

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Tulang

Tulang merupakan jaringan ikat yang membentuk kerangka vertebrata yang lebih tinggi. Tulang terdiri atas sel-sel dan matriks intersel. Matriks mengandung unsur organik yang terdiri dari serat-serat kolagen dan unsur anorganik yang terdiri dari kalsium fosfat (kira-kira 85%), kalsium karbonat (10%), dan sejumlah kecil kalsium fluorida dan magnesium fluorida. Menurut Leeson dan Paparo ( 1995 ) sel-sel tulang dapat dibedakan menjadi empat jenis :

##### a. Sel Osteoprogenitor

Sel osteoprogenitor merupakan perkembangan dari mesenkim, yang memiliki daya mitotik dan kemampuan berkembang menjadi sel tulang dewasa. Sel osteoprogenitor mirip sel mesenkim dan berbentuk gelendong, dengan inti pucat memanjang dan sitoplasma jarang. Sel osteoprogenitor biasanya ditemukan pada lapisan periosteum, endosteum dan saluran vaskular tulang kompakta ( Janqueira dkk, 2004 ).

Sel osteoprogenitor mempunyai dua jenis yaitu preosteoblas, memiliki sedikit retikulum endoplasma yang pada akhirnya menghasilkan osteoblas dan preosteoblas mengandung lebih banyak

mitokondria dan ribosom bebas yang pada akhirnya menghasilkan osteoklas ( Fewcett, 1994 ).

Sel-sel osteoprogenitor ini pada kehidupan embrional dan janin berperan aktif sebagai prekursor osteoblas. Sel Osteoprogenitor yang telah dewasa, hampir sebagian besar sel tersebut berada dalam keadaan istirahat jika tidak terstimulasi untuk berpoliferasi dan berdiferensiasi menjadi osteoblas ( Telser dkk, 2007 ).

#### b. Osteoblas

Osteoblas berhubungan dengan pembentukan tulang dan dapat ditemukan pada permukaan tulang. Bentuk sel osteoblas bermacam-macam dari kuboid sampai piramidal bahkan bisa berbentuk susunan epitel. Intinya besar dan biasanya mempunyai satu anak inti ( Leeson dan Paparo, 1995 ).

Osteoblas mensintesis dan mensekresi matriks organik tulang sama baiknya dengan osifikasi langsung dari matriks oleh pensekresian gelembung-gelembung kecil matriks (50-250 nm) yang mengandung alkaline-fosfatase dan faktor-faktor inisiasi klasifikasi lainnya ( Telser dkk, 2007 ).

Osteoblas yang sedang mensintesis matriks memiliki struktur ultrasel yang secara aktif mensintesis protein untuk dikeluarkan. Komponen matriks disekresi pada permukaan sel yang berkontak

ke permukaan tulang yang lebih tua dan menghasilkan lapisan

matriks baru (namun belum berkapur), yang disebut osteoid, diantara lapisan osteoblas dan tulang yang baru dibentuk ( Leeson dan Paparo, 1995).

Proses sekresi matriks disebut juga aposisi tulang, kemudian dituntaskan dengan pengendapan garam-garam kalsium dalam matriks yang baru terbentuk. Beberapa osteoblas secara berangsur-angsur dikelilingi oleh matriks yang baru terbentuk dan menjadi osteosit. Selama proses ini, terbentuk rongga yang disebut lakuna yang dihuni osteosit beserta juluran-julurannya bersama sedikit matriks ekstrasel yang tidak mengapur ( Janqueira dkk, 2004 ).

### c. Osteosit

Osteosit merupakan osteoblas yang terpendam dalam matriks tulang. Sitoplasmanya bersifat basofil ringan yang mengandung titik-titik lemak, sejumlah glikogen, dan butir-butir halus mirip dengan osteoblas. Tonjolan-tonjolan halus sitoplasma osteosit menjulur kedalam kanalikuli, yang memancar keluar dari lakuna. Taut rekah (*gap junctions*) terdapat pada tempat-tempat bertemunya tonjolan-tonjolan sitoplasma didalam kanalikuli ( Fewcett, 1994 ).

