Rochiman, 1990).

Rancangan faktorial pada penelitian ini dimaksudkan dapat menunjukkan kadar alkalin fosfatase selama proses penyembuhan tulang pada jenis sistem penanganan (faktor A) dan jarak waktu pengambilan darah (faktor B). Analisis data yang digunakan untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan

terhadap kadar aktifitas alkalin fosfatase adalah *Univariate Analisis of Varian* (*Univariate ANOVA*), apabila ada perbedaan yang nyata pada masing-masing faktor dilanjutkan uji Tukey pada masing- masing sistem penanganan fraktur dan jarak pengambilan darah untuk mengetahui sistem penanganan manakah dan pengambilan darah pada hari keberapakah yang memberikan hasil kadar alkalin fosfatase yang tertinggi.

BAB IV

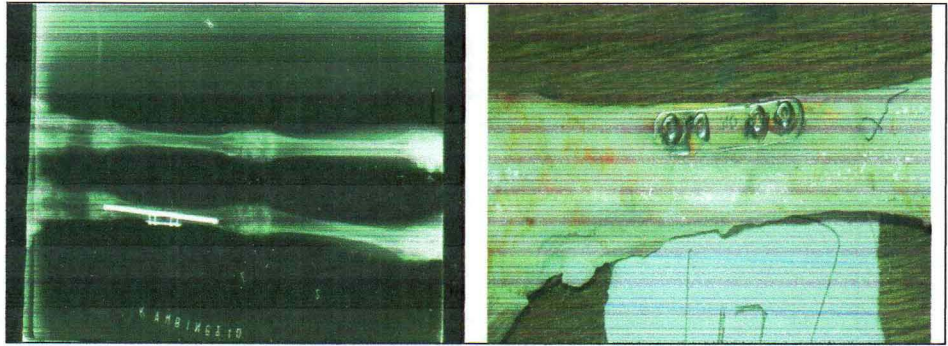
HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

Bagian ini memuat data penelitian dan analisis hasil penelitian yang relevan dengan tujuan dan hipotesisnya. Penyajian data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel, foto atau gambar yang disusun sesuai dengan metode penelitian yang terdiri dari 2 tahap penelitian, yaitu : tahap persiapan hewan coba dan tahap pelaksanaan operasi dan pemberian perlakuan.

4.1. Data penelitian

Karakterisasi yang dilakukan pada bab ini adalah data tentang kadar Alkalin fosfatase serum darah pada ketiga perlakuan kelompok hewan coba yaitu, perlakuan dengan posisi berdiri (*loading*), satu jam berdiri dan satu jam menggantung (*Partial loading*) dan posisi menggantung (*unloading*) pada empat kali pengambilan darah melalui vena jugularis yaitu pada hari ke- (3, 7, 15 dan 30), setelah dilakukan frakturasi, reposisi dan fiksasi dengan sistem penanganan yang menggunakan *intramedullary pin* dan *slotted plate screw* terhadap pertengahan tulang metacarpal *sinistra* domba jantan (*Ovis aries*), untuk lebih jelasnya mengenai sistem penanganan tersebut dapat dilihat pada gambar hasil *X-Ray* dan kamera digital terhadap tulang metacarpal setelah domba diterminasi sesuai hari dapat dilihat pada Gambar 4.1 di bawah ini:



Gambar 4.1. Gambar fraktur tulang pada pertengahan ossa metacarpal sinister domba yang telah direposisi dan diberi sistem penanganan *intramedullary pin* dan *slotted plate screw*.

Kandungan alkalin fosfatase darah dalam Internasional Unit (IU) pada setiap perlakuan (*loading*, *partial loading*, dan *unloading*) dengan waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) yang dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan metode pemeriksaan nitrophenylphosphat, Mengenai cara kerja metode pemeriksaan alkalin fosfatase dengan nitrophenylphosphat dapat dilihat pada Lampiran 1. Rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase dengan pengaruh perlakuan (*loading*, *partial loading*, dan *unloading*) dan pengaruh waktu pengambilan darah yaitu pada hari ke- (3, 7, 15 dan 30) beserta notasinya dapat dilihat pada Tabel 4.1 di bawah ini:

Tabel 4.1. Rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase dengan pengaruh perlakuan (*loading, parsial loading, unloading*) dan pengaruh waktu pengambilan darah pada hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).

Perlakuan	Pengambilan hari ke... (IU)				Total ($\bar{X} \pm SB$)
	3	7	15	30	
<i>Loading</i>	72,68 \pm 7,55	64,48 \pm 13,21	81,21 \pm 19,22	79,20 \pm 6,83	73,64 \pm 13,25 ^b
<i>Partial loading</i>	70,70 \pm 20,29	85,43 \pm 28,86	115,28 \pm 25,08	93,71 \pm 38,45	91,28 \pm 23,89 ^a
<i>Unloading</i>	64,78 \pm 7,02	64,35 \pm 18,25	64,35 \pm 18,25	77,68 \pm 7,55	77,74 \pm 20,98 ^b
Total	69,39 \pm 12,62 ^b	71,42 \pm 22,09 ^b	98,30 \pm 25,35 ^a	84,48 \pm 23,25 ^{ab}	80,89 \pm 19,37

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,5$) untuk tiap perlakuan dan berbeda sangat nyata untuk waktu pengambilan darah.

