

DISERTASI

ANALISIS MEKANISME PERAWATAN DEFEK OSTEOMYELITIS TULANG MANDIBULA DENGAN TERAPI SISTEMIK ION PERAK



R. ARIES MUHARRAM

**PROGRAM STUDI DSOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**ANALISIS MEKANISME PERAWATAN
DEFEK OSTEOMYELITIS TULANG MANDIBULA
DENGAN TERAPI SISTEMIK ION PERAK**

R. ARIES MUHARRAM

**PROGRAM STUDI DSOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**ANALISIS MEKANISME PERAWATAN
DEFEK OSTEOMYELITIS TULANG MANDIBULA
DENGAN TERAPI SISTEMIK ION PERAK**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Surabaya

Hari : Kamis
Tanggal : 30 Juni 2022
Pukul : 10.00 WIB

Oleh :

**R. ARIES MUHARRAM
011517017314**

**PROGRAM STUDI DSOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

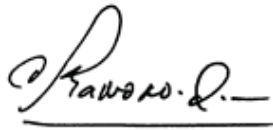
LEMBAR PENGESAHAN

ANALISIS MEKANISME PERAWATAN DEFEK OSTEOMYELITIS TULANG MANDIBULA DENGAN TERAPI SISTEMIK ION PERAK

**TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 26 APRIL 2022**

Oleh

Promotor



**Prof . Coen Pramono D, drg., SU., Sp.BMM(K)., FICS
NIP: 19540210.197901.1.001**

Kopromotor



**Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes
NIP. 19691122 1996012001**

PANITIA PENETAPAN PENGUJI

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Akhir Tahap 1 (Tertutup)
pada Tanggal 23 Maret 2022**

Panitia Penguji:

- Ketua** : 1. Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK (K)
- Anggota** : 2. Prof. R.M. Coen Pramono D, drg., SU., Sp.BM(K)., FICS
3. Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes.
4. Prof . Dr. Widji Soeratri, DEA., Apt
5. Prof. Mei Syafriadi, drg., MDSc., Ph.D, Sp.PM
6. Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp.BM (K)
7. Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes.
8. Dr. Hendrik Setiabudi, drg., M.Kes.

Ditetapkan dengan surat keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 139/UN3.1.1/HK/2022
Tanggal : 23 Maret 2022

PERNYATAAN OPRISINALITAS PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : . R. Aries Muharram
NIM : 011517017314
Program Studi : S3 Ilmu Kedokteran
Alamat / No. Telp : Dharmahusada Indah Utara IV No.38
(Blok B-127) Telp. 08993363303

Dengan ini menyatakan bahwa :

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

Surabaya, 23 Maret 2022
Yang membuat pernyataan



R. Aries Muharram
NIM. 011517017314

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrohmanirrohim

Alhamdulillah rabbil'alamina senantiasanya saya panjatkan kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan. Semua ini dapat diselesaikan berkat perkenan dari Allah Subhanahu wa Ta'ala serta dorongan, bimbingan, arahan, saran dan perbaikan dari banyak pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat, drg., SU, Sp.BM(K), FICS. atas kesediaan beliau sebagai Promotor yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan selalu memberikan dorongan, dukungan, memberikan ilmu, membimbing penelitian, membuka wawasan dan cara berfikir saya, serta memberikan pemikiran yang sangat berharga selama saya menjalani program pendidikan doktor hingga selesainya disertasi ini. Saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga.

Dr Pratiwi Soesilowati, drg., M.Kes. atas kesediaan sebagai Ko-Promotor yang telah meluangkan waktu dengan penuh kesabaran dan keikhlasan selalu memberikan dorongan, dukungan, serta memberikan pemikiran yang sangat berharga selama saya menjalani program pendidikan doktor hingga selesainya disertasi ini. Saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga.

Rector Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mochammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA., atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang telah diberikan kepada saya

untuk mengikuti dan menyelesaikan gelar Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) dan Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K) sebagai mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan gelar Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr. Sp.OG(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr, MSc., SpPD-KR dan Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A(K), Sp.JP.FIHA selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas nasehat dan perhatian yang diberikan kepada saya selama mengikuti pendidikan. Kepada Dr. Arifa Mustika, dr.,M.Si selaku Sekretaris Program Studi dan Dr. Ni Wajan Tirthaningsih, dr., MS., PA(K) selaku Sekretaris Program Studi periode 2016-2020. Dr. Soetopo, drg., M.Sc., selaku Koordinator pelaksana pendidikan Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor. Dr. Reny I'tishom., M.Si sebagai GPM gugus penjaminan Program Studi Ilmu Kedokteran serta Adhriyani, dra., Fitriyah Diah Isnaeni, dra., Pramita Kurnia Sari, dan Sobkhi Mafakhir.

Dr. Agung Sosiawan drg., M.Kes., M.H. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU, Sp.BM(K) FICS. sebagai mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang telah diberikan kepada

saya untuk mengikuti dan menyelesaikan gelar Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga.

