



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131
Telepon 031-5020251, 031-5030253, Fax 031-5022472
Website : <http://www.fk.unair.ac.id>, Email : dekan@fk.unair.ac.id

SALINAN

**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
NOMOR 497/UN3.1.1/HK.04/2020**

TENTANG

**PENGANGKATAN PROMOTOR DAN KO-PROMOTOR
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN TAHUN 2020**

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,

- Menimbang :
- a. bahwa untuk mendukung kelancaran proses belajar mengajar pada Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran di Fakultas Kedokteran, maka perlu mengangkat Promotor dan Ko-Promotor di Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Tahun 2020;
 - b. bahwa nama-nama yang tercantum dalam lampiran keputusan ini dinyatakan telah memenuhi syarat dan bersedia untuk diangkat sebagai Promotor dan ko-Promotor di Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Tahun 2020;
 - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran tentang Pengangkatan Promotor dan Ko-Promotor Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Tahun 2020.
- Mengingat :
1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
 2. Undang-Undang Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4586);
 3. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
 4. Undang-Undang Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 06, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5494);

5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga Di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 *juncto* Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
8. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 27 Tahun 2018 tentang Peraturan Pendidikan Universitas Airlangga;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 21 Tahun 2014 tentang Pedoman Pendidikan Program Doktor (S3) Universitas Airlangga;
10. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 28 Tahun 2017 tentang Pedoman Pendidikan Program Doktor (S3) Universitas Airlangga;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1947/H3/KR/2011 tentang Penetapan Ruang Lingkup Program Studi dalam Kategori Monodisiplin, Interdisiplin dan Multidisiplin untuk Pengelolaan Program Magister dan Program Doktor;
12. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 762/UN3/2020 tentang Pengangkatan Dekan Fakultas, Direktur Sekolah Pascasarjana, dan Direktur Rumah Sakit Periode 2020-2025.

MEMUTUSKAN:

- Menetapkan : **KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN TENTANG PENGANGKATAN PROMOTOR DAN KO-PROMOTOR PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN TAHUN 2020.**
- PERTAMA : Mengangkat Promotor dan Ko-Promotor Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Tahun 2020, dengan susunan nama sebagaimana tercantum dalam lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari keputusan ini.
- KEDUA : Dalam menjalankan tugasnya sebagaimana dimaksud dalam bunyi penetapan PERTAMA, berpedoman pada peraturan dan ketentuan yang berlaku serta mempertanggungjawabkan tugasnya kepada Dekan Fakultas Kedokteran.

KETIGA: ...

- KETIGA : Biaya untuk keperluan tersebut dibebankan dari dana Rencana Kerja dan Anggaran Tahunan (RKAT) tahun berjalan pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- KEEMPAT : Keputusan ini mulai berlaku pada tahun 2020 dan berakhir setelah mahasiswa tersebut dinyatakan Lulus.

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 31 Desember 2020

DEKAN,

ttd

BUDI SANTOSO

NIP 196302171989111001



Salinan sesuai dengan aslinya
Kepala Bagian Tata Usaha,

Basani
NIP 196581021987011001

SALINAN disampaikan Yth.

1. Rektor Universitas Airlangga
2. KPS S3 Ilmu Kedokteran
3. Yang bersangkutan

**KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
 NOMOR : 497/UN3.1.1/HK.04/2020 TANGGAL, 31 DESEMBER 2020
 TENTANG : PENGANGKATAN PROMOTOR DAN KO-PROMOTOR PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
 FAKULTAS KEDOKTERAN TAHUN 2020.**

NO	PROMOTOR	KO-PROMOTOR	MAHASISWA
Angkatan Tahun 2014-2015			
1.	Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Sc., Sp.PD-KEMD., FINASIM	Dr. Soebagjo Adi Soelistijo, dr, Sp.PD-KEMD.FINASIM	Jongky Hendro Prayitno, dr., Sp.PD-KEMD
2.	Prof. Dr. Usman Hadi, dr.,Sp.PD.,K.PTI	Dr. Soebagjo Adi Soelistijo, dr, Sp.PD-KEMD.FINASIM	Novira Widajanti,dr., Sp.PD, K-Ger
3.	Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., M.Sc., Sp.PD., K-R,FINASIM	Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K)	Lita Diah Rahmawati,dr., Sp.PD-KR
4.	Prof. Dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, dr., Sp.KK(K)	Dr. Gatot Soegiarto, dr, Sp.PD.K-AI, FINASIM	Deasy Fetarayani, dr., Sp.PD, K-AI
Angkatan Tahun 2015-2016			
5.	Dr. Margarita Maria Maramis, dr. Sp.KJ(K),FISCM	Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes	Sri Astutik Andayani , S.Kep.NS., M.Kes
Angkatan Tahun 2016-2017			
6.	Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs.,M.Si	Dr. Muhtarum Yusuf, dr., Sp.THT-KL(K)	Etty Hary Kusumastuti, dr., Sp.PA(K)
Angkatan Tahun 2017-2018			
7.	Prof. Dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, dr., Sp.KK(K)	1. Dr. M. Yulianto Listiawan,dr., Sp.KK(K) 2. Prof. Dr. H. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K)	Trisniartami Setyaningrum, dr., Sp.KK(K)

8.	Prof. Dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, dr., Sp.KK(K)	1. Dr. Anang Endaryanto, dr., Sp.A(K) 2. Dr. M. Yulianto Listiawan, dr., Sp.KK(K)	Linda Astari, dr., Sp.KK
Angkatan Tahun 2018-2019			
9.	Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT(K)	1. Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT(K) 2. Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)	Sholahuddin Rhatomy, dr., Sp.OT(K)
10.	Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT(K)	1. Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)	R. Andhi Prijosedjati, dr., Sp.OT(K)Spine
11.	Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT(K)	1. Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT(K) 2. Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)	Tito Sumarwoto, dr, M.Kes., Sp.OT(K)
12.	Dr. Ferdiansyah, dr., Sp.OT(K)	1. Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT(K) 2. Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)	Romaniyanto, dr., SpOT (K) Spine
13.	Prof. Dr. H. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K)	Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si	Linda Margrethe Mamengko, dr., Sp.OG(K)
14.	Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., Sp.P(K)	Dr. Yulistiani, Dra., Apt., M.Si	Adyan Donastin, dr., Sp.P
15.	Prof. Dr. H. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K)	Dr. Aty Widyawaruyanti, M.Si., Apt	Jansen Loudwik Lalandos, dr., Sp.OG
16.	Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS., Sp.PK(K)	Dr. Agus Turchan, dr., Sp.BS	Olivia Mahardani Adam, dr., Sp.S