4.2. Analisis hasil penelitian

Analisis faktorial 5(3x4) menunjukkan tidak terdapat interaksi antara macam perlakuan yang diberikan dengan waktu pengambilan darah perlakuan terhadap kandungan alkalin fosfatase darah ($p > 0,05$), namun demikian terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara setiap macam perlakuan dan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara setiap waktu pengambilan darah terhadap kandungan alkalin fosfatase darah. Hal ini dapat diartikan bahwa kandungan alkalin fosfatase darah hanya tergantung pada faktor utama yaitu macam perlakuan yang diberikan dan jarak waktu pengambilan darah, karena terdapat perbedaan yang nyata untuk setiap macam perlakuan dan terdapat

perbedaan yang sangat nyata pada setiap waktu pengambilan darah, maka dilanjutkan dengan uji Tukey antara setiap perlakuan dan setiap waktu pengambilan darah. Mengenai hasil sidik ragam kadar alkalin fosfatase darah pada faktor macam perlakuan (*loading*, *partial loading* dan *unloading*) dan faktor jarak waktu pengambilan darah (hari ke-3, hari ke-7, hari ke-15 dan hari ke-30) dapat dilihat pada Lampiran 2.

Uji Tukey bertujuan untuk menunjukkan hasil kadar alkalin fosfatase tertinggi dan terendah baik diantara macam perlakuan yang diberikan maupun setiap waktu pengambilan darah. Hasil uji Tukey pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa, rataan konsentrasi alkalin fosfatase tertinggi dihasilkan oleh perlakuan *partial loading* yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan *unloading*. Hasil terendah didapat pada perlakuan *loading*, hasil uji Tukey pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.2. di bawah ini:

Tabel 4.2. Perbedaan Rataan dan Simpangan Baku Kadar Alkalin Fosfatase Hasil Uji Tukey pada Setiap Macam Perlakuan (*Loading*, *Partial Loading* dan *Unloading*).

Perlakuan	X±SB
<i>Loading</i>	73,64 ^b ± 13,25
<i>Partial loading</i>	91,28 ^a ± 23,89
<i>UnLoading</i>	77,74 ^b ± 20,98

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,5$)

Selanjutnya dilakukan uji Tukey pada masing-masing waktu pengambilan darah, untuk menunjukkan hasil tertinggi dan terendah kadar alkalin fosfatase diantara waktu pengambilan darah. Hasil uji Tukey pada masing-masing waktu pengambilan darah menunjukkan bahwa, rataan konsentrasi alkalin fosfatase tertinggi dihasilkan pada waktu pengambilan darah hari ke-15 yang tidak berbeda nyata dengan pengambilan darah hari ke-30. Hasil terendah didapat pada waktu pengambilan darah hari ke-3 yang tidak berbeda nyata dengan pengambilan darah hari ke-7 dan ke-30. Hasil uji Tukey pada masing-masing waktu pengambilan darah dapat dilihat pada Tabel 4.3 di bawah ini:

Tabel 4.3. Perbedaan rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase hasil uji Tukey pada setiap waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30).

Waktu pengambilan darah	X±SB
Pengambilan hari ke-3	69,40 ^b ± 12,62
Pengambilan hari ke-7	71,42 ^b ± 22,10
Pengambilan hari ke-15	98,26 ^a ± 25,36
Pengambilan hari ke-30	84,48 ^{ab} ± 23,25

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0,1$)

BAB V

PEMBAHASAN

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1. Kadar alkalin fosfatase pada tiap perlakuan

Hasil uji *Univariate Analysis Of Varian (Univariate ANOVA)* menunjukkan bahwa tidak adanya interaksi antara faktor macam perlakuan (*loading, partial loading* dan *unloading*) dan faktor waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) seperti yang telah dijelaskan pada bab empat menunjukkan bahwa kadar alkalin fosfatase dipengaruhi oleh macam perlakuan dan dipengaruhi oleh waktu pengambilan darah pada domba yang mengalami fraktur. Bab ini akan menjelaskan pengaruh macam perlakuan (*loading, partial loading, dan unloading*) yang diberikan dan jarak pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) terhadap kadar alkalin fosfatase.

