

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA*
TERHADAP NUKLEUS PULPOSUS DAN KADAR CASPASE 3 PADA KASUS
DEGENERASI DISKUS INTERVERTEBRALIS (STUDI EKSPERIMENTAL
PADA *NEW ZEALAND WHITE RABBIT*)**



Oleh:

M. Mukaddam Alaydrus, dr.

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA*
TERHADAP NUKLEUS PULPOSUS DAN KADAR CASPASE 3 PADA KASUS
DEGENERASI DISKUS INTERVERTEBRALIS (STUDI EKSPERIMENTAL
PADA *NEW ZEALAND WHITE RABBIT*)**



Oleh:

M. Mukaddam Alaydrus, dr.

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

HALAMAN PERNYATAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Mukaddam Alaydrus, dr.

NIM : 214221007

Prodi bidang minat : Ilmu Orthopaedi dan Traumatologi

Angkatan : Januari 2018

Jenjang : Magister

Menyatakan bahwa bagian atau keseluruhan isi tesis saya yang berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN *AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA* TERHADAP
NUKLEUS PULPOSUS DAN KADAR CASPASE 3 PADA KASUS DEGENERASI DISKUS
INTERVERTEBRALIS (STUDI EKSPERIMENTAL PADA *NEW ZEALAND WHITE RABBIT*)**

Adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar. Apabila ditemukan bukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Nama : M. Mukaddam Alaydrus, dr.

NIM : 214221007

Tanggal : 10 Oktober 2022

Tanda tangan :



iii

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN...

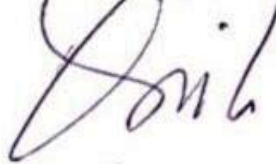
M. MUKADDAM A.

LEMBAR PENGESAHAN

**PENELITIAN TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 10 OKTOBER 2022**

Oleh:

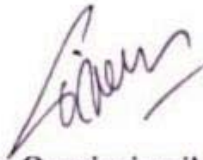
Pembimbing I



Dr. Komang Agung Irianto Suryaningrat, dr., Sp. OT (K)

NIP. 196305111988121001

Pembimbing II



Dr. Ema Qurnianingsih, dr., M. Si

NIP. 197912142005012003

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister



Prof. Dr. Irwanto, dr., SpA(K)

NIP. 196502272016016101

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademika Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Mukaddam Alaydrus, dr.

NIM : 214221007

Prodi bidang minat : Ilmu Orthopaedi dan Traumatologi

Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga Hak Bebas Royalti Non Eksklusif (*Non-exclusive Royalty- Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul

PENGARUH PEMBERIAN *AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA* TERHADAP
NUKLEUS PULPOSUS DAN KADAR CASPASE 3 PADA KASUS DEGENERASI
DISKUS INTERVERTEBRALIS (STUDI EKSPERIMENTAL PADA *NEW
ZEALAND WHITE RABBIT*)

Beserta perangkat yang ada, dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini, Universitas Airlangga berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (data base), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilih Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 10 Oktober 2022

Yang menyatakan,

M. Mukaddam Alaydrus, dr.

HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Penelitian ini diajukan oleh

Nama : M. Mukaddam Alaydrus, dr.

NIM : 214221007

Prodi bidang minat : Ilmu Orthopaedi dan Traumatologi

Judul : PENGARUH PEMBERIAN *AUTOLOGOUS PLATELET RICH PLASMA* TERHADAP NUKLEUS PULPOSUS DAN KADAR CASPASE 3 PADA KASUS DEGENERASI DISKUS INTERVERTEBRALIS (STUDI EKSPERIMENTAL PADA *NEW ZEALAND WHITE RABBIT*)

Penelitian tesis ini telah diuji dan dinilai

Oleh panitia penguji pada : PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK
JENJANG MAGISTER

Universitas Airlangga

Pada Tanggal : 10 Oktober 2022

Panitia penguji,

Ketua : Dr. Heri Suroto, dr., Sp.OT(K)

