

SKRIPSI

**KADAR PROSTAGLANDIN-E2 (PG-E2) DALAM DARAH
DOMBA JANTAN SELAMA MASA PENYEMBUHAN
PATAH TULANG JENIS TIDAK STABIL**



Oleh :

ILAFIHIM JUWARIYAH
NIM 060213046

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

**KADAR PROSTAGLANDIN-E2 (PG-E2) DALAM DARAH DOMBA
JANTAN SELAMA MASA PENYEMBUHAN PATAH TULANG
JENIS TIDAK STABIL**

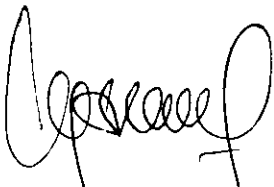
Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
Pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

oleh

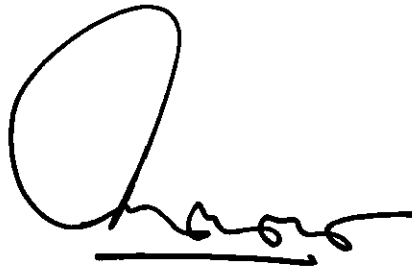
ILAFIHIM JUWARIYAH
NIM 060213046

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Djoko Legowo M. Kes., drh)
Pembimbing pertama



(Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh)
Pembimbing kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Kadar Prostaglandin-E2 (PGE2) dalam Darah Domba Jantan Selama Masa
Penyembuhan Patah Tulang Jenis Tidak Stabil**

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, 26 Januari 2007

Ilafihim Juwariyah
NIM. 060213046

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 19 Januari 2007

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Boedi Setiawan, M.P., drh.
Sekretaris : Ratna Damayanti, M. Kes., drh.
Anggota : Sulistyaningwati G., drh.
Pembimbing I : Djoko Legowo, M.Kes., drh.
Pembimbing II : Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh.

Telah diuji pada

Tanggal : 30 Januari 2007

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Boedi Setiawan, M.P., drh.
Anggota : Ratna Damayanti, M. Kes., drh.
Sulistyaningwati G., drh.
Djoko Legowo, M.Kes., drh.
Prof. Dr. Ismudiono, M.S., drh.

Surabaya, 14 Februari 2007



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

NIP. 130 687 297

PROSTAGLANDIN-E2 (PGE2) LEVEL ON MALE SHEEP'S BLOOD DURING THE HEALING'S PROCESS OF UNSTABLE FRACTURE

Ilafihim Juwariyah

ABSTRACT

The research was aimed to identify the level of PGE2 on blood's between the fracture sheep with unfracture sheep, and the differences of PGE2 between the days of the sample blood was taken. This research used 16 male sheep with two treatments (P0 and P1), P0 (control) were the sheep's without fracture treatment with four replicate and P1 were the fracture's sheep's with twelve replicates. The sample of blood from each sheep was taken on the 7, 15 and 30 days after the treatment. Sandwich ELISA method was used to identify the level of PGE2. The obtained data were analyzed with top level univariate test (treatment by level disign) and if there was differences between the treatments, Duncan test was used. The result showed that of PGE2 from fracture sheep's was higher than unfracture sheep's (control). The level of PGE2 from the sample blood was taken, showed that the highest level at the seventh day from fracture treatment.

Key words : Male sheep, PGE2, bone-healing.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan seminar dengan judul **Kadar Prostaglandin-E2 (PG-E2) Dalam Darah Domba Jantan Selama Masa Penyembuhan Patah Tulang Jenis Tidak Stabil .**

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Ismudiono, drh., MS atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Djoko Legowo M.Kes., drh selaku pembimbing pertama dan Prof. Dr., Ismudiono, MS.,drh selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan ilmu pengetahuan dengan penuh kesabaran.

Seluruh Staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Puji Srianto, M.Kes.,drh dan Dr. Achmad Sjarwani, dr. SpB., SpOT. atas segala bimbingan dan kesempatan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti penelitian ini.

Seluruh dokter, paramedis beserta karyawan Rumah Sakit Hewan Pendidikan (RSHP) Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga, khususnya Boedi Setiawan, M.P., drh. Dan Ira Yudaniayanti, M.P., drh. atas segala bantuan teknis serta kemurahan hati dalam pelaksanaan penelitian ini.

Ibu, bapak, dan kakak-kakakku tercinta yang dengan tulus memberikan segalanya kepada penulis, doa, dorongan semangat serta kasih sayangnya.

Seluruh teman-teman angkatan 2002 terutama Retno Furi, Nia, Berli, Dani dan Edi atas bantuan dan kebersamaan yang kita miliki selama ini, serta teman-teman sepenelitian Faiz, Kholik, Inkai, David, Bayu yang telah membantu dalam penelitian ini dan semua pihak yang telah membantu penulis yang sangat banyak bila disebutkan satu persatu.

Surabaya, Januari 2007

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN PERNYATAAN | ii |
| HALAMAN IDENTITAS..... | iii |
| ABSTRAK | v |
| UCAPAN TERIMA KASIH..... | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR GAMBAR..... | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| DAFTAR SINGKATAN..... | xiii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar belakang | 1 |
| 1.2. Perumusan masalah..... | 3 |
| 1.3. Landasan teori..... | 3 |
| 1.4. Tujuan penelitian..... | 4 |
| 1.5. Manfaat penelitian..... | 5 |
| 1.6. Hipotesis penelitian..... | 5 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 6 |
| 2.1. Tulang dan komponennya..... | 6 |
| 2.2. Klasifikasi tulang..... | 7 |
| 2.3. Vaskularisasi pada tulang panjang..... | 8 |
| 2.4. Definisi dan pembagian patah tulang..... | 8 |
| 2.5. Osteogenesis..... | 12 |
| 2.6. Proses kesembuhan tulang konsep penanganan patah tulang.... | 14 |
| 2.7. Prostaglandin..... | 18 |
| 2.7.1. Sejarah | 18 |
| 2.7.2. Struktur kimia Prostaglandin..... | 18 |
| 2.7.3. Peranan PostaglandinE2 (PGE2)..... | 19 |
| 2.8. ELISA (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>) | 20 |
| 2.9. Teknik sandwich ELISA | 21 |
| | |
| BAB III MATERI DAN METODE | 23 |
| 3.1. Waktu dan tempat penelitian..... | 23 |
| 3.2. Jenis penelitian..... | 23 |
| 3.3. Materi penelitian..... | 23 |
| 3.3.1. Hewan percobaan..... | 23 |
| 3.3.2. Bahan penelitian..... | 23 |
| 3.3.3. Alat-alat penelitian | 24 |
| 3.4. Metode penelitian..... | 25 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4.1. Persiapan percobaan..... | 25 |
| 3.4.2. Pelaksanaan operasi..... | 25 |
| 3.4.3. Perawatan post-operasi..... | 27 |
| 3.4.4. Variabel penelitian..... | 27 |
| 3.4.5. Pengambilan sampel..... | 28 |
| 3.4.6. Pengukuran kadar PGE2 darah dengan metoda sanwich ELISA..... | 28 |
| 3.5. Rancangan dan Analisis Data..... | 29 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN..... | 30 |
| BAB V PEMBAHASAN..... | 33 |
| 5.1. Kadar Prostaglandin E2 | 33 |
| 5.2. Kadar Prostaglandin E2 pada tiap waktu pengambilan darah.... | 33 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN..... | 36 |
| 6.1. Kesimpulan | 36 |
| 6.2. Saran | 36 |
| RINGKASAN | 37 |
| DAFTAR PUSTAKA | 39 |
| LAMPIRAN..... | 41 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|--------------|---|----------------|
| 4.1. | Rataan \pm standar deviasi kadar ProstaglandinE2 dalam darah kontrol dan perlakuan..... | 30 |
| 4.2. | Rataan \pm standar deviasi kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah pada hari ke-7,hari ke-15 dan hari ke-30 pasca operasi..... | 31 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|----------------|
| 2.1. Skema proses penyembuhan tulang..... | 18 |
| 2.2. Struktur kimia Prostaglandin E2 | 19 |
| 3.1. Foto hasil operasi patah tulang pada pertengahan ossa metacarpal..... | 27 |
| 4.1. Rataan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah kontrol dan perlakuan pada hari ke-7, 15, dan 30..... | 30 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|-----------------------|---------|
| 1. Analisis data..... | 41 |

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

| | |
|----------------|---|
| IL-6 | = Interleukin-6 |
| PTH | = <i>Parathyroid-hormon</i> |
| BMP | = <i>Bone Morphogenic Protein</i> |
| PGE2 | = Prostaglandin E2 |
| PDGF | = <i>Platlet Derived Growth Factors</i> |
| AP | = Alkalin Phospatase |
| Ab | = Antibodi |
| Ag | = Antigen |
| GF | = <i>Growth Factors</i> |
| OD | = <i>Optical Density</i> |
| OPG | = <i>Osteoprotegrin</i> |
| RANKL | = <i>Receptor Activator Nuclear Kappa-B Ligand</i> |
| Sandwich ELISA | = <i>Sandwich Enzyme linked Immuno-Sorbent Assay.</i> |
| SA-HRP | = <i>Strep-Avidin Horse Radish Peroxidase</i> |
| SPSS | = <i>Statistical Program for Social Scientific</i> |
| RSHP | = Rumah Sakit Hewan Pendidikan |
| pg/ml | = picogram per mililiter |

BAB I

PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Fraktur tulang atau disebut patah tulang didefinisikan sebagai putusnya kesinambungan fungsi suatu tulang. Berdasarkan derajat kerusakannya, patah tulang dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu ; 1) Patah tulang sebagian (*incomplete fracture* atau disebut juga **patah tulang stabil**) dan 2) Patah tulang total (*Complete fracture* atau **patah tulang tidak stabil**). Patah tulang stabil mempunyai pengertian bahwa tidak semua kesinambungan tulang terganggu, sedangkan patah tulang tidak stabil, sebagian besar kesinambungan tulang terganggu atau tulang dalam keadaan terputus total, yang biasanya diikuti dengan terjadinya pergeseran letak tulang (Yudaniayanti, 2004).