Hasil pemeriksaan dengan uji Tukey kadar alkalin fosfatase dalam darah domba pada tiap macam perlakuan *loading, partial loading, dan unloading* menunjukkan bahwa perlakuan *partial loading* menunjukkan kadar alkalin fosfatase yang tertinggi dibanding dengan perlakuan *loading*. Tingginya kadar alkalin fosfatase pada perlakuan *partial loading* disebabkan oleh adanya gerakan antara ujung fraktur karena kompresi dan distraksi akibat perlakuan yang diberikan. Kompresi disebabkan adanya beban tubuh, sedangkan distraksi timbul karena adanya gaya gravitasi bumi. Frost (1989) menyatakan bahwa gerakan fragmen pada ujung fraktur atau gerakan satu dengan yang lain dapat mempertahankan konsentrasi *Bone Morphogenetic Protein (BMP)*.

BMP dapat merangsang berkembangnya sel-sel osteoprogenitor. Sel-sel osteoprogenitor akan mensekresikan *Bone Derivade Growth Faktor* (BDGF). BDGF merupakan protein *hidrofilik* yang merangsang *Deoxyribo Nucleid Acid* (DNA) dan proliferasi sel-sel osteoprogenitor. Sel osteoprogenitor terdapat dua sel yaitu preosteoblas dan preosteoklas. Preostoeblas akan menjadi osteoblas yang mensekresikan enzim alkalin fosfatase. Berdasarkan hal tersebut bisa diasumsikan bahwa tingginya alkalin fosfatase pada perlakuan *partial loading* akibat adanya kompresi dan distraksi yang berulang yang dapat menimbulkan gerakan antara ujung fraktur.

Djojosoebagio (1990), menyatakan peran alkalin fosfatase dalam proses mineralisasi adalah mempersiapkan suasana alkalis pada jaringan osteoid yang terbentuk, supaya kalsium dapat mudah terdeposit pada jaringan tulang sehingga menjadi osteosit. Osteosit dalam matrik tulang sebagai respon dalam proses pengisian dalam pembentukan tulang akan mensekresikan alkalin fosfatase walau dalam kadar yang rendah (Nulend *et al.*, 2005). Pernyataan tersebut bisa diyakini bahwa bukan hanya osteoblas saja yang mensekresikan alkalin fosfatase, osteosit juga mensekresikan alkalin fosfatase walaupun dalam kadar rendah.

5.2. Kadar alkalin fosfatase pada tiap waktu pengambilan darah

Tidak adanya interaksi pada analisis faktorial antara macam perlakuan (*loading, partial loading* dan *unloading*) dan jarak waktu pengambilan darah

hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pada kadar alkalin fosfatase darah menunjukkan bahwa, waktu pengambilan darah juga mempengaruhi untuk melihat kandungan kadar alkalin fosfatase dalam proses penyembuhan tulang.

Tingginya kadar alkalin fosfatase waktu pengambilan darah pada hari ke-15 pada seluruh perlakuan menunjukkan bahwa pada hari ke-15 diasumsikan telah masuk ke dalam fase *remodeling* pada tahap penyembuhan tulang. Fase ini terjadi akibat adanya resorpsi (penghancuran) tulang pada daerah tertentu dan peletakan tulang pada tempat yang lain. Resorpsi tulang berhubungan dengan aktifitas osteoklas (Lesson *et al.*,1996). Aktifitas osteoklas yang menyebabkan resorpsi tulang akan terhenti setelah osteoblastik stromal sel membentuk anti osteoklas (*Osteoprotegrin/OPG*). OPG merupakan anggota dari golongan *Tumor Nekrosis Faktor receptor (TNF receptor)* yang mencegah ikatan dengan OPG *ligand* seperti *Receptor Activator of NF-Kappa β Ligand (RANKL)*. OPG akan menutup reseptor aktifator dari nuklear factor (RANKL) pada sel stroma, dengan tertutupnya (RANKL) pada sel *stroma* akan mencegah reseptor aktifator nuklear dari osteoklas berikatan dengan RANKL pada stroma sehingga produksi osteoklas akan berkurang. RANKL adalah salah satu signal yang diperlukan untuk diferensiasi dan aktivasi preosteoklas menjadi osteoklas. RANK (*Receptor Activator of NF-Kappa β*) sendiri disekresikan oleh sel osteoblas dan osteoblas prekursor (Kalanjanti, 2005). RANK (*Receptor Activator of NF-kappa β*) adalah suatu reseptor yang berada pada permukaan sel-sel prekursor dari osteoklas yang berfungsi dalam deferensiasi dari sel-sel

osteoklas. Menurut (Zamurovic, 2005), proses tersebut diasumsikan pada hari ke-15 dari proses penyembuhan tulang bahwa osteoblastik stromal sel akan lebih banyak memproduksi osteoblas yang akan menghasilkan alkalin fosfatase.

Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa kadar alkalin fosfatase yang tertinggi dihasilkan oleh perlakuan *partial loading* pada hari ke-15 dibandingkan dengan perlakuan *loading* dan *unloading* pada hari yang sama, diyakini disebabkan adanya gerakan berulang pada bagian tulang yang mengalami fraktur dapat mempertahankan konsentrasi BMP. BMP akan merangsang sel-sel osteoprogenitor menjadi osteoblas dan osteosit pada masa *remodeling*. Proses *remodeling* yang terdiri dari resorpsi dan peletakan tulang pada tulang yang mengalami fraktur, proses *remodeling* ini akan terus berlangsung kurang lebih sekitar tiga sampai enam bulan. Resorpsi tulang berlangsung selama kurang lebih 3 minggu (Zamurovic, 2005). Hari ke-15 dalam proses penyembuhan tulang diasumsikan bahwa aktifitas osteoblas akan lebih berperan, yang salah satu perannya dalam pembentukan tulang adalah dengan mensekresikan alkalin fosfatase sehingga dapat diyakini pada hari ke-15 dalam proses penyembuhan tulang kadar alkalin fosfatase akan meningkat.

Rendahnya alkalin fosfatase sebelum hari ke-15 disebabkan karena sebelum hari ke-15 merupakan fase inflamasi dan fase reparasi dalam proses penyembuhan tulang. Fase inflamasi ditunjukkan dengan vasodilatasi vaskuler dan terjadinya migrasi sel-sel radang misalnya leukosit dan monosit sedangkan pada fase reparasi terjadi pergantian sel-sel nekrotik

(*Cruess and Buckwalter*, 1991). Setelah hari ke-15 pada masa penyembuhan tulang terlihat penurunan diasumsikan karena sudah terbenamnya sebagian osteoblas ke dalam lakuna tulang menjadi osteosit setelah mengalami mineralisasi oleh kalsium. Osteosit dalam lakuna tulang akan mensekresikan alkalin fosfatase dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan osteoblast (*Neuland et al.*, 2005).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar alkalin fosfatase dalam proses penyembuhan fraktur tulang jenis tidak stabil pada metacarpal domba jantan menggunakan perlakuan *partial loading* lebih tinggi dibanding perlakuan *unloading* dan *loading*. Pada jarak waktu pengambilan darah perlakuan *partial loading* juga menunjukkan tingginya kadar alkalin fosfatase terutama hari ke-15 pasca operasi dibandingkan dengan perlakuan *loading* dan *unloading*.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diajukan saran bahwa penanganan pada kasus fraktur tulang panjang jenis tidak stabil dapat dilakukan dengan sistem penanganan *partial loading*, namun diperlukan penelitian lebih lanjut dengan waktu lebih lama dengan parameter yang lebih kompleks seperti : *Bone Morphogenetic Protein* (BMP), osteoblas, osteoklas dan indikator lain sebagai bahan diagnostik dalam proses kesembuhan tulang, karena penelitian ini hanya menggunakan salah satu parameter dalam proses kesembuhan tulang yaitu alkalin fosfatase. Kompleksnya parameter yang digunakan dalam proses kesembuhan tulang akan lebih meyakinkan dalam diagnosa kesembuhan tulang.

RINGKASAN

RINGKASAN

Fraktur atau patah tulang merupakan salah satu kasus yang dapat dijumpai di klinik hewan maupun pada dokter hewan praktek. Salah satu pembagian jenis patah tulang adalah patah tulang sederhana (stabil) dan patah tulang komplit (tidak stabil). Patah tulang sederhana adalah patah tulang dimana kulit di atas tulang yang patah tidak rusak. Patah tulang komplit adalah patah tulang dimana tulang yang patah rusak keseluruhan secara melintang (Frandsen, 1996).

Sjarwani (2006), menyatakan bahwa patah tulang mempunyai waktu penyembuhan lebih lama, yaitu sekitar enam sampai sembilan bulan. Mengingat adanya insidensi kasus fraktur tulang panjang jenis tidak stabil, penulis mencoba menganalisis tentang salah satu cara penanganan pada kasus fraktur dengan membahas efek gerakan antara ujung fraktur yang terdapat pada sistem perlakuan *loading* (posisi berdiri/ menapak) dan *partial loading* (posisi berdiri satu jam dan menggantung satu jam) terhadap proliferasi osteoblas dibandingkan dengan sistem penanganan *unloading* (posisi menggantung) pada metacarpal domba.

Gerakan antara ujung tulang yang mengalami fraktur atau dapat mempertahankan konsentrasi *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dengan cara menjaga gerakan jaringan lunak misalnya dengan traksi (Frost, 1998).

