

KADAR INTERLEUKIN-1 β PADA FASE INFLAMASI OSTEOMYELITIS FRAKTUR TULANG FEMUR TIKUS (*Rattus norvegicus*) DENGAN INTRAMEDULA PINNING DAN GIPS SIRKULAR

Panji Sananta*✉, Peterson Sidabutar*, Inggra* , Tjuk Risantoso*

Abstrak

Osteomyelitis sampai saat ini masih menjadi masalah baik pada usia anak maupun dewasa. Sulitnya deteksi dini menjadikan banyak kasus akut menjadi kronis sehingga semakin sulit penatalaksanaanya. IL-1 memiliki peranan sangat penting dalam proses penyembuhan fraktur. Pada penelitian ini ingin diketahui kadar IL-1 β pada fase inflamasi osteomyelitis fraktur tulang femur dengan intramedula *pinning* dan *gips* sirkular. Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design* menggunakan hewan coba tikus sebanyak 20 ekor yang terbagi menjadi kelompok infeksi dan non infeksi. Pengukuran kadar IL-1 β serum dilakukan pada hari ke-1, ke-3, dan ke-7 dari daerah fraktur tulang femur. Kondisi osteomyelitis dibuat dengan menginjektikan *Staphylococcus aureus* sebanyak 10⁶ CFU dengan metode ELISA. Analisis statistik menggunakan uji ANOVA dilanjutkan dengan uji Tukey menunjukkan bahwa kadar IL-1 β meningkat signifikan pada hari ke-3 pada kelompok infeksi dibanding kelompok non infeksi ($p < 0,01$). Dapat disimpulkan bahwa osteomyelitis pada fraktur tulang femur dengan intramedula *pinning* dan *gips* sirkular terbukti meningkatkan kadar IL-1 β serum.

Kata kunci: fraktur femur, IL-1 β , osteomyelitis, *gips* sirkular, intramedula *pinning*

LEVEL OF INTERLEUKIN-1 β ON INFLAMMATORY OSTEOMYELITIS IN FEMORAL FRACTURE RAT (*Rattus norvegicus*) WITH INTRAMEDULLARY PINNING AND CIRCULAR GIPS

Abstract

Nowadays, osteomyelitis is still being a popular problem among children and adults. Difficulties for early detection of acute cases increase the potential of this cases to be chronic cases, so it becomes more difficult to treat. IL-1 have the most important role in fracture healing process. The study was aimed to measure the level of IL-1 β on inflammatory osteomyelitis in femoral fracture with intramedullary pinning and circular gips. The research design was laboratory experimental study using post test only control group design. Twenty rats employed as animal models that were divided into infection and non infection groups. The IL-1 β serum level was measured by ELISA method on day 1, 3 and 7. Osteomyelitis femoral bone fracture induced by *Staphylococcus aureus* 10⁶ CFU. Statistical analysis using ANOVA continued by Tukey test showed that level of IL-1 β increased significantly on day 3 in infected group compared to non infected group ($p < 0.01$). Therefore, to be concluded that osteomyelitis in femoral fracture with intramedullary pinning and circular gips shown to increase the serum level of IL-1 β .

Keywords : circular gips, femur fracture, IL-1 β , intramedula *pinning*, osteomyelitis,

* Laboratorium Orthopaedi dan Traumatologi, RSSA-FKUB

✉ Panji_sananta@yahoo.com

Pendahuluan

Osteomyelitis secara sederhana didefinisikan sebagai suatu infeksi pada tulang dan atau sumsum tulang.^{1,2} Osteomyelitis juga dapat dikatakan sebagai suatu proses inflamasi berat dan progresif yang disebabkan oleh bakteri *pyogenic* yang menyebabkan kerusakan tulang.³ Sampai saat ini osteomyelitis masih menjadi kasus yang sulit diobati terutama bila sudah kronis. Selain kesulitan untuk mengeradikasi infeksi, kasus ini juga membutuhkan biaya yang besar karena membutuhkan tindakan operasi yang berulang. Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) diketahui sebagai penyebab infeksi sebesar 50-75% kasus, namun dapat juga disebabkan oleh bakteri lain seperti *S.epidermidis*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas species*.^{1,2} Pemeriksaan laboratorium pada kasus *osteomyelitis* dapat membantu namun memiliki kelemahan dalam hal tingkat spesifitas. Pemeriksaan laju endap darah (LED) menunjukkan peningkatan pada sebanyak 80-90% kasus dan CRP ditemukan meningkat pada 98% kasus.^{4,5}

Setiap fraktur akan menimbulkan proses inflamasi, pada fase inflamasi maka terdapat makrofag dan sel imun lain pada daerah fraktur yang akan melepaskan sitokin berupa interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) sebagai respons jaringan terhadap trauma atau infeksi mikroorganisme. Di antara interleukin yang dihasilkan, IL-1 dan IL-6 dipercaya memiliki peranan paling penting dalam proses penyembuhan fraktur melalui aktivasi dan diferensiasi sel osteoklas yang berfungsi sebagai absorpsi.⁶ Durasi fase inflamasi pada *closed fractures* dipengaruhi oleh stabilitas fiksasi fraktur.