Secara klinis masa penyembuhan patah tulang tidak stabil membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan patah tulang yang stabil, hal ini mengakibatkan penderitaan hewan pun juga lebih lama (Sjarwani, 2001).

Secara umum proses penyembuhan patah tulang ditentukan oleh banyak faktor diantaranya adalah : tipe *injury*, tipe jaringan, pasien, *treatment*, aposisi, stabilisasi dan *loading motion*. (Yudaniayanti, 2004).

Dilaporkan bahwa gerakan yang halus (*micromovement*) antar fragmen (bagian/patahan) seperti yang dapat terjadi pada patah tulang, dapat menghasilkan bioelektrik dan merangsang dikeluarkannya mediator-mediator

biokimiawi antara lain Prostaglandin-E2 (PG-E2) morphogen dan *Growth Factor* (GF). Gerakan tersebut juga menyebabkan ujung dari patah tulang memancarkan sinyal yang menghasilkan bahan untuk osteogenik seperti *Bone Morphogenic Protein* (BMP). Gerakan fragmen antar tulang pada patah tulang juga diketahui dapat meningkatkan eksudasi dan migrasi sel dan penambahan pembuluh darah serta terbentuknya jaringan ikat (Sjarwani,2006).

Konsep diatas dapat menjelaskan bahwa faktor fisik dapat mengakibatkan terjadinya respon biomolekuler, dan sebagai akibatnya daerah patah tulang akan mengeluarkan berbagai mediator kimia, seperti ProstaglandinE2 (PGE2) morphogen dan *Growth Factor* (GF) dua substansi yang sangat diperlukan dalam pembentukan tulang rawan (Frost, 1989).

Proses penyembuhan patah tulang ditandai dengan meningkatnya kadar ProstaglandinE2 (PGE2). ProstaglandinE2 (PGE2) dikeluarkan dari tulang dan jaringan otot sekitar pada awal kejadian patah tulang yang mempunyai efek resorpsi dan merupakan prekursor untuk penyembuhan tulang (Sjarwani,2006).

Melalui pengukuran terhadap kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah dari domba jantan yang diberi perlakuan patah tulang pada tulang metacarpalnya, diharapkan dapat diketahui kadar ProstaglandinE2 (PGE2) selama proses penyembuhan patah tulang.

1.2. Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat perbedaan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah antara domba yang mengalami patah tulang dengan yang tidak mengalami patah tulang?
2. Apakah terdapat perbedaan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba yang mengalami patah tulang berdasarkan waktu pengambilan darah?

2.1. Landasan teori

Gerakan antar fragmen tulang diketahui dapat menghasilkan bioelektrik yang selanjutnya merangsang dikeluarkannya mediator-mediator penting dalam proses *osteogenesis* atau osifikasi, antara lain ProstaglandinE2 (PGE2) morphogen dan *Growth Factor* (GF). Kedua substansi tersebut mempunyai peran penting dalam pembentukan tulang rawan, yang mana tulang rawan tersebut merupakan bahan dasar dalam pembentukan tulang melalui proses *osteogenesis* sekunder (Frost, 1989). Gerakan diantara dua ujung fragmen tulang yang mengalami fraktur juga diketahui dapat meningkatkan produksi *Bone Morphogenic Protein* (BMP).

Gerakan antar fragmen yang menimbulkan tegangan tersebut diketahui sebagai awal dari suatu proses pembentukan tulang. Pembentukan tulang

dimulai dari periosteal yang secara bertahap menuju garis pusat melalui celah (*gap*) patah tulang (Frost, 1989; Buckwalter and Cruess, 1991).

Celah antara ujung patah tulang dapat menyebabkan hematoma yang diikuti migrasinya sel-sel mesenkim dan juga makrofag yang akan mengisi celah patah tulang. Adanya rangsangan hormon Parathyroid (PTH) dan ProstaglandinE2 (PGE2) menyebabkan osteoblas mensekresikan IL-6 yang menstimulasi terjadinya osteoklasitogenesis. Selain itu pada kejadian hematoma dan inflamasi pada patah tulang juga dapat merangsang sel T dan makrofag menghasilkan IL-6 (Febbraio and Pedersen, 2005).

2.2. Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan :

1. Untuk mengetahui perbedaan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah antara domba yang mengalami patah tulang dengan yang tidak mengalami patah tulang.
2. Untuk mengetahui perbedaan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba yang mengalami patah tulang berdasarkan waktu pengambilan darah.

2.3. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan yang bermanfaat untuk mengembangkan ilmu pengetahuan maupun teknik diagnosa dengan mempertimbangkan prostaglandinE2 (PGE2) darah sebagai salah satu indikator dalam proses penyembuhan tulang di dunia kedokteran hewan.

2.4. Hipotesa penelitian

Berdasarkan perumusan masalah yang ada maka hipotesis penelitian adalah sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah antara domba yang mengalami patah tulang dengan yang tidak mengalami patah tulang.
2. Terdapat perbedaan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba yang mengalami patah tulang berdasarkan waktu pengambilan darah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tulang dan Komponennya

Tulang merupakan jaringan ikat khusus yang berfungsi : 1. Menunjang struktur badan, 2. Melindungi organ-organ vital yang terdapat dalam cranium dan rongga dada, 3. Sebagai tempat pembentukan sel - sel darah (Yudaniayanti, 2004), 4. Sebagai cadangan kalsium, fosfat dan ion lain yang dapat dibebaskan atau ditimbun secara terkendali untuk mempertahankan konsentrasi ion-ion tersebut tetap dalam cairan tubuh, 5. Tulang membentuk sistem pengungkit yang melipatgandakan kekuatan yang timbul akibat kontraksi otot rangka dan menghasilkan gerak tubuh (Junquera dan Carneiro, 1997).

Sel-sel tulang dapat dibedakan menjadi empat jenis sel tulang yaitu : sel osteoprogenitor, osteoblas, osteosit dan osteoklas. Sel Osteoprogenitor merupakan populasi sel induk, berkembang dari sel 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 jenis preosteoklas yang lebih banyak mengandung mitokondria dan ribosom bebas dan 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 dkk, 1996)

2.2. Klasifikasi Tulang

Berdasarkan bentuknya, 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 (osteogenesis intra kartilagonosa). Tulang panjang terbagi atas 4 bagian yaitu : 1. *Diaphisis*, bagian tulang panjang yang khas. Bagian ini terdiri atas tulang kompakta padat. 2. *Metaphisis*, yaitu bagian melebar setiap ujung tulang, tempat tulang kompak membentuk bungkus disekitar masa spongiosa atau tulang spongiosa (Cancelous bone) 3. *Epifisis*, yang menutupi ujung tulang panjang. 4. Lempeng pertumbuhan (cakram *epifisis*), yang menghubungkan epifisis dengan *metaphisis*. Pada tulang panjang yang sedang tumbuh, lempeng ini merupakan lempeng proliferasi tulang rawan hialin dan akan

tumbuh lebih panjang sebelum dan selama masa pubertas. Penambahan panjang tulang terjadi karena lempengan ini meletakkan tulang baru pada ujung korpus ini (Yudaniayanti, 2004).

