

DISERTASI

**MEKANISME PERCEPATAN PENYAMBUNGAN TULANG
MENGUNAKAN PERIKRANIUM PADA PROSEDUR
OSTEOPLASTI *AUTOGRAFT* KALVARIA KELINCI**



TEDY APRIAWAN
NIM. 011617017306

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

DISERTASI

**MEKANISME PERCEPATAN PENYAMBUNGAN TULANG
MENGUNAKAN PERIKRANIUM PADA PROSEDUR
OSTEOPLASTI *AUTOGRAFT* KALVARIA KELINCI**



TEDY APRIAWAN
NIM. 011617017306

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

DISERTASI

**MEKANISME PERCEPATAN PENYAMBUNGAN TULANG
MENGUNAKAN PERIKRANIUM PADA PROSEDUR
OSTEOPLASTI *AUTOGRAFT* KALVARIA KELINCI**

TEDY APRIAWAN
NIM. 011617017306

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

**MEKANISME PERCEPATAN PENYAMBUNGAN TULANG
MENGUNAKAN PERIKRANIUM PADA PROSEDUR
OSTEOPLASTI *AUTOGRAFT* KALVARIA KELINCI**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

TEDY APRIAWAN
NIM. 011617017306

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

LEMBAR PENGESAHAN

**MEKANISME PERCEPATAN PENYAMBUNGAN TULANG
MENGUNAKAN PERIKRANIUM PADA PROSEDUR OSTEOPLASTI
AUTOGRAFT KALVARIA KELINCI**

YANG TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 1 MARET 2022

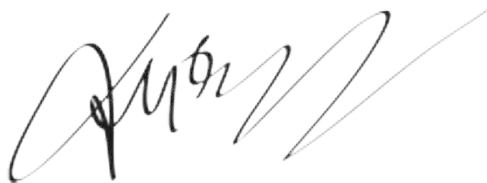
Oleh:

Promotor



Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si
NIP. 19550705 198003 1 005

Ko-Promotor



Prof. Dr. Abd. Hafid Bajamal, dr., Sp.B.S.(K)
NIP. 19490408 197610 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Doktor



Prof. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K)
NIP. 19610817 201601 6 101

HALAMAN PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh:

Nama : Tedy Apriawan
NIM : 011617017306
Program Studi : Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor minat Studi Ilmu Bedah Saraf
Judul Disertasi : Mekanisme Percepatan Penyambungan Tulang Menggunakan Perikranium Pada Prosedur Osteoplasti *Autograft* Kalvaria Kelinci

Disertasi ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
pada tanggal 08 Februari 2022

Panitia penguji

Ketua : Prof. Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K)
Anggota : Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si.
Prof. Dr. Abd. Hafid Bajamal, dr., Sp.B.S.(K)
Prof. Dr. Widjiati., drh., M.Si.
Prof. Dr. Andi Asadul Islam, dr., Sp.B.S.(K)
Dr. Asra Al Fauzi, dr., SE., MM., Sp.B.S.(K), FICS, IFAANS
Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes.
Dr. Eko Agus Subagio, dr., Sp.B.S.(K)

HALAMAN PENYERTA ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya:

Nama : Tedy Apriawan

NIM : 011617017306

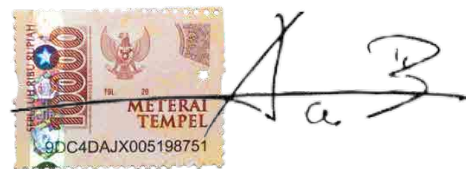
Program Studi : Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Minat Studi Ilmu Bedah Saraf

Alamat : Jl. Bendul Merisi Utara IV No.3, Surabaya

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Disertasi ini adalah asli dan benar-benar saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatasnamakan saya, serta bukan merupakan plagiat dari hasil karya orang lain. Disertasi ini 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 mencantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar kepustakaan.
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan 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, 1 Maret 2022



Tedy Apriawan, dr., Sp.B.S.(K)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Disertasi dengan judul “Mekanisme Percepatan Penyambungan Tulang Menggunakan Perikranium Pada Prosedur Osteoplasti *Autograft* Kalvaria Kelinci” sebagai salah satu persyaratan untuk menerima tanda keahlian Doktor Kedokteran Klinik Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik pada jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Terimakasih tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada guru-guru saya, **Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si** dan **Prof. Dr. Abd. Hafid Bajamal, dr., Sp.B.S.(K)** yang telah mengorbankan waktu dan tenaganya untuk membimbing saya dengan penuh kesabaran, kesungguhan dan ketelitian dalam membekali dan mengarahkan dalam pembuatan naskah usulan penelitian hingga penyelesaian disertasi ini.

Pada kesempatan ini, saya juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. **Prof. Dr. Moh. Nasih, S.E., MT., Ak.** selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;
2. **Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K)**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan **Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang sebelumnya, yang telah memberikan kesempatan saya menempuh Program Studi Ilmu kedokteran Klinik Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;
3. **Dr. Joni Wahyudi, dr., Sp.B.S.(K)**, selaku Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan saya kesempatan dan fasilitas selama masa Pendidikan serta memberikan kemudahan dalam melakukan penelitian;
4. **Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD-KPTI. FINASIM**, selaku Direktur Rumah Sakit Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan saya kesempatan serta memudahkan saya dalam melakukan penelitian ini;
5. **Dr. Muhammad Arifin Parenrengi, dr., Sp.B.S.(K)** selaku ketua Departemen/SMF Ilmu Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah berkenan memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh Pendidikan dan memperdalam pengetahuan di bidang Ilmu Bedah Saraf serta atas bimbingan dan arahnya selama saya mengikuti masa Pendidikan;
6. **Dr. Rahadian Indarto Susilo, dr., Sp.B.S.(K)** selaku ketua Program Ilmu Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah mendorong dan memberikan kesempatan kepada saya untuk memulai pendidikan lanjutan jenjang doktor serta membimbing dalam masa pendidikan saya;
7. **Prof. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K)** selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya sekaligus Koordinator Penelitian dan Pengembangan Departemen Ilmu Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas

Airlangga / RSUD Dr. Soetomo yang telah memberikan dukungan sejak awal naskah usulan penelitian tesis ini dapat diselesaikan.