Menurut Djojosoebagio (1990), enzim fosfatase bekerja pada substrat tertentu yang menyebabkan hasil dari $\text{Aca}^{++} \cdot \text{AHPO}_4$ meningkat yang berakibat terjadinya deposisi garam tersebut pada tulang. Enzim ini di dalam tulang menyebabkan meningkatnya konsentrasi fosfat dan karena hukum massa garam kalsium fosfatasepun akhirnya mengendap di dalam tulang tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui untuk mengetahui aktifitas alkalin fosfatase sebagai salah satu enzim yang terlibat pada pembentukan tulang dalam proses penyembuhan tulang yang mengalami fraktur jenis tidak stabil dengan sistem perlakuan *unloading*, *partial loading* dan *loading* metacarpal domba dan untuk mengetahui pada hari ke berapakah alkalin fosfatase mencapai kadar tertinggi.

Penelitian ini menggunakan 15 domba jantan dengan umur 8 bulan sebagai hewan coba yang difrakturasi pada umur 9 bulan dengan sistem fiksasi menggunakan *intramedullary pin* dan *slotted plate screw*. Domba-domba dibagi dalam 3 macam sistem perlakuan dan 4 waktu pengambilan darah (*bleeding*) secara acak. Perlakuan I adalah sistem penggantungan (*unloading*), perlakuan II adalah posisi berdiri selama satu jam dan menggantung selama satu jam (*partial loading*), perlakuan III adalah posisi berdiri (*loading*). Perlakuan diberikan 2 hari pasca operasi. waktu pengambilan darah adalah pada hari ke- (3,7,15 dan 30) pasca operasi. Darah diambil langsung melalui vena Jugularis untuk analisa alkalin fosfatase. Penelitian ini menggunakan percobaan faktorial dengan

Rancangan Acak Lengkap (RAL) atau *Univariate Analisis of Varian* (*Univariate ANOVA*). Data dianalisis menggunakan Analisis Ragam apabila ada perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan dan waktu pengambilan darah dilanjutkan dengan uji Tukey.

Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya interaksi antara macam perlakuan dan waktu pengambilan darah berarti hanya pengaruh utama (macam perlakuan dan waktu pengambilan darah) yang dapat mempengaruhi untuk melihat kadar alkalin fosfatase dalam darah. Kadar alkalin fosfatase tertinggi didapat pada perlakuan *partial loading* yang berbeda nyata dengan perlakuan *unloading* dan *loading* ($p < 0,05$). Kadar alkalin fosfatase tertinggi pada hari ke-15 pasca operasi untuk semua perlakuan. Pada hari ke-15 tersebut, kadar alkalin fosfatase tertinggi terdapat pada perlakuan *partial loading* ($p < 0,01$). Berdasarkan hasil penelitian ini, penanganan fraktur jenis tidak stabil dapat menggunakan perlakuan *parsial loading* namun disarankan untuk melakukan penelitian dengan parameter yang lebih kompleks seperti penentuan kadar BMP, banyaknya osteoblas dan osteoklas serta hal-hal lain yang bisa dijadikan indikator dalam proses penyembuhan tulang karena alkalin fosfatase hanya merupakan enzim yang terlibat dalam pembentukan matrik dan kalsifikasi pada tulang yang mengalami fraktur. Sehingga didapat suatu diagnosa yang lebih meyakinkan terhadap proses kesembuhan tulang.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Bijanti, R. M. G .A. Yuliani., S. Partosoewignjo., R. S. Wahjuni., , B. Utomo dan S. Budhy. 2002. Bahan Ajar Patologi Klinik Veteriner edisi pertama. Bagian Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Buckwalter, J. A and R. L. Cruess. 1991. Healing of The Musculoskeletal Tissues, in Rockwood and Green's Fractures in Adults. 3ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia.
- Dhamayanti, Y. 2004. Diktat Osteologi Appendikularis. Laboratorium Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Djojosoebagio, S. 1990. Fisiologi Kelenjar Endokrin. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati IPB Bogor. Pp. 162-163.
- Duncan, R.L and C. H. Turner. 1995. Mechanotransduction and The Functional Respon of Bone to Mechanical Strain Calcif Tissue Int: 344-358.
- Duncan, R. J., K. W. Prasse and E. A. Mahaffey. 1994. Clinical Phatology 3th edition. Veterinary Laboratory Medicine. IOWA University Press.
- Frandsen, R.D. 1996. Anatomi dan Fisiologi Ternak. Edisi keempat. Gajah Mada University Press.
- Frost. 1989. The Biologi of Fracture Healing part II. Clinical Orthopaedics and Related Research.
- Li, G. 2004. New Developments and Insight Learned from Distraction Osteogenesis. Current Opinion Orthopaedic. 15: 325-330.
- Greensink, R. G. T., E. A. Hoefnagles and S. K. Bulstra.1999. Osteogenic Activity of OP-1 Bone Morphogenetic Protein (BMP-7) in a Human Fibular Defect. J. Bone and Joint Surg. 81-B: 710-718.
- Jay, R. L. 1998. The Effect of Regional Gene Therapy with Bone Morphogenetic Protein-2-Producing Bone-Marrow Cells on The Repair of Segmental Femoral Defects in Rats. J. Bone and Joint Surg: 90-917.