2.3. Vaskularisasi Tulang Panjang

Suplai darah tulang panjang meliputi : 1. Vaskuler nutrisi, masuk pada tulang panjang lewat suatu foramen ke medula kemudian bercabang ke ascenden dan desenden menuju ke arah *metafisis*, cabang-cabangnya menyusup ke kortek sampai duapertiga tebal tulang. 2. Vaskuler periosteum, berada pada daerah dimana disitu melekat otot dan juga periosteum yang tidak ada perlekatan otot. Pembuluh darah ini kapiler-kapilernya menyusup ke kortek tulang sampai sepertiga tebal lapisan sebelah luar dan membentuk jala-jala kapiler dijaringan sekitarnya. 3. Vaskuler *metafisis* dan *epifisis*, ukuran vaskuler yang lebih besar daripada vaskuler periosteum, vaskuler ini masuk ke dalam medula dan membentuk anastomose dengan nutrisi maupun periosteum (Yudaniayanti, 2004)

2.4. Definisi dan pembagian Jenis Patah Tulang

Fraktur tulang atau patah tulang didefinisikan sebagai putusnya kesinambungan fungsi suatu tulang. Seringkali tulang patah secara keseluruhan, tapi terkadang hanya satu sisinya saja, dan kita mendeskripsikan kasus tersebut sebagai “tulang retak”. Bila sebuah tulang patah, matriks tulang rusak dan sel-sel tulang yang berdekatan dengan

daerah patah tulang akan mati. Pembuluh-pembuluh darah yang cedera mengakibatkan perdarahan setempat dengan pembentukan bekuan darah. Selama perbaikan, bekuan darah, sel-sel dan matriks tulang yang rusak dibersihkan oleh makrofag. Periosteum dan endosteum disekitar daerah patah tulang memberi respon berupa proliferasi hebat dari sel-sel osteoprogenitor yang membentuk jaringan seluler sekeliling patah tulang dan menyusup diantara ujung-ujung patah tulang itu (Junquera dan Carneiro, 1997).

Patah tulang tidak selalu disebabkan oleh trauma yang berat, kadang-kadang trauma yang ringan saja dapat menimbulkan patah tulang apabila tulang itu sendiri terkena penyakit tertentu, demikian juga trauma ringan yang terus menerus dapat menimbulkan patah tulang (Rasad dkk, 1992).

Patah tulang berdasarkan berbagai penyebab, dibagi menjadi 3 jenis :

1. Patah tulang yang disebabkan trauma yang berat, jenis patah tulang yang mungkin terjadi sangatlah bervariasi dan bergantung pada berbagai faktor, misalnya besar/kuatnya trauma, trauma langsung atau tidak langsung, umur penderita dan lokasi patah tulang;
2. Patah tulang spontan / patologik adalah patah tulang yang sebelumnya telah mengalami proses patologik, misalnya tumor tulang primer atau sekunder, multipel mieloma, kista tulang, osteomyelitis. Trauma ringan saja sudah dapat menimbulkan patah tulang;
- dan 3. Patah tulang stress disebabkan oleh trauma ringan tetapi terus menerus (Rasad dkk, 1992).

Patah tulang berdasarkan asal trauma dibagi menjadi tiga, yaitu : 1. trauma eksternal, misalnya tertabrak, jatuh; 2. trauma internal, misalnya karena kontraksi otot yang kuat dan mendadak seperti serangan epilepsy, tetanus, rejanan listrik, keracunan striknin, dan 3. trauma ringan tetapi terus menerus (Rasad dkk, 1992).

Beberapa jenis patah tulang menurut Rasad, dkk (1992) dan Yudaniayanti (2004) antara lain : 1. patah tulang transversal adalah patah tulang yang garis patahnya tegak lurus dengan axis panjang tulang, fragmen tulang cukup stabil sehingga proses kesembuhan cukup baik; 2 patah tulang oblik/miring adalah garis patahan diagonal dari axis panjang tulang, fragmen tulang cenderung memendek karena kontraksi spastik tulang, patah tulang jenis ini mempunyai kedudukan yang kurang stabil dan sulit diatasi karena tonus otot sekitarnya; 3. patah tulang spiral adalah garis patahan berbentuk kurva, fragmen tulang juga cenderung memendek dan terjadi rotasi; 4. patah tulang kominutif (*comminuted fracture*), garis patahan tulang lebih dari dua fragmen tapi masih ada pertemuan diantara garis patahan; 5. patah tulang multipel adalah patah tulang menjadi tiga atau lebih dan tidak ada pertemuan diantara garis patahan; 6. Patah tulang impaktiva (*impacted fracture*) adalah patah tulang yang biasanya mengenai ujung tulang masuk keujung tulang yang lain.

Patah tulang berdasarkan derajat kerusakannya, terbagi atas : 1. Patah tulang sebagian (*incomplete fracture*), yaitu bila sebagian kontinuitas tulang putus dan beberapa bagian yang lain masih utuh, dapat berupa patah tulang

greenstick dan patah tulang *fisura*. Patah tulang *greenstick* sering terjadi pada hewan muda yang sedang berkembang, pergeseran letak tulang hanya sedikit sekali dan penyembuhannya cepat, sedangkan patah tulang *fisura* keretakan terjadi sampai ke bagian korteks, sering dengan arah spiral, transversal, oblik, maupun longitudinal. Bentuk tulang masih normal dan periosteum tetap utuh;

2. Patah tulang komplit, yaitu tulang mengalami gangguan total dan biasanya terjadi pergeseran letak tulang. Berdasarkan lokasi patah tulang, meliputi: 1. patah tulang *diafisal* adalah patah tulang yang terjadi didaerah *diafisis* tulang, terbagi atas sepertiga proximal, sepertiga distal dan pertengahan diafisis; 2. Patah tulang *metafisal* adalah patah tulang didaerah *metafisis* tulang, terbagi *metafisis proximal* dan *distal*, pada umumnya proses kesembuhan cepat; 3. Patah tulang *fisis* terjadi pada garis *epifisis* atau garis pertumbuhan, biasanya hanya terjadi pada hewan muda yang sedang tumbuh, proses kesembuhannya jelek dan fungsi tulang tidak dapat kembali normal. 4. Patah tulang epifisal terjadi pada daerah kondilus tulang, dimana kondilus terpisah dari tulangnya.

Dilihat dari hubungannya dengan udara luar, meliputi : 1. Patah tulang tertutup, dimana ujung tulang yang patah masih tertutup oleh otot dan kulit, tidak ada hubungan langsung dengan udara luar. 2. Patah tulang terbuka adalah patah tulang yang disertai dengan kerusakan kulit, sehingga kemungkinan bakteri dari luar dapat menimbulkan infeksi (Yudaniayanti, 2004).

2.5. Osteogenesis

Proses osteogenesis dimulai sejak fetus dan berlanjut sepanjang kehidupan. Pada proses osteogenesis ada 4 komponen sel yang bertanggung jawab yaitu sel osteoprogenitor, osteoblas, osteosit dan osteoklas (Yudaniayanti, 2004).

Menurut Junquera dan Carneiro (1997) tulang dapat dibentuk dengan dua cara: melalui mineralisasi langsung pada matriks yang disekresi oleh osteoblas (ossifikasi intramembranosa) atau melalui penimbunan matriks tulang pada matriks tulang sebelumnya (ossifikasi endokondral).

Menurut Prijosepoetro (2003), ada dua jenis osteogenesis yaitu osteogenesis intramembranosa (Osteogenesis desmialis, osteogenesis primer) suatu proses penulangan langsung, yang bersifat sederhana dan Osteogenesis intracartilagenosa (osteogenesis endrochonralis, osteogenesis sekunder).

Menurut Prijosepoetro (2003), osteogenesis primer dimulai dari berubahnya sel-sel mesenkim menjadi osteoblas, dimana selanjutnya osteoblas akan mempengaruhi zat sekitarnya (matriks) yang tadinya cair berubah kental dan memadat karena membentuk osteoid. Akibat proses pengapuran (kalsifikasi), maka osteoid menjadi keras dan menjadi osteoblas dewasa (osteosit).

Pulau tulang pertama dan tempat kegiatan proses ini diberi nama titik penulangan atau *punctum ossificationis*. Kegiatan tersebut, proses penulangan akan meluas ke daerah sekitarnya sampai terbangun suatu tulang tertentu. Untuk mencapai suatu bentuk tulang maka terdapat suatu sel yang disebut

osteoklas yang justru berfungsi merusak/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-lainny (Priosepoetro, 2003).

Osteogenesis intracartilagenosa (osteogenesis endrochonralis, osteogenesis sekunder), suatu proses penulangan tidak langsung, yang selalu didahului dengan terbentuknya tulang rawan (kartilago) yang sifat kejadiannya lebih kompleks. Jaringan mesenchym yang akan menjadi tulang dengan proses ini, terlebih dahulu membentuk tulang-tulang rawan hyalin, yang juga merupakan pola tulang yang akan dibentuk. Dipandang dari telah tersedianya tulang rawan (kartilago), maka pertumbuhan terjadinya tulang melalui tahap-tahap: 1. Pertumbuhan tulang rawan, dari sel mesenchym menjadi kondroblast yang melanjut menjadi kondrosit, perbanyak dan perbesaran kondrosit yang berderet-deret mengikuti proses panjang bakal tulang. 2. Pengapuran matrik tulang rawan, pergantian tulang rawan yang mengapur dengan lapisan tulang secara proses penulangan langsung. Proses diatas umumnya terjadi dan dimulai dari kedua ujung bakal tulang. Sedangkan ditengah batang tulang, yang merupakan pusat penulangan pula, prosesnya dimulai secara penulangan langsung. Sehingga sebuah tulang yang kejadiannya mengikuti cara penulangan kedua ini, sekurang-kurangnya memiliki tiga puntum ossifikasi (Priosepoetro, 2003).

