

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tulang

Tulang merupakan jaringan penyambung khusus yang matriks ekstraselulernya terkalsifikasi dan mengurung sel-sel yang mengekskresikan matriks tersebut. Tulang memiliki fungsi untuk menyokong dan melindungi organ tubuh seperti otak, corda spinalis, paru-paru dan jantung selain melindungi organ-organ tubuh tulang juga berfungsi sebagai alat gerak tubuh (Gartner dan Hiant, 2007). Tulang tersusun dari sel, serat, dan substansi dasar namun yang membedakan tulang dengan substansi lainnya adalah komponen ekstraselnya yang menagapur menjadi substansi yang keras. Tulang juga sebagai sumber kalsium untuk proses metabolik pada tubuh, yang dapat di gunakan sesuai kebutuhan untuk pengaturan konsentrasi ion dalam darah dan cairan tubuh lainnya (William dan Fawcett, 2002).

2. Matriks Tulang

Tulang tersusun dari matriks-matriks yang mengandung 35% bahan organik dan 65% bahan inorganik. Kandungan organik matriks tulang terdiri dari kolagen yang kebanyakan adalah tipe I. Kolagen menyusun 80% sampai 90% komponen organik tulang. Kolagen

menghasilkan ikatan silang yang sangat kuat sehingga mencegah diekstraksi (Gartner & Hiatt, 2007), sedangkan kandungan anorganik terdiri dari bahan utama kalsium fosfat $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5(\text{OH})_2$ yang hampir menyerupai hidroksi apatit. Selain itu ada juga bikarbonat, sitrastt, magnesium, kalium dan natrium (Gartner, Hiatt, dan Strum, Essensia Biologi Sel dan Histologi, 2011).

3. Sel – sel Tulang

Tulang yang sedang bertumbuh secara aktif mempunyai empat jenis sel. Sel-sel tersebut adalah sel osteoprogenitor, osteoblast, osteosit, dan osteoklast. *Sel osteoprogenitor* merupakan sel yang berkembang dari sel mesenkim embrional. Semasa perkembangannya menjadi sel pembentuk tulang, sel osteoprogenitor ber proliferasi dengan potensi yang lebih terbatas menjadi kondoblas pada tekanan oksigen yang rendah dan osteoblast. Sel ini tetap ada pasca-kelahiran namun diaktifkan kembali pada pemulihan fraktur tulang ataupun cedera lainnya. (William dan Fawcett, 2002).

Osteoblas merupakan sel yang berasal dari sel-sel progenitor. Perkembangan osteoblast dipengaruhi oleh *bone morphogenic protein* dan *growth factor-beta*. Osteoblas berperan dalam menghasilkan komponen organik pada matriks tulang termasuk kolagen tipe-I, proteoglikans, glikoprotein. Selain itu osteoblas juga menghasilkan reseptor untuk mengaktifkan factor inti B kappa, osteopontin (untuk pembentukan daerah perlekatan diantara osteoklas dan kompartemen

subosteoklastik), osteokalsin (untuk mineralisasi tulang), osteonektin (berhubungan dengan mineralisasi tulang), sialoprotein tulang (yang mengikat osteoblas dengan matriks ekstra seluler), dan faktor penstimulasi makrofag (Gartner dan Hiant, 2007). Osteoblas merupakan sel aktif yang berada pada bagian terluar permukaan tulang. Sel ini menghasilkan suatu formasi tulang baru pada saat terjadi resorpsi yaitu osteoid (matriks tulang yang tidak termineralisasi).

Osteoklas adalah sel berinti yang besar merupakan agen resorpsi pada tulang. Osteoklas terbentuk dari stem cell hematopoitin dalam stroma sumsum tulang dan dari sel fagosit mononuclear (McCance dan Huether, 2006). Osteoklas terletak pada lengkungan datar yang disebut dengan *lacuna Howship*. Hal ini merupakan tanda adanya resorpsi pada area tersebut. Bagian sel yang terlibat secara langsung pada proses resorpsi tulang disebut dengan batas berjumbai (Gartner dan Hiant, 2007).

