BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Tulang

Tulang adalah unsur pokok dari skeleton dewasa dan merupakan tipe khusus dari jaringan konektif dengan matriks ekstraseluler yang terkalsifikasi yang memiliki karakteristik sel yang menempel. Tulang memiliki fungsi untuk melindungi organ vital, mendukung struktur tubuh, dan menyediakan cadangan kalsium (tulang mengandung 99% dari kalsium tubuh), merupakan jaringan dinamis yang selalu mengalami perubahan bentuk. Mempergunakan hasil tekanan pada resorpsi tulang. mempergunakan hasil tegangan pada formasi tulang (Gartner dkk., 2011).

Tulang memiliki sistem regenerasi seluler yang kompleks dimana sel-sel yang lama akan dirombak akan diganti dengan sel-sel baru. Keseimbangan resorpsi dan formasi tulang akan menentukan densitas tulang dan mempengaruhi kerentanan tulang terhadap kejadian fraktur (Sihombing dkk., 2012).

a. Matriks Tulang

Matriks tulang mengandung komponen organik atau osteosid, dan komponen inorganik atau mineral tulang (Paulsen, 2010)

1) Komponen organik

Osteoid (serabut-serabut dan substansi dasar yang belum termineralisasikan) merupakan kurang lebih 50% dari volume tulang dan 25% dari berat tulang (Paulsen, 2010).

a) Serabut-serabut

90-95% osteoid adalah kolagen tipe I. Susunan dari *tropocollagen* yang teratur menghasilkan celah bersusun (*lacunar regions*) yang mengandung kristal hidroksiapatit (mineral) sebanyak 50% (Paulsen, 2010)

b) Substansi dasar

Kristal hidroksiapatit dan serat-serat kolagen tertanam di dalam substansi asam pada protein, karbohidrat, dan beberapa proteoglikan dan lipid. Protein termasuk di dalamnya glikoprotein, *phosphoprotein*, sialoprotein, dan yang mengandung γ-asam karboksiglutamat (Paulsen, 2010).

2) Komponen inorganik

Mineral tulang terhitung kira-kira 50% untuk volume tulang dan 75% untuk berat tulang. Mineral tulang terdiri dari kalsium dan fosfat, dengan beberapa bikarbonat, sitrat, magnesium, dan potasium serta beberapa sisa logam lain. Kalsium dan fosfat terbentuk dari kristal hidroksiapatit ($Ca_{10}[PO_4]_6[OH]_2$) (Paulsen, 2010).

3) Sel-sel Tulang

Tulang dewasa mengandung empat jenis sel yang berbeda: sel osteogenik (osteoprogenitor), osteoblas, osteosit, dan osteoklas (Sihombing, 2012).

1) Sel osteogenik

Merupakan sel-sel induk pluripotent yang belum berdiferensiasi, dan berasal dari jaringan ikat mesenkim. Sel osteogenik banyak ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, di endosteum dan dalam saluran vascular dari tulang kompakta. Osteogenik memiliki dua jenis sel: (Sihombing, 2012).

a) Preosteoblas

Jenis sel ini memiliki sedikit retikulum endoplasma dan nantinya akan menghasilkan osteoklas (Sihombing, 2012).

b) Preosteoklas

Jenis sel ini mengandung lebih banyak mitokondria dan ribosom bebas yang nantinya akan menghasilkan osteoklas (Sihombing, 2012).

2) Osteoblas

Berperan dalam membuat, mensekresi, dan mengendapkan unsur organik matriks tulang baru yang disebut osteoid. Osteoid merupakan matriks tulang yang belum mengapur, baru dibentuk, dan tidak mengandung mineral. Setelah deposisi, osteoid segera

mengalami mineralisasi dan menjadi tulang. kandungan dalam osteoblas terdapat enzim fosfatase alkali yang menandakan bahwa sel-sel ini tidak hanya berhubungan dalam pembuatan matriks tetapi juga mineralisasinya (Sihombing, 2012).

3) Osteosit

Merupakan osteoblas yang terpendam di dalam matriks tulang (Sihombiing, 2012).