Dipandang dari letak pertumbuhan tulang dapat disebutkan sebagai berikut yaitu : pertumbuhan interstitial, suatu pertumbuhan dari tengah-tengah jaringan, pertumbuhan oppositional, suatu pertumbuhan dari sisi yang biasanya berasal dari perengangan jaringan pengikat pelapis tulang dan periosteum, menjadi tulang secara langsung. Pada ossifikasi intramembranosa pada tempat-tempat yang akan terjadi tulang terdapat kondensasi sel mesenkim. Selanjutnya sel mesenkim ini berdeferensiasi membentuk fibroblas dan sel progenitor. Sel osteoprogenitor aktif bermitosis, berdeferensiasi membentuk osteoblas mensintesis dan mensekresi matriks organik yang penting untuk proses mineralisasi. Sedang pada ossifikasi endokondral pada tempat-tempat yang akan terbentuk tulang terjadi kondensasi sel mesenkim. Sel-sel mesenkim akan berdeferensiasi membentuk kondroblas yang selanjutnya membentuk kondrosit. Selanjutnya terjadi proses pengapuran tulang yang kemudian digantikan oleh tulang (Prijoepetro, 2003).

2.6. Proses Kesembuhan Tulang dan Konsep Penanganan Patah Tulang

Konsep penyembuhan patah tulang didasarkan pada dua variabel yaitu pasokan darah dan stabilitas. Suplai darah merupakan faktor penentu yang kritis terhadap patah tulang (Rodan and Martin, 2000).

Pada proses kesembuhan tulang, kesembuhan primer sangat diharapkan, jenis kesembuhan ini hanya sedikit atau mungkin tidak sama sekali terbentuk kalus. Aposisi yang baik dan tepat antara ujung tulang yang patah sangat

menentukan kesembuhan primer, karena memperkecil jarak antara tulang yang satu dengan yang lain, sehingga hematoma yang terbentuk disekitar tulang yang patah hanya kecil. Bila kondisi untuk terjadinya kesembuhan primer tidak ada, maka akan terjadi kesembuhan sekunder yang diawali dengan : 1. Fase hematoma, yaitu fase terbentuknya hematoma disekitar daerah patahan tulang. 2. Fase proliferasif, dalam satu atau dua hari masa patah tulang mengalami fase proliferasif, dimana sel-sel mesenkim endosteum dan kambium dari periosteum mulai berproliferasi dan menyebar ke hematoma. 3. fase pembentukan kalus, kalus yang terbentuk adalah campuran antara jaringan ikat, tulang rawan dan tulang *immature (woven bone)*. Sesungguhnya sel mesenkim yang berdiferensiasi tersebut diharapkan seluruhnya berubah menjadi osteoblas, karena sel-sel osteoblas mampu mengeluarkan matrik intraseluler yang terdiri dari kolagen dan polisakarida yang segera bersatu dengan garam-garam kalsium, membentuk tulang *immature* atau *young callus (woven bone)*. *Young callus* mengalami maturasi menjadi kalus yang kuat. 4. Fase konsolidasi, yaitu fase dimana kalus yang terbentuk mengalami maturasi lebih lanjut oleh aktifitas osteoblas, kalus tulang yang lebih dewasa (*mature*) dengan pembentukan lamella. 5. Fase remodeling, pada fase ini *secondary bone callus* sudah ditimbun dengan kalsium yang banyak dan tulang yang telah terbentuk dengan baik, serta terjadi pembentukan kembali dari medulla tulang (Yudaniayanti, 2004).

Tahapan-tahapan penyembuhan tulang secara fisiologis menurut Buckwalter and Cruess (1991), sebagai berikut : tahap inflamasi, tahap

reparasi dan tahap remodeling tulang. Tahap pertama adalah inflamasi, merupakan respons terhadap injuri baik seluler maupun vaskuler, meliputi terjadinya pengeluaran banyak, vasodilatasi, eksudasi plasma dan migrasi sel radang pada lokasi *injury*. Secara klinik dapat ditunjukkan adanya *swelling*, *erythema*, kenaikan suhu jaringan, rasa sakit dan kerusakan fungsi jaringan.

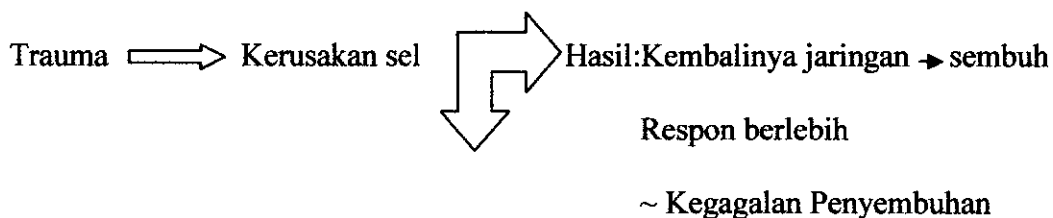
Tahap awal inflamasi biasanya ditandai dengan adanya vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskuler yang diikuti masuknya plasma ke dalam ruang vaskuler. Menurut Frost (1989) pada tahap inflamasi, selain terjadi migrasi sel darah juga terjadi migrasi sel-sel mesenkimal misalnya *embryonal like cell*, pluripotent, *fibroblast like cell*. Sel-sel tersebut memproduksi eksudat penting untuk migrasi, mitosis dan diferensiasi sel.

Tahapan reparasi merupakan tahapan dimana terjadi pergantian sel nekrotik dan bahan yang rusak melalui proliferasi. Berproliferasinya sel-sel disebabkan oleh kombinasi dari faktor pertumbuhan dalam hematoma yang dilepaskan oleh tulang yang rusak dan jaringan lunak. Serta respons intrinsik dari endosteum dan periosteum untuk berproliferasi apabila secara fisik terganggu. Pada remodeling, terjadi pembentukan kembali jaringan yang diperbaiki melalui pergerakan dan penempatan kembali sel-sel matrik (Yudaniyanti, 2004).

Konsep dasar dalam menangani patah tulang, ada empat konsep yang dikenal dengan konsep "empat R" yaitu : 1. Rekognisi atau pengenalan dengan melakukan diagnosa yang benar akan sangat membantu penanganan patah tulang karena perencanaan terapinya dapat dipisahkan lebih sempurna.

2. Reduksi atau reposisi adalah tindakan mengembalikan fragmen fraktur semirip mungkin dengan keadaan atau kedudukan semula atau keadaan normal. 3. Retensi atau fiksasi atau immobilisasi adalah tindakan mempertahankan atau menahan fragmen-fragmen fraktur tersebut selama penyembuhan. 4. Rehabilitasi adalah tindakan dengan maksud agar bagian yang menderita patah tersebut dapat kembali normal, tindakan ini akan lebih baik asalkan dilakukan seawal mungkin dan tidak mengganggu proses fiksasinya. Konsep “empat R” ini dengan sendirinya akan berjalan dengan baik apabila dilakukan secara aseptik yaitu meniadakan infeksi yang mutlak dilakukan pada setiap tindakan pembedahan (Yudaniayanti, 2004).

Banyak faktor dapat mempengaruhi proses penyembuhan patah tulang seperti : tipe *injury*, tipe jaringan, pasien, treatment, aposisi, stabilisasi dan *loading motion*. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada skema tentang faktor-faktor dominan yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan tulang dibawah ini. :



Faktor yang berpengaruh :

- . tipe *injury*, tipe Jaringan
- . pasien, treatment
- . aposisi, stabilitas
- . *Loading Motion*

Gambar 2.1. Skema proses penyembuhan tulang
Sumber : Buckwater and Cruess, 1991

2.7. Prostaglandin

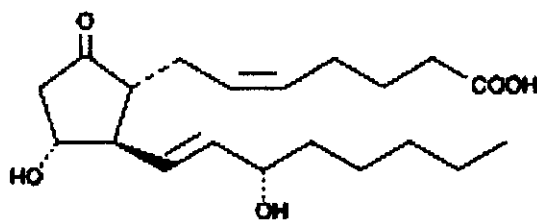
2.7.1. Sejarah

Prostaglandin pertama kali ditemukan oleh Van Euleur pada tahun 1935 sebagai suatu zat yang dihasilkan oleh kelenjar prostat manusia (Djojosoebagio, 1996). Sekarang diketahui bahwa prostaglandin ditemukan hampir disetiap jaringan tubuh manusia dan juga disintesis dalam paru-paru, hati, uterus dan sebagian besar organ didalam tubuh. (Anonimus, 2002).