Osteosit adalah sel utama pada tulang dewasa, terletak dalam lakuna yang matriksnya mengapur. Sel-sel ini tidak terisolasi dengan baik dalam lakuna namun berhubungan satu sama lain dan kemudian memungkinkan untuk berhubungan dengan sel-sel pada permukaan yang menghasilkan aliran ion dari sel ke sel (William dan Fawcett, 2002). Sel ini terbentuk dari osteoblast yang terjebak di sekeliling osteoid dan mengeras akibat dari mineral masuk ke dalam sel pada

saat kalsifikasi. Osteosit berfungsi mensintesis molekul matriks yang berperan pada kalsifikasi tulang (McCance dan Huether, 2006).

4. Kerusakan Tulang

Kerusakan pada tulang dapat terjadi karena dampak dari adanya inflamasi kronis, kurangnya nutrisi, penurunan masa tubuh, imobilitas dan efek samping dari konsumsi obat glukokortikoid. Inflamasi kronis pada bagian sistemik dapat mempengaruhi pertumbuhan tulang dan terjadinya resorpsi tulang yang menyebabkan keroposnya tulang. Penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan mempengaruhi asupan nutrisi dan kalori pada tubuh, tulang sangat sensitif terhadap status gizi oleh karena itu apabila tubuh kekurangan nutrisi maka dapat berpengaruh pada pertumbuhan tulang. Kurang olahraga dan bergerak merupakan salah satu penyebab terjadinya penurunan stimulasi mekanik tulang yang menyebabkan tulang mudah keropos. Namun berbagai penurunan fungsi tulang tersebut dapat diperbaiki sendiri oleh tulang dengan proses *remodeling* tulang (Hardy dan Cooper, 2009).

Kerusakan-kerusakan pada tulang juga dapat disebabkan terjadinya fraktur tulang akibat kecelakaan ataupun cedera pada saat berolahraga, *osteoporosis* yang merupakan akibat dari penurunan fungsi tulang karena proses penuaan, dan tumor (Lynn dan Parmet, 2004).

5. Remodeling dan Regenerasi Tulang

Remodeling tulang adalah suatu proses perbaikan kerusakan tulang dengan cara menghilangkan bagian yang rusak kemudian menggantinya dengan matriks tulang baru. Proses ini terjadi di pengaruhi oleh aktivasi osteoblast dan osteoklas (Hardy dan Cooper, 2009). Proses remodeling tulang terjadi dalam tiga fase yaitu; fase pertama adalah aktifasi, yaitu adanya stimulasi baik dari hormon, obat maupun vitamin yang mengaktifkan osteoklas pada area yang terlokalisir. Fase kedua adalah resorpsi, osteoklas yang terbentuk kemudian meresorpsi tulang secara bertahap lalu membantuk rongga memanjang yang disebut dengan rongga resorpsi.

Rongga resorpsi pada tulang kompakta mengikuti aksis sistem havers secara longitudinal. Fase ketiga adalah formasi yaitu peletakan tulang baru yang disebut dengan tulang sekunder. Tulang baru ini dibentuk oleh osteoblast pada rongga resorpsi. Lamella pada tulang kompakta berada pada saluran haversian sampai saluran ini menyempit. Setelah itu system haversian yang lama akan hancur dan yang baru akan terbantuk. Trabekula pada tulang spons akan terbentuk. Proses remodeling tulang biasanya terjadi tiga sampai empat bulan (McCance dan Huether, 2006).

Regenerasi tulang adalah suatu proses dimana tulang mampu untuk memperbaiki sendiri kerusakan tulang yang disebabkan karena trauma

misalnya patah tulang (Geris dkk., 2009). Regenerasi tulang terjadi pada saat tulang mengalami trauma atau patah tulang. Pasca patah tulang terdapat pendarahan dari pembuluh darah yang sobek dan terjadi pembekuan darah. Fibroblast memasuki daerah bekuan darah tersebut dan membentuk jaringan granulasi, yang disebut dengan *prokatus*. Jaringan granulasi yang terbentuk kemudian menjadi jaringan fibrosa padat lalu berubah menjadi massa tulang rawan yang disebut dengan *kalus temporer* yang mempersatukan tulang-tulang yang patah (Leeson dan Paporo, 1995).

6. *Bone Tissue Engineering* (BTE)

Rekayasa jaringan bertujuan untuk mengembangkan sel agar mengembalikan struktur dan fungsi jaringan yang mengalami degenerasi maupun kerusakan. (Sultana, 2012). Rekayasa jaringan dipengaruhi oleh tiga elemen yaitu sel, perancah (*scaffold*), signal molekul (*growth factors*) (Obradovic, 2011).