Anggota : 1. Dr. Komang Agung Irianto Suryaningrat, dr., Sp.OT(K)

2. Dr. Ema Qurnianingsih, dr., M.Si

3. Dr. Lukas Widhiyanto, dr., Sp.OT(K)

4. Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena hanya atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan usulan penelitian tesis dengan judul Pengaruh Pemberian *Autologous Platelet Rich Plasma* Terhadap Jumlah Vakuola Matriks Proteoglikan, Jumlah Sel Nukleus Pulposus, Serta Kadar Caspase 3 pada Kasus Degenerasi Diskus Intervertebralis.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Komang Agung Irianto Suryaningrat, dr., Sp.OT(K) sebagai pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan penelitian ini.
2. Dr. Ema Qurnianingsih, dr., M.Si. sebagai pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan penelitian ini.
3. Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes. sebagai pembimbing statistik yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan penelitian ini.
4. Tri Wahyu Martanto, dr., Sp.OT(K) sebagai Kepala KSM Ortophaedi dan Traumatologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang memberikan kesempatan ditampilkannya usulan penelitian ini.
5. Teddy Heri Wardhana, dr., Sp.OT(K) sebagai Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis (PPDS) 1 Orthopaedi dan Traumatologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang memberikan kesempatan kepada penulis untuk menampilkan usulan penelitian ini serta memberikan motivasi untuk terus menuntut ilmu.

6. Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K) sebagai Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
7. Para Guru Besar dan staf pengajar KSM Orthopaedi dan Traumatologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang memberikan bantuan, kritik, dan saran dalam penyusunan usulan penelitian ini.
8. Bapak/ Ibu moderator dan sekretaris sidang yang memimpin dan membantu penyajian usulan penelitian ini.
9. Tim audiovisual yang telah memberikan bantuan dalam penyajian usulan penelitian ini.
10. Istri, anak-anak, orang tua, dan mertua yang telah memberi dukungan, doa, dan semangat dalam menjalani pendidikan dan menyusun usulan penelitian ini.

Surabaya, 10 Oktober 2022



M. Mukaddam Alaydrus, dr.

ABSTRAK

Pendahuluan: Terapi *platelet rich plasma* (PRP) untuk perbaikan diskus intervertebralis (DI) dan teknologi rekayasa jaringan telah menjadi penelitian intensif dengan hasil yang menjanjikan. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui pengaruh autologous PRP pada DI kelinci yang mengalami degenerasi.

Metode: Tiga puluh sampel DI kelinci yang berumur 5 bulan diamati dalam penelitian ini. Sampel dimodifikasi menjadi diskus yang mengalami degenerasi dengan jarum ukuran 18, dan dibagi menjadi tiga kelompok. Penyuntikan dosis tinggi yaitu sebanyak 0,5 cc *autologous platelet-rich plasma* (PRP) diberikan pada kelompok A. Pada kelompok B, diberikan injeksi intradiscal dosis rendah, yaitu 0,2 cc *autologous platelet-rich plasma* (PRP). Sebagai kelompok kontrol, pada DI kelompok C diinjeksikan larutan *phosphate buffer saline* sebanyak 0,2 cc. Diskus diambil secara aseptik, kemudian diamati dengan metode histopatologi dan imunohistokimia. Data dikumpulkan dan diuji dengan Mann Whitney atau Kruskal- Wallis bergantung pada jumlah kelompoknya.

Hasil: Selama 6 minggu setelah perlakuan, terdapat perbedaan bermakna antara kelompok yang diberikan PRP dan kelompok kontrol dalam hal derajat degenerasi nukleus pulposus ($p = 0.004677$). Kelompok PRP dosis tinggi memberikan efek regenerasi yang lebih baik daripada kelompok PRP dosis rendah, walaupun tidak signifikan ($p = 0,06$). Ditemukan adanya peningkatan derajat degenerasi IVD kelinci berdasarkan parameter caspase 3 baik pada PRP dosis rendah maupun tinggi, meskipun secara statistik tidak signifikan ($p > 0,05$).