Angkatan Tahun 2018-2019 RPL			
17.	Prof. Sri Herawati Juniati, dr., Sp.THT-KL(K)	1. Dr. Muhtarum Yusuf, dr., Sp.THT-KL(K) 2. Prof. Indah S. Tantular, dr., M.Kes., PhD., Sp.Par(K) Prof. Indah S. Tantular, dr., M.Kes., PhD., Sp.Par(K)	Rizka Fathoni Perdana, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS
18.	Prof. Dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, dr., Sp.KK(K)		Dwi Murtiastutik, dr., Sp.KK(K)
19.	Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., MS., Sp.MK(K)	1. Dr. Johannes Nugroho Eko P, dr., Sp.JP(K) 2. Dr. Budi Suprapti, M.Si, Apt	Tutik Kusmiati, dr., Sp.P(K), FAPSR
20.	Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A(K), Sp.JP.FIHA	Dr. Anang Endaryanto, dr., Sp.A(K)	Neurinda Permata Kusumastuti, dr., Sp.A(K)
21.	Prof. Dr. Irwanto, dr.,Sp.A(K)	Dr. Margarita Maria Maramis, dr. Sp.KJ(K), FISCAM	Azwin Mengindra Putera, dr., Sp.A
Angkatan Tahun 2019-2020 Gasal			
22.	Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K)	Prof. Dr. I Dewa Gede Ugrasena, dr., Sp.A(K)	Betty Agustina Tambunan, dr., Sp.PK
23.	Prof. Dr. I Dewa Gede Ugrasena, dr., Sp.A(K)	Dr. Risa Etika, dr., Sp.A(K)	Dina Angelika, dr., Sp.A
24.	Prof. Dr. Cita Rosita Sigit Prakoeswa, dr., Sp.KK(K)	Dr. M. Yulianto Listiawan, dr., Sp.KK(K)	Putri Hendria Wardhani, dr., Sp.KK
25.	Prof. Dr. Usman Hadi, dr.,Sp.PD.,K.PTI	Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.Par(K)	Insani Budiningsih, dr., M.Imun
26.	Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., Sp.MK(K)	Dr. Wiwick Tyasningsih, drh., M.Kes	Tessa Sjahriani, dr., M.Kes

27.	Prof. Dr. David S. Perdanakusuma, dr., Sp.BP-RE(K)	1. Dr. Iswinarno Doso Saputro, dr., Sp.BP-RE(K) 2. Dr. Ir. Misnawi	Ulfa Elfiyah, dr., Sp.BP-RE(K)
28.	Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K)	Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si	Gilang Nugraha, S.Si., M.Si
29.	Muhammad Miftahussurur, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.PD	Prof. Maria Lucia Inge Lusida, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.MK(K)	Yudith Annisa Ayu Rezkitha, dr., Sp.PD
Angkatan Tahun 2019-2020 Genap			
30.	Prof. Djoko Santoso, dr., Ph.D., Sp.PD, K-GH., FINASIM	Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)	Kukuh Dwiputra Hernugrahanto, dr., Sp.OT
31.	Dr. Roedi Irawan, dr., M.Kes., Sp.A(K)	Prof. Dr. I Dewa Gede Ugrasena, dr., Sp.A(K)	Meta Herdiana Hanindita, dr., Sp.A(K)
32.	Muhammad Miftahussurur, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.PD	Prof. Dr. Kuntaman, dr., MS., Sp.MK(K)	Titong Sugihartono, dr., Sp.PD, K-GEH, FINASIM
Angkatan Tahun 2020-2021 Gasal			
33.	Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)	Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT(K)	I Nyoman Semita, dr., Sp.OT(K)Spine

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 31 Desember 2020

DEKAN,

ttd

BUDI SANTOSO
NIP 196302171989111001



DISERTASI

**AUGMENTASI REGENERASI SARAF TEPI DENGAN
MEMBRAN AMNION SEBAGAI *CONDUIT* YANG *DISEEDING*
SCHWANN-LIKE CELLS ALOGENIK TERKONDISI HIPOKSIA DAN
SEKRETOMNYA PADA CEDERA TAJAM AKUT SARAF TEPI**



TITO SUMARWOTO

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

SURABAYA

2023

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

**AUGMENTASI REGENERASI SARAF TEPI DENGAN
MEMBRAN AMNION SEBAGAI *CONDUIT* YANG *DISEEDING*
SCHWANN-LIKE CELLS ALOGENIK TERKONDISI HIPOKSIA DAN
SEKRETOMNYA PADA CEDERA TAJAM AKUT SARAF TEPI**

YANG TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 2 AGUSTUS 2023

Oleh

Promotor

Prof. Dr. Ferdiansyah Mahyudin, dr., SpOT (K)
NIP. 19640212 198911 1 001

Kopromotor I

Dr. Heri Suroto, dr., SpOT (K), MARS
NIP. 19630617 198902 1 005

Kopromotor II

Prof. Dr. Dwikora N. Utomo, dr., SpOT(K)
NIP. 196411151990031010

Mengetahui

KPS Doktor Ilmu Kedokteran

Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp. OG., Subsp. F.E.R.
NIP. 196108172016016101

**AUGMENTASI REGENERASI SARAF TEPI DENGAN
MEMBRAN AMNION SEBAGAI *CONDUIT* YANG *DISEEDING*
SCHWANN-LIKE CELLS ALOGENIK TERKONDISI HIPOKSIA DAN
SEKRETOMNYA PADA CEDERA TAJAM AKUT SARAF TEPI**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan
Dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Akhir Tahap 2 (Terbuka)

Hari : Rabu
Tanggal : 2 Agustus 2023
Pukul : 10.00 WIB

Oleh :