Jajaran Tim Dekanat FKG Unair periode 2020-2025 Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Wakil Dekan I, Dr. Muhammad Luthfi, drg., M.Kes., selaku Wakil Dekan II, Andra Rizqiawan, drg., Ph.D., Sp.BM selaku Wakil Dekan III., serta Jajaran Tim Dekanat FKG UNAIR Prof., Dr. Anita Yulianti, drg. M.Kes, Dr. Agung Sosiawan drg., M.Kes., M.H., Prof. Dr. Rini Devijanti Ridwan, drg., M.Kes atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan gelar Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga.

Terima kasih sebesar besarnya saya ucapkan kepada panitera Ujian Disertasi terbuka saya pada tanggal 30 Juni 2022 sebagai berikut Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) sebagai Pimpinan Sidang, Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU, Sp.BM(K) FICS sebagai Promotor, Dr Pratiwi Soesilowati, drg., M.Kes selaku Co Promotor. serta kepada seluruh Penyanggah; Prof. Dr. Aryati, dr., MS, Sp.PK(K), Dr. Hanik Badriyah Hidayati., dr., Sp.N (K), Dr. Arifa Mustika., dr., M.Si, Dr. Meity Ardiana., dr., Sp.JP (K), Dr. Anis Irmawati., drg., M.Kes serta Dr. Erna Sulistyani., drg., M.Kes. Juga kepada para undangan akademik; Prof. Asti Meizarini drg, MS, R. Harly Prabowo drg Phd., Sp.Prosth (K), Dr Masniari Novita, drg., MKes, SpOF(K), Dr. Andrianto, dr. SpJP(K), FIHA, FAsCC, Dr. dr. Dyana Sarvasti, SpJP(K), FIHA, FAsCC, Dr. Fanny Margaretha Laihad.drg, SpBM,MM , Dr. Febriastuti cahyani, drg., Sp.KG(K).

Terima kasih yang tulus saya ucapkan kepada Pembimbing dan seluruh Penguji:

Prof. Dr. Widji Soeratri, Apt., DEA., yang membantu sejak menjadi penasehat akademik melampaui langkah kualifikasi serta banyak memberikan ilmu dengan basis bidang ilmu Farmasi, bimbingan dan saran yang sangat berharga untuk penyusunan naskah mulai prakualifikasi hingga selesainya penulisan disertasi.

Prof. Mei Syafriadi, drg., MDSc., PhD., AP. PMM(K). yang telah memberikan bimbingan yang besar bagi kemajuan cara berpikir ilmiah saya, membimbing dalam penelitian dari awal hingga akhir, membantu memberikan arahan dan mencari solusi menyelesaikan tahapan tahapan dengan pemahaman di bidang Patologi Anatomi hingga selesainya penulisan disertasi.

Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp,BM(K)., Seniorku yang selalu telah memberi dukungan, memberikan kedalaman ilmu, memberikan arahan, mencari solusi dan memberikan saran yang amat sangat berharga dalam penyusunan naskah di bidang regenerasi tulang mulai dari ujian prakualifikasi hingga selesainya penulisan disertasi

Prof. Dr. Aryati, dr., MS, Sp.PK(K)., Kakakku yang selalu telah memberi dukungan, memberikan ilmu terutama yang terkait dengan bidang patologi klinik, serta memberikan arahan, mencari solusi dan memberikan saran yang amat sangat berharga dalam penyusunan naskah mulai dari ujian prakualifikasi hingga selesainya penulisan disertasi.

Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes yang telah memberikan ilmu, membimbing pengolahan statistik, serta memberikan arahan di bidang kesehatan masyarakat, mencari solusi dan memberikan saran yang sangat berharga dalam penyusunan

naskah di bidang analisis statistik mulai dari ujian prakualifikasi hingga selesainya penulisan naskah disertasi.

Dr. Hendrik Setiabudi, drg., M. Kes yang telah memberikan kedalaman ilmu Farmakologi, membimbing, memberikan arahan. mencari solusi dan memberikan saran yang sangat berharga selama saya bekerja di *Research Center* FKG UNAIR serta dalam penyusunan naskah di bidang mulai dari ujian prakualifikasi hingga selesainya penulisan naskah disertasi.

Ucapan terimakasih juga saya sampaikan kepada Para Dosen saya di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga: Prof. Dr. Harjanto, dr., AIF (alm), Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., M.S., Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si., Prof. Dr. Purnomo Suryohudoyo, dr., Sp.BK., Prof. Dr. Indri Safitri Mukono, dr., M.S., Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., M.S., Prof. Dr. Aryati, dr., M.S., Sp.PK(K), Prof. Dr. Muhammad Zainuddin, Apt., Widodo Jatim Pudjirahardjo, dr., M.S., M.P.H., Dr.P.H., Dr. Florentina Sustini, dr., M.S., Dr. Soenaryo, dr., M.S., M.Sc., Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes., Siti Pariani, dr., M.S., M.Sc., Ph.D., Dr. Gondo Mastutik drh., M.Kes.,

Ninuk Hariyani, drg., M.Kes., MPh., PhD, staff Staf IKGM Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, atas waktu yang diluangkan, kesabaran dan bantuannya dalam konsultasi statistik.