8. **Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., M.Sc., Sp.PD-KR, FINASIM** Selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo periode sebelumnya yang telah memberikan kesempatan untuk belajar dan membimbing saya dalam menempuh Pendidikan dan memperdalam pengetahuan di bidang Ilmu Kedokteran jenjang Doktor;
9. Seluruh senior, guru, sejawat, dan saudara saya di Departemen Bedah Syaraf: **Prof. Basoeki Wirjowidjojo, dr., Sp.B.S. (alm)**, **Prof. H.M. Sajid Darmadipura, dr., Sp.B.S.**, **Dr. Agus Turchan, dr., Sp.B.S.(K)**, **Dr. Eko Agus Subagio, dr., Sp.B.S.(K)**, **Dr. Asra Al Fauzi, dr., Sp.B.S.(K)**, **Dr. Wihasto Suryaningtyas, dr., Sp.B.S.(K)**, **Dr. Muhammad Faris, dr., Sp.B.S.(K)**, **Dr. Achmad Fahmi, dr., Sp.B.S.(K)**, **Nur Setiawan Suroto, dr., Sp.B.S.(K)**, **Dr. Irwan Barlian Immadoel Haq, dr., Sp.B.S.(K)**, **Heri Subianto, dr., Sp.B.S.(K)**, dan **Pandu Wicaksono, dr., Sp.B.S.**, saya mengucapkan terima kasih atas ilmu, doa dan dukungannya. Begitu pula untuk saudara-saudara saya di *Surabaya Neuroscience Institute* antara lain **Ananda Haris, dr., Sp.B.S.**, **Zaky Bajamal, dr., Sp.B.S.**, dan **Dwikoryanto, dr., Sp.B.S.**;
10. Kepada almarhum ayah saya, **Prof. Dr. Umar Kasan, dr., Sp.B.S. (alm.)**, yang telah memberikan nilai-nilai kehidupan dan panutan hidup sejak usia dini hingga usia dewasa, semoga selalu berada di sisi Allah SWT;
11. Kepada ibu saya tercinta, **Endang Sumartiningsih**, yang telah memberikan cintanya serta mendidik dan memberikan pengaruh besar dalam hidup saya dalam suka dan duka, serta selalu berjuang untuk keberhasilan saya selama ini, doa seorang ibu selalu menembus langit;
12. Kepada istri saya tercinta **Tri Pudy Asmarawati, dr., Sp.PD** yang telah memberikan kasih sayang yang setulus-tulusnya dan yang telah memberikan dukungan dan kesabarannya dalam menjalani kehidupan dan selama menempuh proses pendidikan ini, memberikan waktu kesempatan, dan toleransi, mendengarkan keluh kesah, memberikan semangat, dorongan dan doa, hingga disertasi ini dapat diselesaikan. Semoga Allah SWT senantiasa meridhoi dan memberkahi;
13. Kepada Putra-Putri saya, **Shofia Indira U. S., Clairina Irdina U. S., dan Asfa Danendra U.S.**, yang telah memberikan kesabarannya, dukungannya, serta doanya sehingga saya tetap bersemangat dalam menyelesaikan disertasi ini, semoga Allah SWT selalu memberikan berkah dan jalan yang lurus;
14. Kepada mertua saya, **Slamet Widodo dan Sri Hastuti Redjeki**, yang memberikan semangat selama ini, saya sampaikan terima kasih yang mendalam dengan sangat tulus;
15. Kepada saudara-saudara saya, **Aditya Bayu Sakti, dr., Sp.B**, **Evy Febriane dr., Sp.JP(K)**, **FIHA**, **FAsCC**, **Irnanda Dedi Soetomo, S.Psi. M.Si.**, **Psikolog**, **Retno Wahyuningrum, S.Psi.**, **Dr. Rahadian Indarto Susilo, dr., Sp.B.S.(K)**, **Neimy Novitasari dr., Sp.S**, dan **Dimas Panca Andika, dr., Sp.U**, dan **Almira Aulia Shahnaz, dr.**, terima kasih telah memberi dukungannya selama ini, semoga persaudaraan akan selalu terjalin dengan baik;

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dukungan dan membantu hingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Dengan segenap kerendahan hati, penulis menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak kekurangan sehingga penulis mohon maaf sebesar-besarnya atas segala kekurangan tersebut. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran pada khususnya, semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi ini. Amin ya rabbal 'alamin.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Surabaya, 1 Maret 2022
Penulis

RINGKASAN

Mekanisme Percepatan Penyambungan Tulang Menggunakan Perikranium Pada Prosedur Osteoplasti *Autograft* Kalvaria Kelinci