TITO SUMARWOTO

011817017305

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2023**

RINGKASAN

AUGMENTASI REGENERASI SARAF TEPI DENGAN MEMBRAN AMNION SEBAGAI *CONDUIT* YANG *DISEEDING* *SCHWANN-LIKE CELLS* ALOGENIK TERKONDISI HIPOKSIA DAN SEKRETOMNYA PADA CEDERA TAJAM AKUT SARAF TEPI

Cedera tajam akut saraf tepi akibat trauma adalah cedera tajam bersifat akut saraf tepi utama pada sisi distal akar saraf. Penyambungan saraf dengan penjahitan mikro epineural merupakan standar emas penatalaksanaan pembedahan untuk cedera akut saraf tepi yang mengharuskan tercapainya koaptasi bebas tegangan, disertai pencocokan fasikular antara fragmen saraf proksimal dan distal yang berasal dari kedua ujung fasikular saraf serta kedua permukaan pola pembuluh darah epineural. Teknik ini tidak selalu memberikan perbaikan regenerasi saraf dan pemulihan fungsional yang memuaskan, meski dikerjakan secara teliti dan akurat serta berorientasi pada anatomi fasikuler tanpa adanya ketegangan penjahitan. Hal ini akibat adanya proses peradangan jahitan, timbulnya jaringan parut intra dan ekstra neural, keluarnya akson dan faktor neurotropik ke dalam jaringan sekitarnya, serta adanya regenerasi aksonal yang salah arah dan sangat lambat.

Sejumlah faktor pertumbuhan dan neurotofik dilepaskan secara besar-besaran dari ujung saraf tepi yang mengalami cedera, akan meningkatkan pertumbuhan aksonal dan regenerasi saraf tepi serta mengurangi terjadinya jaringan parut, sehingga pengetahuan ini mengarahkan penggunaan faktor pertumbuhan dan neurotropik pada cedera saraf tepi.

Transplantasi sel merupakan salah satu terapi sel dan strategi rekayasa jaringan ditujukan untuk menciptakan lingkungan mikro yang menguntungkan bagi regenerasi jaringan. Namun ada keterbatasan penggunaan sel punca dari sel Schwann yang sebenarnya sehingga hal ini menyebabkan sel tersebut sulit digunakan untuk aplikasi klinis.

Untuk itulah diperlukan sel pengganti dan sel punca mesenkimal yang berasal dari jaringan adiposa (AdMSCs) telah diidentifikasi sebagai sumber sel punca multipoten, memiliki sifat immunosupresif dan immunogenisitas yang rendah,

sehingga dapat digunakan dalam terapi regeneratif, serta dapat diterapkan untuk menginduksi toleransi cangkok atau mencegah autoimunitas.

Sel-sel ini memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi garis keturunan glial (*glial lineage*), sehingga sel-sel tersebut merupakan kandidat potensial yang baik digunakan sebagai alternatif bagi sel Schwann dalam proses regenerasi saraf tepi. Sel-sel punca turunan adiposa tikus yang berdiferensiasi menjadi sel mirip sel Schwann (*Schwann-like cell-differentiated Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells/Schwann-like cells/dAdMSCs/SLCs*) mengekspresikan sejumlah protein sel Schwann, mampu mempromosikan neurit *outgrowth in vitro* dan meningkatkan regenerasi *in vivo*. Sifat regeneratif sel-sel ini dikaitkan dengan sekresi faktor neurotropik, kemampuan merekrut sel Schwann induk untuk membantu proses regeneratif, kontribusi langsung dalam pembentukan myelin dan kemampuan untuk meningkatkan kelangsungan hidup neuron sensorik dan motorik.

Peningkatan potensi terapeutik dari sel-sel punca mesenkimal turunan adiposa guna meningkatkan kelangsungan hidup (*survival*), penanaman (*grafting*), dan fungsi sel-sel punca mesenkimal yang diimplantasikan, dapat dilakukan dengan cara mengkondisikan sel-sel sebelum implantasi. Implantasi sel punca mesenkimal ke dalam lingkungan yang kekurangan nutrisi dan kekurangan oksigen, seperti pada jaringan resipien, menyebabkan kelangsungan hidup sel yang sangat rendah. Dengan prekondisi hipoksia menunjukkan secara komprehensif peningkatan ekspresi gen regeneratif dalam terapi sel punca.

Beberapa faktor pertumbuhan dan neurotrofik ini dapat bersifat parakrin yang disebut sebagai sekretom dan merupakan modulator neurotropik untuk regenerasi saraf tepi. Efek terapi berupa efek angiogenesis, anti-inflamasi dan anti apoptosis sebagian besar lebih banyak dilakukan oleh aksi-aksi trofik dari sitokin dan faktor pertumbuhan yang disekresi oleh sel-sel punca mesenkimal turunan adiposa.

Tujuan penelitian ini adalah membuktikan terjadinya augmentasi regenerasi saraf tepi dengan pemberian *Schwann-like cells* (SLCs) alogenik terkondisi hipoksia dan sekretomnya setelah dilakukannya reinervasi saraf tepi pada cedera tajam akut saraf tepi.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, jenis kelamin jantan, usia 3 – 4 bulan, berat 200-300 gram, dengan rancangan penelitian adalah *Factorial Design 3x2*, terbagi dalam tiga kelompok. Kelompok pertama : kelompok denervasi – reinervasi (*suture*) dan membran amnion pada daerah reinervasi saraf; kelompok kedua : kelompok denervasi + reinervasi (*suture*) + membran amnion + *Schwann-like cells* alogenik terkondisi hipoksia; dan kelompok ketiga : denervasi + reinervasi (*suture*) + membran amnion + sekretom dari *Schwann-like cells* alogenik terkondisi hipoksia.

Hewan coba dievaluasi setelah 3 minggu dan 6 minggu, sehingga total terdapat 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdapat 6 ekor hewan coba.