Wibi Riawan, S.Si staff Laboratorium Biokimia dan Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, atas waktu yang diluangkan, kesabaran dan bantuannya dalam pengecatan imunohistokimia serta selalu memberikan penjelasan dan pemahaman semua proses juga semua tahapan pengerjaan dan pembacaan preparat.

Eta Radhianto, A.Md dan Indah Pebriani, A.Md, staff *Research Center*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, atas waktu yang diluangkan, kesabaran dan bantuannya dalam pengolahan bakteri, pengenceran larutan perak serta proses *MTT Assay* serta selalu memberikan penjelasan dan pemahaman semua proses juga semua tahapan pengerjaan.

Didik Aristianto, S.PSi, staff Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, atas waktu yang diluangkan, kesabaran dan bantuannya dalam pengadaan, pemeliharaan serta proses pengolahan hewan coba dan selalu memberikan penjelasan dan pemahaman semua proses juga semua tahapan pengerjaan.

Kepada semua teman-teman peserta Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga angkatan 2015, yang saling mendorong, mendukung, mengingatkan dan memberi masukan, Dr. Rima Parwati Sari, drg. M.Kes., Dr. Titut Harnanik, dr., M.Kes., Dr. Erna Sulistiyani, drg. MS., Dr. Prastiya Indra Gunawan, dr., Sp.A. (K), Dr. Irwan Berlian I Haq, dr. Sp.B (K)., Dr. Andrianto, dr. Sp.JP (K)., Dr. Sriyana Herman AMK., SKM., M.Kes., Dr. Heny Astutik S., S.Kep., Ns., M.Kes., Ninik Darsini, dr., M.Biomed., Dr. Mira Irmawati, dr. Sp.A (K)., Sri Astutik Handayani S.Kep.Ns.,M.Kes. Andre Triadi Desnanto, dr., Sp.Ort (K), Ulfa Sulaeman, SKM., M. Kes.

Kepada senior dan teamwork Departemen Bedah Mulut dan Maksilofasial: Prof. Coen Pramono D, drg., SU., Sp.BM(K) FICS., Prof. Dr. Peter Agus, drg. M.S. Sp.BM(K), Roberto Simanjuntak, drg. M.S. Sp.BM(K), Djodi Asmara, drg. SU. Sp.BM(K), Herdi Eko, drg. SU. Sp.BM(K), Bambang Surjanto, drg. M.S., Endrajana drg. M.S. Sp.BM (alm), R. Soesanto drg. M.S. Sp.BM(K) (alm),

Bambang Saptoyono, drg. M.S. Sp.BM(K) (alm), Sigit drg. M.S. (alm), Lukman Bahar, drg. M.Kes. (alm), Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp.BM(K)., Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., Sp.BM(K)., Andra Rizqiawan, drg., Ph.D., Sp.BM(K)., FICS., M. Subhan Amir, drg., Ph.D., Sp.BM(K)., Indra Mulyawan, drg., Sp.BM(K)., FICS., Ganendra Anugraha, drg., Sp.BM(K)., FICS., Liska Barus, drg., Sp.BM(K)., M.Ked.Klin., Reza Al Fessi, drg., Sp.BM(K)., M.Ked.Klin., Desi Setya Puspitasari, dan Rochmatus Sholichah, S.S. yang telah mendukung dan berkontribusi, dalam pendidikan Doktor ini. Terimakasih atas segala kerjasamanya.

Kepada sahabat-sahabatku yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang selalu mendorong, mendukung, mendoakan dan memberi masukan, sehingga berkontribusi dalam penulisan ini.

Kepada semua tim penulis yang telah memberikan dedikasi dan kebersamai peneliti sejak awal pendidikan sampai akhir penyusunan penelitian sehingga menjadi tulisan disertasi utuh.

Ucapan terimakasih, rasa hormat dan kasih sayang saya sebesar-besarnya kepada:

Kedua orang tua tercinta ayahanda Prof. R. Hartono, drg (alm) dan ibunda Toetiasih, drg (alm) atas pengorbanan, kasih sayang, doa-doa, bimbingan, yang tidak putus-putusnya hingga akhir hayat, juga kedua mertua tercinta, Prof R. Hariadi, dr., Sp.OG dan Sri Sanituti S.H, M.S. (alm), atas doa dan kasih sayang yang diberikan kepada saya.

Saudara-saudara tercinta; keluarga besar R. Haryanto Aswin, dr., M.S., keluarga besar Prof. Asti Meizarini, drg, M.S, keluarga besar R. Harly Prabowo,

drg., M.Sc., Ph.D., Sp.Pros, keluarga besar Prof. Dr. Rr. Aryati, dr., M.S., Sp.PK(K), keluarga besar Dr. Dyana Sarvasti dr., M.Kes., Sp.JP (K) yang telah mendorong dan mendukung untuk melanjutkan Pendidikan Doktoral.

Keluarga terkasihi; istri tercinta Dyani Budhita,drg., serta anak-anakku tersayang R. Agastya Ardhita Putera Ramadhan dan R. Devathara Ardisatrya yang telah mengizinkan, mendorong dan mendukung untuk melanjutkan sampai menyelesaikan pendidikan Doktor ini.