Tedy Apriawan

Kraniektomi dekompresi adalah prosedur melepas bagian tulang kepala untuk mengatasi adanya peningkatan tekanan intrakranial. Menurunkan tekanan intrakranial sangat diperlukan untuk menghindari herniasi otak. Tindakan ini digunakan pada banyak kasus bedah saraf seperti hematoma subdural akut, perdarahan intraserebral, tumor otak, edema serebri, dan kondisi lainnya. Tulang yang sudah dilepas dapat disimpan melalui berbagai cara, seperti di mesin pendingin, subperitoneum atau secara subgaleal untuk nantinya dipasang kembali. Setelah dilakukan kraniektomi dekompresif, tulang dapat dikembalikan setelah jangka waktu yang tertentu melalui tindakan yang dikenal dengan istilah osteoplasti. Tujuan osteoplasti adalah mengembalikan struktur dan fungsi dari bagian tulang kepala yang hilang dan sebagai penyangga kulit kepala dan pelindung otak. Prosedur osteoplasti tersebut dapat terjadi suatu komplikasi berupa perdarahan di bawah tulang, munculnya cairan dibawah tulang, infeksi akibat pemasangan tulang, kejang, dan penyerapan tulang. Salah satu dari komplikasi tersebut yang menjadi perhatian adalah penyerapan tulang. Penyerapan tulang ini dapat terjadi pada pasien yang telah dipasang tulang, dimana tulang tersebut telah mengalami gangguan osteogenesis dan kerusakan vaskularisasi akibat dilakukan perlakuan khusus. Insidensi yang terjadi adalah 10 dari 254 pasien mengalami penyerapan tulang pada pasien yang dilakukan osteoplasti. Insidensi penyerapan tulang terjadi lebih banyak pada pasien yang dilakukan dekompresi kraniektomi

daripada yang tidak dilakukan dekompresi kraniektomi dengan perbandingan 8.5% : 1.8%. Pasien dengan fraktur multipel yang kemudian dilakukan osteoplasti mengalami lebih banyak penyerapan tulang daripada yang bukan fraktur multipel dengan perbandingan 17.2% : 2.2%. Jumlah kasus penyerapan tulang tersebut juga telah dilaporkan dapat mencapai 8 dari 18 (44,4%) kasus pada studi lainnya. Selaput *periosteum* atau selaput perikranium mempunyai sifat osteogenik yang dapat membantu penyambungan tulang. Periosteum sendiri mempercepat proses remodeling tulang melalui efeknya terhadap percepatan proses inflamasi dan penyambungan tulang. Hal ini dicapai melalui pembentukan kalus untuk neovaskularisasi dan penarikan faktor-faktor penyambungan tulang serta sitokin yang berkontribusi terhadap proses osifikasi tulang baru tersebut. Dikarenakan mekanisme faktor penyambungan tulang ini masih banyak belum dimengerti maka penelitian ini dilakukan untuk mempelajari mekanisme percepatan penyambungan tulang menggunakan selaput perikranium yang diletakkan di permukaan osteoplasti tulang kepala dengan melihat penanda inflamasi dan bahan pembentuk tulang.

Tujuan dari penelitian ini adalah menjelaskan mekanisme percepatan penyambungan tulang pada tindakan osteoplasti autograft yang diberi selaput perikranium dengan menganalisa IL-8 dan NF- κ B yang diekspresikan oleh sel makrofag serta menganalisa RANKL, alkaline phosphatase, dan ketebalan kolagen sebagai prediktor terbentuknya sel osteoblast pada minggu ke-6 dibandingkan minggu ke-12.

Secara normal proses terbentuknya tulang imatur (*woven bone*) melalui suatu proses pembentukan Myd 88, IRAK 4, TRAF 6, IKK- α & IKK- β sehingga terbentuk NF- κ B yang akan merangsang sitokin proinflamasi. Adanya

diskontinuitas jaringan ini secara alami merangsang proses inflamasi yang juga melepaskan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), bahan yang juga berkontribusi terhadap pertahanan tubuh dan merangsang produksi TLR, yang kemudian akan meningkatkan kadar Myd 88. Selain itu, RANKL sebagai sitokin yang berperan penting dalam proses remodeling tulang akan meningkat pada kasus serupa dan berinteraksi dengan TRAF 6 untuk perangsangan faktor IKK dan setelahnya NF- κ B. Sitokin proinflamasi pada kasus ini melibatkan beberapa jenis, meliputi TNF- α , IL-6, dan IL-8. IL-8 secara khusus akan menstimulasi MSC untuk membentuk proosteoblas menjadi osteoblas. Osteoblas akan membentuk alkali phosphatase dan kolagen sebagai struktur dasar dari tulang immature (*woven bone*). Osteorix, sebuah bahan yang berperan penting sebagai faktor transkripsi dalam diferensiasi osteoblast dan mineralisasi tulang, membantu maturasi tulang imatur (*woven bone*) sehingga osteosit terbentuk pada area osteoplasti dan menghasilkan tulang matur sebagai hasil akhir. Pemberian selaput perikranium yang banyak mengandung osteoblast diletakkan di atas osteoplasti autograft untuk mempercepat proses terbentuknya tulang immature (*woven bone*). Dengan metode ini diharapkan terjadi percepatan pembentukan tulang.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan sampel yang dipilih secara *time series post test only control group design* dengan hewan coba *Oryctolagus cuniculus*. Peneliti menjadikan 3 kelompok dimana kelompok kontrol tidak diberi tulang, kelompok pertama hanya diberi tulang, dan kelompok kedua diberi tulang serta selaput perikranium. Kelompok hewan coba akan dikorbankan pada minggu ke 6 dan minggu ke 12 dan sampel jaringan tulang dilakukan prosedur dan pemeriksaan histologi dan histokimia.