Kesimpulan: Terapi *autologous* PRP pada DI yang mengalami degenerasi memicu terjadinya perbaikan yang signifikan pada diskus berdasarkan gambaran histologis, walaupun dalam karakteristik imunohistokimia tidak menunjukkan adanya perbaikan yang signifikan pada DI kelinci yang mengalami degenerasi.

Kata Kunci: *platelet rich plasma*, degenerasi diskus, nukleus pulposus, Caspase 3

ABSTRACT

Introduction: Platelet-rich plasma (PRP) treatment for intervertebral disc (IVD) repair and tissue engineering technologies have been the target of intense research with promising results. This study was aimed to investigate the effect of autologous PRP in the degenerated rabbit IVD.

Methods: There are 30 samples of 5-months old rabbit IVD was observed in this study. Samples were injured according to an established degenerative model, with an 18-gauge needle, and divided into three groups. Intradiscal high-dose injections of 0.5 cc of autologous platelet-rich plasma (PRP) were administered in group A. In group B, intradiscal low-dose injections of 0.2 cc of autologous platelet-rich plasma (PRP) were administered. In the discs of group C as a control rabbits, 0.2 cc of phosphate buffered saline were injected. The discs were harvested aseptically, then observed with histopathology and immunohistochemistry method. Data collected and tested with Mann Whitney or Kruskal-Wallis depending on the number of groups.

Results: During the 6 weeks after treatment, there was significant difference between PRP groups and control group in terms of nucleus pulposus histopathological degeneration grade ($p = 0.004677$). The high-dose PRP group provides a better regenerating effect than in low-dose PRP group, but not statistically significant ($p = 0,06$). It was found out that there is improvement in terms of degeneration level of rabbit IVD based on caspase 3 parameter in both low and high dose PRP, although it is not statistically significant ($p > 0,05$).

Conclusions: Autologous PRP intradiscal treatment in degenerative disc disease provokes significant improvement of the disc's condition based on histological, although in the immunohistochemical characteristics give no significant improvement in degenerated rabbit IVD.

Keywords: platelet rich plasma, intervertebral disc degeneration, nucleus pulposus, Caspase 3

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Halaman Pernyataan Orisinalitas	iii
Lembar Pengesahan	iv
Pernyataan Persetujuan Publikasi Karya Ilmiah Untuk Kepentingan Akademis	v
Halaman Penetapan Panitia Penguji	vi
Kata Pengantar	vii
Abstrak	ix
Daftar Isi	xi
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar dan Grafik	xiv
Daftar Singkatan dan Lambang	xv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat teoritis	5
1.4.2 Manfaat praktis	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Degenerasi Diskus Intervertebralis	6
2.1.1 Struktur dan fungsi diskus intervertebralis	6
2.1.2 Patogenesis degenerasi diskus intervertebralis	11
2.1.3 Manifestasi klinis	18
2.1.4 Diagnosis	19
2.1.5 Tata laksana terapi degenerasi diskus intervertebralis	21
2.1.5.1 Non-operatif	21
2.1.5.1.1 Injeksi steroid epidural	23
2.1.5.1.2 Terapi sel	28
2.1.5.2 Operatif	30
2.2 <i>Regenerative Medicine</i>	33
2.2.1 <i>Stem cell</i>	36
2.2.2 <i>Scaffold</i>	39
2.2.3 Peran terapi sel pada regenerasi diskus intervertebralis	40
2.2.4 Peran <i>growth factor</i> pada regenerasi diskus intervertebralis	43
2.3 <i>Platelet Rich Plasma (PRP)</i>	44
2.3.1 Peran PRP dalam regenerasi diskus intervebralis	45
2.3.2 PRP memodulasi respon imun bawaan	47
2.3.3 Peran PRP dalam aktivasi sel punca/ prekursor dan diferensiasi	48
2.4 Caspase	48