7. Perancah

Perancah adalah matriks tiga dimensi yang dapat berfungsi untuk menghantarkan sel, obat-obatan, dan gen ke dalam tubuh (Garg, 2012). Fungsi perancah pada rekayasa jaringan adalah sebagai tempat pertumbuhan sel-sel karena dapat disesuaikan untuk meniru matriks ekstraseluler alami baik struktur, komposisi kimia maupun sifat mekanis (Martínez-pérez dkk., 2011). Selain berfungsi untuk meniru matriks ekstraseluler, perancah juga memiliki fungsi sebagai transport

nutrisi dan faktor pertumbuhan serta mengontrol struktur dan fungsi pada rekayasa jaringan (Langer, 2004). Agar dapat berfungsi dengan baik perancah harus memenuhi syarat agar dapat digunakan dalam rekayasa jaringan diantaranya memiliki sifat mekanis yang baik, biokompatibel, osteokonduktif, osteoinduktif, osteogenesis, osteointegrasi, dan biodegradabel. Perancah harus memiliki sifat mekanis yang baik sebagai pengganti matriks ekstraseluler artinya perancah mempunyai struktur yang kuat dan memungkinkan sebagai tempat untuk pertumbuhan sel selama proses pembentukan jaringan baru (Geris dkk., 2009). Sifat mekanis perancah dapat dipengaruhi bahan dasar perancah dan porositas (Sultana, 2013). Sifat lain yang harus dimiliki perancah dalam menjalankan fungsinya pada rekayasa jaringan antara lain biokompatibel artinya sel dapat beradhesi pada perancah, berfungsi dengan baik selama proses rekonstruksi jaringan, memungkinkan sel untuk dapat bermigrasi dan berproliferasi dengan baik dan tidak menimbulkan reaksi imunologik. Setelah pembentukan jaringan hampir selesai perancah juga harus memiliki sifat biodegradabel artinya perancah harus terdegradasi (Khan, 2008) dan terserap oleh tubuh tanpa mengakibatkan gangguan pada organ lain setelah proses regenerasi selesai. Tujuan rekayasa jaringan adalah memungkinkan sel-sel untuk berkembang dengan sendirinya agar terbentuk jaringan baru (O'Brien, 2011).

Osteokonduktif artinya perancah harus memiliki kualitas struktur porus yang baik sehingga sel dapat berpoliferasi dan bermigrasi dengan baik, serta memungkinkan terjadinya pertukaran nutrisi dan penetrasi pembuluh darah baru (Khan, 2008).

Osteoinduktif adalah perancah memiliki faktor pertumbuhan sehingga mampu menginduksi perkembangan sel-sel osteoprogenitor (Khan, 2008).

Osteogenesis adalah osteoblast yang berada pada area rekonstruksi tulang mampu menghasilkan mineral untuk kalsifikasi matriks kolagen pada pembentukan tulang baru (Khan, 2008).

Osteointegrasi adalah jaringan baru yang terbentuk harus dapat membentuk ikatan yang kuat dengan tulang (Khan, 2008).

Biodegradabel artinya setelah pembentukan jaringan tulang baru hampir selesai perancah harus terdegradasi dan terserap oleh tubuh tanpa mengakibatkan gangguan pada organ lain setelah proses regenerasi selesai. Tujuan rekayasa jaringan adalah memungkinkan sel-sel untuk berkembang dengan sendirinya agar terbentuk jaringan baru (O'Brien, 2011). Berdasarkan bahan dasarnya perancah dapat terbuat dari polimer natural, polimer sintetik, dan polimer semi sintetik. Natural polimer yang biasa digunakan misalnya alginat, kolagen, gelatin, chitosan, albumin, galaktan, dan masih banyak bahan alami lainnya yang dapat digunakan sebagai perancah. Bahan-bahan tersebut dipilih karena memiliki sifat biokompatibel, mudah dibentuk dan mirip dengan matriks ekstraseluler. Sintetik polimer diantaranya adalah poliglikolid, poli (laktid-ko-glikolid), polipospazen, polianhidrat dan lain-lain. Keuntungan material ini adalah sifat fisikokimianya dapat dikontrol, tidak menimbulkan reaksi imun dan dapat diolah dengan berbagai teknik (Grag dkk., 2012). Mengkombinasikan bahan polimer natural dengan polimer sintesis dapat memperbaiki sifat degradasi (Sultana, 2013). Hidrogel dapat digunakan dalam rekayasa jaringan karena memiliki karakteristik sifat mekanik yang dapat meniru jaringan natural (El-Sherbiny dan Yacoub, 2013). Gelatin adalah protein yang biasa digunakan sebagai bahan perancah pada rekayasa jaringan. Gelatin dapat digunakan sebagai bahan dasar hidrogel dengan cara dilarutkan dalam air, didinginkan untuk menginduksi gelasi, kemudian dikeringkan untuk pembuatan perancah (Rodriguez dkk., 2014).