- Junqueira, L. C. 1997. *Histologi Dasar*. Edisi VIII. EGC. Jakarta.
- Kalajanti, V. P. 2005. *Immunological Aspect on Bone Cell*. Departement of Anatomy and Histology Airlangga University School of Medicine Surabaya.
- Kaspar, D. 2000. Mechanical Stimulation on Cellular Level in Vitro. *J. Biomech.* 33: 45-51.
- Lesson, T. S., C. R. Lesson and A. A. Paparo. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Cetakan VI. EGC. Jakarta.
- Mitruka, B. J., H. M. Rawsley and M. R. Howard. 1998. *Clinical Biochemical and Hematologi Reference Values in Normal Exoexperimental Animal*. Second edition. Mason Publishing Co. Las Vegas.
- Murray, R. K., D. K. Ganner., P. A. Mayes and V. W. Rodwell. 2003. *Biokimia Herper* Cetakan I. EGC Jakarta.
- Neidinger, W. C. 2001. Cell Aligment is Induced by Cyclic Changes in Cell Length. *Studies of Cells Grown in Cyclically Stretched Substates. J. Orthop Res.* 19 : 286-293.
- Nulend, J. K., A. Vatsa., R. G. Bacabac., S. D Tan and T. H. Smith. 2005. The Role of Osteocyte in Bone Mechanotransduction. *Current Opinion in Orthopaedics.* 16: 316-324.
- Perren, S.M., and Cordey, J. 1991. Basic Aspets of Internal Fixation, in *Manual of Internal Fixation*, 3th Edition, Spinger Verlag. Berlin.
- Prijosepoetro, S. 2003. *Pengantar Anatomi Veteriner Edisi ke-3*. Bagian Laboratorium Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Robin, S. T dan V. Kumar. 2002. *Buku Ajar Patologi I*. ECG Jakarta.
- Rodan, G. A and J. T. Martin. 2000. Therapeutic Approaches to Bone Disease. *Science.* 289: 1508-1514.
- Rochiman, K. 1990. *Perancangan Percobaan Rancangan Acak Kelompok Rancangan Bujur Sangkar Latin Percobaan Faktorial*. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Schatzker. 1989. The Effect of Motion on The Healing of Cancellous Bone. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 245: 282-287.
- Sjarwani, A. 2006. Immediate Repetitive Axial Compression Tension Stabilization pada Percepatan Penyambungan Patah Tulang Panjang. Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Turner, C. D., dan J. T Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum Edisi VI*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Watson, J. D and B. Albert. 1994. Differentiated cells and the maintenance of tissues. *Molecular Biology of the Cell*, 3 edition, Garland Publishing Inc. New York.
- Willard, M. D., H. Tvedten and G. H. Turnwald. 1994. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 2nd Edition. W. B. Saunders Co. USA.
- Yudaniayanti, I. S. 2005. Aktifitas Alkalin Phosphatase pada Proses Kesembuhan Tulang Femur dengan Therapi $CaCO_3$ Dosis Tinggi Pada Tikus Jantan (*Sparague dawley*). *Media Kedokteran Hewan*. Surabaya. 21(2): 97-99.
- Zamurovic, N. 2005. Transcriptional Program of Osteoblast Diferentiation. Innaugural Dissertation. Der Universitat Basel. Basel.

LAMPIRAN

AL-AMIBY
XEROX

Lampiran 1. Metode pemeriksaan alkalin fosfatase dengan nitrophenyl phosphat

Pereaksi :

1. Larutan Buffer pH 10,3.
 2. Standart p-Nitrophenol 2mM.
 3. Larutan p-Nitrophenylphosphat 7,7 mM.
- Untuk dipakai larutkan dalam 5ml aquades.
Simpan pada 6°C atau simpan dalam keadaan beku.

Bahan : Serum

Absorbansi : 400 nm-405 nm.

Persiapan :

Substrat : Campur 1 volume larutan p-Nitrophenylphosphat 7,7M dengan 1 volume Buffer pH 10,3. Harus selalu baru, dibuat saat pemeriksaan akan dilakukan.

Cara Kerja :

Siapkan 3 tabung reaksi dan kerjakan sebagai berikut :

	Tes	Standar	Blank
Substrat, ml	0,5	-	0,5
Aquades, ml	-	0,5	-

Diinkubasikan pada 37°C selama 5 menit.

Serum	20 μ m	-	-
Standar	-	20 μ m	-
Aquades	-	-	20 μ m

Diinkubasikan selama tepat 30 menit pada 37°C.

NaOH 0,1N, ml	2,000	2,000	2,000
---------------	-------	-------	-------

Campur, baca dalam spektrofotometer, sebagai titik nol gunakan aquades.