2.7.2. Struktur Kimia Prostaglandin

Struktur kimia prostaglandin merupakan 20 *carbon hydroxy fatty acid* dengan rangkaian *cyclopentane* yang berasal dari asam arakidonat. Berdasarkan susunan *cyclopentane* tersebut maka dikenal prostaglandin A, B, C, D, E, F, H dan I. Kemudian berdasarkan lokasi Hydroxyl, dan jumlah *trans*

double bond rumus kimia prostaglandin menjadi lebih banyak, misalnya : PGE1, PGE2, PGE3, PGF1 α , PGF2 α dan sebagainya. PG berarti prostaglandin, E berarti alkohol keton, F berarti diol, subskrip angka berarti ikatan rangkap dan subskrip α berarti konfigurasi OH pada karbon 9 (cis terhadap rantai samping karboksil).



Gambar 2.2. Struktur Kimia Prostaglandin E2
(Sumber : Tjokronegoro dkk, 1983)

2.7.3. Peranan ProstaglandinE2 (PGE2)

ProstaglandinE2 (PGE2) adalah salah satu produk utama asam arakidonat. Aktivitasnya mempengaruhi radang, kesuburan dan proses kelahiran, integritas mukosa berhubungan dengan lambung, begitu pula pada reaksi peradangan yang diakibatkan berbagai rangsangan misalkan bakteri, toksin, zat kimia, sinar maupun mekanik (Tjokronegoro dan Setiawan, 1983).

ProstaglandinE2 (PGE2) dan ProstaglandinF2 (PGF2) dikeluarkan dari tulang dan jaringan otot sekitarnya setelah 3-14 hari operasi tulang yang dipatahkan, dua prostaglandins ini di dalam tulang akan merangsang perubahan vaskuler, penyerapan dan mengakibatkan terjadinya osteoprogenitor (Ueno *et. al*, 1984).

Sel osteoprogenitor aktif bermitosis, berdeferensiasi membentuk osteoblas mensintesis dan mensekresi matriks organik yang penting untuk proses

mineralisasi. Ossifikasi endokondral pada tempat-tempat yang akan terbentuk tulang terjadi kondensasi sel mesenkim. Sel-sel mesenkim akan berdeferensiasi membentuk kondroblas yang selanjutnya membentuk kondrosit. Selanjutnya terjadi proses pengapuran tulang yang kemudian digantikan oleh tulang (Sjarwani, 2006).

2.8. ELISA (*Enzyme linked Immunosorbent Assay*)

Enzyme linked Immunosorbent Assay merupakan salah satu uji serologis yang banyak dimanfaatkan untuk berbagai tujuan. Diagnosis penyakit infeksi ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi adanya antigen (virus, bakteri, parasit atau jamur) atau terhadap antibodi. Pada penyakit non-infeksi, ELISA dapat digunakan untuk evaluasi program vaksinasi, memonitor hormon, obat-obatan, antibiotika, toksin, pestisida, komponen serum, protein onkofetal, sitokin atau penyakit-penyakit autoimun (Suwarno dkk.,2003).

Sejak diperkenalkan pada tahun 1971, ELISA telah mengalami perkembangan sesuai dengan tujuannya. Pada dasarnya ELISA dapat dibagi menjadi 3 jenis menurut komponen yang dilabel enzim, yaitu : pelabelan pada antibodi (Ab), pelabelan pada Antigen (Ag) dan pelabelan pada anti Imunoglobulin (Suwarno dkk.,2003).

Dua macam antibodi yang digunakan dalam ELISA, antibodi pertama (*primary antibody*) mengikat pada antigen dan antibodi kedua (*secondary antibody*) atau antibodi antiglobin mengikat pada antibodi pertama. Enzim

yang biasa digunakan dalam uji ELISA adalah *Horse Radish Peroxidase* (HRP), alkaline phosphatase (AP), urease beta galaktose dan glukose oksidase yang mempermudah memonitor dengan perubahan warna. Pemilihan enzim berdasarkan homogen, murah, spesifik dan stabil (Rantam, 2003).

Enzim yang dipakai untuk melabel antigen dan antibodi harus memenuhi beberapa persyaratan, diantaranya tidak boleh mengurangi sifat imunogenik antigen atau antibodi, harus dapat diperoleh dalam keadaan murni serta stabil untuk dapat disimpan selama jangka waktu tertentu (Kresno, 1996).

Interpretasi ELISA dapat dilakukan secara kualitatif (visual) maupun kuantitatif (dengan spektrofotometer). Secara kualitatif ELISA dibaca dengan melihat perubahan warna antara kelompok yang diperiksa dengan kelompok kontrol (positif atau negatif). Secara kuantitatif, ELISA dibaca dengan spektrofotometer (ELISA reader) yang berdasarkan pada nilai titer atau absorban atau kerapatan optik (Optical Density/OD) (Suwarno dkk., 2003)

2.9. Teknik Sandwich ELISA

Teknik ini dipakai bila antibodi kedua tidak dapat dilabel atau bila daya lacak (sensitivitas laboratoris) lebih diutamakan daripada kecepatan (waktu pemeriksaan) tes. Dalam keadaan semacam ini, Ab kedua harus dilacak dengan cara ELISA tak langsung yaitu dengan menggunakan Ab antispesies yang dilabel. Untuk menghindari reaksi silang dengan Ab pelapis (Ab 1), maka Ab pelapis dan Ab kedua harus berasal dari spesies hewan yang

berbeda. Sebaliknya, dianjurkan agar Ab anti spesies dan Ab pelapis berasal dari spesies yang sama (Handoyo, 1996)

Keuntungan lain dari cara sandwich ELISA ini adalah mempunyai spesifisitas dan sensitivitas lebih baik dalam mendeteksi antigen dan antibodi yang konsentrasinya rendah

BAB III

MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODA

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Klinik Hewan Pendidikan Universitas Airlangga serta Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Umum Universitas Brawijaya. Waktu penelitian 8 bulan, mulai September 2005 sampai dengan bulan Mei 2006.

3.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik.

3.3. Materi Penelitian

3.3.1. Hewan Percobaan

Pada penelitian ini, hewan coba yang digunakan adalah 16 domba jantan dengan umur 8 bulan dengan berat badan rata-rata 18 kilogram (sudah mendapatkan sertifikat Etical Clearance). Masing-masing domba ditempatkan dalam kandang individu dan telah diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah : Atropine Sulphate, Xylazine, Ketamin HCl, Alkohol 70%, larutan Povidone

Iodine, cairan Infus Ringer Laktat Bebas Pirogen, Viciline 1000mg, Antalgin injeksi, obat anti lalat, Rivanol, Garamicyne salep mata, Kanamycine salep mata, Lysol, antiseptik.

Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan *sandwich* ELISA adalah serum domba, capture antibody (mouse monoklonal anti PGE₂), detection antibody berlabel biotin, washing buffer, *Horse Radis Peroxidase* (SA-HRP), substrat buffer, stop reaction.

3.3.3. Alat-alat Penelitian

Kandang panggung, kandang jepit, bandage, kasa steril, kapas, spuit (3cc, 5cc, 10cc), gunting bedah, scalpel, pinset anatomis, boor listrik, introducer bengkok, needle, benang jahit non absorble, needle holder, retractor, dug clem, arteri klem, osteal elevator, intramedullary pin, screw, slotted plate, drape, tali fiksasi, alat rontgen, rontgen reader, microtome, tabung eppendorf, tabung reaksi, rak tabung reaksi, sentrifuge, refrigerator, tameng Pb, plester, timbangan.

Alat yang digunakan dalam pemeriksaan ELISA adalah ELISA reader (BIORAD-505), microplate 96 well, secker, inkubator, graduated serological pipets, almari pendingin (freezer), karet glove, baju laboratoris, masker.

3.4. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah membandingkan antara dua perlakuan dengan ulangan tidak sama yaitu :

P0 : kontrol (4 ekor domba jantan tanpa perlakuan patah tulang).

P1 : perlakuan (12 ekor domba jantan dengan perlakuan patah tulang).

3.4.1. Persiapan percobaan

Hewan coba ditempatkan dalam kandang panggung, kemudian dipilih secara acak dan diberi nomor pada telinga. Domba tersebut diadaptasikan pada masing-masing kandang selama satu bulan. Setelah dilakukan tindakan operasi terhadap 12 ekor domba jantan, domba ditempatkan dalam kandang fiksasi individual.