4) Osteoklas

Merupakan sel multinuclear besar yang terdpat di sepanjang perukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, *remodeling*, dan perbaikan tulang. Osteoklas banyak dijumpai di dalam sebuah lekuk dangkal pada tulang yang teresorpsi atau terkikis secara enzimatik. Setelah proses resorpsi selesai, osteoklas akan menghilang dan berdegenerasi atau kembali berubah menjadi sel asalnya (Sihombing, 2012).

b. Bone Remodelling

Patah tulang mengakibatkan robeknya pembuluh di periosteum, endosteum, dan kanal heversian serta kanal volkmann, akibatnya terjadi pendarahan lokal dan terbentuk pembekuan di antara akhiran tulang yang patah. Periosteum dan endosteum menyediakan makrofag yang dapat menghentikan perdarahan dan fibroblas yang mengisi kebocoran dari jaringan penghubung fibrous. Beberapa jaringan konektif sel berdiferensiasi menjadi *chondrocutes*, jaringan ini juga menjadi *callus*,

yang berisi tempat fibrokartilago dan hyalin kartilago yang memberikan rangka untuk pembentukan tulang. Dimulai di dalam daerah subperiosteal (segera setelah 2 hari pasca luka pada orang muda), *callus* akan menggantikan tulang primer, yang selanjutnya aka berubah bentuk dan digantikan oleh tulang sekunder. Waktu yang dibutuhkan untuk penyembuhan yang sempurna tergantung pada tempat dan besarnya luka serta tergantung pada usia (Paulsen, 2010).

2. *Bone Tissue Engineering*

Tissue engineering digunakan untuk meregenerasi jaringan yang rusak dan merestorasi berbagai fungsi dari jaringan dan organ manusia yang rusak. Prinsip *tissue engineering* dalam meregenerasi jaringan melibatkan kombinasi tiga komponen utama yaitu perancah (*scaffold*), regeneratif sel dan *cell signaling molecules* atau *growth factor* (Cahaya & Masulili, 2015).

Sinyal molekul yang salah satunya berupa factor pertumbuhan/*growth factor* berperan dalam memodulasi aktivitas seluler serta merangsang sel-sel untuk berdeferensiasi dan memproduksi matrik untuk perkembangan jaringan (Cahaya & Masulili, 2015).

Molekul signal memiliki peran dalam memberi stimulasi sel untuk berproliferasi dan berdeferensiasi menjadi sel tulang. Kandungan molekul signal tidak boleh terlepas ke jaringan dengan cepat, karena akan menjadi tidak efektif bila stimuli masih di perlukan tetapi molekul signal sudah habis terlepas (Mahanani, 2013). Keberhasilan *tissue engineering* tergantung pada interaksi antara material perancah dan komponen lain seperti faktor-faktor

pertumbuhan, sel dan suplai darah (Cahaya & Masulili, 2015). Faktor pertumbuhan tidak bersifat karsinogenik karena faktor pertumbuhan hanya memicu ekspresi gen normal. Faktor pertumbuhan hanya bekerja pada membrane sel dan tidak pernah memasuki inti sel (Satriyo, 2011).

Bahan cangkok tulang terdiri dari :

1. *Autogenous graft*

   Merupakan bahan cangkok tulang yang berasal dari tubuh pasien sendiri (Maksmara, 2011).

2. *Allograft*

   Merupakan bahan cangkok tulang yang berasal dari seseorang dan ditransplantasi pada orang lain (Maksmara, 2011).

3. *Xenograft* (Maksmara, 2011).

3. Perancah/*Scaffold*

Perancah berperan sebagai tempat sekaligus lingkungan untuk tumbuh, berkembang, dan berdeferensiasinya sel sesuai dengan target jaringan yang akan direkonstruksi. Desain perancah harus sesuai untuk tempat tumbuhnya sel yang bersangkutan, baik dari segi porusitas, profil maupun lamanya terdegradasi dengan sendirinya, dan perancah harus mampu untuk dimuati suatu bahan yang berfungsi memberikan molekul signal untuk dimanfaatkan oleh sel yang akan ada di dalam perancah maupun sel disekitarnya (Mahanani, 2013).

Metode rekayasa jaringan tulang memerlukan perancah atau *scaffold* sebagai tempat sel merangkak dan bertumbuh menjadi jaringan tulang.

Komponen material perancah rekayasa jaringan tulang harus sesuai dengan komponen penyusun tulang (Indrani & Adi, 2012). Bahan material perancah harus memenuhi prinsip rekayasa jaringan yaitu dibuat dari bahan material yang memiliki sifat biokompatibel, biodegradasi, dan bioaktif (Aprilisna dkk., 2015). Biokompatibel berarti interaksi antara membran dan jaringan inang tidak menimbulkan efek yang buruk (Cahaya & Masulili, 2015).