8. *Platelet-rich Plasma (PRP)*

Platelet-rich plasma merupakan komponen darah yang trombositnya terkonsentrasi dalam volume yang terbatas. Jumlah trombosit yang terkandung pada PRP melebihi dua juta trombosit per mikro liter. Aktivasi dari PRP dapat merilis *growth factors* atau faktor pertumbuhan yang dapat meningkatkan proses penyembuhan luka (Anila, 2006). Ahli bedah memanfaatkan fibrin yang terkandung dalam PRP untuk proses hemostasis (Eppley, 2004).

Faktor pertumbuhan juga menginisiasi proses penyembuhan, regenerasi tulang, perbaikan tulang, mendorong pertumbuhan pembuluh darah baru, dan menstimulasi penyembuhan luka. Faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh PRP diantaranya adalah PDGF yang muncul pada awal penyembuhan luka. Fungsi utama PDGF adalah menstimulasi replikasi stem sel dan diferensiasi sel osteoprogenitor. Selain itu PDGF juga menstimulasi replikasi sel endothelial yang menyebabkan pertumbuhan kapiler baru (angiogenesis), PDGF terilis pada setelah adhesi platelet dengan bagian yang luka. TGF meregulasi proliferasi dan diferensiasi dari berbagai macam sel. IGF juga memiliki peran penting selama proses penyembuhan luka, menstimulasi proliferasi dan diferensiasi osteoblast. EGF bertanggung jawab untuk diferensia sel dan menstimulasi re-epitelisasi, angiogenesis, dan aktivasi kolagenase. Selain faktor pertumbuhan PRP memiliki komponen seperti sel

fagosit, *native fibrinogen concentration*, agen kemotaksis dan platelet dengan konsentrasi tinggi (Anila, 2006).

Fibrin merupakan perancah natural terdapat dalam tubuh yang terbentuk pada saat aliran koagulasi selama proses (Shimojo dkk., 2015). Kelemahan dari fibrin dalam perannya sebagai perancah adalah kekakuannya rendah, dapat mengalami pengkerutan dan degradasinya cepat sehingga tidak memungkinkan terjadinya regenerasi tulang yang sesuai (Rodríguez-Jiménez dkk., 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Shimojo dkk (2015) fibrin yang berasal dari aktivasi PRP diinteraksikan dengan perancah kitosan berporus dapat meningkatkan kekuatan mekanik jaringan fibrin. Selain itu jaringan fibrin juga menutupi porus dan permukaan dari perancah kitosan berporus, sehingga menjadi area tambahan untuk adhesi, proliferasi dan diferensiasi dari sel-sel.

Menurut Tabata dan Matsui (2012) PRP dapat diperoleh melalui cara sentrifugasi. Mereka membuat PRP yang berasal dari darah hewan. Darah hewan sebanyak 10ml dimasukkan ke dalam tabung yang berisi cairan antikogulan asam-sitrat-dextrose kemudian disentrifugasi selama tujuh menit pada 450g dan suhu 4⁰ C. Selanjutnya plasma kuning dipindahkan ke dalam tabung BD Vacutainer dan disentrifugasi selama lima menit pada 1600g dan suhu 4°C. Butir-butir platelet dikumpulkan dan trombolitik dalam 1ml

plasma digunakan sebagai PRP sedangkan yang terapurug merupakan *platelet-poor plasma* (PPP).

9. Inkorporasi

Platelet-rich plasma dapat digunakan dalam bentuk gel maupun cairan namun cara tersebut kurang efektif karena tidak dapat menyediakan dukungan mekanis dan ruangan yang cukup untuk pemulihan jaringan yang rusak. Mengatasi masalah tersebut PRP dapat diinkorporasikan atau dimasukkan ke dalam biomaterial yang tepat atau perancah(Liu dkk., 2015).