Dan tak lupa kepada ananda ; Aninditya Pimas drg, Martining Shoffa, Ilham Nur Muhammad, Rainy Anis Daningtyas drg, Maria Andisa. drg, Meliavita Nindya Kusuma Astuti, drg, Herlina MP. Dr, Reza Al Fessi drg. MedKlin. Sp. BM(K), Adi Rizal Soleh. drg., . MedKlin. Sp. BM. Yoga Mahardika. drg., . MedKlin. Sp. BM Abdul Muin Busri. drg., . MedKlin. Sp. BM, Prasidda mahadhika. drg.

Semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu kedokteran maupun kedokteran gigi dan bagi siapapun yang berkepentingan. Semoga Allah SWT memberikan rahmat dan anugerahNya untuk kita semua. Amin YRA.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih banyak kekurangan. Penulis menyampaikan permintaan maaf dan mohon kritik saran yang membangun demi perkembangan ilmu pengetahuan. Akhir kata, semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Surabaya, 30 Juni 2022

Penulis

RINGKASAN

Osteomyelitis merupakan suatu infeksi pada tulang yang diakibatkan oleh aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Bakteri tersebut membentuk biofilm yang cukup tebal juga bersembunyi bersama osteosit, sehingga tidak mudah dibunuh oleh antibiotik biasa. Sejumlah penanganan antibiotik lanjutan pada kasus osteomyelitis memerlukan waktu yang panjang, yaitu selama 4-6 minggu secara parenteral (induksi) dan dilanjutkan 2-3 bulan per oral (konsolidasi). Hal ini banyak menyebabkan berbagai permasalahan, terutama dalam hal kepatuhan pengobatan dan resistensi, serta kekambuhan. Oleh sebab itu, diperlukan jenis terapi lain yang mampu mengatasi osteomyelitis dengan efek samping yang minimal, salah satu contohnya adalah penggunaan ion perak. Perak dapat memicu diferensiasi osteoblast dan menghambat proliferasi osteoklas, serta mempercepat proses remodeling pada tulang, dimana seluruh proses yang terjadi melibatkan beberapa sel dan marker osteogenesis, seperti Osteoklas, Osteoblas, Makrofag, aktivitas apoptosis sel osteosit, *Vascular endothelial Growth Factor* (VEGF), *Runt-related transcription factor 2* (RUNX2), *Osteocalcin* (OCN), dan *Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (RANKL). Pada pengukuran konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM), ion perak memiliki aktivitas antimikroba tertentu tanpa disertai sitotoksisitas dengan nilai KHM sebesar 10^{-6} - 10^{-7} M dan KBM sebesar 0,25 μ M. Potensi ion perak inilah yang harus diteliti lebih lanjut, terutama jika dilakukan pemberian ion perak secara sistemik untuk mengatasi infeksi bakteri *S. aureus* pada kasus osteomyelitis.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa pemberian terapi ion perak secara sistemik selama tiga, tujuh dan empat belas hari, memberikan pengaruh pada penyembuhan defek osteomyelitis pada mandibula, dengan menganalisis jumlah makrofag, apoptosis osteosit, ekspresi RANKL, osteoklas, ekspresi VEGF, ekspresi RUNX2, ekspresi osteocalcin, osteoblast.

Penelitian pemberian ion perak secara sistemik pada tikus yang mengalami osteomyelitis ini memiliki beberapa hipotesis berupa perbedaan jumlah atau ekspresi makrofag, apoptosis osteosit, RANKL, osteoklas, VEGF, RUNX2, osteocalcin, dan osteoblas sebelum dan sesudah diberikan ion perak. Penelitian ini dirancang dengan metode *post-test only with control group design*, dimana terdapat kelompok perlakuan yang diinduksi dengan ion perak dan kelompok kontrol yang diberikan pengobatan berupa klindamisin. Tikus-tikus dipelihara dan diinduksi dengan *S. aureus* hingga menunjukkan tanda-tanda klinis osteomyelitis, seperti adanya hiperemi sampai sequester. Pada hari ke-14, tikus-tikus diberikan pengobatan sesuai dengan kelompoknya dan pada hari ke-17, terminasi dimulai hingga hari ke-28. Proses penelitian dilanjutkan dengan proses pembuatan sampel penelitian dan pengamatan dengan mikroskop untuk mengetahui jumlah sel makrofag, osteoklas, osteoblast, apoptosis osteosit, dan ekspresi RANKL, VEGF, RUNX2, dan Osteocalcin. Setelah data penelitian didapatkan, penelitian dilanjutkan dengan analisis statistik dengan uji normalitas menggunakan *One Sample Kolmogorov Smirnov* dan *Probability Plot*, uji homogenitas menggunakan *Levene test*, uji komparasi dengan *multivariate anova* (Manova) jika data terdistribusi normal dan dengan *Friedman test* jika tidak terdistribusi normal,

mengidentifikasi hubungan kausalistik dengan uji Spearman serta mengetahui pengaruh perlakuan dengan uji Regresi Linear.