Adanya peran sitokin IL-1 β pada proses inflamasi yang disebabkan trauma ataupun infeksi yang terbukti memberikan perbedaan yang bermakna serta pengaruh metode fiksasi terhadap fase inflamasi suatu fraktur, maka ingin diketahui level IL-1 β secara sistemik pada daerah fraktur pada keadaan osteomyelitis akut tulang femur

yang dilakukan metode fiksasi yang berbeda pada fase inflamasi.

Bahan dan Metode

Desain penelitian:

Rancangan penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Faal, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Tikus sejumlah 20 ekor terbagi dalam kelompok tanpa infeksi *S. aureus* yaitu kelompok 1 dan 2, sedangkan kelompok infeksi *S.aureus* terdiri dari kelompok 3 dan 4. Dengan demikian, diperoleh 4 kelompok sebagai berikut: Kelompok 1: tikus difrakturisasi kemudian difiksasi dengan *pinning intramedula K-wire* diameter 1 mm tanpa infeksi *S.aureus*; Kelompok 2: tikus difrakturisasi kemudian difiksasi dengan *circular cast* tanpa infeksi *S.aureus*; Kelompok 3: tikus difrakturisasi kemudian difiksasi dengan *pinning intramedula K-wire* diameter 1 mm dan diinfeksi *S.aureus*; Kelompok 4: tikus difrakturisasi kemudian difiksasi dengan *circular cast* diinfeksi *S.aureus*.

Kriteria inklusi sampel yaitu tikus berkelamin jantan, usia 8-10 bulan, berat 200-300 g, sehat, ditandai dengan gerak aktif dan tidak didapatkan cacat dan infeksi pada ekstremitas.

Prosedur Penelitian:

Pada penelitian ini tulang femur tikus dipatahkan pada bagian sepertiga tengah dan kemudian dilakukan fiksasi internal dan eksternal. Pada kelompok infeksi, tikus diinjeksi dengan bakteri *S. aureus* sebanyak 10⁶ CFU di daerah fraktur.

Darah vena 1 ml diambil pada hari ke-1, ke-3, dan ke-7, bersamaan dengan pengambilan jaringan untuk pemeriksaan histologi fraktur. Tikus akan dieutanasia dengan menyuntikkan phenobarbital 100

mg/kg intraabdomen. Sampel darah yang telah didapat akan diukur kadar sitokin IL-1 β dengan ELISA kit Rat Koma Biotech Inc.

Analisis Data:

Data yang didapat dianalisis dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar. Data diuji menggunakan dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji Tukey pada $\alpha = 0.05$.

Hasil

Sebelum dilakukan tes ANOVA, semua data yang diperoleh pada hari ke-1, 3 dan 7, dianalisis homogenitasnya menggunakan *test of homogeneity of variance* (uji Levene) untuk menentukan apakah data yang digunakan menggunakan varietas yang sama. Semua parameter menunjukkan $p > 0,05$, sehingga disimpulkan bahwa data adalah homogen. Uji normalitas menggunakan Kolmogorov-Smirnov *test* menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$).

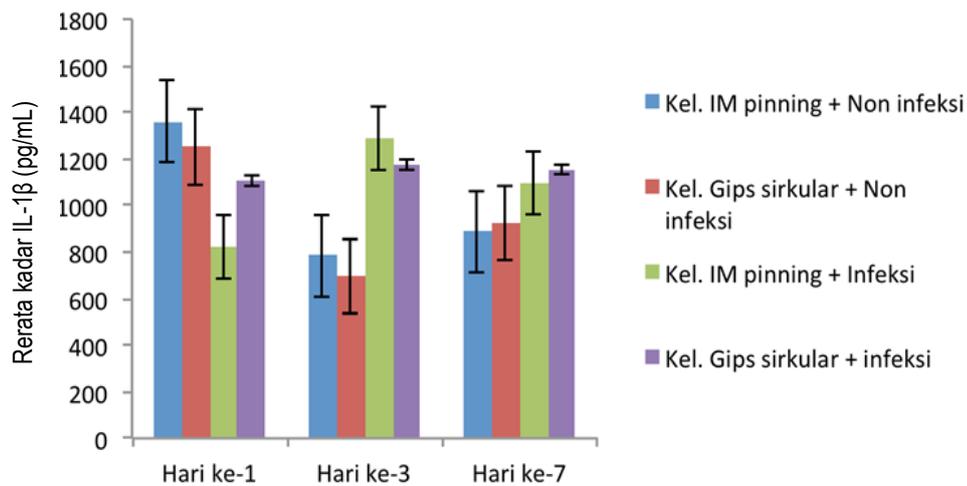
Tabel 1. Kadar IL-1 β pada masing-masing kelompok setelah perlakuan