Inkorporasi PRP dengan hidrogel gelatin dapat dilakukan dengan beberapa metode termasuk merendam hidrogel dalam larutan PRP atau menambahkan PRP kedalam larutan dasar gelatin sebelum gelasi. Penambahan PRP pada perancah hydrogel gelatin dapat mempengaruhi proses degradasi perancah (Hokugo, dkk., 2005)

10. Phosphate Buffer Saline (PBS)

Phosphate buffer saline (PBS) adalah larutan yang sering digunakan dalam penelitian biologi. Cairan ini merupakan larutan garam berbasis air yang mengandung natrium fosfat dan natrium klorida (Trivedi, dkk., 2015). Cairan ini sering digunakan karena mendekati larutan organik dalam tubuh (Fallis, 2013).

11. Degradasi

Degradasi adalah suatu proses dimana perancah mulai mengalami berbagai penurunan fungsi dan sifat mekanis yang kemudian harus

dapat diserap oleh tubuh. Degradasi perancah dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti struktur polimer, berat molekul, komposisi kopolimer, suhu, dan pH lingkungan. Selama proses degradasi, terjadi perubahan sifat dari perancah yaitu perubahan sifat mekanik, perubahan berat molekul, perubahan dimensi dan perubahan morfologi porus (Wu dan Ding, 2005).

Berdasarkan berbagai perubahan sifat tersebut Wu dan Ding (2005) membagi proses degradasi menjadi tiga tahap. Tahap pertama adalah *quasi-stable*. Tahap pertama ini kemudian dibagi menjadi dua sub tahap yaitu tahap I-1 dan tahap I-2. Tahap I-1 sifat mekanik pada perancah meningkat dan dimensi porusnya mengalami penurunan sedangkan berat molekul tetap konstan. Perubahan dimensi perancah dapat mempengaruhi meningkatnya sifat mekanik dari perancah. Mengkerutnya dimensi perancah menyebabkan perubahan porositas dan kerusakan pada struktur perancah. Tahap I-2 terjadi perubahan pada semua sifat perancah kecuali berat molekul tidak terjadi perubahan yang signifikan. Tahap kedua, sifat mekanik mengalami penurunan drastis dan meluasnya area *molecular weight dimension* (MWD) tetapi berat dan dimensinya masih konstan. Tahap ketiga, terjadi penurunan berat (*weight loss*), penurunan dimensi, dan akhirnya terjadi gangguan pada perancah. *Weight loss* bersamaan dengan pelepasan produk asam ke larutan PBS. Oleh karena itu, saat pH menurun akibat pelepasan produk asam maka *weight loss* akan terjadi

dengan cepat. Selain *weight loss* perancah juga akan menjadi rapuh, kekuatan mekaniknya sangat kecil bahkan sulit untuk diukur dan perubahan besar dari morfologi porus hingga akhirnya perancah mulai menghilang .

B. Landasan Teori

Tulang merupakan jaringan keras pada tubuh manusia yang berfungsi untuk menyokong tubuh, melindungi organ tubuh, dan sebagai alat gerak pada tubuh. Kerusakan pada tulang dapat terjadi disebabkan karena kurangnya nutrisi, imobilitas, dan trauma. Kerusakan kecil pada tulang dapat diperbaiki dengan proses remodelling tulang sedangkan kerusakan besar yang mengakibatkan terjadinya perdarahan, seperti patah tulang dapat diperbaiki dengan proses regenerasi tulang namun memerlukan proses yang cukup panjang dan hasilnya kurang maksimal.