Pada hasil penelitian, uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan data memenuhi persyaratan homogenitas menurut *Levene's test*. Analisis data selanjutnya, yaitu uji *multicollinearity* dan uji linearitas menyatakan bahwa persyaratan Uji Manova terpenuhi dan hasilnya menyatakan bahwa terdapat hasil yang berbeda secara signifikan ($p < 0.05$), baik berdasarkan kelompok perlakuan maupun waktu perlakuan di semua marker. Pemberian air ion perak meningkatkan jumlah RUNX2, osteoblas dan ekspresi osteocalcin yang mengarah pada pembentukan tulang baru sehingga remodeling tercapai. Selain itu, ion perak juga meningkatkan vaskularisasi melalui peningkatan ekspresi VEGF. Peningkatan proliferasi dan diferensiasi osteogenik menjadi proteoblas terjadi setelah pemberian ion perak secara sistemik melalui peningkatan RUNX2. Sel osteosit yang mengalami apoptosis juga menurun jumlahnya, sehingga mempengaruhi ekspresi RANKL dan jumlah osteoklas. Osteoklas, pada penelitian ini, masih meningkat jumlahnya hingga hari ke-28. Secara keseluruhan, ion perak memberikan gambaran positif pada homeostasis tulang terhadap terapi sistemik osteomyelitis.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah terapi ion perak secara sistemik memberikan efek positif terhadap penyembuhan defek osteomyelitis tulang mandibula dimana proses osteoklastogenesis tampak lebih tinggi pada penggunaan ion perak pada ketiga hari pengamatan dan pada proses osteoblastogenesis tampak lebih unggul pada hari ke-17 dan 21 yang diamati

melalui marker makrofag, apoptosis osteosit, RANKL, osteoklas, VEGF, RUNX 2, osteocalcin, dan osteoblas.

SUMMARY

Osteomyelitis is bone infection caused by the activity of Staphylococcus aureus (S. aureus). These bacteria form a thick biofilm which is not easily disrupted by antibiotics. Several of antibiotic treatments in cases of osteomyelitis require a long time administration, for 4-6 weeks parenterally (induction) and continued for 2-3 months orally (consolidation). This causes many problems, especially in terms of medication adherence and antibiotic resistance, as well as recurrence. Therefore, another option of therapy are needed which are able to treat osteomyelitis in minimal side effects, one example is the use of silver ions. Silver may trigger osteoblast differentiation and inhibit osteoclast proliferation, as well as accelerate the remodelling process in bone, where the entire process that occurs involves several cells and osteogenesis markers, such as osteoclasts, osteoblasts, macrophages, apoptotic activity of osteocyte cells, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Runt -related transcription factor 2 (RUNX2), Osteocalcin (OCN), and Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL). In the measurement of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), silver ion has a certain antimicrobial activity without cytotoxicity with MIC values of 10^{-6} - 10^{-7} M and MBC of 0.25 μ M. This potential of silver ions should be investigated further, especially if silver ions are administered systemically to treat S. aureus infection in cases of osteomyelitis.

This study of systemic administration of silver ions in mice with osteomyelitis has several hypotheses in the form of differences in the number or expression of macrophages, apoptosis of osteocyte, RANKL, osteoclasts, VEGF,

RUNX2, osteocalcin, and osteoblasts before and after administration of silver ions. This study was designed using a post-test only control group design, in which there was a treatment group induced with silver ion and a control group treated with clindamycin. The rats were induced with S. aureus to show clinical signs of osteomyelitis, such as hyperemia to sequestration. On the 14th day, the rats were given treatment according to the group and on the 17th day, termination was started until the 28th day. Then, continued to the process of sampling and observing with a microscope to determine the number of macrophages, osteoclasts, osteoblasts, apoptosis of osteocyte, also the expression of RANKL, VEGF, RUNX2, and Osteocalcin. After the data was obtained, continued with statistical analysis with normality test using One Sample Kolmogorov Smirnov and Probability Plot, homogeneity test using Levene test, comparison test with multivariate ANOVA (Manova) if the data was normally distributed or analyzed with Friedman test if the data was not normally distributed, identifying causal relationship with Spearman test and determine the effect of treatment with Linear Regression test.

In the results of the study, the normality test showed that the data were normally distributed and the data was homogeneous according to Levene's test. Subsequent data analysis, namely the multicollinearity test and linearity test stated that the Manova test requirements were met and the results stated that there were significantly different results ($p < 0.05$), both based on the treatment group and treatment time in all markers. Administration of silver ion water increases the number of RUNX2, osteoblasts and osteocalcin expression which leads to the formation of new bone formation so that remodelling is achieved. In

addition, silver ions also increase vascularity through increased VEGF expression. An increase in osteogenic proliferation and differentiation into proteoblasts occurs after systemic administration of silver ions via an increase in RUNX2. The number of osteocytes undergoing apoptosis also decreased, thus affecting the expression of RANKL and the number of osteoclasts. Osteoclasts, in this study, still increased in number until day 28. Overall, silver ions present a positive picture on bone homeostasis to systemic therapy of osteomyelitis.

The conclusion of this study is that systemic silver ion therapy has a positive effect on mandibular bone osteomyelitis defects healing in which the osteoclastogenesis process appears to be higher with silver ions administration on the three days of observation, and the osteoblastogenesis process appears to be higher on the 17th and 21st days of observation through the markers such as macrophage, apoptosis of osteocyte, RANKL, osteoclasts, VEGF, RUNX 2, osteocalcin, and osteoblasts.