*Gap junction* diduga memungkinkan aliran ion dan molekul kecil antarsel. Osteosit yang telah dewasa hampir seluruh tonjolan ini telah ditarik kembali tetapi kanalikuli tetap sebagai sarana untuk dilalui

metabolit dari peredaran darah dan osteosit ( Leeson dan Paparo, 1995).

d. Osteoklas

Osteoklas adalah sel raksasa berinti banyak yang besar dan jumlah anak intinya sangat bervariasi. Osteoklas terletak dekat dengan permukaan tulang, sering kali terdapat dalam lekukan dangkal yang dikenal sebagai lakuna *Howship*. Sitoplasmanya terlihat granular dengan basofil yang ringan. Mikrograf elektron memperlihatkan bahwa permukaan osteoklas yang menghadap matriks penuh dengan tonjolan sitoplasma dan mikrovili yang dikenal dengan batas bergerigi ( Fewcett, 1994 ).

Permukaan tulang dekat osteoklas sering hilang sebagian mineralnya, dan ada kemungkinan bahwa sel-sel tersebut mengalami resorpsi tulang, meskipun belum dijelaskan mekanisme kerjanya. Osteoklas mengeluarkan kolagenase dan enzim proteolitik lain yang menyebabkan matriks tulang melepaskan substansi dasar yang mengapur. Sesudah proses resorpsi selesai, osteoklas menghilang dan bergenerasi menjadi sel asalnya ( Leeson dan Paparo, 1995).

Sel osteoklas memiliki umur yang panjang, tetapi sel ini tidak selalu dalam keadaan aktif. Modulasi aktivasi sel osteoklas ini

tidak dilakukan oleh sel-sel lain. Sel osteoklas memiliki reseptor



### 3. Perancah Gelatin Hidrogel

#### a. Definisi Perancah

Perancah (*bone graft*) merupakan material yang ditransplantasikan dengan tujuan untuk memberi dukungan mekanis sebagai kerangka (*mechanical support*) bagi *growth factor* dan sel. Perancah diharapkan sebagai faktor yang membentuk lingkungan mikro tempat tinggal untuk perlekatan sel, proliferasi dan diferensiasi ( Mangano dkk, 2011 ).

Menurut Moore dkk ( 2001 ) perancah yang ideal harus memiliki kemampuan yaitu :

- 1) Osseointegrasi, kemampuan untuk berikatan secara kimiawi pada permukaan tulang tanpa menghalangi lapisan jaringan fibrous.
- 2) Osseokonduksi, kemampuan untuk mendukung pertumbuhan tulang di seluruh permukaan tulang
- 3) Osteoinduksi, kemampuan untuk menginduksi diferensiasi stem cell yang berasal dari jaringan disekitarnya menjadi osteoclas secara fenotif
- 4) Osteogenesis, kemampuan pembentukan tulang baru oleh sel osteoblas.

#### b. Jenis perancah

Perancah dapat diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke

dengan tujuan untuk memfasilitasi respon penyembuhan kerusakan tulang ( Moore dkk, 2001 ).

Perancah merupakan jaringan kedua terbanyak yang ditransplantasikan, lebih dari 2,2 juta transplantasi tulang dilakukan didunia. Penggunaan perancah yang telah dilakukan adalah 60% menggunakan *autograft*, 34 % menggunakan *allograft* dan 6 % menggunakan material lain. Indonesia sejak tahun 1997-2001 tercatat adanya peningkatan biomaterial pengganti tulang dan kebutuhan tersebut akan semakin bertambah seiring meningkatnya kasus kerusakan tulang ( Ferdiansyah dkk, 2011 ).

Menurut Moore dkk ( 2001 ) perancah dapat dibedakan menjadi empat jenis, yaitu :

#### 1) *Autograft*

*Autograft* merupakan perancah yang berasal dari donor sendiri yang hanya dipindahkan dari suatu tempat ketempat lainnya. Perancah *autograft* merupakan perancah yang paling efektif karena mempunyai 4 kemampuan yaitu osteointegration, osteokonduksi, osteoinduksi dan osteogenesis ( Ferdiansyah dkk, 2011 ).