Isolasi sel punca mesenkimal turunan adiposa dimulai dengan pembuatan fraksi vaskuler stromal (*stromal vascular fraction/SVF*) yang berasal dari jaringan adiposa hewan coba tikus putih jantan *Rattus norvegicus* strain *Wistar*, menggunakan protokol dari Zuk dan Gimble. Kultur primer AdMSCs menunjukkan marker negatif CD14 dan CD45, namun menunjukkan marker positif untuk CD90 dan CD105 dengan pewarnaan imunofluoresensi. Kemudian pembuatan *Schwann-like cells* dilakukan dengan menggunakan protokol dari Kingham dengan pemberian *Platelet Rich Plasma* (PRP) 10%, yang secara fenotip dapat dibuktikan dengan pemeriksaan penanda dari sel Schwann melalui pemeriksaan imunositokimia yaitu pemeriksaan ekspresi protein GFAP, Tubulin III, dan S100. *Schwann-like cells* yang didapat kemudian dilakukan prekondisi hipoksia dengan konsentrasi oksigen 1%, 3%, dan 5%. Selanjutnya *Schwann-like cells* dibandingkan dengan Sel Schwann yang berasal dari jaringan saraf tepi/nervus ischiadikus (*Rat Sciatic Nerve-derived Stem Cells/SCs*) hewan coba tikus putih jantan melalui pemeriksaan Elisa kadar enam faktor pertumbuhan yang banyak dijumpai dalam proses regenerasi saraf tepi yaitu BDNF, GDNF, TGF- β , bFGF, NGF, dan VEGF. Didapatkan bahwa kadar oksigen 1% memberikan konsentrasi faktor pertumbuhan tertinggi yang terbanyak dari sel dan sekretom SLCs dan SCs. Sehingga SLCs dengan kondisi hipoksia 1% beserta sekretomnya digunakan untuk penelitian selanjutnya. Hasil statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

($p > 0,05$) diantara kedua kelompok (SLCs dan SCs) pada kadar keenam faktor pertumbuhan untuk semua konsentrasi oksigen (normoksia 21% dan hipoksia 5%, 3%, 1%), sehingga SLCs bisa digunakan sebagai pengganti SCs yang banyak memberikan morbiditas dari donor.

Setelah dilakukan pembagian kelompok hewan coba maka dilakukan perlakuan pembedahan hewan coba pada nervus ischiadikus kanan yang diekspos melalui insisi kulit dan dibedah dengan hati-hati melalui pendekatan *splitting* otot gluteal.

Evaluasi meliputi pemeriksaan *Walking tract analysis* bertujuan melakukan analisis jalur berjalan sebelum dilakukan perlakuan dan setelahnya masing-masing pada minggu I hingga minggu VI yang kemudian dianalisis dengan rumus *sciatic function index* (SFI); pemeriksaan Elisa untuk mengukur kadar TGF- β , VEGF; pemeriksaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi HIF-1 α , NCAM, dan α -SMA; pemeriksaan mRNA ekspresi protein NeuN untuk menentukan kepadatan aksonal saraf tepi, ekspresi protein CD31 untuk menentukan jumlah pembuluh darah kapiler, ekspresi α -SMA, ekspresi NCAM; serta pemeriksaan histopatologi. Data dianalisis secara deskriptif berupa *mean* dan simpangan baku serta disajikan dalam bentuk tabel dan *box plot*, analisis inferensial dengan uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk, uji homogenitas dengan uji Levene, analisis komparasi dengan uji One Way ANOVA, uji Brown-Forsythe dan uji Kruskal Wallis; serta uji *independent t-test* dan uji Mann-Whitney. Analisis jalur untuk melihat pengaruh masing-masing variabel terhadap variabel yang lainnya; semua pengujian statistik tersebut menggunakan tingkat kepercayaan (α) = 0,05.

Karakteristik yang didapatkan pada penelitian ini adalah didapatkan perbedaan hasil *walking tract analysis*, kadar rata-rata TGF- β , kadar rata-rata VEGF, ekspresi HIF-1 α , ekspresi α -SMA, ekspresi NCAM, ekspresi NeuN, dan ekspresi CD31 pada ketiga jenis kelompok hewan coba. Terjadi peningkatan pada hasil *walking tract analysis*, peningkatan kadar rata-rata TGF- β , kadar rata-rata VEGF, ekspresi HIF-1 α , ekspresi NCAM, ekspresi NeuN, ekspresi CD31; sedangkan penurunan terjadi pada ekspresi α -SMA.

Terdapat perbedaan yang signifikan kadar rata-rata TGF- β , NCAM, NeuN, CD31 pada ketiga kelompok pada minggu III dan minggu VI, dan juga terdapat peningkatan kadar rata-rata yang signifikan antara minggu III dan VI pada ketiga kelompok, sementara terdapat perbedaan yang tidak signifikan kadar rata-rata VEGF. Sedangkan penurunan yang terjadi pada ekspresi α -SMA bersifat signifikan.

Uji analisis jalur untuk mengetahui hubungan kausalitas antar variabel yang diteliti, menggunakan uji regresi linear dengan model analisis jalur berdasarkan teori yang mendasari. Hasil analisis jalur meliputi pemberian SLCs atau sekretomnya terhadap kadar TGF- β , α -SMA, NCAM, NeuN, dan CD31, serta *Sciatic Functional Index* (SFI). Dari hasil analisis jalur didapatkan bahwasanya yang paling kuat memberikan perbaikan fungsi motorik adalah jalur SLCs melalui NeuN dan SFI pada waktu 6 minggu, sedangkan jalur penghambatan α -SMA untuk mendapatkan perbaikan fungsi motorik adalah jalur SLCs melalui α -SMA dan SFI pada waktu 6 minggu.

Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat augmentasi regenerasi saraf tepi dengan pemberian *Schwann-like cells* alogenik terkonkisi hipoksia dan sekretomnya pada cedera tajam akut saraf tepi yang dapat dibuktikan dengan adanya perbaikan fungsi motorik, peningkatan kadar rata-rata TGF- β , peningkatan kadar rata-rata VEGF, peningkatan ekspresi HIF-1 α , penurunan ekspresi α -SMA, peningkatan ekspresi NCAM, peningkatan kepadatan aksonal saraf tepi melalui ekspresi protein NeuN, dan peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler melalui ekspresi CD31.