Perhitungan :

$$\text{IU.ALP} = \text{Dtes} / \text{Dstandar} \times 66,7$$

Untuk diperhatikan :

1. Sebagai kontrol terhadap substrat, bila pembacaan terhadap blanko $>0,100$ gunakan p-nitrophenyl phosphat (3) baru.
2. Serum atau plasma memberi hasil yang sama.
3. Serum/ plasma dapat disimpan dalam lemari es, karena alkalin fosfatase sangat stabil.
4. Apabila hasilnya melebihi 150 IU pemeriksaan harus diulang dengan waktu inkubasi 10 menit hasilnya dikalikan 3.
5. Untuk serum yang sangat ikterik gunakan kontrol dan dikerjakan sama seperti tes hanya tidak perlu menggunakan substrat.

Pustaka : Richterich, R., and Karger, S. 1969. "Clin.Chem>" Theory and Practice. Academic Press, N.Y. London. 229-303.

Lampiran 2. Uji univariate ANOVA terhadap variabel alkalin fosfatase darah oleh perlakuan (*unloading*, *loading* dan *partial loading*) dan waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi.

Sidik Ragam Uji Univariate ANOVA terhadap Kadar Alkalin Fosfatase Darah pada Faktor Perlakuan (*loading*, *partial loading* dan *unloading*) dan Faktor Waktu Pengambilan Darah Hari ke- (3, 7, 15 dan 30).

Sumber	JK	db	KT	F	P
Faktor A	3453,763	2	1726,882	4,040	0,024
Faktor B	8033,858	3	2677,953	6,264	0,001
Faktor AB	1890,710	6	315,118	0,737	0,622
Galat	20519,864	48	427,497		
Total	426588,413	60			

Keterangan :

- Faktor A : Perlakuan (*loading*, *partial loading* dan *unloading*).
- Faktor B : Waktu pengambilan darah hari ke-(3, 7, 15 dan 30) pasca operasi.
- Faktor AB : Interaksi antara faktor perlakuan dengan faktor waktu pengambilan darah.

Lampiran 3. Hasil pengukuran kadar alkalin fosfatase darah pada pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU)

Perlakuan	Pengambilan darah hari ke...	Ulangan					Rataan dan simpangan baku
		1	2	3	4	5	
Loading	3	65.58	75.17	78.34	80.48	63.81	72.6760±7.55252
	7	70.89	68.65	59.89	78.81	44.15	64.4780±13.21176
	15	75.45	115.42	115.42	72.84	70.14	81.2080±19.21890
	30	84.02	75.73	77.57	65.30	78.34	76.1920±6.83080
Partial loading	3	68.46	78.35	97.72	67.07	41.92	70.7040±20.21810
	7	80.30	135.72	72.83	62.50	75.82	85.4340±28.86303
	15	135.72	141.22	108.24	112.99	78.25	115.2840±25.08338
	30	134.51	65.67	136.00	74.52	57.85	93.7100±38.38464
Unloading	3	53.93	64.18	71.17	70.89	63.71	64.7760±7.02480
	7	45.27	92.41	71.35	55.05	57.66	64.3480±18.24593
	15	83.37	92.32	126.87	116.81	72.10	98.2940±22.93453
	30	75.73	90.36	102.75	80.30	68.56	83.5400±13.33633

Lampiran 4. Rataan kadar alkalin fosfatase darah terhadap perlakuan (*unloading, loading dan partial loading*) dalam Internasional Unit (IU).

Case Summaries(a)

				Kadar Alkalin Fosfatase
Perlakuan	Unloading	1		53.93
		2		45.27
		3		83.37
		4		75.73
		5		64.18
		6		92.41
		7		92.32
		8		90.36
		9		71.17
		10		71.35
		11		126.87
		12		102.75
		13		70.89
		14		55.05
		15		116.81
		16		80.30
		17		63.71
		18		57.66
		19		72.10
		20		68.56
		Total	N	20
			Mean	77.7395
			Std. Deviation	20.97873
	Loading	1		65.58
		2		70.89
		3		75.45
		4		84.02
		5		75.17
		6		68.65
		7		115.42
		8		75.73
		9		78.34
		10		59.89

	11		72.19
	12		77.57
	13		80.48
	14		78.81
	15		72.84
	16		65.30
	17		63.81
	18		44.15
	19		70.14
	20		78.34
	Total	N	20
		Mean	73.6385
		Std. Deviation	13.24618
Partial loading	1		68.46
	2		80.30
	3		135.72
	4		134.51
	5		78.35
	6		135.72
	7		141.22
	8		65.67
	9		97.72
	10		72.83
	11		108.24
	12		136.00
	13		67.07
	14		62.50
	15		112.99
	16		74.52
	17		41.92
	18		75.82
	19		78.25
	20		57.85
	Total	N	20
		Mean	91.2830
		Std. Deviation	31.26780
Total	N		60
	Mean		80.8870
	Std. Deviation		23.89317

a Limited to first 100 cases.