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....	50
3.1 Kerangka Konseptual.....	50
3.2 Hipotesis.....	51
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	53
4.1 Jenis dan Alur Penelitian.....	53
4.1.1 Jenis penelitian.....	53
4.1.2 Rancangan penelitian.....	53
4.2 Subjek Penelitian dan Populasi.....	54
4.3 Besar Sampel.....	54
4.4 Variabel Penelitian.....	54
4.5 Definisi Operasional.....	55
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	56
4.7 Alat dan Bahan yang Digunakan.....	56
4.8 Prosedur Penelitian.....	57
4.8.1 Tahap persiapan.....	58
4.8.2 Tahap pembiusan.....	58
4.8.3 Tahap perlakuan.....	58
4.8.3.1 Persiapan PRP.....	58
4.8.3.2 Persiapan model degenerasi diskus intervertebralis.....	59
4.8.3.3 Perlakuan.....	60
4.8.4 Evaluasi.....	61
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	63
5.1 Hasil Pemeriksaan Histopatologi (H&E) dan Imunohistokimia.....	63
5.1.1 Pemeriksaan Histopatologi Nukleus Pulposus (NP).....	63
5.1.2 Pemeriksaan Imunohistokimia Caspase 3.....	65
5.2 Hasil Pengolahan Data.....	66
BAB 6 PEMBAHASAN.....	69
6.1 Autologous Platelet Rich Plasma pada Tata Laksana Degenerasi Diskus Intervertebralis.....	69
6.2 Pengaruh Pemberian Autologous Platelet Rich Plasma terhadap Jumlah Sel Nukleus Pulposus, serta Kadar Caspase 3 pada Kasus Degenerasi Diskus Intervertebralis.....	70
BAB 7 PENUTUP.....	74
7.1 Kesimpulan.....	74
7.2 Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Definisi operasional	55
Tabel 5.1	Kruskal-Wallis test pada derajat degenerasi nukleus pulposus diantara ketiga kelompok.....	66
Tabel 5.2	Kruskal-Wallis test pada derajat degenerasi dengan parameter Caspase 3 diantara ketiga kelompok.....	66
Tabel 5.3	Mann-Whitney test pada derajat degenerasi nukleus pulposus antara kelompok PRP dosis tinggi dan PRP dosis rendah.....	67
Tabel 5.4	Mann-Whitney test pada derajat degenerasi dengan parameter Caspase 3 antara kelompok PRP dosis tinggi dan PRP dosis rendah	68