*Autograft* secara fisiologis paling unggul karena berasal dari jaringan tubuh sendiri, tetapi mempunyai beberapa kekurangan, jumlahnya terbatas, sulit untuk mengambil material graft, meningkatkan resiko infeksi, meningkatkan resiko kehilangan darah dan menambah waktu anastesi, menyebabkan morbiditas serta

memungkinkan resorpsi akar pada daerah donor ( Moore dkk, 2001 ).

## 2) *Allograft*

*Allograft (graft allogenis)* adalah jaringan yang ditransplantasikan dari seseorang kepada yang lain baik dalam spesies yang sama maupun spesies yang berbeda. *Allograft* memiliki kemampuan menginduksi regenerasi tulang, bahan ini juga dapat membangkitkan respons jaringan yang merugikan dan respons penolakan hospes kecuali diproses secara khusus ( Ferdiansyah dkk, 2011 ).

Perancah diambil dari tulang cadaver dan disterilkan untuk mencegah penularan penyakit. Keuntungan menggunakan *allograft* dibandingkan *autograft* adalah pasien tidak perlu mengalami luka bedah tambahan untuk pengambilan donor dari tubuhnya sendiri sementara potensi perbaikan tulangnya tetap sama ( Moore dkk, 2001 ).

## 3) *Xenograft*

*Xenograft (xenogenik)* adalah bahan perancah yang diambil dari spesies yang berbeda, biasanya berasal dari lembu atau babi, untuk digunakan pada manusia ( Moore dkk, 2001 ).

## 4) *Alloplastic graft*

*Alloplastic graft* atau dikenal dengan perancah sintetik adalah

ini material yang digunakan untuk mengisi defek tulang



Perancah sintetik harus bersifat *biocompatible*, mampu melakukan rekasi fibrotik, *biodegradable* dan membantu regenerasi tulang. perancah sintetik hanya mempunyai dua kemampuan yaitu osteointegrasi dan osteokonduksi. Perancah sintetik pada umumnya dibuat dari bahan dasar yang mengandung kalsium, silikon atau aluminium ( Moore dkk, 2001 ).

c. Perancah Gelatin Hidrogel

Hidrogel absorben alami yang mampu menyerap air. Hidrogel tidak larut dalam air tetapi hanya menyerap dan memiliki kemampuan menyerap sebanyak 500 kali berat hidrogel itu sendiri ( Chaeriyana dkk, 2013 ). Sintesis hidrogel dibedakan menjadi tiga yaitu sintesis hidrogel dari monomernya, sintesis hidrogel dari prepolimer dan sistesis hidrogel dari polimernya. Salah satu sintesis hidrogel dari polimernya adalah gelatin hidrogel ( Darwis dkk, 2010 ).

Perancah Gelatin hidrogel merupakan hidrogel berbahan dasar gelatin yang dibuat melalui penyilangan hidrogel dengan cara oksidasi ( Wu dan Ding, 2004 ). Gelatin merupakan produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Gelatin berasal dari sapi ( tulang dan kulit ), babi ( hanya kulit ) dan ikan ( kulit ) ( Hastuti dan Sumpe, 2007 ).

Gelatin terdiri dari 2 tipe yaitu tipe A dan Tipe B. Gelatin tipe A

menupakan gelatin yang diproses dengan metoda asam dan membuat

ion gelatin bermuatan positif. Gelatin tipe B merupakan gelatin yang diproses dengan metode alkali. Gelatin akan mengalami hidrolisis group amida yang meningkatkan densitas gugus karboksil sehingga membuat ion gelatin bermuatan negatif ( Hastuti dan Sumpe, 2007 ).

Tulang merupakan suatu komposit dari kolagen, template hidrogel berbasis protein dan dalit anorganik yang merupakan komponen osteokonduktif, oleh karena itu polimer hidrogel merupakan pilihan utama untuk membentuk perancah fungsional perbaikan jaringan ( Chaeriyana dkk, 2013 ).