Analisa statistik dimulai dari uji normalitas distribusi data untuk mengetahui apakah data penelitian tersebar menurut distribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak, uji normalitas data menggunakan *Saphiro Wilk-test*. Apabila hasil uji normalitas menghasilkan data yang berdistribusi normal maka menggunakan uji parametrik yaitu ANOVA dan dilanjutkan oleh uji *post-hoc LSD* bila hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Apabila uji normalitas data menghasilkan data yang berdistribusi tidak normal, maka analisa statistik diuji dengan uji komparasi non parametrik *Kruskal Wallis*, bila hasilnya bermakna kemudian dilanjutkan dengan uji beda yaitu uji *Mann-Whitney*.

Hasil analisis statistik memberikan hasil sebagai berikut. Untuk perbandingan minggu ke 6 dan 12 untuk ekspresi IL-8 yang kontrol positif dan perlakuan tidak ada perbedaan yang signifikan ($P = 0.286$). Pada ekspresi NF- κ B di perlakuan minggu ke 6 tidak ada beda dengan minggu ke 12, keadaan ini karena proses pembentukan tulang telah sempurna. Ekspresi RANKL pada Minggu ke 6 dibanding ke 12 terdapat perbedaan yang signifikan dimana kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan bermakna ($P = 0.008$), diikuti dengan kelompok kontrol positif didapatkan perbedaan bermakna ($p = 0.016$), serta pada kelompok perlakuan juga didapatkan perbedaan bermakna ($p = 0.016$). Ekspresi Alkaline Phosphatase minggu ke 6 dibanding ke 12 untuk ketiga kelompok didapatkan perbedaan signifikan ($p = 0.016$). Terjadi perbedaan ekspresi alkaline phosphatase nilai median minggu ke 6 (median = 6,6) dan minggu ke 12 (median = 2,25) pada kelompok kontrol positif yang signifikan. Didapatkan juga perbedaan pada kelompok perlakuan minggu ke 6 dan minggu ke 12 yang signifikan. Untuk perbedaan

ketebalan kolagen di minggu ke 6 dan 12 tidak signifikan di ketiga kelompok sampel.

Berdasarkan jalur mekanisme pembentukan *woven bone*, perhitungan analisis jalur menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara selaput perikranium terhadap NF- κ B ($p = 0,030$) dan RANKL ($p = 0,014$), NF- κ B terhadap IL-8 ($p = <0,001$), IL-8 terhadap RANKL ($p = <0,001$), dan RANKL terhadap alkaline phosphatase ($p = <0,001$). Analisis statistik menunjukkan tidak adanya hubungan yang signifikan antara kadar RANKL terhadap kadar kolagen pada jalur pembentukan *woven bone* ($p = 0,385$). Hubungan paling kuat ditemukan pada ekspresi RANKL terhadap ekspresi alkali phosphatase ($\beta = 0,831$; $R^2 = 0,691$). Selaput perikranium mempunyai hubungan berbanding terbalik dengan kadar NF- κ B. Akibat hubungan positif NF- κ B dan IL-8, maka pemberian selaput perikranium akan berujung pada penurunan kadar faktor inflamasi IL-8. Regulasi dari kadar faktor inflamasi IL-8 tersebut akan menurunkan kadar RANKL, dengan hasil akhir terjadi kadar ALP hanya terbentuk dalam jumlah yang kecil. Berbeda dengan hubungan langsung yang berbanding lurus antara selaput perikranium dan RANKL. RANKL memiliki hubungan berbanding lurus terhadap dengan kadar ALP. Hubungan antara selaput perikranium, RANKL, dan ALP berujung pada peningkatan kadar ALP yang lebih baik. Dari analisis jalur tersebut, dapat disimpulkan bahwa dampak positif pemberian selaput perikranium terhadap percepatan penyambungan tulang terjadi melalui jalur RANKL dan ALP, serta regulasi dari faktor inflamasi.

Kesimpulan dari penelitian ini terdapat proses percepatan pembentukan tulang ditunjukkan oleh hubungan yang signifikan antara perikranium dengan NF-

κ B dan RANKL, serta IL-8 dan RANKL, di mana RANKL memiliki hubungan yang signifikan dengan ALP. Hubungan langsung dengan percepatan penyembuhan tulang ditunjukkan oleh hubungan antara membran pericranium dan RANKL, yang pada akhirnya mempengaruhi tingkat ALP.

SUMMARY***Acceleration Mechanism of Bone Formation
with Pericranium Membrane on Rabbit
in Autograft Osteoplasty Procedure*****Tedy Apriawan**

Decompressive craniectomy is a procedure to remove part of the skull to treat increased intracranial pressure. Lowering intracranial pressure is necessary to avoid brain herniation. This action is used in many cases of neurosurgery such as acute subdural hematoma, intracerebral hemorrhage, brain tumors, cerebral edema, and other conditions. Calvarial bones that have been removed can be stored in various ways, such as in a cooling machine, subperitoneally, or subgaleally before being put back for attachment. After a decompressive craniectomy, the bone can be restored after a certain period of time through a procedure known as osteoplasty. The purposes of osteoplasty is to restore the structure and function of the missing part of the head bone, as a scalp buffer, and brain protector. However, osteoplasty is not without its complications, namely formation of intracranial bleeding or fluid collection, infection, seizures, and bone absorption. One of these complications of concern is bone absorption. This complication can occur where the bone has undergone impaired osteogenesis and vascularization damage due to special treatment. The incidence has been reported to be up to 10 out of 254 patients experienced bone absorption in patients who performed osteoplasty. The incidence of bone absorption occurs more in patients who underwent decompressive craniectomy than those who did not with a ratio of 8.5%: 1.8%. Patients with multiple fractures who underwent performed osteoplasty experienced more bone absorption than non-multiple fractures by a ratio of 17.2%: 2.2%. This bone absorption complication is reported to have also reached up to 8 out of 18 (44.4%) cases in another study. Periosteum membrane or pericranium membrane has osteogenic properties that can help bone reformation. Periosteum itself accelerates the process of bone remodeling through its effect on the acceleration of inflammatory processes and bone reformation. This is achieved through the formation of calluses for neovascularization and the withdrawal of bone reformation factors as well as cytokines that contribute to the new bone ossification process. Because the mechanism of bone reformation factors is still not very understood, this study was performed to understand the mechanism of how to accelerate bone reformation using pericranium membranes placed on the surface of osteoplastic bone head by looking at inflammatory markers and bone-forming materials.