ABSTRACT

Background: Osteomyelitis is an infection of the bones which is mostly caused by the activity of *Staphylococcus aureus*. This infection causes the process of osteoclastogenesis and osteoblastogenesis that involves several markers such as macrophages, VEGF, RUNX2, osteocalcin, osteoblasts, RANKL, osteoclasts, and osteocyte apoptosis. Oral or systemic therapy is a practical therapy for the osteomyelitis treatment. Silver ions are known to have a role in the management of osteomyelitis. **Purpose:** To analyze the number of macrophages, osteoblasts, osteoclasts, and osteocyte apoptosis, as well as the expression of VEGF, RUNX2, osteocalcin and RANKL on days 17, 21, and 28 after being given silver ions in rats with osteomyelitis. **Methods:** Rats were divided into 4 groups, namely the group without *S. aureus* inoculation, the group inoculated with *S. aureus*, the group inoculated with *S. aureus* and treated with clindamycin, and the group inoculated with *S. aureus* and treated with silver ion. The observed data were then analyzed using the Manova and LSD Test. **Results:** Systemic silver ion therapy was able to increase the number of macrophages and osteoblasts, as well as the expression of VEGF, RUNX2, and osteocalcin. In addition, silver ions were also able to reduce the number of osteoclasts and osteocyte apoptosis, and the expression of RANKL. **Conclusion:** Silver ion exerts a positive effect on bone homeostasis against osteomyelitis defect in the mandible of rats induced with *S. aureus*.

Keywords: Osteomyelitis, silver ion, systemic therapy, healing of infected bone, *Staphylococcus aureus*

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
sampul Dalam	ii
Lembar Persyaratan Doktor	iii
Lembar Pengesahan	iv
Susunan Panitia Penguji.....	v
Lembar orisinalitas	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN	xv
<i>SUMMARY</i>	xix
<i>ABSTRACT</i>	xxii
DAFTAR ISI.....	xxiii
DAFTAR TABEL.....	xxvii
DAFTAR GAMBAR	xxix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxxii
DAFTAR ARTI/LAMBANG/SINGKATAN/ISTILAH.....	xxxiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	8
1.3. Tujuan Penelitian	9
1.3.1 Tujuan Umum	9
1.3.2 Tujuan Khusus	9
1.4. Manfaat Penelitian	10
1.4.1 Manfaat teoritis	10
1.4.2 Manfaat praktis	10
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. Osteomyelitis	11
2.1.1. Epidemiologi.....	12
2.1.2. Etiologi Osteomyelitis	12
2.1.3. Zurich Classification.....	15
2.1.4. Patofisiologi osteomyelitis.....	15
2.1.5. Pembagian osteomyelitis	22

2.1.6	Penegakan diagnosis osteomyelitis.....	22
2.1.7	Tatalaksana osteomyelitis.....	24
2.2.	Proses Penyembuhan Tulang dan Sitokin yang Terlibat	25
2.2.1.	Makrofag.....	26
2.2.2.	Runt-related transcription factor 2 (RUNX2).....	26
2.2.3.	Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	27
2.2.4.	Osteocalcin.....	28
2.2.5.	Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)	30
2.2.6.	Osteoblas.....	31
2.2.7.	Osteoklas.....	31
2.2.8.	Apoptosis Osteosit	33
2.3.	Proses penyembuhan tulang dengan infeksi	35
2.4.	Klindamisin.....	36
2.5.	Senyawa Perak.....	37
2.5.1.	Potensi antimikroba senyawa perak dan penggunaannya.....	38
2.5.1.1.	Farmakokinetik senyawa perak	39
2.5.1.2.	Farmakodinamik senyawa perak	41
2.5.2.	Toksisitas senyawa perak.....	42
2.5.3.	Peran perak dalam terapi osteomyelitis	45
2.5.4.	Peran perak dalam proses penyembuhan tulang.....	46
2.5.5.	Penggunaan senyawa perak dan keamanannya	47
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		59
3.1.	Kerangka Konseptual.....	59
3.2.	Penjelasan Kerangka Konseptual.....	59
3.3.	Hipotesis Penelitian	61
BAB 4 METODE DAN MATERI PENELITIAN		63
4.1.	Jenis Peneitian.....	63
4.2.	Rancangan Penelitian.....	63
4.3.	Unit Eksperimen, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	63
4.3.1.	Unit eksperimen	63
4.3.2.	Besar sampel	64
4.3.3.	Teknik pembagian sampel	64
4.4.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel.....	65