Perancah yang ideal harus memiliki sifat sebagai berikut: 1) memiliki bentuk tiga dimensi dan kekuatan mekanik, 2) memiliki struktur yang berporus untuk menyediakan lingkungan yang baik bagi pembenihan sel, 3) berasal dari material yang bersifat biokompatibel sehingga meminimalkan terjadinya respon imun yang berlebihan, 4) pola degradasi harus memberi waktu yang cukup sampai jaringan yang rusak terbentuk sempurna, 5) perancah dapat mendukung adhesi sel dan proliferasi, serta memfasilitasi sel-sel untuk bermigrasi (Gaikwad dkk., 2008).

4. *Platelet Rich Plasma*

Platelet rich plasma (PRP) merupakan plasma kaya platelet yang didapatkan dari *autologous* atau berasal dari tubuh yang sama yang ditempatkan di dalam plasma dan mengandung banyak faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan yang terdapat dalam PRP adalah PDGFαα, PDGFββ, PDGFαβ, TGF-β, TGF-β_2, VEGF, dan EGF (Muljanti dkk., 2014).

Prinsip dalam pembuatan PRP adalah dengan *sentrifugasi whole blood*. *Sentrifugasi* akan mengakibatkan *whole blood* terbagi menjadi 3 lapisan,

yaitu lapisan dasar (eritrosit), lapisan tengah (*buffy coat*), dan lapisan atas (plasma) (Satriyo dkk., 2011).

PRP adalah trombosit terpekatkan, yang mengandung tujuh protein faktor pertumbuhan. Perbedaan aturan kerja dalam perbuatan PRP mengakibatkan perbedaan jumlah dan pengaruh biologis trombosit. Trombosit yang rusak tidak akan mengeluarkan faktor pertumbuhan bioaktif, akibatnya PRP yang dihasilkan mengecewakan (Muljanti dkk., 2014).

PRP memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka, respon akut jaringan terhadap trauma, dan pada beberapa proses fisiologis seluler, seperti pertumbuhan, diferensiasi, dan replikasi sel. PRP adalah fraksi plasma darah dengan konsentrasi 3-5 kali diatas nilai normal (konsentrasi trombosit pada *whole blood*). Tingginya konsentrasi trombosit dan berbagai faktor pertumbuhan yang terdapat didalamnya, telah membuat PRP dapat dimanfaatkan pada berbagai cabang ilmu kedokteran, seperti bedah mulut, bedah plastik, bedah kraniofasial, bedah jantung, ortopedi, neurologi, kedokteran olah raga, dan dermatologi (Satriyo dkk., 2011).

Faktor pertumbuhan seperti PRP telah menunjukkan peningkatan penyembuhan dan regenerasi tulang dengan memodulasi aktifitas seluler dan menyediakan stimuli pada sel untuk berdeferensiasi dan sintesis matriks murni untuk mengembangkan jaringan baru (Cahaya & Masulili, 2015).

5. *Platelet Rich Fibrin*

Platelet rich fibrin (PRF) merupakan pengembangan konsentrat platelet generasi kedua yang tidak memanfaatkan faktor anti koagulasi. PRF juga

disebut leukosit-PRF karena sifat antisipasi dalam regenerasi jaringan dan penyembuhan luka. PRF mengandung lebih banyak sel darah putih yang sangat diperlukan selama proses penyembuhan luka, dan sel darah putih, termasuk *neutrophil* dan makrofag merupakan salah satu jenis sel pertama yang ditemukan di lokasi terjadinya luka. *Neutrophil* dan makrofag memiliki peran dalam fagositosis debris, mikroba, dan jaringan nekrotik sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi. Makrofag merupakan salah satu sel kunci yang terlibat dalam sekresi faktor pertumbuhan selama proses penyembuhan luka, termasuk mengubah faktor pertumbuhan beta (TGF-β), PDGF, dan faktor pertumbuhan endotel vascular (VEGF). Sel-sel tersebut bersama dengan *neutrophil* dan platelet, merupakan kunci dalam penyembuhan luka dan dikombinasikan dengan faktor pertumbuhan/sitokin yang di keluarkan oleh sel-sel tersebut, mampu memfasilitasi regenerasi jaringan, pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), dan pencegahan infeksi (Miron dkk. 2017).