The goal of the study was to explain the mechanism of accelerating bone reformation in the action of autograft osteoplasty given pericranium membranes by analyzing IL-8 and NF- κ B expressed by macrophage cells and analyzing RANKL, alkaline phosphatase, and collagen thickness as predictors of skeletal cells' formation at week 6 and week 12. Normally, the process of immature bone (woven bone) formation occurs through a process involving cytokines such as Myd 88, IRAK 4, TRAF 6, IKK- α & IKK- β , so that NF- κ B is formed which will stimulate proinflammatory cytokines. The discontinuity of this tissue naturally stimulates an

*inflammatory process that also releases damage-associated molecular patterns (DAMPs), ingredients that also contribute to the body's defenses and stimulate the production of TLR, which will then increase Myd 88 levels. In addition, RANKL, as a cytokine that plays an important role in bone remodeling, will increase in similar cases and interact with TRAF 6 for IKK and later, NF- κ B factors. Proinflammatory cytokines in these cases involve several types, including TNF- α , IL-6, and IL-8. IL-8 will specifically stimulate the MSC to form pro-osteoblasts into osteoblasts. Osteoblasts will form alkaline phosphatase and collagen as the basic structure of immature bone (woven bone). Osteorix, a material that plays an important role as a transcription factor in osteoblast differentiation and bone mineralization, helps maturation of immature bone (woven bone) so that osteocytes form in the osteoplastic area and produce mature bone as the final result. The administration of pericranium membranes containing many osteoblasts is placed on top of osteoplastic autograft to speed up the process of immature bone formation (woven bone). With this method it is expected that there is an acceleration of bone formation. The type of research used is true experimental with samples selected in a time series post test only control group design with animal *Oryctolagus cuniculus*. Researchers made three groups where the control group was not given bone, the first group was only given bone, and the second group was given bone and pericranium membranes. The animal group will be sacrificed in week 6 and week 12 and bone tissue samples are performed through procedures of histological and histochemistry examinations.*

Statistical analysis starts from the data distribution normality test to find out whether the research data is spread according to the normal distribution ($p > 0.05$) using the Saphiro Wilk-test. If the normality test results produce normal-distributing data, parametric test ANOVA is used, and continued by the post-hoc LSD test if the ANOVA indicated a significant difference ($p < 0.05$). If the data normality test produces abnormally distributed data, the statistic analysis used is the non-parametric comparison test Kruskal Wallis, which if the results are significant, will be continued with another test, the Mann-Whitney test.

Statistical analysis results provide the following results; for the week 6 and 12 comparisons to positive control and treatment IL-8 expression there was no significant difference ($P = 0.286$). In NF- κ B expression in the treatment of week 6 there is no difference from week 12, this condition because the bone formation process has been perfect. RANKL expression in week 6 compared to 12 there was a significant difference where the negative control group there was a meaningful difference ($P = 0.008$), followed by a positive control group obtained a meaningful difference ($p = 0.016$), and in the treatment group also obtained a meaningful difference ($p = 0.016$). Alkaline Phosphatase expression week 6 compared to 12 for all three groups found a significant difference ($p = 0.016$). There was a difference in the expression of alkaline phosphatase of the median value of week 6 (median = 6.6) and week 12 (median = 2.25) in a significant positive control group. There was also a significant difference in the week 6 and week 12 treatment groups. The difference in collagen thickness in weeks 6 and 12 was not significant in all three sample groups.

Based on the path of the woven bone formation mechanism, track analysis calculations showed a significant relationship between pericranium membranes to NF- κ B ($p = 0.030$) and RANKL ($p = 0.014$), NF- κ B to IL-8 ($p = < 0.001$), IL-8

against RANKL ($p = <0.001$), and RANKL against alkaline phosphatase ($p = <0.001$). Statistical analysis showed no significant association between RANKL levels and collagen levels on the woven bone formation pathway ($p = 0.385$). The strongest relationship was found in rankl expression to alkali expression phosphatase ($\beta = 0.831$; $R^2 = 0.691$). Pericranium membranes have an inversely proportional relationship to NF- κ B levels. As a result of the positive relationship of NF- κ B and IL-8, the administration of pericranium membranes will lead to a decrease in levels of inflammatory factors IL-8. Regulation of the inflammatory factor IL-8 levels will lower rankl levels, with the end result occurs ALP levels only formed in small amounts. In contrast to the direct, directly proportional relationship between the pericranium and RANKL membranes. RANKL has a straightly proportional relationship to the ALP rate. The relationship between pericranium, RANKL, and ALP leads to an increase in better ALP levels. From the analysis of these pathways, it can be concluded that the positive impact of pericranium membrane administration on the acceleration of bone splicing occurs through rankl and ALP pathways, as well as regulation of inflammatory factors.