4.4.1.	Klasifikasi variabel	65
4.5.	In Silico	65
4.6.	Uji Daya Hambat	66
4.7.	Uji MTT Assay Osteoblas	67
4.8.	Definisi operasional variabel	68
4.9.	Bahan Penelitian	73
4.10.	Instrumen Penelitian	74
4.11.	Lokasi dan Waktu Penelitian	74
4.11.1.	Lokasi Penelitian.....	74
4.11.2.	Waktu Penelitian.....	75
4.12.	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.	76
4.12.1.	Persiapan Hewan Coba	76
4.12.2.	Prosedur pembuatan ion perak.....	76
4.12.3.	Perlakuan Hewan Coba.....	77
4.12.4.	Prosedur penelitian	78
4.12.5.	Pengambilan spesimen.....	80
4.12.6.	Pembuatan sampel	81
4.12.7.	Pembacaan Pewarnaan HE dan IHC.....	81
4.12.7.1.	Pengolahan Histopatologi dan Imunohistokimia	81
4.12.7.2.	Pembacaan dengan pewarnaan HE	82
4.12.7.3.	Pengolahan Imunohistokimia	83
4.12.7.4.	Pembacaan HE dan IHC	85
4.13.	Alur Penelitian	86
4.14.	Cara Pengolahan dan Analisis Data.....	86
BAB 5 HASIL PENELITIAN		88
5.1	Pra Penelitian	88
5.1.2.	Penelitian	88
5.1.2.1.	Klinis Osteomyelitis	88
5.2.	Hasil Statistik.....	89
5.2.1.	Variabel Makrofag.....	91
5.2.2.	Variabel Apoptosis Osteosit	93
5.2.3.	Variabel RANKL	96
5.2.4.	Variabel Osteoklas	99
5.2.5.	Variabel VEGF	102

5.2.6.	Variabel RUNX2	105
5.2.7.	Variabel Osteocalcin.....	108
5.2.8.	Variabel Osteoblas.....	111
BAB 6 PEMBAHASAN.....		115
6.1.	Pengaruh ion perak terhadap infeksi kuman.....	125
6.2.	Pengaruh ion perak terhadap osteoklastogenesis.....	126
6.3	Pengaruh ion perak terhadap proliferasi.....	123
6.4	Pengaruh ion perak terhadap diferensiasi.....	123
6.5	Kebaruan penelitian.....	125
6.6	Keterbatasan penelitian.....	126
BAB 7 PENUTUP		127
7.1.	Kesimpulan	127
7.2.	Saran	128
DAFTAR PUSTAKA		129
LAMPIRAN.....		138

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Kriteria diagnosis osteomyelitis kronis.....	23
Tabel 2. 2 Terapi antibiotik awal pada tatalaksana osteomyelitis pada dewasa ...	24
Tabel 2. 3 Matriks Penelitian	49
Tabel 4. 1 Tabel definisi operasional	68
Tabel 4. 2 Tabel kode pada tikus	78
Tabel 5. 1 Uji Normalitas menggunakan Kolmogorov Smirnov Test	89
Tabel 5. 2 Uji Homogenitas menggunakan Levene's Test	90
Tabel 5. 3 Hasil uji Manova.....	90
Tabel 5. 4 Rerata, SD jumlah Makrofag pada defek Osteomyelitis	92
Tabel 5. 5 Hasil uji post hoc LSD untuk makrofag	93
Tabel 5. 6 Rerata, SD jumlah Apoptosis Osteosit pada defek Osteomyelitis	95
Tabel 5. 7 Hasil uji post hoc LSD untuk Apoptosis Osteosit	95
Tabel 5. 8 Rerata, SD ekspresi RANKL pada defek Osteomyelitis	98
Tabel 5. 9 Hasil uji post hoc LSD untuk RANKL	98
Tabel 5. 10 Rerata, SD jumlah osteoklas pada defek Osteomyelitis	101
Tabel 5. 11 Hasil uji post hoc LSD untuk osteoklas.....	101

Tabel 5. 12 Rerata, SD ekspresi VEGF pada defek Osteomyelitis.....	104
Tabel 5. 13 Hasil uji pos hoc LSD untuk VEGF	104
Tabel 5. 14 Rerata, SD ekspresi RUNX2 pada defek Osteomyelitis.....	107
Tabel 5. 15 Hasil uji post hoc LSD untuk RUNX2	107
Tabel 5. 16 Rerata, SD ekspresi osteocalcin pada defek Osteomyelitis	110
Tabel 5. 17 Uji post hoc LSD untuk osteocalcin	110
Tabel 5. 18 Rerata, SD jumlah osteoblas pada defek Osteomyelitis	113
Tabel 5. 19 Uji post hoc LSD untuk osteoblas	113