DAFTAR GAMBAR DAN GRAFIK

Gambar 2.1	<i>Functional spine unit (FSU)</i>	6
Gambar 2.2	Ilustrasi difusi nutrisi diskus intervertebralis	8
Gambar 2.3	Ilustrasi inervasi pada diskus lumbar intervertebralis.....	10
Gambar 2.4	Perubahan morfologis dari diskus intevertebralis saat bertambahnya usia sampai menimbulkan keluhan	14
Gambar 2.5	Gambaran MRI degenerasi diskus tahap lanjut	15
Gambar 2.6	Siklus degenerasi pada diskus intervertebralis	16
Gambar 2.7	Penyempitan ruang diskus dan perubahan degeneratif pada level L3-L4 pada T2 MRI sagittal	20
Gambar 2.8	Flouroskopi pada caudal ESI	25
Gambar 2.9	Flouroskopi pada interlaminar ESI	26
Gambar 2.10	Flouroskopi pada transforaminal ESI. A. Tampilan fluoroskopi ipsilateral oblik menunjukkan injeksi kontras transforaminal C7 kontrasepsi. B. Tampilan fluoroskopi PA menunjukkan aliran kontras di sepanjang akar saraf C7 kanan. C. tampilan fluoroskopi AP menunjukkan aliran kontras epidural transforaminal sepanjang akar saraf L4 kiri. D. Tampilan fluoroskopi lateral injeksi L4 transforaminal menunjukkan kontras dalam ruang epidural ventral.....	27
Gambar 2.11	Foto radiologis post operasi <i>cervical disc arthroplasty</i>	31
Gambar 2.12	Pendekatan bedah pada tulang belakang pada <i>lumbar interbody fusion</i>	33
Gambar 2.13	Strategi pada <i>tissue engineering</i> untuk perbaikan dari nukleus Pulposus	34
Gambar 2.14	Pengembangan oosit dan pembentukan sel punca	38
Gambar 2.15	Platelet sebagai sumber <i>growth factor</i>	45
Gambar 3.1	Kerangka konseptual penelitian.....	50
Gambar 4.1	Rancangan penelitian	53
Gambar 4.2	Prosedur penelitian.....	57
Gambar 5.1	Sediaan nukleus pulposus, pewarnaan H&E, perbesaran 400x	63
Gambar 5.2	Sediaan nukleus pulposus, pewarnaan H&E, perbesaran 400x	64
Gambar 5.3	Sediaan nukleus pulposus, pewarnaan H&E, perbesaran 400x	64
Gambar 5.4	Sediaan nukleus pulposus, pewarnaan H&E, perbesaran 400x	65
Gambar 5.5	Sediaan diskus dengan imunohistokimia Caspase 3	65
Grafik 5.1	Kruskal-Wallis test pada derajat degenerasi nukleus pulposus diantara ketiga kelompok	66
Grafik 5.2	Kruskal-Wallis test pada derajat degenerasi dengan parameter Caspase 3 diantara ketiga kelompok.....	67
Grafik 5.3	Mann-Whitney test pada derajat degenerasi nukleus pulposus antara kelompok PRP dosis tinggi dan PRP dosis rendah	67
Grafik 5.4	Mann-Whitney test pada derajat degenerasi dengan parameter Caspase 3 antara kelompok PRP dosis tinggi dan PRP dosis rendah.....	68

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

ACDF	=	<i>Anterior Cervical Discectomy and Fusion</i>
AF	=	<i>Annulus fibrosus</i>
ALIF	=	<i>Anterior Lumbar Interbody Fusion</i>
ATP	=	<i>Anterior to Psoas</i>
bFGF	=	<i>Basic Fibroblast Growth factor</i>
BMP	=	<i>Bone Morphogenic Proteins</i>
cc	=	centimeter cubic
cm	=	centimeter
CSF	=	<i>Cerebro-spinal Fluid</i>
CT-Scan	=	<i>Computed Tomography-Scan</i>
DDI	=	Degenerasi diskus intervertebralis
DI	=	Degenerasi diskus
ECM	=	<i>Extracellular Matrix</i>
EGF	=	<i>Epidermal Growth factor</i>
FGF	=	<i>Fibroblast Growth factor</i>
GDF	=	<i>Growth and Differentiation Factor</i>
HA	=	<i>Hyaluronic Acid</i>
HGF	=	<i>Hepatocyte Growth factor</i>
HSC	=	<i>Hematopoietic Stem Cell</i>
IGF	=	<i>Insulin Like Growth factor</i>
IL-1	=	<i>Interleukin-1</i>
kg	=	kilogram
LBP	=	<i>Low back pain</i>

LLIF	=	<i>Lateral Lumbar Interbody Fusion</i>
mg	=	miligram
MIS	=	<i>Minimally Invasive Spine</i>
ml	=	mililiter
mm	=	milimeter
MRI	=	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MSC	=	<i>Mesenchymal Stem Cell</i>
NP	=	<i>Nucleus pulposus</i>
OAINS	=	Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid
OLIF	=	<i>Oblique Lumbar Interbody Fusion</i>
PDGF	=	<i>Platelet-derived Growth factor</i>
PLIF	=	<i>Posterior Lumbar Interbody Fusion</i>
PPP	=	<i>Platelet Poor Plasma</i>
TGF- β	=	<i>Transforming Growth Factor-beta</i>
TLIF	=	<i>Transforaminal Lumbar Interbody Fusion</i>
VDR	=	<i>Vitamin D Receptor</i>
VEGF	=	<i>Vascular Endothelial Growth factor</i>
%	=	persen
μ m	=	mikronmeter