3.4.2. Pelaksanaan operasi

Prosedur operasi pembedahan yang pertama adalah sebagai berikut domba dipuasakan selama 7-12 jam, pengukuran berat badan dan pencukuran bulu pada kaki depan kiri (bagian yang akan dibedah). Premedikasi diberikan atrophine sulphate 0,4 mg/kg berat badan (BB) sedangkan untuk anestesi umum diberikan xylazine 0,01-0,02 mg/kg BB dan ketamin HCl 10 mg/kg BB secara intramuskuler. Setelah dilakukan X-ray posisi lateral dan anterior-posterior (AP), domba dibawa ke ruang operasi dan diposisikan secara *dexter lateral recumbency*. Desinfeksi dilakukan pada lapangan operasi kemudian dicuci dengan *savion* dan dikeringkan selanjutnya dioles dengan

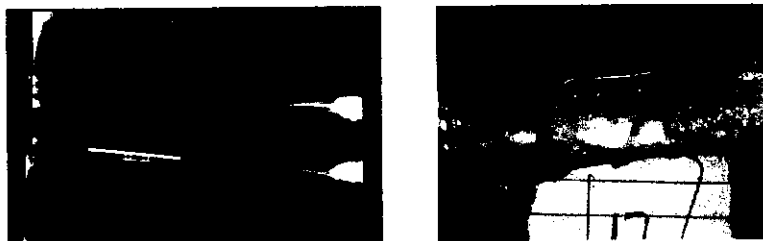
betadine, lapangan operasi dipersempit dengan *dock steril* yang diberi alas *under pad* steril.

Pembedahan diawali dengan insisi kulit lurus digaris tengah sesuai sumbu tulang. Tulang metacarpal dibebaskan terhadap periosteum dengan *rasparatori* melingkari tulang metacarpal. Kemudian dilakukan osteotomi transversal dengan *gligi saw* melalui titik tengah tulang. *Canal medulla* pada fragmen distal diperlebar dengan *reamer drill bit* 4,5 mm sampai menembus sendi metacarpal yang difleksikan.

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 *hammer* melalui ujung *nail concaf retrograde*. *Slotted plate* empat lubang dipasang dengan empat screws di empat titik tengah korteks.

Luka insisi operasi dijahit satu lapis dengan benang nylon (*non absorbable*) ukuran 3-0 secara *interrupted*. Luka ditutup dengan kasa steril yang diberi betadine, kemudian dilakukan penutupan dengan kasa dan dibalut perban (Sjarwani, 2001).

Hasil operasi dapat dilihat pada gambar hasil X-Ray dan Kamera digital dibawah ini (Gambar 3.1).



Gambar 3.1. Gambar fraktur tulang pada pertengahan *ossa metacarpal sinester* domba yang telah direposisi dan diberi sistem penanganan *intramedullary pin* dan *slotted plate screw*.

3.4.3. Perawatan post-operasi

Perawatan post operasi dilakukan pada semua domba dengan pemberian viccilin dosis 7 mg/kgBB secara intramuskuler 2 kali sehari selama 5 hari. Antalgin diberikan dengan dosis 20 mg/kgBB apabila diperlukan yakni jika suhu tubuh meningkat.

3.4.4. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas

Perlakuan domba yaitu kontrol (tanpa perlakuan patah tulang) dan domba yang dibuat patah tulang.

2. Variabel bergantung

Kadar Prostaglandin-E2 pada darah domba

3. Variabel kendali

Umur dan status gizi

3.4.5. Pengambilan sampel

Pengambilan darah sebesar 5 cc dilakukan melalui vena jugularis pada hari ke-7, 15 dan 30 setelah operasi, baik pada perlakuan maupun kontrol. Darah diendapkan untuk diambil serumnya, dan disimpan dalam almari pendingin. Termos es diperlukan untuk mendinginkan sampel dalam perjalanan ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan PGE2 darah dengan metode *Sandwich* ELISA.

3.4.6. Pengukuran PGE2 darah dengan metoda sandwich ELISA

Pengukuran prostaglandinE2 (PGE2) dalam darah dikuantifikasi menggunakan *immunoassay* dengan metode *sandwich* ELISA (Quantikine R&D Systems). Pengukuran ProstaglandinE2 (PGE2) dilakukan dengan menggunakan dua *monoclonal antibody* yaitu *capture antibody* dan *detection antibody*, yang dilakukan sesuai petunjuk pelaksanaan yang terdapat pada *insert kit*.

Sampel dan protein standart diinkubasi pada mikroplate 96 well yang telah dicoating menggunakan *capture antibody* (mouse monoklonal anti PGE2) selama 2 jam. Setelah itu dicuci dengan *washing buffer* dan diinkubasi dengan *detection antibody* yang berlabel biotin selama 1 jam pada suhu 25°-30° C. Kemudian dicuci dengan *washing buffer* dan diinkubasi pada SA-HRP (*Horse Radis Peroxidase*) selama 40 menit, selanjutnya dicuci dengan *washing*

buffer. Diinkubasi lagi pada substrat *buffer* selama 30 menit kemudian teteskan *stop reaction* dan goyang pada secker selama 10 menit selanjutnya dilakukan pembacaan pada ELISA reader (BIORAD-505) pada 490nm.

3.5. Rancangan dan Analisis Data.

Semua preparat diperiksa prostaglandinE2-nya, kemudian dianalisis dengan uji *Analisis of variant (Anova)* rancangan atas tingkat (*treatment by level design*) (Sarmanu, 1995) dan apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mendapatkan perlakuan mana yang memberikan hasil yang terbaik (Kusriningrum, 1989). Semua data dianalisis statistik dengan program SPSS (*Statistical Program for Social Scientific*).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Bagian ini memuat analisis hasil penelitian yang relevan dengan tujuan dan hipotesisnya. Hasil pengukuran kadar ProstaglandinE2 (PGE2) pada hewan coba dan waktu pengambilan hari ke-7, ke-15 dan ke-30 setelah dilakukan pematangan tulang, reposisi dan sistem penanganan menggunakan intra medullary pin dan slotted plate screw terhadap pertengahan tulang metacarpal sinistra domba dilihat pada tabel dan gambar dibawah ini:

Tabel 4.1. Rataan \pm standar deviasi kadar ProstaglandinE2 (pg/ml) dalam darah kontrol dan perlakuan.

| Patah Tulang | Rataan \pm std.deviasi | | |
|--------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Hari ke-7 | Hari ke-15 | Hari ke-30 |
| Kontrol | 43.37 ^b \pm 9.55 | 28.50 ^b \pm 16.16 | 25.59 ^b \pm 3.80 |
| Perlakuan | 1443.23 ^a \pm 323.48 | 922.75 ^a \pm 742.76 | 894.93 ^a \pm 796.42 |

Keterangan : ^{a, b} superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

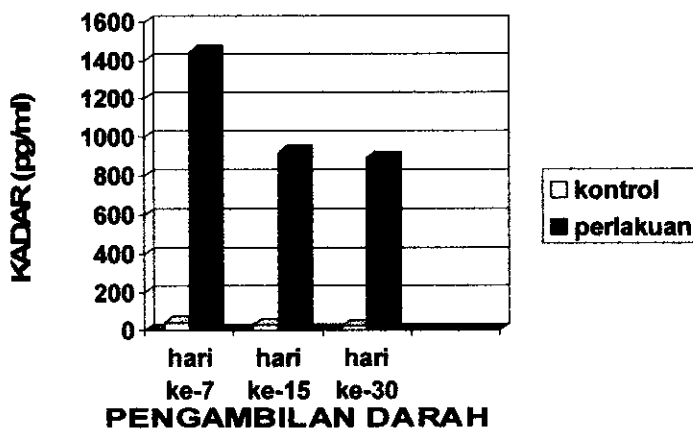
Berdasarkan hasil analisis statistik terdapat perbedaan yang sangat nyata kadar prostaglandinE2 (PGE2) ($p < 0,01$) antara perlakuan (domba dengan perlakuan patah tulang) dengan kontrol (domba tanpa perlakuan patah tulang) baik pada hari ke-7, hari ke-15 dan hari ke-30 pasca operasi.

Tabel 4.2. Rataan \pm standar deviasi kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah pada hari ke-7, hari ke-15 dan hari ke-30 pasca operasi.

| Hari | Rataan \pm std. deviasi |
|------|-----------------------------------|
| 7 | 1093.27 ^a \pm 707.99 |
| 15 | 699.19 ^{ab} \pm 751.37 |
| 30 | 677.59 ^{ab} \pm 785.04 |

Keterangan : ^a ^b superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Hasil analisis statistik kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba jantan pada hari ke-7 terdapat perbedaan yang nyata dengan hari ke-15 dan ke-30. Kadar ProstaglandinE2 (PGE2) pada hari ke-15 tidak berbeda nyata dengan hari ke-30 tetapi berbeda nyata dengan hari ke-7. Pada hari ke-30 kadar ProstaglandinE2 (PGE2) berbeda nyata dengan hari ke-7 tetapi tidak berbeda nyata dengan hari ke-15.



Gambar 4.1. Rataan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah kontrol dan perlakuan pada hari ke-7, 15, dan 30.