Perancah diformulasikan dalam bentuk membran hidrogel dengan komposisi beberapa material didalamnya. Jenis material berasal dari polimer sintesis dan alami. Polimer sintesis misalnya poly ( lactide-co-glycolide ), PGA ( Poly Glycolide Acid ), PLA ( Poly Lactide Acid ) dan HPMC ( Hidroksipropil Metilselulosa ), sedangkan polimer alami yaitu kolagen, gelatin dan kitosan ( Dulkha dan Sari, 2014 ).

Material yang digunakan sebagai perancah haruslah memiliki syarat *biocompatible*, *biodegradable*, menghambat resopsi tulang dan menstimulasi osteogenesis (Kurita dkk, 2011 ). Gelatin hidrogel telah banyak digunakan dalam bidang kesehatan karena memiliki sifat *biodegradable* dan *biocompatible* yang baik ( Wardani dkk, 2012 ).

Gelatin hidrogel mempunyai banyak fungsi dalam rekayasa jaringan. Gelatin hidrogel mendukung proses angiogenesis dan

... dan diferensiasi ( Kurita

dkk, 2011 ). Selain itu, jaring-jaring hidrogel yang elastis memberikan sifat mekanis yang unik antara lain kekakuan yang rendah, ketahanan terhadap tarikan dan kemampuan menahan fraktur yang tinggi ( Chaeriyana dkk, 2013 ).

#### 4. *Platelet-Rich Plasma* (PRP)

*Platelet-rich plasma* merupakan platelet konsentrasi tinggi dengan volume plasma yang terbatas ( Tozum dkk, 2003 ). *Platelet-rich plasma* diperoleh dari proses sentrifugasi darah lengkap. Darah lengkap dimasukkan kedalam tabung yang telah diisi antikoagulan, kemudian disentrifusi ( Matsui dan Tabata, 2012 ).

*Platelet-rich plasma* yang telah disentrifusi akan terbagi dalam tiga fraksi yaitu *platelet-poor plasma* (PPP), PRP dan sel darah merah. *Platelet-poor plasma* terdiri dari plasma aseluler yang mengandung fibrinogen dan plasmatic growth factor dengan sedikit platelet ( Tozum dkk, 2003 ).

Volume PRP sekitar 10 % dari volume darah lengkap, 3 ml PRP dapat diperoleh dari 30 ml darah lengkap yang disentrifugasi. *Platelet-rich plasma* yang telah diperoleh disimpan dalam lingkungan yang steril ( Lee dkk, 2011 ).

Komposisi PRP yang diperoleh tergantung pada teknik dan peralatan yang digunakan, kandungan eritrosit, leukosit, platelet dan plasma bisa bervariasi. Pada *platelet-rich plasma* telah ditemukan empat

kategori konsentrat platelet : leukosit *poor/ pure* PRP, leukosit PRP, *pure platelet rich-fibrin clot* dan leukosit platelet *rich-fibrin clot* ( Gonzalez dkk, 2012 ).

Faktor-faktor seperti kekuatan sentrifugasi dan durasi sentrifugasi dapat menghasilkan konsentrasi dan komposisi PRP yang berbeda. Keempat komposisi tersebut bisa memberikan efek biologis dan potensi penggunaan yang berbeda, tetapi belum ada klasifikasi *evidence-based scheme* maupun *guideline* yang menetapkan penggunaan optimal masing-masing kategori ( Lee dkk, 2011 ).

Konsentrasi rata-rata platelet dalam darah lengkap adalah 200.000 platelet per  $\mu\text{L}$ , rentang normalnya adalah 150-350  $\mu\text{L}$ . Definisi kerja dari PRP adalah mengandung 1.000.000 platelet per  $\mu\text{L}$  atau sekitar lima kali dari kandungan platelet darah lengkap ( Lee dkk, 2011 ). Darah agar dapat disebut *platelet-rich plasma*, konsentrasi platelet harus lebih tinggi minimal lima kali dari nilai baseline atau darah lengkap ( Gonzalez dkk, 2012 ).