SUMMARY

**AUGMENTATION OF PERIPHERAL NERVE REGENERATION
USING AMNIOTIC MEMBRANE AS CONDUIT SEEDED BY
HYPOXIC CONDITION ALOGENIC SCHWANN-LIKE CELLS AND
ITS SECRETOME IN ACUTE SHARP PERIPHERAL NERVE INJURY**

Traumatic acute sharp peripheral nerve injury is an acute sharp injury to the main peripheral nerve distal to the nerve root. Nerve coaptation with epineural micro sutures is the gold standard of surgical management for acute peripheral nerve injuries requiring the achievement of tension-free coaptation, accompanied by fascicular matching between the proximal and distal nerve fragments originating from both nerve fascicular endings and both surface epineural vascular patterns. This technique does not always provide satisfactory improvement of nerve regeneration and functional recovery, even though it is performed carefully and accurately and is oriented to the fascicular anatomy without any suture tension. This is due to the inflammatory process of the suture, the emergence of intra and extra neural scar tissue, the release of axons and neurotrophic factors into the surrounding tissue, as well as the presence of misdirected and very slow axonal regeneration.

A number of growth and neurotrophic factors are released in large quantities from injured peripheral nerve endings, which will enhance axonal growth and peripheral nerve regeneration and reduce the occurrence of scar tissue, so this knowledge guides the use of growth and neurotrophic factors in peripheral nerve injuries.

Cell transplantation is one of the cell therapy and tissue engineering strategies aimed at creating a favorable microenvironment for tissue regeneration. However, there are limitations using stem cells derived from true Schwann cells, which makes them difficult to use for clinical applications.

For this reason, the alternative cells are needed and mesenchymal stem cells derived from adipose tissue (AdMSCs) have been identified as a source of multipotent stem cells, possessing immunosuppressive properties and low

immunogenicity, so they can be used in regenerative therapy, and can be applied to induce graft tolerance or prevent autoimmunity.

These cells have the ability to differentiate into glial lineages, so they are good potential candidates to be used as an alternative to Schwann cells in the peripheral nerve regeneration process. Rat adipose stem cells that differentiate into Schwann-like cell-differentiated adipose-derived Mesenchymal Stem Cells / Schwann-like cells (dAdMSCs/SLCs) express a number of Schwann cell proteins, capable of promoting neurite outgrowth in vitro and enhancing regeneration in vivo. The regenerative properties of these cells are associated with the secretion of neurotrophic factor, the ability to recruit Schwann stem cells to aid in regenerative processes, a direct contribution in myelin formation and the ability to enhance the survival of sensory and motor neurons.

Increasing the therapeutic potential of adipose-derived mesenchymal stem cells to enhance the survival, grafting, and function of the implanted mesenchymal stem cells, can be managed by conditioning the cells prior to implantation. Implantation of mesenchymal stem cells into nutrient-starved and low-oxygen environments, such as in recipient tissue, results in very minimum cell survival. With hypoxic preconditioning showed a comprehensive increase in regenerative gene expression in stem cell therapy.

Some of these growth and neurotrophic factors can be paracrine effect named secretome and are neurotropic modulators for peripheral nerve regeneration. The therapeutic effects in the form of angiogenic, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects are largely due to the trophic actions of cytokines and growth factors secreted by adipose-derived mesenchymal stem cells.

The purpose of this study was to prove the occurrence of augmentation of peripheral nerve regeneration by administering hypoxia-conditioned allogeneic Schwann-like cells (SLCs) and their secretome following peripheral nerve reinnervation in acute sharp injury of peripheral nerves.

This was a laboratory experiment research on white rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain, male, 3-4 months old, 200-300 gram weight, with a 3x2 Factorial Design study, divided into three groups. First group: denervation – reinnervation

(suture) and amniotic membrane group in the area of nerve reinnervation; second group: denervation + reinnervation (suture) + amniotic membrane + hypoxic conditioned allogeneic Schwann-like cells; and the third group: denervation + reinnervation (suture) + amniotic membrane + secretome from hypoxic conditioned allogeneic Schwann-like cells.

Experimental animals were evaluated after 3 weeks and 6 weeks, so there were a total of 6 groups and each group had 6 experimental animals.

Isolation of adipose-derived mesenchymal stem cells began with the preparation of a stromal vascular fraction (SVF) derived from adipose tissue of male rat (*Rattus norvegicus*) Wistar strain, using the protocol of Zuk and Gimble. AdMSCs primary culture showed negative markers for CD14 and CD45, but showed positive markers for CD90 and CD105 by immunofluorescence staining. Then the Schwann-like cells derivation was carried out using the protocol from Kingham by administering 10% Platelet Rich Plasma (PRP), which phenotypically could be proven by examining markers from Schwann cells through immunocytochemical examination, namely examining the expression of GFAP, Tubulin III, and S100 proteins.

The Schwann-like cells obtained were then subjected to hypoxic preconditioning with oxygen concentrations of 1%, 3%, and 5%. Furthermore, Schwann-like cells were compared with Schwann cells derived from sciatic nerve tissue (Rat Sciatic Nerve-derived Stem Cells / SCs) of male white rats through Elisa examination for the levels of six growth factors which are often found in the process of peripheral nerve regeneration, namely BDNF, GDNF, TGF- β , bFGF, NGF, and VEGF. It was found that 1% oxygen content provided the highest concentration of growth factors in the cells and secretome of SLCs and SCs. So that SLCs with 1% hypoxic conditions and their secretome are used for further research. Statistical results showed that there was no significant difference ($p > 0.05$) between the two groups (SLCs and SCs) in the levels of the six growth factors for all oxygen concentrations (normoxia 21% and hypoxia 5%, 3%, 1%), so that SLCs can be used as a substitute for SCs which cause a lot of donor morbidity.

After dividing the experimental animal groups, surgical treatment of the experimental animals was carried out on the right sciatic nerve which was exposed through a skin incision and carefully dissected using a gluteal muscle splitting approach.

The evaluation included walking tract analysis examination aims to analyze the walking path before treatment and after each week I to week VI which is then analyzed using the sciatic function index (SFI) formula; Elisa examination to measure levels of TGF- β , and VEGF; immunohistochemical examination to see the expression of HIF-1 α , NCAM, and α -SMA; mRNA examination of NeuN protein expression to determine peripheral nerve axonal density, CD31 protein expression to determine the number of capillary blood vessels, α -SMA expression, NCAM expression; and histopathology examination.