Kelompok	Rerata kadar IL-1 β (Mean \pm SD) (pg/mL)		
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-7
<i>Intramedullary pinning</i> + tanpa infeksi <i>S. aureus</i> (K1)	1359,4 \pm 272,77 ^b	784,6 \pm 115,83 ^a	889,4 \pm 108,66 ^a
gips sirkular + tanpa infeksi <i>S. aureus</i> (K2)	1249,0 \pm 120,79 ^b	695,4 \pm 112,91 ^a	920,8 \pm 120,37 ^a
<i>Intramedullary pinning</i> + infeksi <i>S. aureus</i> (K3)	817,6 \pm 231,47 ^a	1289,2 \pm 143,26 ^b	1098,8 \pm 112,34 ^{ab}
gips sirkular + infeksi <i>S. aureus</i> (K4)	1104,0 \pm 133,49 ^{ab}	1173,6 \pm 152,90 ^b	1155,0 \pm 166,68 ^b

Keterangan: angka rata-rata \pm SD pada kolom yang sama yang didampingi huruf berbeda adalah berbeda signifikan ($p < 0,05$).

Kadar IL-1 β pada pada kondisi fraktur femur osteomyelitis dengan perlakuan fiksasi intramedula (IM) *pinning* dan *gips* sirkular

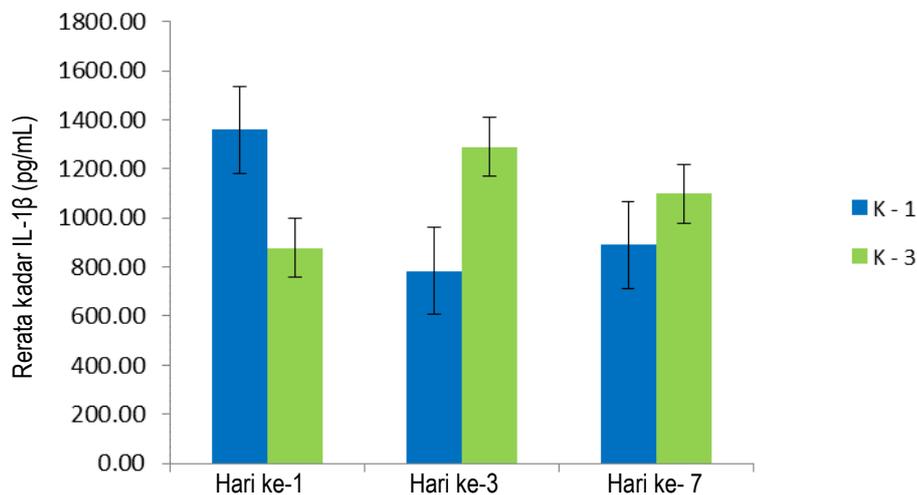
pada keadaan infeksi dan non infeksi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata kadar IL-1 β pada kondisi fraktur femur osteomyelitis dengan fiksasi *intramedulla pinning* (IM) dan *circular cast*. Keterangan: K1: kelompok *intramedullary pinning* + tanpa infeksi *S. aureus* (biru); K2: *circular cast* + tanpa infeksi *S. aureus* (merah); K3: *intramedullary pinning* + infeksi *S. aureus* (hijau); K4: *circular cast* + infeksi *S. aureus* (ungu).