Komponen *platelet-rich plasma* (PRP) adalah *growth factor*, WBC & *phagositic cells*, *native fibrinogen concentration*, agen vasoaktif & kemotaktik dan konsentrasi tinggi platelet ( Anila dan Nandakumar, 2006 ). *Growth factor* terbagi 7 jenis yaitu *platelet derived growth factor* (PDGF $\alpha\alpha$ ), PDGF $\beta\beta$ , PDGF $\alpha\beta$ , *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ), TGF- $\beta_2$ , *vaskular endothelial growth factor* (VEGF) dan *epithelial growth factor* (EGF) ( Marx, 2001 ).

*Growth factor* meregulasi peristiwa-peristiwa seluler dalam proses penyembuhan luka, seperti proliferasi, diferensiasi, kemotaksis dan morfogenesis jaringan dan organ ( Tozum dkk, 2011 ).

#### 5. Pemuatan PRP, Degradasi dan *Release*

Proses kontak PRP dengan perancah dapat terjadi pada saat pemuatan PRP. Proses pemuatan PRP yaitu kemampuan perancah untuk dimuati PRP. Kontak antara molekul-molekul penyusun perancah dengan PRP dan akibat dukungan proses degradasi perancah menyebabkan *growth factor release* ( Eppley dkk, 2004 ).

Proses *release* bertujuan untuk mengeluarkan *growth factor*, protein dan hormon yang terdapat dalam PRP. *Growth factor* meregulasi peristiwa-peristiwa seluler dalam proses penyembuhan luka, seperti proliferasi, diferensiasi, kemotaksis dan morfogenesis jaringan dan organ ( Tozum dkk, 2003 ).

Proses degradasi merupakan rusaknya perancah untuk mengeluarkan molekul-molekul perancah, protein dan *growth factor* dari PRP. Menurut Wu dan Ding ( 2004 ) bahwa proses degradasi terdiri dari 3 tahap yaitu :

a. Tahap awal yaitu peningkatan *mechanical properties* tetapi penurunan

- b. Tahap kedua yaitu digambarkan dengan penurunan *mechanical properties* secara signifikan dan meluasnya area *molecular weight distribution* (MWD), namun berat dan dimensi perancah konstan.
- c. Tahap ketiga mempunyai karakteristik yang jelas yaitu hilangnya berat molekul perancah, penurunan dimensional dan pada akhirnya gangguan atau rusaknya perancah secara keseluruhan.

Proses pemuatan sangatlah penting sebagai tahap awal sebelum terjadinya *release* dan degradasi. Degradasi perancah dipengaruhi oleh *physicochemical properties* dari perancah yang dirancah supaya bersifat *biodegradable* jika tidak hancur, perancah akan dideteksi oleh tubuh sebagai benda asing sehingga proses regenerasi tulang dikatakan tidak berhasil ( Matsui dan Tabata, 2012 ).

Pemuatan PRP merupakan bagian dari teknologi rekayasa jaringan untuk regenerasi jaringan tulang. Keberhasilan teknologi rekayasa jaringan dipengaruhi oleh faktor perancah yang baik, PRP yang kaya akan platelet, sel dan proses pemuatan. Diperlukan metode pemuatan PRP yang efektif terhadap perancah. Metode pemuatan PRP yang efektif harus dapat memuatkan platelet dalam jumlah yang banyak ( Indahyani, 2008 ).

Metode pemuatan PRP dapat dilakukan dengan cara celup atau tetes. Metode celup atau dikenal dengan *impregnated* telah banyak dilakukan dalam beberapa penelitian. Penelitian Matsui dan Tabata ( 2011 ) menggunakan metode celup untuk pemuatan PRP dalam perancah gelatin hidrogel dan berhasil meningkatkan jumlah pembuluh darah dan penelitian

Nalawade dkk. ( 2011 ) juga menggunakan metode celup dan terbukti dapat digunakan dalam rehabilitasi lukasai akibat cedera pada gigi Insisivus permanent.