Hasil analisis statistik dengan uji Duncan pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa rata-rata kadar ProstaglandinE2 (PGE2) tertinggi dihasilkan oleh perlakuan (patah tulang) dan rata-rata kadar ProstaglandinE2 (PGE2)

terendah dihasilkan oleh kontrol (tulang normal), sedangkan menurut waktu pengambilan darah menunjukkan bahwa rata-rata kadar ProstaglandinE2 (PGE2) tertinggi dihasilkan pada waktu pengambilan darah hari ke-7 dan rata-rata kadar ProstaglandinE2 (PGE2) terendah dihasilkan pada waktu pengambilan darah ke-30.

BAB V

PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Kadar Prostaglandin E2 (PGE2)

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba jantan selama masa penyembuhan patah tulang jenis tidak stabil terdapat perbedaan antara kontrol dan perlakuan. Hal ini disebabkan pada kontrol (domba jantan tanpa perlakuan patah tulang) tidak terjadi gerakan antar fragmen seperti yang terjadi pada patah tulang. Tanpa adanya gerakan antar fragmen tersebut tidak akan memicu dikeluarkannya mediator-mediator biokimiawi antara lain ProstaglandinE2 (PGE2) morphogen dan *Growth Factor* (GF) (Sjarwani,2006), sehingga kontrol tidak terjadi peningkatan kadar ProstaglandinE2 (PGE2). Pada perlakuan (domba jantan dengan perlakuan patah tulang) terjadi gerakan antar fragmen yang memicu dikeluarkannya mediator biokimiawi antara lain ProstaglandinE2 (PGE2) morphogen dan *Growth Factor* (GF).

5.2. Kadar Prostaglandin E2 (PGE2) pada waktu pengambilan darah

Tingginya kadar ProstaglandinE2 (PGE2) selama proses penyembuhan patah tulang jenis tidak stabil pada *ossa metacarpal* domba dapat dipengaruhi oleh waktu pengambilan darah.

Kadar ProstaglandinE2 (PGE2) yang tinggi pada hari ke-7 disebabkan karena pada hari ke-7 merupakan fase inflamasi dalam proses penyembuhan

tulang. Fase inflamasi ditunjukkan dengan vasodilatasi vaskuler dan terjadinya migrasi sel-sel mesenkimal misalnya *embryonal like cell*, *pluripotent* dan *fibroblast like cell*, sedangkan pada fase reparasi terjadi pergantian sel-sel nekrotik dan bahan yang rusak melalui proliferasi (Frost,1989).

Kadar ProstaglandinE2 (PGE2) pada pengambilan darah hari ke-15 lebih rendah dibandingkan dengan kadar ProstaglandinE2 (PGE2) pada pengambilan darah hari ke-7, tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan hari ke-30, hal ini menunjukkan bahwa pada hari tersebut masuk ke dalam fase reparasi dalam proses penyembuhan patah tulang, ditandai dengan pergantian sel nekrotik dan bahan yang rusak melalui proliferasi. Berproliferasinya sel-sel disebabkan oleh kombinasi dari faktor pertumbuhan dalam hematoma yang dilepaskan oleh tulang yang rusak dan jaringan lunak. Serta respons intrinsik dari endosteum dan periosteum untuk berproliferasi apabila secara fisik terganggu.

Kadar ProstaglandinE2 (PGE2) terendah didapat pada pengambilan darah hari ke-30, karena pada seluruh perlakuan menunjukkan bahwa pada hari tersebut masuk ke dalam fase remodeling dalam proses penyembuhan patah tulang. Fase ini terjadi akibat adanya resorpsi pada daerah tertentu dan peletakan tulang pada tempat yang lain. Resorpsi tulang berhubungan dengan aktifitas osteoklas (Lesson dkk,1996).

Aktifitas osteoklas yang menyebabkan resorpsi tulang akan terhenti setelah *osteoblastic stromal cell* membentuk anti osteoklas

(*Osteoprotegrin/OPG*). *OPG* akan menutup *Receptor Activator Nuclear Kappa-B Ligand (RANKL)* pada sel stroma, dengan tertutupnya *RANKL* pada sel stroma akan mencegah reseptor aktifator dari osteoklas berikatan dengan *RANKL* pada stroma sehingga produksi osteoklas akan diminimalisir (Kalanjanti, 2005).

RANKL adalah salah satu signal yang diperlukan untuk diferensiasi dan aktivasi preosteoklas menjadi osteoklas. *RANKL* sendiri disekresikan oleh sel osteoklas dan osteoklas prekursor (Kalanjanti, 2005). Proses tersebut diasumsikan bahwa *osteoblastic stromal cell* akan lebih banyak memproduksi osteoblas yang akan menghasilkan *IL-6* dengan rangsangan *PGE2*.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa kadar *PGE2* yang tertinggi dihasilkan oleh perlakuan pada hari ke-7, ke-15 dan ke-30 dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan pada perlakuan terdapat celah pada bagian patah tulang dan terjadi gerakan yang sangat besar akan menimbulkan tegangan yang besar sehingga terjadi *erupsi* yang akhirnya berakibat *ruptur* (Frost, 1989).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian kadar prostaglandinE2 (PGE2) dalam darah selama proses penyembuhan patah tulang jenis tidak stabil pada metacarpal domba jantan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba jantan selama masa penyembuhan patah tulang terdapat perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan (domba yang patah tulang) dengan domba yang sehat.
2. Terdapat perbedaan yang nyata kadar ProstaglandinE2 (PGE2) dalam darah domba jantan berdasarkan waktu pengambilan darah (7 hari, 15 hari dan 30 hari) pasca operasi.

6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diajukan saran bahwa :

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan PGE2 sebagai marker dalam mendiagnosa kejadian patah tulang.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan parameter yang lebih kompleks untuk meyakinkan dalam diagnosa kesembuhan tulang.

RINGKASAN

Patah tulang merupakan salah satu kasus yang dijumpai di klinik hewan maupun pada dokter hewan praktek. Mengingat adanya insiden kasus patah tulang jenis tidak stabil, penulis mencoba untuk mengetahui kadar ProstaglandinE2 (PGE2) pada penanganan patah tulang dengan memperhatikan efek *micromovement axial* terhadap proliferasi osteoblas. Proliferasi osteoblas dirangsang oleh hormon Parathyroid (PTH) dan ProstaglandinE2 (PGE2) yang merupakan salah satu indikator dalam proses penyembuhan patah tulang untuk mensekresikan IL-6 maupun alkaline fosfatase.

Penelitian ini bertujuan mengetahui kadar Prostaglandin-E2 dalam darah sebagai salah satu indikator dalam proses penyembuhan tulang yang mengalami patah tulang jenis tidak stabil pada metacarpal domba.

Penelitian ini menggunakan sampel 16 ekor domba jantan, rata-rata berat badan 18 kg, dengan rata-rata umur 8 bulan sebagai hewan coba dan dipatahkan tulangnya pada umur 9 bulan dengan sistem fiksasi menggunakan *intramedullary pin* dan *slotted plate screw*. Domba-domba dibagi dalam perlakuan patah tulang (perlakuan) dan tanpa perlakuan patah tulang (kontrol) selain itu dilihat menurut hari pengambilan darah. Metode penelitian terdiri dari tiga tahap penelitian yaitu persiapan percobaan, pelaksanaan operasi dan pemberian kelompok (kontrol dan perlakuan). Pengambilan darah pada hari ke-7, ke-15, dan ke-30 post operasi melalui

vena jugularis untuk analisis ProstaglandinE2 (PGE2), dan pengukuran kadar ProstaglandinE2 (PGE2) darah melalui tehnik *sandwich* ELISA.

Hasil dianalisis dengan uji *Analisis of variant* (Anova). Rata-rata kadar PGE2 tertinggi dihasilkan oleh perlakuan patah tulang yang sangat berbeda nyata dengan kontrol. Rata-rata kadar PGE2 tertinggi pada hari ke-7 berbeda nyata dengan hari ke-15 dan ke-30, dan hasil terendah didapat pada hari ke-30.