Perbedaan kadar IL-1 β pada kondisi fraktur femur osteomyelitis kelompok infeksi dan non infeksi dengan perlakuan fiksasi

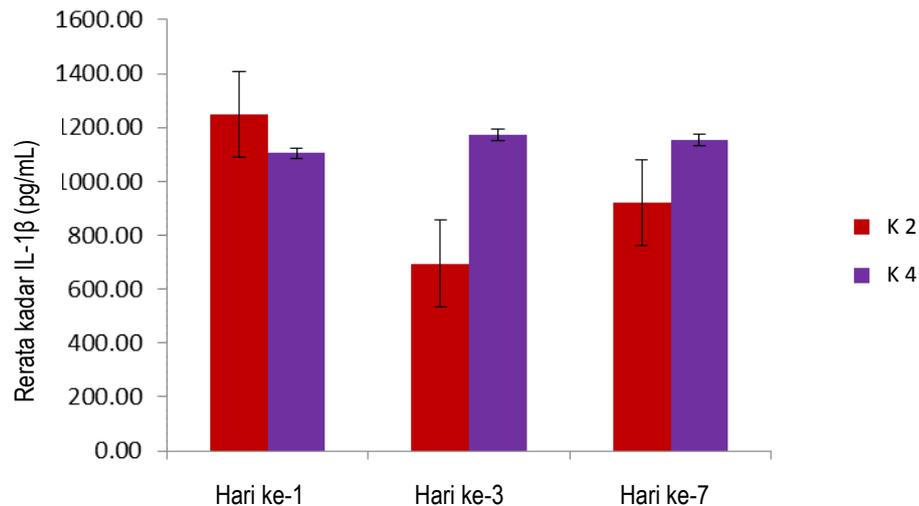
intramedula (IM) *pinning* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata kadar IL-1 β pada kondisi fraktur femur osteomyelitis dengan fiksasi *intramedulla pinning* (IM). Keterangan: K1: *intramedullary pinning* + tanpa infeksi *S. aureus* (biru); K3: *intramedullary pinning* + infeksi *S. aureus* (hijau).

Perbedaan kadar IL-1 β pada kondisi fraktur femur osteomyelitis kelompok infeksi dan

non infeksi dengan perlakuan fiksasi *gips* sirkular dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Rata-rata kadar IL-1 β pada kondisi fraktur femur osteomyelitis dengan fiksasi gips sirkular. Keterangan: K2: gips sirkular + tanpa infeksi *S. aureus* (merah); K4: gips sirkular + infeksi *S. aureus* (ungu).

Pembahasan

Proses penyembuhan fraktur tulang merupakan suatu proses yang kompleks akibat interaksi dari elemen-elemen seluler yang diaktivasi dan dikontrol oleh sitokin proinflamasi dan signal-signal protein.⁶

Terutama pada proses penyembuhan sekunder yang terdiri dari beberapa tahapan dengan diawali suatu tahapan penting yaitu inflamasi akut. Adanya perubahan pada tahapan awal ini berupa pemanjangan fase inflamasi akan mempengaruhi tahapan berikutnya. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya perubahan pada fase inflamasi ini misalnya infeksi pada tulang atau osteomyelitis yang menyebabkan fase inflamasi akan memanjang dan fragmen fraktur kurang stabil. Adanya stabilitas yang kurang antar fragmen fraktur akan memperpanjang fase inflamasi.⁷ Partikel-partikel debris yang berasal dari implan untuk fiksasi fragmen fraktur itu sendiri dapat memperpanjang atau meningkatkan fase inflamasi sehingga akan mempengaruhi ekspresi osteoklas. Sehingga kedua keadaan ini sendiri akan memberikan ekspresi sitokin proinflamasi yang berbeda serta ekspresi osteoklas yang akan mempengaruhi proses penyembuhan tulang.^{1,6,8}

Terdapat perbedaan kadar IL-1 β antara perlakuan fiksasi *intramedulla pinning* dan gips sirkular namun tidak signifikan. Pada kelompok non infeksi dengan perlakuan fiksasi *intramedulla pinning* didapatkan kadar IL-1 β lebih tinggi dibanding gips sirkular. Hal ini berbanding terbalik dengan kelompok non infeksi (Gambar 1). IL-1 β pada kadar rendah berfungsi sebagai mediator inflamasi lokal, sedangkan apabila kadar IL-1 β dalam darah dianggap tinggi maka akan melancarkan efek endokrin yang salah satunya menginduksi produksi protein akut. Faktor yang mengatur pelepasan IL-1 β belum jelas tetapi diduga karena adanya kerusakan sel.⁹ Dibandingkan dengan sitokin inflamasi lainnya, IL-1 β merupakan sitokin inflamasi yang sulit dideteksi di dalam sirkulasi darah. Pada individu normal, sitokin ini nyaris tidak dapat terdeteksi, akan tetapi pada individu dengan vaskulitis yang disebabkan seperti rheumatoid arthritis, osteomalasia, sepsis dan infark miokard terbukti meningkat signifikan dibandingkan dengan kontrol.^{9,10} Peningkatan sitokin lokal yaitu IL-1 β , IL-6, dan TNF- α pada fraktur tulang tibia domba yang difiksasi dengan krikal fiksasi terbukti meningkat signifikan dibandingkan dengan rigid fiksasi.⁷ Jadi, protein IL-1 β yang terdeteksi pada penelitian