Metode tetes belum pernah dilakukan sebelumnya sebagai metode pemuatan PRP pada perancah. Metode yang baik adalah metode yang dapat memuatkan jumlah platelet yang banyak dalam perancah. Jika jumlah platelet yang termuat banyak, maka semakin banyak *growth factor* yang akan *release* dan proses regenerasi akan berjalan dengan baik ( Lu

## B. Landasan Teori

Teknologi Rekayasa Jaringan (*Tissue Engineering*) merupakan inovasi baru dibidang kedokteran gigi yang sangat pesat, terutama pada proses penyembuhan kerusakan jaringan tulang. Tulang mempunyai kemampuan untuk regenerasi tetapi bila kerusakan tersebut menghasilnya defek yang sangat besar maka diperlukan terapi teknik rekayasa jaringan. Teknik rekayasa jaringan mempunyai tiga komponen utama yaitu perancah, *platelet-rich plasma* dan sel. Ketiga komponen tersebut diharapkan membantu dalam proses regenerasi tulang.

Perancah merupakan bahan yang diimplantasikan kedalam defek tulang sebagai lingkungan bagi sel untuk melakukan proses pertumbuhan, diferensiasi dan migrasi sel. Keberhasilan teknik rekayasa jaringan ditentukan oleh jenis perancah yang digunakan, bahan yang digunakan haruslah memiliki sifat *biocompatible* dan *biodegradable*.

Perancah gelatin hidrogel merupakan hidrogel berbahan dasar gelatin yang dibuat dari penyilangan hidrogel dan gelatin. Gelatin merupakan produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Gelatin diperoleh dari tulang dan kulit sapi, kuit babi dan ikan. Polimer hidrogel merupakan pilihan utama untuk membentuk perancah fungsional perbaikan jaringan.

Hidrogel diaplikasikan sebagai *space filling agent* atau sebagai pengantar molekul biokatif. Hidrogel mendukung proses angiogenesis dan menyediakan tempat bagi sel untuk proliferasi dan diferensiasi. Selain itu, jaring-jaring gelatin hidrogel yang elastis memberikan sifat mekanis yang unik antara lain kekakuan



tinggi. Gelatin hidrogel juga menyediakan sinyal kimia untuk menarik *growth factor* dari *platelet-rich plasma*.

*Platelet-rich plasma* merupakan bagian dari darah kita yang mengandung banyak sekali *growth factor* yang akan membantu sel untuk berpoliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel yang diinginkan. *Growth factor* memiliki 7 jenis, namun yang paling berpengaruh dalam proses regenerasi tulang adalah *platelet derived growth factor* (PDGF) yang dapat meningkatkan sel endotel yang menginisiasi pertumbuhan kapiler dan *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) yang dapat meningkatkan osteoblas dan stem cell untuk menginisiasi mitosis.

Proses kontak antara molekul-molekul penyusun perancah dengan PRP dan kemampuan perancah untuk berdegradasi dapat menyebabkan *growth factor* akan *release*. Proses kontak PRP dengan perancah dapat terjadi pada saat pemuatan PRP. Proses pemuatan sangatlah penting sebagai tahap awal sebelum terjadinya *release* dan degradasi. Degradasi perancah dipengaruhi oleh *physicochemical properties* dari perancah yang dirancah supaya bersifat *biodegradable*.

Pemuatan PRP merupakan bagian dari teknologi rekayasa jaringan untuk regenerasi jaringan tulang. Keberhasilan teknologi rekayasa jaringan membutuhkan faktor perancah yang baik, PRP yang kaya akan platelet dan sel, proses pemuatan. Diperlukan metode pemuatan PRP yang efektif terhadap perancah. Metode pemuatan PRP yang efektif harus dapat memuatkan platelet dalam jumlah yang banyak.