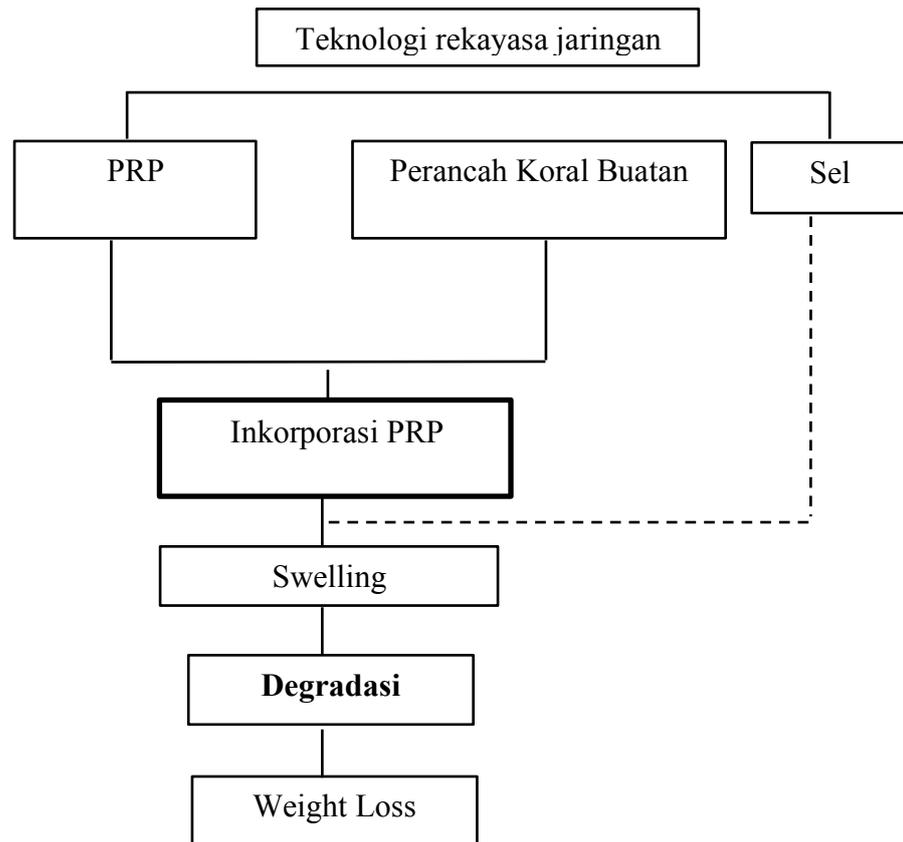
Rekayasa jaringan merupakan suatu metode yang dapat digunakan dalam merokstruksi jaringan tulang. Rekayasa jaringan memiliki tiga elemen penting dalam proses rekonstruksi tulang yaitu sel, perancah dan faktor pertumbuhan. Perancah merupakan matriks tiga dimensi yang berfungsi meniru matriks ekstraseluler. Fungsi perancah adalah sebagai tempat sel untuk tumbuh, berproliferasi dan berdiferensiasi. Selain itu juga berfungsi sebagai neovaskularisasi dan pertukaran nutrisi antara sel baru dengan pembuluh darah.

Perancah harus bisa diterima tubuh dan tidak mengganggu fungsi organ lain saat terdgradasi. Perancah harus memiliki beberapa syarat agar dapat digunakan pada rekayasa jaringan yaitu biokompatibel, memiliki sifat mekanik yang baik, osteokonduktif, osteoinduktif, osteogenesis, osteointegrasi, dan biodegradebel. Perancah harus memiliki sifat biodegradebel karena perancah harus terdegradasi dan harus benar-benar hilang dari tubuh saat rekonstruksi tulang selesai.

Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai perancah adalah gelatin. Gelatin dapat digunakan sebagai bahan dasar hidrogel yang kemudian dapat digunakan sebagai perancah. Hidrogel gelatin ini memiliki sifat mekanis yang dapat meniru jaringan asli pada tubuh dan merupakan salah satu bahan yang biodegradabel.

Platelet-rich plasma merupakan plasma darah yang kaya akan trombosit. Trombosit ini dapat merilis faktor pertumbuhan lebih banyak dari plasma darah biasa. Faktor pertumbuhan yang dihasilkan adalah PDGF, TGF, IGF, dan EGF yang semuanya memiliki peran penting dalam proses penyembuhan dan pembentukan tulang. *Platelet-rich plasma* yang memiliki fibrinogen teraktivasi menjadi fibrin apabila diinteraksikan dengan perancah misalnya kitosan berporus dapat menghasilkan kekuatan mekanis dan bertambahnya permukaan akibat pembentukan jaringan fibrin pada permukaan perancah. Perancah hidrogel yang diinkorporasikan dengan PRP juga berpengaruh terhadap proses degradasi.

C. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka Teori

D. Hipotesis

Inkorporasi PRP pada perancah koral buatan berpengaruh terhadap proses degradasi peancah.