The conclusion of this study is that the process of accelerating bone formation is demonstrated by the significant association between pericranium and NF- κ B and RANKL, as well as IL-8 and RANKL, where RANKL has a significant relationship with ALP. The direct relationship with bone healing acceleration is demonstrated by the relationship between the pericranium membrane and RANKL, which ultimately affects ALP levels.

ABSTRACT

Acceleration Mechanism of Bone Formation with Pericranium Membrane on Rabbit in Autograft Osteoplasty Procedure

Tedy Apriawan

Introduction: *Decompressive craniectomy is a surgical technique involving the removal of skull to relieve increased intracranial pressure. Complications can occur in various forms, one of which is bone resorption. Pericranium membrane had been proposed for its osteogenic properties. This research was conducted to study the mechanism of administration of the pericranial membrane placed on top of the osteoplasty.*

Method: *This research is an experimental study conducted on experimental animals. The study group was divided into three groups: craniectomy only, osteoplasty, and treatment (osteoplasty with pericranium). The results of the study were seen at the 6th and 12th weeks by immunohistochemistry for IL-8, NF- κ B, Alkaline phosphatase, Collagen, and RANKL expression. The data obtained were then analyzed statistically.*

Results: *For the Week 6 and 12 comparisons to positive control and treatment IL-8 expression there was no significant difference ($p = 0.286$). In NF- κ B expression in the treatment of week 6 there is no difference from week 12. RANKL expression in week 6 compared to 12 there was a significant difference between all three groups. Alkaline Phosphatase expression week 6 compared to 12 for all three groups found a significant difference ($p = 0.016$). The difference in collagen thickness in weeks 6 and 12 was not significant in all three sample groups.*

Conclusion: *Bone reformation process is indicated by a significant relationship between pericranium to NF- κ B and RANKL and expressed by IL-8 which affects RANKL, where RANKL has a significant relationship to ALP. The direct relationship to bone healing acceleration is indicated by the relationship between the pericranium membrane and RANKL, which ultimately affects ALP levels.*

Keywords: *Cranioplasty autograft, pericranium, IL-8, NF- κ B, RANKL, Alkaline phosphatase, Collagen*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DALAM	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PRASYARAT GELAR	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
HALAMAN PENYERTA ORISINALITAS	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN	x
<i>SUMMARY</i>	xvi
<i>ABSTRACT</i>	xix
DAFTAR ISI.....	xx
DAFTAR TABEL.....	xxiii
DAFTAR GAMBAR	xxv
DAFTAR SINGKATAN	xxviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxix
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan umum.....	5
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat teoritis	6
1.4.2 Manfaat praktis	7
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1 Kalvaria	8
2.1.1 Embriologi kalvaria	8
2.1.2 Anatomi kalvaria.....	9
2.1.3 Histologi kalvaria.....	10
2.1.4 Osteogenesis	13
2.1.5 Kemampuan hidup (viabilitas) potongan kalvaria.....	13
2.2 Transplantasi Tulang	14
2.2.1 Perbedaan transplantasi tulang.....	14
2.2.2 Faktor yang menentukan pertumbuhan tulang.....	15
2.2.3 Faktor penghambat pertumbuhan transplantasi tulang	24
2.2.4 Imunologi transplatasi tulang.....	25
2.2.5 Proses remodeling.....	27
2.2.6 Matriks tulang dan kalsifikasi.....	29
2.2.7 Kapasitas osteogenik.....	30
2.2.8 Resorpsi tulang	31

2.3 Osteoplasti	33
2.3.1 Definisi osteoplasti	33
2.3.2 Indikasi osteoplasti	34
2.3.3 Kontraindikasi osteoplasti.....	35
2.3.4 Syarat osteoplasti transplantasi.....	36
2.3.5 Bahan osteoplasti	37
2.3.6 Metode penyimpanan <i>flap</i> tulang	38
2.3.6.1 Penyimpanan beku	39
2.3.6.2 Penyimpanan di dinding abdomen	40
2.3.6.3 Penyimpanan di subgalea	40
2.3.7 <i>Bone healing</i> pada osteoplasti.....	41
2.3.8 <i>Bone flap resorption</i> (BFR)	45
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	49
3.1 Kerangka Konseptual	49
3.2 Hipotesis Penelitian	51
BAB 4 METODE PENELITIAN	53
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	53
4.2 Rancangan Penelitian	53
4.3 Populasi dan Sampel.....	54
4.4 Variabel Penelitian	55
4.5 Definisi Operasional Variabel	55
4.7 Bahan Penelitian	57
4.8 Waktu dan Tempat Penelitian.....	57
4.9 Prosedur penelitian	57
4.9.1 Tahap persiapan alat dan bahan	57
4.9.2 Tahap persiapan hewan coba	58
4.9.3 Prosedur kraniotomi, pengembalian tulang, pemberian perikranium... 58	
4.9.4 Observasi klinis.....	59
4.9.5 Observasi secara jelas (<i>gross observation</i>).....	59
4.9.6 Observasi histopatologi.....	59
4.10 Pengolahan dan analisis data	60
4.10.1 Uji statistik deskriptif.....	60
4.10.2 Uji statistik analitik.....	62
4.11 Alur Penelitian.....	63
BAB 5 HASIL PENELITIAN	64
5.1 Pelaksanaan Penelitian	64
5.2 Ekspresi IL-8 pada Jaringan Tulang Tengkorak Kelinci Paska Kraniotomi 68	
5.2.1 Ekspresi IL-8 pada pengamatan 6 minggu	68
5.2.2 Ekspresi IL-8 pada pengamatan 12 minggu	71
5.2.3 Perbandingan ekspresi IL-8 minggu ke-6 dan ke-12	74
5.3 Ekspresi NF- κ B pada Jaringan Potongan Tulang Tengkorak Kelinci..... 74	
5.3.1 Ekspresi NF- κ B pada pengamatan 6 minggu	74
5.3.2 Ekspresi NF- κ B pada pengamatan 12 minggu	77
5.3.3 Perbandingan ekspresi NF- κ B minggu ke-6 dan ke-12	80