Lampiran 5. Rataan kadar alkalin fosfatase darah terhadap waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi dalam Internasional Unit (IU).

Case Summaries(a)

			Kadar Alkalin Fosfatase
Pengambilan darah pada hari ke..	Hari ke-3	1	53.93
		2	64.18
		3	71.17
		4	70.89
		5	63.71
		6	65.58
		7	75.17
		8	78.34
		9	80.48
		10	63.81
		11	68.46
		12	78.35
		13	97.72

	14	67.07
	15	41.92
	Total	N
		15
		Mean
		69.3853
		Std. Deviation
		12.62001
Hari ke-7	1	45.27
	2	92.41
	3	71.35
	4	55.05
	5	57.66
	6	70.89
	7	68.65
	8	59.89
	9	78.81
	10	44.15
	11	80.30
	12	135.72

	13		72.83
	14		62.50
	15		75.82
	Total	N	15
		Mean	71.4200
		Std. Deviation	22.09580
Hari ke-17	1		83.37
	2		92.32
	3		126.87
	4		116.81
	5		72.10
	6		75.45
	7		115.42
	8		72.19
	9		72.84
	10		70.14
	11		135.72

	12		141.22
	13		108.24
	14		112.99
	15		78.25
	Total	N	15
		Mean	98.2620
		Std. Deviation	25.35615
Hari ke-30	1		75.73
	2		90.36
	3		102.75
	4		80.30
	5		68.56
	6		84.02
	7		75.73
	8		77.57
	9		65.30
	10		78.34

	11		134.51
	12		65.67
	13		136.00
	14		74.52
	15		57.85
	Total	N	15
		Mean	84.4807
		Std. Deviation	23.24624
Total	N		60
	Mean		80.8870
	Std. Deviation		23.89317

a Limited to first 100 cases

Lampiran 6. Uji Tukey dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap variabel alkalin fosfatase darah oleh perlakuan (*unloading, loading dan partial loading*).

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Alkalin Fosfatase
Tukey HSD

(I) PERL	(J) PERL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
UNLD	LD	4.1010	6.50521	.804	-11.6318	19.8338
	PAR	-13.5435	6.50521	.104	-29.2763	2.1893
LD	UNLD	-4.1010	6.50521	.804	-19.8338	11.6318
	PAR	-17.6445(*)	6.50521	.025	-33.3773	-1.9117
PAR	UNLD	13.5435	6.50521	.104	-2.1893	29.2763
	LD	17.6445(*)	6.50521	.025	1.9117	33.3773

Based on observed means.

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

Homogeneous Subsets

ALKP

Tukey HSD

PERL	N	Subset	
		1	2
LD	20	73.6385	
UNLD	20	77.7395	77.7395
PAR	20		91.2830
Sig.		.804	.104

b Alpha = .05.

Keterangan:

LD = Loading

PAR = Partial loading

UNLD = Unloading

Lampiran 7. Uji Tukey dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) terhadap variabel alkalin fosfatase darah oleh waktu pengambilan darah hari ke- (3, 7, 15 dan 30) pasca operasi.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Alkalin Fosfatase
Tukey HSD

(I) BLEED	(J) BLEED	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
BLD1	BLD2	-2.0347	7.51157	.993	-22.0258	17.9564
	BLD3	-28.8767(*)	7.51157	.002	-48.8678	-8.8856
	BLD4	-15.0953	7.51157	.199	-35.0864	4.8958
BLD2	BLD1	2.0347	7.51157	.993	-17.9564	22.0258
	BLD3	-26.8420(*)	7.51157	.004	-46.8331	-6.8509
	BLD4	-13.0607	7.51157	.315	-33.0518	6.9304
BLD3	BLD1	28.8767(*)	7.51157	.002	8.8856	48.8678
	BLD2	26.8420(*)	7.51157	.004	6.8509	46.8331
	BLD4	13.7813	7.51157	.270	-6.2098	33.7724
BLD4	BLD1	15.0953	7.51157	.199	-4.8958	35.0864
	BLD2	13.0607	7.51157	.315	-6.9304	33.0518
	BLD3	-13.7813	7.51157	.270	-33.7724	6.2098

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

Homogeneous Subsets

Tukey HSD

BLEED	N	Subset	
		1	2
BLD1	15	69.3853	
BLD2	15	71.4200	
BLD4	15	84.4807	84.4807
BLD3	15		98.2620
Sig.		.199	.270

b Alpha = .05.

Keterangan:

- BLD 1 = Pengambilan darah pada hari ke - 3
 BLD 2 = Pengambilan darah pada hari ke - 7
 BLD 3 = Pengambilan darah pada hari ke - 15
 BLD 4 = Pengambilan darah pada hari ke - 30