PRF memiliki efek suportif terhadap sistem kekebalan tubuh, karena mampu merangsang mekanime pertahanan. PRP menggabungkan lebih banyak platelet/ml dibandigkan dengan PRF, namun pada PRF memiliki struktur hybrid dan sifat mekanik paling kuat yang dapat mendukung transplantasi sel mesenkim dan memperlambat pelepasan faktor pertumbuhan selama periode 7 hari (Kumar, 2016).

6. Degradasi Perancah

Sifat tidak mudah larut (degradasi) merupakan kemampuan yang diperlukan oleh material perancah. Karakteristik material perancah harus sesuai dengan karakteristik sel tulang yang akan ditumbuhkan (Indrani & Adi, 2012).

Perancah membutuhkan desain *delivery vehicle* yang sesuai untuk melepaskan molekul signal secara perlahan sampai terbentuknya sel osteoblas yang telah mampu mensekresikan matriks tulang. *Delivery vehicle* didesain agar perancah dapat berdegradasi sesuai dengan kecepatan yang diharapkan. Proses degradasi merupakan bagian terlepasnya molekul signal. Semakin pelan proses degradasi perancah maka semakin pelan pula pelepasan molekul signal ke lokasi rekonstruksi tulang (Mahanani, 2013).

Kecepatan degradasi pada perancah harus sesuai dengan kecepatan pembentukan jaringan. Perancah harus melewati beberapa tahapan dalam proses degradasi. Tahap pertama terdapat dua sub yaitu tahap I-1 dan tahap I-2. Tahap I-1 terdapat penurunan dimensi dari porus perancah dan peningkatan sifat mekanik, tidak terjadi perubahan yang signifikan pada berat perancah. Tahap I-2 semua variabel kecuali berat molekul tidak mengalami perubahan berat yang signifikan. Tahap kedua menggambarkan penurunan *mechanical properties* secara signifikan dan area *molecular weight distribution* (MWD) meluas, tetapi berat dan dimensi perancah konstan. Karakteristik pada tahap ketiga yaitu hilangnya berat molekul perancah, penurunan dimensional, perancah menjadi rapuh, kekuatan mekanik menjadi sangat kecil bahkan sulit

untuk diukur, morfologi pori mengalami perubahan besar dan akhirnya terjadi gangguan yang mengakibatkan perancah rusak secara keseluruhan (Wu & Ding, 2004).

B. Landasan Teori

Tissue engineering atau rekayasa jaringan merupakan terobosan terbaru dalam bidang kedokteran yang dapat mengembalikan fungsi jaringan dan organ manusia yang rusak. Perancah yang digunakan dalam *bone tissue engineering* harus berasal dari material yang dengan komponen penyusun tulang. Bahan material perancah juga harus dibuat dari bahan-bahan yang bersifat biokompatibel, biodegradasi dan bioaktif.

Rekayasa jaringan memiliki tiga komponen utama yaitu perancah, sel dan signal. Perancah memiliki fungsi sebagai tempat berkembangnya sel baru yang akan menggantikan sel lama yang telah rusak. Perancah tidak hanya mampu untuk dimuati sel baru yang akan berkembang tetapi perancah juga harus mampu untuk dimuati oleh suatu bahan yang berfungsi memberikan molekul signal berupa faktor pertumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh sel yang ada di dalam perancah maupun oleh sel sekitarnya.