Data were analyzed descriptively in the form of mean and standard deviation, presented in the form of tables and box plots, inferential analysis with the normality test using the Shapiro Wilk test, homogen test using Levene test, comparative analysis using One Way ANOVA test, Brown-Forsythe test and Kruskal Wallis test; as well as independent t-test and Mann-Whitney test. Path analysis to see the effect of each variable on other variables; all of these statistical tests use the level of confidence (α) = 0.05.

The characteristics obtained in this study were differences in the results of walking tract analysis, average levels of TGF- β , average levels of VEGF, HIF-1 α expression, α -SMA expression, NCAM expression, NeuN expression, and CD31 expression in the three type of experimental animal group. There was an increase in the results of walking tract analysis, an increase in the average TGF- β level, the average level of VEGF, HIF-1 α expression, NCAM expression, NeuN expression, CD31 expression; whereas a decrease occurred in the expression of α -SMA.

There were significant differences in the average levels of TGF- β , NCAM, NeuN, CD31 in the three groups at week III and week VI, and there was also a significant increase in average levels between weeks III and VI in the three groups, while there were not significant differences in average VEGF levels. Meanwhile, the decrease in α -SMA expression was significant.

Path analysis test to determine the causal relationship between the variables studied, using a linear regression test with a path analysis model based on the underlying theory. The results of pathway analysis included administering SLCs and their secretomes to levels of TGF- β , α -SMA, NCAM, NeuN, and CD31, as well as Sciatic Functional Index (SFI). From the results of the pathway analysis, it was found that the most powerful pathway for improving motor function was the SLCs pathway through NeuN and SFI at 6 weeks, while the α -SMA inhibitory pathway for improving motor function was the SLCs pathway via α -SMA and SFI at 6 weeks.

This study concluded that there is augmentation of peripheral nerve regeneration by administering hypoxic conditioned allogeneic Schwann-like cells and their secretome in acute sharp peripheral nerve injury as evidenced by improving motor function, increasing in the average TGF- β level, increasing in the average level VEGF, increasing in HIF-1 α expression, decreasing α -SMA expression, increasing NCAM expression, increasing peripheral nerve axonal density through NeuN protein expression, and increasing capillary blood vessels through CD31 expression.

ABSTRAK

AUGMENTASI REGENERASI SARAF TEPI DENGAN MEMBRAN AMNION SEBAGAI *CONDUIT* YANG *DISEEDING* *SCHWANN-LIKE CELLS* ALOGENIK TERKONDISI HIPOKSIA DAN SEKRETOMNYA PADA CEDERA TAJAM AKUT SARAF TEPI

TITO SUMARWOTO

Latar Belakang

Cedera tajam akut saraf tepi memerlukan penyambungan saraf dengan penjahitan mikro epineural.

Penggunaan sel punca prediferensiasi menjadi fenotipe yang diinginkan secara *in vitro* melalui induksi kimia, terkondisi hipoksia sebelum ditransplantasikan, dan sekretomnya berpotensi meningkatkan proses regenerasi pada jaringan saraf tepi yang mengalami cedera tajam akut.

Tujuan

Membuktikan terjadinya augmentasi regenerasi saraf tepi setelah pemberian *Schwann-like cells* alogenic terkondisi hipoksia 1% dan sekretomnya pada reinervasi saraf tepi.

Metode

Jenis penelitian eksperimental laboratorium hewan coba menggunakan tikus *Wistar* jantan sejumlah 36 ekor, usia 3 – 4 bulan, berat 200 - 300 gram dibagi secara acak menjadi tiga kelompok: kelompok denervasi – reinervasi (*suture*) + membran amnion (K1), kelompok denervasi – reinervasi (*suture*) + membran amnion + *Schwann-like cells* alogenic terkondisi hipoksia 1% (K2), dan kelompok denervasi – reinervasi (*suture*) + sekretom dari *Schwann-like cells* alogenic terkondisi hipoksia 1% (K3). Pemeriksaan *walking tract analysis* dilakukan setiap minggu setelah dilakukan perlakuan selama 3 dan 6 minggu untuk tiap-tiap kelompok, dievaluasi kadar TGF- β dan VEGF dengan pemeriksaan elisa, ekspresi HIF-1 α , NCAM, dan α -SMA dengan IHC, ekspresi NeuN, CD31, α -SMA, serta NCAM dengan pemeriksaan mRNA dan pemeriksaan imunohistokimia pada minggu III dan minggu VI.

Hasil

Terdapat perbedaan hasil *walking tract analysis*, kadar rata-rata TGF- β , kadar rata-rata VEGF, ekspresi HIF-1 α , ekspresi α -SMA, ekspresi NCAM, ekspresi NeuN, dan ekspresi CD31 pada ketiga jenis kelompok hewan coba. Terjadi peningkatan pada hasil *walking tract analysis*, kadar rata-rata TGF- β , kadar rata-rata VEGF, ekspresi HIF-1 α , ekspresi NCAM, ekspresi NeuN, dan ekspresi CD31; sedangkan penurunan terjadi pada ekspresi α -SMA. Hasil analisis jalur meliputi pemberian SLCs atau sekretomnya terhadap kadar TGF- β , α -SMA, NCAM, NeuN, dan CD31, serta *Sciatic Functional Index* (SFI), didapatkan yang paling kuat memberikan perbaikan fungsi motorik adalah jalur SLCs melalui NeuN dan SFI pada waktu 6

minggu, sedangkan jalur penghambatan α -SMA untuk mendapatkan perbaikan fungsi motorik adalah jalur SLCs melalui α -SMA dan SFI pada waktu 6 minggu.

Kesimpulan

Terdapat augmentasi regenerasi saraf tepi dengan pemberian *Schwann-like cells* alogenik terkondisi hipoksia dan sekretomnya pada cedera tajam akut saraf tepi.

Kata kunci: cedera tajam akut; saraf tepi; *Schwann-like cells*; sekretom; alogenik; terkondisi hipoksia

ABSTRACT

AUGMENTATION OF PERIPHERAL NERVE REGENERATION USING AMNIOTIC MEMBRANE AS CONDUIT SEEDED BY HYPOXIC CONDITION ALOGENIC SCHWANN-LIKE CELLS AND ITS SECRETOME IN ACUTE SHARP PERIPHERAL NERVE INJURY

TITO SUMARWOTO

Background

Acute sharp peripheral nerve injury requires nerve coaptation with epineural micro sutures. The use of predifferentiated stem cells to the expected phenotype in vitro through chemical induction, hypoxic conditions prior to transplantation and their secretome has the potential to enhance the regeneration process in peripheral nerve tissues that have experienced acute sharp injury.