5.4 Ekspresi RANKL pada Jaringan Tulang Tengkorak Kelinci Paska Kraniotomi.....	80
5.4.1 Ekspresi RANKL pada pengamatan 6 minggu.....	80
5.4.2 Ekspresi RANKL pada pengamatan 12 minggu.....	83
5.4.3 Perbandingan ekspresi RANKL minggu ke-6 dan ke-12	84
5.5 Ekspresi Alkaline Phosphatase pada Jaringan Tulang Tengkorak Kelinci Paska Kraniotomi	85
5.5.1 Ekspresi alkaline phosphatase pada pengamatan 6 minggu	85
5.5.2 Ekspresi alkaline phosphatase pada pengamatan 12 minggu	88
5.5.3 Perbandingan ekspresi Alkaline Phosphatase minggu ke-6 dan ke-12	90
5.6 Ketebalan Kolagen pada Jaringan Tulang Tengkorak Kelinci Paska Kraniotomi.....	91
5.6.1 Ketebalan kolagen pada pengamatan 6 minggu	91
5.6.2 Ketebalan kolagen pada pengamatan 12 minggu	94
5.6.3 Perbandingan ketebalan Kolagen minggu ke-6 dan ke-12	96
5.7 Analisis Jalur	97
BAB 6 PEMBAHASAN	99
6.1 Pembahasan	99
6.1.1 Ekspresi IL-8.....	99
6.1.2 Ekspresi NF- κ B.....	100
6.1.3 Ekspresi RANKL	102
6.1.4 Ekspresi alkaline phosphatase	103
6.1.5 Ketebalan kolagen.....	106
6.2 Temuan Baru	107
6.3 Implikasi Hasil.....	108
6.4 Keterbatasan	108
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	109
7.1 Kesimpulan.....	109
7.2 Saran	110
DAFTAR PUSTAKA	111
LAMPIRAN.....	120

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Tabel definisi operasional	55
Tabel 5.1 Hasil uji komparasi Kruskal Wallis ekspresi IL-8 pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi. .	70
Tabel 5.2 Hasil uji beda Mann-Whitney ekspresi IL-8 pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi. .	71
Tabel 5.3 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi IL-8 pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-12 paska kraniotomi.	73
Tabel 5.4 Hasil uji komparasi Mann-Whitney ekspresi IL-8 antar kelompok perlakuan pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 dan ke-12 paska kraniotomi	74
Tabel 5.5 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi NF- κ B pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi. .	76
Tabel 5.6 Hasil uji komparasi LSD ekspresi NF- κ B pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi. .	76
Tabel 5.7 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi NF- κ B pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-12 paska kraniotomi.	79
Tabel 5.8 Hasil uji komparasi Mann-Whitney ekspresi NF- κ B antar kelompok perlakuan pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 dan ke-12 paska kraniotomi	80
Tabel 5.9 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi RANKL pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi. .	82
Tabel 5.10 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi RANKL pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-12 paska kraniotomi.	84
Tabel 5.11 Hasil uji komparasi Mann-Whitney ekspresi RANKL antar kelompok perlakuan pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 dan ke-12 paska kraniotomi	85
Tabel 5.12 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi alkaline phosphatase pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi.....	87
Tabel 5.13 Hasil uji komparasi ANOVA ekspresi alkaline phosphatase pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-12 paska kraniotomi.....	89
Tabel 5.14 Hasil uji komparasi Mann-Whitney ekspresi alkaline phosphatase antar kelompok perlakuan pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 dan ke-12 paska kraniotomi.....	90
Tabel 5.15 Hasil uji komparasi Kruskal Wallis ketebalan kolagen pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi.....	92

Tabel 5.16 Hasil uji beda Mann-Whitney ketebalan kolagen pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 paska kraniotomi. .	92
Tabel 5.17 Hasil uji komparasi Kruskal Walis ketebalan kolagen pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-12 paska kraniotomi.....	95
Tabel 5.18 Hasil uji beda Mann-Whitney ketebalan kolagen pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-12 paska kraniotomi.	95
Tabel 5.19 Hasil uji komparasi Mann-Whitney ketebalan kolagen antar kelompok perlakuan pada jaringan tulang tengkorak kelinci yang diamati pada minggu ke-6 dan ke-12 paska kraniotomi	96