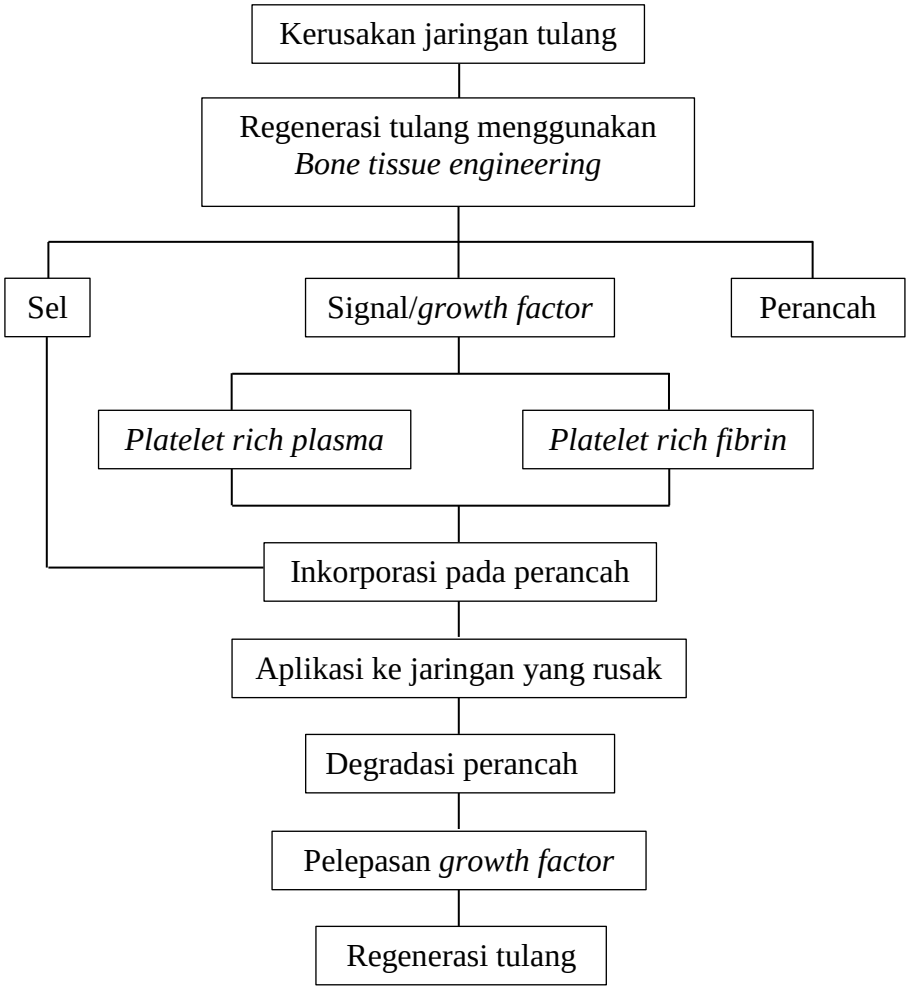
Perancah harus memiliki sifat tidak mudah larut atau degradasi. Proses degradasi perancah harus sesuai dengan kecepatan pembentukan jaringan. proses degradasi perancah ini melibatkan proses pelepaan molekul signal atau faktor pertumbuhan, maka semakin pelan proses degradasi perancah, semakin pelan pula pelepasan molekul signal.

Faktor pertumbuhan dalam rekayasa jaringan berperan dalam merangsang sel-sel untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel tulang. Faktor pertumbuhan memegang peranan penting dalam keberhasilan rekayasa jaringan. Faktor pertumbuhan tidak boleh terlepas ke jaringan terlalu cepat, karena dapat mengakibatkan kegagalan dalam rekayasa jaringan.

Molekul signal bisa didapatkan dari pembuatan PRP dan PRF yang mengandung banyak faktor pertumbuhan. Konsentrasi trombosit yang tinggi dan kandungan berbagai faktor pertumbuhan yang terkandung dalam PRP dapat dimanfaatkan dalam proses penyembuhan luka, pertumbuhan sel, diferensiasi sel dan replikasi sel, serta dapat meningkatkan penyembuhan dan regenerasi tulang. PRF yang mengandung lebih banyak sel darah putih yang sangat diperlukan dalam proses regenerasi jaringan dan penyembuhan luka.

PRP dan PRF memiliki sifat mekanis yang buruk, stabilitas yang rendah dan derajat degradasi yang cepat. Inkorporasi PRP dan PRF pada perancah dapat memperkuat struktur dan memperlambat proses degradasi perancah. PRF memiliki struktur hybrid yang menjadikan PRF memiliki struktur mekanik yang kuat yang mendukung proses transplantasi sel mesenkim dan dapat memperlambat pelepasan faktor pertumbuhan sehingga waktu degradasi perancah menjadi lebih panjang dan fase pemulihan menjadi lebh optimal. Dari uraian tersebut kemungkinan pada penambahan PRF akan memperlambat proses degradasi perancah dibandingkan penambahan PRP.

C. Kerangka Konsep



Gambar 1. kerangka konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan profil degradasi pada perancah yang diinkorporasi dengan menggunakan *platelet rich plasma* dan *platelet rich fibrin.*