Purpose

to prove the occurrence of augmentation of peripheral nerve regeneration after administration of 1% hypoxia-conditioned allogeneic Schwann-like cells and their secretome in peripheral nerve reinnervation.

Method

This was experimental laboratory animal study used 36 male Wistar rats, aged 3 – 4 months, 200 - 300 grams divided randomly into three groups: denervation – reinnervation (suture) + amniotic membrane group (K1), denervation – reinnervation (suture) + amnion membrane group + 1% hypoxia conditioned allogeneic Schwann-like cells (K2), and the denervation – reinnervation (suture) + secretome group of 1% hypoxia conditioned allogeneic Schwann-like cells (K3). Walking tract analysis examination was carried out every week after surgery at 3 and 6 weeks for each group, TGF- β and VEGF levels were evaluated by elisa examination, expression of HIF-1 α , NCAM, and α -SMA with IHC, expression of NeuN, CD31, α -SMA, and NCAM by mRNA examination in week III and week VI.

Results

There were differences in the results of walking tract analysis, average levels of TGF- β , average levels of VEGF, HIF-1 α expression, α -SMA expression, NCAM expression, NeuN expression, and CD31 expression in the three groups of experimental animals. There was an increase in the results of walking tract analysis, average levels of TGF- β , average levels of VEGF, HIF-1 α expression, NCAM expression, NeuN expression, and CD31 expression; whereas a decrease occurred in the expression of α -SMA. The results of pathway analysis including administration of SLCs or their secretomes to levels of TGF- β , α -SMA, NCAM, NeuN, and CD31, as well as the Sciatic Functional Index (SFI), found that the strongest pathway for improving motor function was the SLCs pathway through NeuN and SFI at the time of 6 weeks, while the α -SMA inhibitory pathway to obtain improved motor function is the SLCs pathway via α -SMA and SFI at 6 weeks.

Conclusion

There is augmentation of peripheral nerve regeneration by administration of hypoxic-conditioned allogeneic Schwann-like cells and their secretomes in acute sharp injury of peripheral nerves.

Keywords: acute sharp injury; peripheral nerves; Schwann-like cells; secretome; allogeneic; hypoxic condition

DAFTAR ISI

Halaman Sampul Depan	i
Halaman Sampul Dalam	ii
LEMBAR PRASARAT GELAR.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN.....	v
SURAT TUGAS PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN	xiii
<i>SUMMARY</i>	xviii
ABSTRAK	xxiii
<i>ABSTRACT</i>	xxiv
DAFTAR ISI.....	xxvii
DAFTAR TABEL.....	xxxiii
DAFTAR GAMBAR	xxxv
SINGKATAN.....	xl
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.3.1 Tujuan Umum	10
1.3.2 Tujuan Khusus	10
1.4 Manfaat Penelitian	11
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	11
1.4.2 Manfaat Praktis	11
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 Anatomi Fungsional Saraf Tepi	12
2.2 Sel – Sel Glia.....	13
2.3 Sel Schwann	15
2.4 Cedera Saraf Tepi	17

2.5 Patofisiologi Cedera Saraf Tepi	20
2.5.1 Lokasi Cedera.....	20
2.5.2 Ujung distal saraf	20
2.5.3 Ujung proksimal.....	20
2.5.4 Badan sel	21
2.5.5 Organ target.....	21
2.6 Degenerasi Wallerian	23
2.7 Plastisitas dan Kemampuan Regeneratif Sel – Sel Schwann Setelah Cedera Saraf Tepi.....	26
2.8 Peran Sitokin Peradangan dalam Cedera Saraf Tepi.....	30
2.9 Penanda Sel Schwann	32
2.10 Faktor – Faktor Neurotrofik	35
2.11 Faktor Pertumbuhan - Faktor Neurotrofik pada Regenerasi Saraf Tepi	37
2.12 Peran TGF- β pada Regenerasi Saraf Tepi.....	40
2.13 Regulasi NCAM selama Regenerasi Saraf Tepi	46
2.14 Peranan Sel Fibroblast selama Proses Regenerasi Saraf Tepi	48
2.15 Myofibroblast dan α -SMA	53
2.16 Penatalaksanaan Cedera Saraf Tepi	55
2.17 <i>Scaffolding</i>	58
2.17.1 Membran amnion sebagai <i>scaffold</i>	60
2.17.2 Anatomi dan Histologi membran amnion	60
2.18 Sel Punca Mesenkimal Turunan Adiposa (<i>Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells/AdMSCs</i>) : Availabilitas, Kapasitas Isolasi dan Diferensiasi.....	63
2.19 Schwann-like Cells	67
2.20 Proliferasi dan Diferensiasi AdMSCs dengan Pemberian <i>Platelet Rich Plasma</i>	71
2.21 Pengaruh Pemberian <i>Schwann-like cell differentiated adipose-derived Mesenchymal Stem Cells</i> terhadap Proses Regenerasi Saraf Tepi	76
2.21.1 Jenis diferensiasi sel punca	76
2.21.2 Peningkatan aksi neurotrofik.....	78
2.21.3 Pembentukan myelin.....	78

2.22 Pemberian Sel Punca.....	79
2.23 Diferensiasi atau Efek Parakrin AdMSCs ?	81
2.24 Pengaruh Parakrin dari AdMSCs dalam Regenerasi Saraf Tepi.....	82
2.25 Prekondisi Sel Punca Mesenkimal.....	87
2.26 Prekondisi Hipoksia dan HIF-1 α	88
2.27 Ekspresi Protein NeuN dalam Sistem Saraf Tepi sebagai Neuromarker	98
2.28 CD31, Penanda Sel-Sel Endothelial.....	99
2.29 <i>Stromal cell-Derived Factor-1α, C-X-C chemokine receptor type4-type7</i> ..	100
2.30 Kerangka Teori.....	109
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...	113
3.1 Kerangka Konseptual.....	113
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	114
3.3 Hipotesis.....	117
BAB 4 METODE PENELITIAN	119
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	119
4.2 Unit eksperimen, Replikasi, dan Randomisasi.....	121
4.2.1 Kriteria Inklusi	121
4.2.2 Replikasi Unit Eksperimen	121
4.2.3 Kriteria Drop Out	122
4.2.4 Randomisasi	122
4.3 Variabel Penelitian.....	122
4.3.1 Variabel bebas.....	122
4.3.2 Variabel kendali	122
4.3.3 Variabel antara	123
4.3.4 Variabel tergantung.....	123
4.4 Definisi Operasional Variabel.....	123
4.5 Materi Penelitian	126
4.5.1 Pra penelitian.....	126
4.5.2 Penelitian.....	126
4.6 Instrumen Penelitian.....	127
4.6.1 Pra penelitian.....	127