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Skema yang menunjukkan tiga kategori osteomyelitis. (A dan B)..	17
Gambar 2. 2 Progresi osteomyelitis.	17
Gambar 2. 3 Interaksi <i>S.aureus</i> dengan matriks ekstrasel tulang (BEM).	20
Gambar 2. 4 Induksi <i>S.aureus</i> pada kematian osteoblas.	20
Gambar 2. 5 Induksi osteoclastogenesis oleh <i>S.aureus</i>	22
Gambar 2. 6 Tahapan proses penyembuhan tulang.	26
Gambar 2. 7 Deskripsi komprehensif garis turunan sel osteogenik	30
Gambar 2. 8 Efek osteomyelitis pada penyembuhan tulang.....	35
Gambar 2. 9 Kerja perak dalam sel bakteri.....	39
Gambar 2. 10 Peran ion perak dalam pembentukan ROS	44
Gambar 2. 11 Temuan radiografis dan histologis efek bakterisidal	47
Gambar 4. 4 Bakteri <i>S. aureus</i>	73
Gambar 4. 11 Pemberian terapi ke tikus kelompok 3 dan 4	80
Gambar 4. 12 Pengambilan spesimen	80
Gambar 4. 13 Alur Penelitian	86
Gambar 5. 1 Manifestasi klinis osteomyelitis pada tikus.....	89
Gambar 5. 2 Pengamatan makrofag pada sampel kelompok BNI	91
Gambar 5. 3 Pengamatan makrofag pada sampel kelompok BI	91
Gambar 5. 4 Pengamatan makrofag pada sampel kelompok BI+K	92
Gambar 5. 5 Pengamatan makrofag pada sampel kelompok BI+Ag	92
Gambar 5. 6 Grafik rerata Makrofag berdasarkan lama hari di tiap perlakuan. ...	93
Gambar 5. 7 Pengamatan apoptosis osteosit pada sampel kelompok BNI	94

Gambar 5. 8 Pengamatan apoptosis osteosit pada sampel kelompok BI	94
Gambar 5. 9 Pengamatan apoptosis osteosit pada sampel kelompok BI+K.....	94
Gambar 5. 10 Pengamatan apoptosis osteosit pada sampel kelompok BI+Ag	95
Gambar 5. 11 Grafik rerata Apoptosis Osteosit berdasarkan lama hari di tiap perlakuan.	96
Gambar 5. 12 Pengamatan RANKL pada sampel kelompok BNI	97
Gambar 5. 13 Pengamatan RANKL pada sampel kelompok BI	97
Gambar 5. 14 Pengamatan RANKL pada sampel kelompok BI+K	97
Gambar 5. 15 Pengamatan RANKL pada sampel kelompok BI+Ag	97
Gambar 5. 16 Grafik rerata RANKL berdasarkan lama hari di tiap perlakuan. ...	99
Gambar 5. 17 Pengamatan Osteoklas pada sampel kelompok BNI.....	100
Gambar 5. 18 Pengamatan Osteoklas pada sampel kelompok BI	100
Gambar 5. 19 Pengamatan Osteoklas pada sampel kelompok BI+K	100
Gambar 5. 20 Pengamatan Osteoklas pada sampel kelompok BI+Ag	100
Gambar 5. 21 Grafik rerata Osteoklas berdasarkan lama hari di tiap perlakuan.	102
Gambar 5. 22 Pengamatan VEGF pada sampel kelompok BNI.....	103
Gambar 5. 23 Pengamatan VEGF pada sampel kelompok BI.....	103
Gambar 5. 24 Pengamatan VEGF pada sampel kelompok BI+K.....	103
Gambar 5. 25 Pengamatan VEGF pada sampel kelompok BI+Ag.....	103
Gambar 5. 26 Grafik rerata VEGF berdasarkan lama hari di tiap perlakuan.....	105
Gambar 5. 27 Pengamatan RUNX2 pada sampel kelompok BNI	105
Gambar 5. 28 Pengamatan RUNX2 pada sampel kelompok BI	106
Gambar 5. 29 Pengamatan RUNX2 pada sampel kelompok BI+K	106
Gambar 5. 30 Pengamatan RUNX2 pada sampel kelompok BI+Ag.....	106

Gambar 5. 31 Grafik rerata RUNX2 berdasarkan lama hari di tiap perlakuan...	108
Gambar 5. 32 Pengamatan osteocalcin pada sampel kelompok BNI	109
Gambar 5. 33 Pengamatan osteocalcin pada sampel kelompok BI	109
Gambar 5. 34 Pengamatan osteocalcin pada sampel kelompok BI+K	109
Gambar 5. 35 Pengamatan osteocalcin pada sampel kelompok BI+Ag	110
Gambar 5. 36 Grafik rerata osteocalcin berdasarkan lama hari di tiap perlakuan.	111
Gambar 5. 37 Pengamatan Osteoblas pada sampel kelompok BNI	112
Gambar 5. 38 Pengamatan Osteoblas pada sampel kelompok BI	112
Gambar 5. 39 Pengamatan Osteoblas pada sampel kelompok BI+K	112
Gambar 5. 40 Pengamatan Osteoblas pada sampel kelompok BI+Ag	112
Gambar 5. 41 Grafik rerata osteoblas berdasarkan lama hari di tiap perlakuan .	114

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Alur Pikir Ilmiah	138
Lampiran 2. Etik Penelitian	138
Lampiran 3. Hewan coba dan pemeliharaan.....	140
Lampiran 4. RISET	141
Lampiran 5. Resume Hasil HPA.....	152
Lampiran 6 Artikel jurnal.....	161
Lampiran 7 Analisis Statistik.....	167

DAFTAR SINGKATAN

HE	: <i>Hematoxylin-Eosin</i>
TGF- β	: <i>Tumor Growth Factor – β</i>
RANKL	: <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
RUNX2	: <i>Runt-related transcription factor 2</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-8	: <i>Interleukin-8</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial Growth Factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
OCN	: <i>Osteocalcin</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
HSC	: <i>Haemopoietic stem cell</i>