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian dengan menggunakan parameter yang lebih komplek yang dapat digunakan sebagai indikator proses penyembuhan tulang, sehingga didapatkan suatu diagnosa yang lebih meyakinkan terhadap proses kesembuhan tulang.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, 2002. Altruis Biomedical Network. www.e-prostaglandin.com : information on prostaglandins. 10 Agustus 2006.
- Buckwalter, J.A. and Cruess, D.L. 1991. Healing of The Musculoskeletal Tissues. In Rockwood and green's Fracture in Adults, 3rd Edition JB Lipincott Co. Philadelphia.
- Djojoseobagio, S. 1996. Fisiologi Kelenjar Endokrin. Cetakan Pertama. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Febbraio, M.A. and Pedersen B.K. 2005. Contraction-induced myokine production and release is Skeletal Muscle and Endocrine. Wikimedia Foundation, Inc.
- Frost. 1989. The Biology of Fracture Healing part II. Clinical Orthopaedics and Related Research, Number 248. P 294-309.
- Handojo, I. 1996. Imunoasai III. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Junquera, LC dan Carneiro, J. 1997. Histologi Dasar. Ahli Bahasa Jan Tambayong. Edisi 8. EGC. Jakarta.
- Kalajanti, V.P. 2005. Immunological Aspect on Bone Cells. Department of Anatomy and Histology Airlangga University School of Medicine Surabaya.
- Kresno, S. B. 1996. Imunologi Diagnosis dan Prosedur Labolatorium. Edisi III. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal 314-315.
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lesson T.S, Lesson CR, Paparo AA. 1996. Buku ajar Histologi. Cetakan VI. EGC. Jakarta.
- Prijosepoetro, S. 2003. Pengantar Anatomi Veteriner Edisi ke-3. Bagian Laboratorium Anatomi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Rantam, F.A. 2003. Metode imunologi. Airlangga University Press. Surabaya.
- Rassad, G. Ilyas, M.D. Rachman dan I. Ekayuda. 1992. Radiologik Diagnostik. Sub Bagian Radio Diagnostik, Bagian Radiologi Kedokteran. Universitas Indonesia. R.S. Dr. Cipto Mangunkusumo. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Rodan, G. A., and Martin, J. T. 2000. Therapeutic Approaches to Bone Disease. Science. vol .289. 1508-1514.
- Sarmanu, 1995. Pelatihan Metodologi Penelitian Tingkat Lanjut. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 120.
- Sjarwani, A. 2001. Repetitive Axial Compression Distraction stabilization pada Percepatan "Bone Healing" pada tibia jenis tidak stabil ("Butterfly"). Surabaya.
- Sjarwani, A. 2006. Immediate Repetitive Axial Compression Tention Stabilization pada Percepatan Penyambungan Patah Tulang Panjang. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Suwarno, E. Rahayu, A.P. Rahardjo, N. Sianita, J. Rahmahani, F. A. Rantam. 2003. Prinsip Dasar Optimalisasi dan Interpretasi Hasil Uji ELISA. FKH. Unair. Surabaya.
- Tjokronegoro, A. Dan Setiawan, B. 1983. Prostaglandin dan Implikasi Klinis. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. vii dan 86.
- Ueno, K. Kimmel, P.B. Haba, T. and Jee, W.S.S. 1984. Endocrine Control of Bone and Calcium Metabolism. Amsterdam : Elsevier, 151-154.
- Yudaniyanti, IS. 2004. Hand out Fraktur. Bagian Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan. Surabaya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis data

Summarize

Case Sumaries (a)

| | | | | | PGE-2 | | |
|------------------|-----------------|-----------|----------------|----------------|-----------|----------------|----------|
| Hari ke ke-7 | Patah Tulang | Kontrol | 1 | | 54.00 | | |
| | | | 2 | | 32.18 | | |
| | | | 3 | | 39.45 | | |
| | | | 4 | | 47.84 | | |
| | | | | Total | | Mean | 43.3675 |
| | | | | | | Std. Deviation | 9.5492 |
| | | Perlakuan | 1 | | | | 1655.82 |
| | | | 2 | | | | 1715.82 |
| | | | 3 | | | | 1710.36 |
| | | | 4 | | | | 1746.55 |
| | | | 5 | | | | 1668.85 |
| | | | 6 | | | | 1518.55 |
| | | | 7 | | | | 1677.84 |
| 8 | | | | | 1554.00 | | |
| 9 | | | | | 938.09 | | |
| 10 | | | | | 1018.55 | | |
| 11 | | | | | 1130.36 | | |
| 12 | | | | | 984.00 | | |
| | | Total | | Mean | 1443.2325 | | |
| | | | | Std. Deviation | 323.4825 | | |
| | | Total | Mean | | 1093.2663 | | |
| | | | Std. Deviation | | 707.9878 | | |
| Hari ke ke-15 | Patah Tulang | Kontrol | 1 | | 49.45 | | |
| | | | 2 | | 33.00 | | |
| | | | 3 | | 15.73 | | |
| | | | 4 | | 15.82 | | |
| | | | | Total | | Mean | 28.5 |
| | | | | | | Std. Deviation | 16.15557 |
| | | Perlakuan | 1 | | | | 1802.18 |
| | | | 2 | | | | 1804.00 |
| | | | 3 | | | | 1803.09 |
| | | | 4 | | | | 1810.36 |
| | | | 5 | | | | 902.18 |
| | | | 6 | | | | 900.36 |
| | | | 7 | | | | 898.09 |
| 8 | | | | | 898.55 | | |
| 9 | | | | | 54.00 | | |
| 10 | | | | | 58.55 | | |
| 11 | | | | | 85.82 | | |
| 12 | | | | | 55.82 | | |
| | | Total | | Mean | 922.75 | | |
| | | | | Std. Deviation | 742.7562 | | |
| | | Total | Mean | | 699.1875 | | |
| | | | Std. Deviation | | 751.3715 | | |
| Hari ke ke-30 | Patah Tulang | Kontrol | 1 | | 25.82 | | |
| | | | 2 | | 20.38 | | |
| | | | 3 | | 29.45 | | |
| | | | 4 | | 26.73 | | |
| | | | | Total | | Mean | 25.595 |
| | | | | | | Std. Deviation | 3.80334 |
| | | Perlakuan | 1 | | | | 1971.27 |
| | | | 2 | | | | 1822.18 |
| | | | 3 | | | | 1868.55 |
| | | | 4 | | | | 1976.73 |
| | | | 5 | | | | 78.55 |
| | | | 6 | | | | 76.73 |
| | | | 7 | | | | 74.91 |
| 8 | | | | | 75.82 | | |
| 9 | | | | | 634.00 | | |
| 10 | | | | | 736.73 | | |
| 11 | | | | | 687.64 | | |
| 12 | | | | | 738.09 | | |
| | | Total | | Mean | 894.9333 | | |
| | | | | Std. Deviation | 798.4204 | | |
| | | Total | Mean | | 677.5988 | | |
| | | | Std. Deviation | | 785.0448 | | |
| Total | Mean | | | | 823.3508 | | |
| | Std. Deviation | | | | 750.8186 | | |

A Limited to fist 100 cases

Univariate Analysis of Variance

Between-subjects factors

| | | N | |
|--------------|---|------------|----|
| Hari ke | 1 | Hari ke-7 | 16 |
| | 2 | Hari ke-15 | 16 |
| | 3 | Hari ke-30 | 16 |
| Patah tulang | 1 | Kontrol | 12 |
| | 2 | Perlakuan | 36 |

Descriptive Statistics

Dependent Variable : PGE-2

| Hari ke | Patah Tulang | Mean | Std.Deviation | N |
|------------|--------------|-----------|---------------|----|
| Hari ke-7 | Kontrol | 43.3675 | 9.5492 | 4 |
| | Perlakuan | 1443.2325 | 323.4825 | 12 |
| | Total | 1093.2663 | 707.9878 | 16 |
| Hari ke-15 | Kontrol | 28.5000 | 16.15557 | 4 |
| | Perlakuan | 922.7500 | 742.75620 | 12 |
| | Total | 699.1875 | 751.37150 | 16 |
| Hari ke-30 | Kontrol | 25.5950 | 3.80334 | 4 |
| | Perlakuan | 894.9333 | 796.42040 | 12 |
| | Total | 677.5988 | 785.04483 | 16 |
| Total | Kontrol | 32.3208 | 12.88794 | 12 |
| | Perlakuan | 1086.9719 | 686.31471 | 36 |
| | Total | 823.3091 | 750.8186 | 48 |

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PGE-2

| Source | Type II Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------------------|----|-------------|--------|------|
| Model | 45117473.3 ^a | 6 | 7519578.878 | 21.304 | .000 |
| Hari | 2271830.315 | 2 | 1135915.157 | 3.218 | .050 |
| Fraktur | 8634507.992 | 1 | 8634507.992 | 24.463 | .000 |
| Hari * Fraktur | 172711.913 | 2 | 86355.957 | .245 | .784 |
| Error | 14824483.0 | 42 | 352963.881 | | |
| Total | 59941956.3 | 48 | | | |

a. R Squared = .753 (Adjusted R Squared = .717)

Post Hoc Tests
Hari
Homogeneous Subsets

PGE-2

Duncan (a,b)

| Hari ke | N | Subset | |
|------------|----|----------|-----------|
| | | 1 | 2 |
| Hari ke-30 | 16 | 677.5988 | |
| Hari ke-15 | 16 | 699.1875 | |
| Hari ke-7 | 16 | | 1093.2663 |
| Sig. | | .919 | 1.000 |

Means for groups in homogenous subsets are displayed.

Based on type II Sum of Squares

The error term is mean Squares (Error) = 352963.881.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 16.000
- b. Alpha = .05