4.6.2 Penelitian.....	127
4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian	128
4.8 Prosedur Pelaksanaan Penelitian, Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	128
4.8.1 Pengajuan etik penelitian FKH UNAIR Surabaya.....	128
4.8.2 Persiapan hewan coba	129
4.8.3 Pembuatan fraksi vaskuler stromal dan isolasi - kultur AdMSCs.....	129
4.8.4 Pembuatan PRP.....	131
4.8.5 Pembuatan <i>Schwann-like cells (transdifferentiated neuronal/glia)</i>	132
4.8.6 Isolasi <i>rat sciatic nerve-derived stem cells (SCs)</i>	132
4.8.7 Perlakuan prekondisi hipoksia	133
4.8.8 Pembuatan Sekretom dari Kultur Sel dalam Kondisi Hipoksia 1%.....	133
4.8.9 Pembagian kelompok sampel.....	134
4.8.10 Pembedahan hewan coba	134
4.8.11 Pemeriksaan analisis jalur berjalan (<i>Walking Tract Analysis</i>).....	136
4.8.12 Pengambilan sampel nervus ischiadikus dan evaluasi	138
4.8.13 Pemeriksaan Elisa	139
4.8.14 Pewarnaan jaringan menggunakan teknik imunohistokimia.....	140
4.8.15 Pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan H&E	141
4.8.16 Pemeriksaan RT-PCR (<i>reverse transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>).....	142
4.9 Analisis Data.....	143
4.9.1 Analisis deskriptif.....	143
4.9.2 Analisis inferensial.....	143
4.9.3 Analisis jalur	143
4.10 Persetujuan Kelaikan Etik.....	144
4.11 Kerangka Operasional.....	147
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	149
5.1 Hasil Isolasi AdMSCs	149
5.2 Hasil Isolasi <i>Rat Sciatic Nerve-derived Stem Cells (SCs)</i>	151
5.3 Hasil Pembuatan <i>Schwann-like Cells (SLCs)</i>	152
5.4 Hasil Pemeriksaan Ekspresi Protein GFAP, Tubulin III, dan S100.....	153

5.5	Prekondisi hipoksia SLCs dan SCs	154
5.6	Hasil Pembuatan Sekretom SLCs dan SCs	155
5.7	Hasil Pemeriksaan Elisa faktor pertumbuhan terhadap SLCs dan SCs	156
5.8	Hasil Perbandingan kadar faktor pertumbuhan antara SLCs dan SCs	157
5.9	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinervasi Saraf Tepi terhadap Perbaikan Fungsi Motorik.....	159
5.10	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinervasi Saraf Tepi terhadap Kadar TGF- β	163
5.11	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinervasi Saraf Tepi terhadap Kadar VEGF	165
5.12	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinervasi Saraf Tepi terhadap Ekspresi HIF-1 α	167
5.13	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinerevasi Saraf Tepi terhadap Ekspresi α -SMA	169
5.14	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinervasi Saraf Tepi terhadap Ekspresi NCAM.....	171
5.15	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinerevasi Saraf Tepi terhadap Ekspresi NeuN	174
5.16	Hasil Pemberian <i>Schwann-like cells</i> Alogenik Terkondisi Hipoksia atau Sekretomnya pada Reinerevasi Saraf Tepi terhadap Ekspresi CD31	177
5.17	Hasil Pemeriksaan histopatologi dengan pengecatan H&E	180
5.18	Hasil penghitungan kepadatan akson pada pemeriksaan histopatologi	181
5.19	Hasil Uji Analisis Jalur	184
5.19.1	Konstruksi Model Analisis Jalur.....	184
5.19.2	Hasil Analisis Jalur pemberian SLCs terhadap hasil SFI pada minggu III.....	185
5.19.3	Hasil Analisis Jalur pemberian SLCs terhadap hasil SFI pada minggu VI	188
5.19.4	Hasil Analisis Jalur pemberian Sekretom terhadap hasil SFI pada minggu III.....	191

5.19.5 Hasil Analisis Jalur pemberian Sekretom terhadap hasil SFI pada minggu VI	194
BAB 6 PEMBAHASAN	198
6.1 <i>Walking tract analysis</i> setelah pemberian SLCs atau Sekretomnya pada Regenerasi Saraf Tepi	204
6.2 TGF- β (<i>Transforming growth factor-β</i>) pada Regenerasi Saraf Tepi.....	206
6.3 VEGF (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>) pada Regenerasi Saraf Tepi	207
6.4 HIF-1 α (<i>Hypoxia-Inducible Factor-1α</i>) pada Regenerasi Saraf Tepi.....	208
6.5 α -SMA (<i>α-Smooth Muscle Actin</i>) pada Regenerasi Saraf Tepi.....	209
6.6 NCAM (<i>Neural Cell Adhesion Molecule</i>) pada Regenerasi Saraf Tepi	210
6.7 NeuN pada Regenerasi Saraf Tepi	210
6.8 CD-31 pada Regenerasi Saraf Tepi.....	211
6.9 Gambaran Histopatologi pada penampang melintang Saraf Tepi.....	211
6.10 Hubungan Antar Variabel melalui Uji Analisis Jalur	212
6.11 Temuan Baru Penelitian.....	215
6.12 Keterbatasan penelitian	216
BAB 7 PENUTUP	217
7.1 Kesimpulan	217
7.2 Saran.....	218
DAFTAR PUSTAKA	219
LAMPIRAN	268