ini lebih dikarenakan oleh trauma dan kerusakan sel yang terjadi pada saat perlakuan. Selain itu, perbedaan metode fiksasi tidak memberikan perbedaan kadar IL-1 β yang signifikan di dalam sirkulasi. Menurut Donatella et al., implan yang terdapat pada tubuh dapat menstimulasi pembentukan sitokin inflamasi berupa IL-1 dan IL-6.⁸

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan level kadar IL-1 β yang signifikan antara kelompok infeksi dan non infeksi yang difiksasi dengan *intramedulla pinning* maupun gips sirkular pada hari ke-3. Pada kelompok dengan perlakuan fiksasi gips sirkular diketahui berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kelompok *intramedulla pinning* pada hari ke-7. Sementara itu, pada kelompok fiksasi *intramedulla pinning* didapatkan juga perbedaan signifikan dengan perlakuan fiksasi gips sirkular pada hari ke-1. Pada hari ke-1 setelah perlakuan IL-1 β mulai terdeteksi, hal ini karena adanya inflamasi yang disebabkan oleh trauma akibat tindakan pembedahan atau jika disertai infeksi, sehingga belum dapat dibedakan antara perlakuan infeksi dan non infeksi. Kemudian, pada hari ke-3 kadar IL-1 β pada kelompok infeksi meningkat sementara pada kelompok non infeksi mulai menurun, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan antara inflamasi yang disebabkan oleh infeksi dengan tanpa infeksi. Kadar IL-1 β pada kelompok infeksi diketahui sedikit menurun pada hari ke-7, baik dengan fiksasi *intramedulla pinning* dan gips sirkular (Gambar 2 dan Gambar 3). Funao et al., mengamati adanya peningkatan IL-1 β pada hari ke-3 pada infeksi tulang femur tikus tanpa disertai fraktur dan fiksasi, dan level IL-1 β cenderung bertahan sampai hari ke-7 kemudian menurun pada hari ke-14.¹¹

Kesimpulan

Adanya infeksi *S.aureus* pada kondisi fraktur femur yang difiksasi dengan metode *intramedulla pinning* maupun gips sirkular terbukti dapat menimbulkan perbedaan level

IL-1 β serum secara signifikan pada hari ke-3 dibandingkan kelompok kontrol. Dengan demikian, IL-1 β dapat dipergunakan sebagai target deteksi adanya *osteomyelitis* karena memiliki peran dalam proses inflamasi pada fraktur tanpa atau disertai infeksi.

Daftar Pustaka

1. Mauricio BS and Joao TP. *Osteomyelitis*. Croatia: In Tech. 2012.
2. Okan B. Systemic Inflammation and Fracture Healing. *Journal of Leukocyte Biology*. 2011; 89:669-673.
3. P D'amelio, G Fornelli, Ilaria R, Giovanni IC. Interactions between the Immune System and Bone. *World Journal of Orthopaedics*. 2011; 2(3).
4. Ayo HO and Mcharo CN. C-Reactive Protein Response in Open Fractures of the Tibia. *SA Orthop J*. 2010; 9(1).
5. Steven B, Kushner I, and Samols D. C-Reactive Protein: Minireviews. *The Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279:48487-48490.
6. Schmidt B. Resolution of Inflammation is Essential for Angiogenesis and Affected by Fixation Stability during Initial Fracture Healing. *ORS Annual Meeting*. No. 25. 2011.
7. Solomon L, David WJ, Salvadurai N. *Apley's System Orthopaedics and Fractures*. 9th Edition. London: Hachette UK Company. 2010.
8. Donatella et al. *Effect of Chromium Extract on Cytokine Release by Mononuclear Cells*. Elsevier science Ltd, 1988
9. Coico R, Sunshine G. [Immunology: a Short course](#). Wiley-Blackwell. 2009. P 174.
10. Dinarello CA. Biology of Interleukin 1. *FASEB J*. 1988; 108-115.
11. Bruno M, Procino A, Calabro P. Inflammation May Modulate Interleukin 6 and C-reactive Protein Gene Expression in the Adipose Tissue: the Role of IL-6

Cell Membrane Receptor. *Am J Physiol
Endocrinol Metab.* 2007.