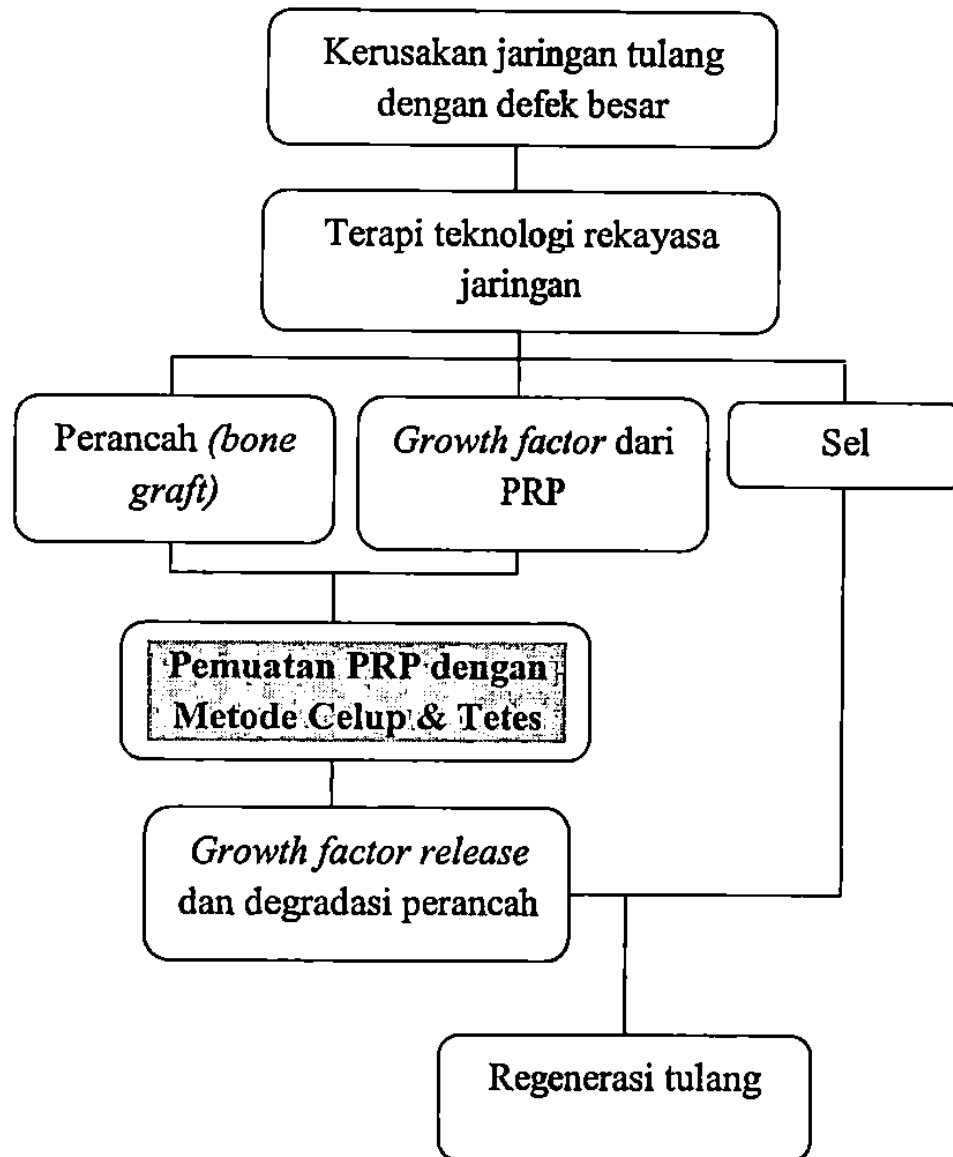
Metode pemuatan PRP dapat dilakukan dengan cara celup atau tetes.

Penelitian sebelumnya telah banyak menggunakan metode celup. Metode celup

berhasil memuatkan PRP pada perancah sehingga proses regenerasi tulang pun dapat berjalan dengan baik. Metode tetes belum pernah dilakukan sebelumnya, namun mungkin dapat digunakan sebagai alternatif metode pemuatan PRP.

Metode yang paling banyak memuatkan PRP akan menjadi metode yang paling baik digunakan dalam proyek teknologin rekayasa jaringan pada regenerasi tulang. Penelitian ini akan menguji metode manakah yang akan lebih efektif untuk

### C. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian

### D. Hipotesis Penelitian

Metode celup lebih efektif untuk pemuatan platelet rich plasma pada