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar penampang lateral tulang kalvaria manusia	9
Gambar 2.2 Pengaruh MSC terhadap sel dalam mempengaruhi regenerasi jaringan, imunomodulasi, angiogenesis, sel kanker	19
Gambar 2.3 Perjalanan aktivasi jalur NF- κ B melalui IKK alpha dan IKK beta...	21
Gambar 2.4 Proses remodeling tulang terjadi melalui siklus akan resorpsi tulang lama	29
Gambar 2.5 CT scan kepala setelah dilakukan dekompresi tulang kepala	34
Gambar 2.6 Lapisan-lapisan pada kulit kepala	41
Gambar 2.7 Tulang kepala disimpan di subgalea pada pemeriksaan CT scan kepala.....	44
Gambar 2.8 Bentuk tulang yang mengalami resorpsi	46
Gambar 2.9 Perubahan densitas tulang sebelum dan sesudah osteoplasti	47
Gambar 3.1 Skema penyembuhan tulang pada osteoplasti.....	51
Gambar 5.1 Tindakan operasi pada kelinci berdasarkan kelompok. A) Kontrol negatif, potongan tulang tidak dikembalikan, B) Kontrol positif, potongan tulang dikembalikan tanpa dilapisi flap periosteum dan difixasi dengan <i>miniplat</i> , dan C) Perlakuan, tulang dikembalikan dan disiksasi dengan <i>miniplat</i> dan dilapisi flap periosteum.....	65
Gambar 5.2 Pewarnaan hematoxylin-eosin yang dilakukan pada potongan tulang tengkorak kelinci pada pengamatan minggu ke-6. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	67
Gambar 5.3 Pewarnaan hematoxylin-eosin yang dilakukan pada potongan tulang tengkorak kelinci pada pengamatan minggu ke-12. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	68
Gambar 5.4 Pewarnaan anti-antibodi IL-8 pada minggu ke-6 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan.	69
Gambar 5.5 Grafik perbedaan nilai rerata ekspresi IL-8 pada pengamatan 6 minggu	70
Gambar 5.6 Pewarnaan anti-antibodi IL-8 pada minggu ke-12 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	72
Gambar 5.7 Grafik perbedaan nilai rerata ekspresi IL-8 pada pengamatan 12 minggu	73

Gambar 5.8 Pewarnaan anti-antibodi NF- κ B pada minggu ke-6, tampak sel makrofag yang memberikan immunoreaktivitas yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	75
Gambar 5.9 Grafik perbedaan nilai ekspresi NF- κ B pada pengamatan 6 minggu	76
Gambar 5.10 Pewarnaan anti-antibodi NF- κ B pada pengamatan minggu ke-12 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	78
Gambar 5.11 Grafik perbedaan nilai ekspresi ekspresi NF- κ B pada pengamatan 12 minggu	79
Gambar 5.12 Pewarnaan anti-antibodi RANKL pada minggu ke-6 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	81
Gambar 5.13 Grafik perbedaan nilai rerata ekspresi ekspresi RANKL pada pengamatan 6 minggu.....	82
Gambar 5.14 Pewarnaan anti-antibodi RANKL pada minggu ke-12 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	83
Gambar 5.15 Grafik perbedaan nilai ekspresi RANKL pada pengamatan 12 minggu	84
Gambar 5.16 Pewarnaan anti-antibodi alkaline phosphatase pada minggu ke-6 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan.	86
Gambar 5.17 Grafik perbedaan ekspresi alkaline phosphatase pada pengamatan 6 minggu	87
Gambar 5.18 Pewarnaan anti-antibodi alkaline phosphatase pada minggu ke-12 memberikan immunoreaktivitas pada sel makrofag yang ditunjukkan dengan panah hijau. Sel makrofag yang tidak memberikan immunoreaktivitas ditunjukkan dengan panah merah A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan	88
Gambar 5.19 Grafik perbedaan nilai ekspresi alkaline phosphatase pada pengamatan 12 minggu.....	89

Gambar 5.20 Pewarnaan hematoxylin eosin kolagen pada minggu ke-6. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan.....	91
Gambar 5.21 Grafik perbedaan ketebalan kolagen pada pengamatan 6 minggu..	92
Gambar 5.22 Pewarnaan hematoxylin-eosin kolagen pada minggu ke-12. A) Kontrol negatif, B) Kontrol Positif, C) Perlakuan.....	94
Gambar 5.23 Grafik perbedaan nilai ketebalan kolagen pada pengamatan 12 minggu	95
Gambar 5.24 Diagram analisis jalur antar variabel yang diteliti	97

DAFTAR SINGKATAN

ADCC	: <i>Antibody dependent cellular cytotoxicity</i>
ALP	: <i>Alkaline phosphatase</i>
APC	: <i>Antigen presenting cells</i>
BMP	: <i>Bone morphogeic protein</i>
CMI	: <i>Cell mediated immune respons</i>
DAMPs	: <i>Damage-associated moleculer patterns</i>
EGF	: <i>Epidermal growth factors</i>
E2	: <i>Estrogen</i>
FGF	: <i>Fibroblast growth factors</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte monocyte colony stimulating factors</i>
HMI	: <i>Humoral mediated immune respons</i>
HLA	: <i>Human lymphocyte antigen</i>
IL-1	: <i>Interleukin 1</i>
IL-2	: <i>Interleukin 2</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-8	: <i>Interleukin 8</i>
IRAK 4	: <i>Interleukin-1 receptor associated kinase 4</i>
IKK α	: <i>Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase sub unit alpha</i>
IKK β	: <i>Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase sub unit beta</i>
IGF	: <i>Insulin growth factors</i>
M-CSF	: <i>Monocyte colony stimulating factors</i>
MyD 88	: <i>Myeloid differentiation primary response 88</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NK	: <i>Natural killer cells</i>
PDGF	: <i>Platelet devered growth factors</i>
RANKL	: <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
TGF β	: <i>Transforming growth factors beta</i>
TLR	: <i>Toll-like receptor</i>
TRAF 6	: <i>Tumor necrosis factor receptor associated factor 6</i>
TNF α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat keterangan kelaikan etik.....	120
Lampiran 2 Analisis statistik.....	121