

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Tulang

Jaringan tulang merupakan unsur pokok kerangka orang dewasa. Pada tubuh seseorang, 18% dari berat badannya merupakan berat dari jaringan tulang. Beberapa fungsi dari tulang yaitu melindungi jaringan lunak, menampung sumsum tulang, melindungi organ-organ dalam yang sangat penting, dan juga membantu tubuh untuk bergerak. Tulang juga berfungsi sebagai cadangan kalsium, fosfat, dan ion lain, yang dapat dilepaskan ataupun disimpan secara terkendali untuk mempertahankan konsentrasi ion-ion penting tersebut dalam cairan tubuh. Seperti jaringan ikat lainnya, tulang mengandung matriks ekstraselular yang berlimpah yang mengelilingi sel-sel yang terpisah. Matriks ekstraselular ini mengandung sekitar 15% air, 30% serat kolagen, dan 55% garam mineral Kristal. Garam mineral yang paling berlimpah adalah kalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Kalsium fosfat bergabung dengan garam mineral yang lain, kalsium hidroksit ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), untuk membentuk Kristal hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).

Sebagai bentuk Kristal, kalsium hidroksiapatit menggabungkan garam mineral lainnya, seperti kalsium karbonat (CaCO_3), dan ion seperti magnesium, fluor, kalium, dan sulfat. Garam mineral ini disimpan didalam

rangka yang dibentuk oleh serat-serat kolagen matriks ekstraselular, mereka mengkristal dan jaringannya mengeras. Proses ini, yang disebut juga dengan kalsifikasi, diprakarsai oleh sel-sel pembentuk tulang yang disebut osteoblas (Tortora dan Derrickson, 2011).

Ada 4 tipe sel yg ada di jaringan tulang yaitu;

1) Sel osteogenik, merupakan sel-sel induk tulang terspesialisasi yang berasal dari mesenkim. Sel-sel ini merupakan satu-satunya sel yang melakukan pembelahan sel, dan sel-sel yang dihasilkan berkembang menjadi osteoblas. Sel-sel osteogenik ini ditemukan disepanjang bagian dalam periosteum, didalam endosteum, dan didalam kanal tulang yang mengandung pembuluh darah.

2) Osteoblas, merupakan sel pembentuk tulang. Sel ini mensintesis dan mensekresi serat kolagen dan komponen organik lainnya yang dibutuhkan untuk membangun matriks ekstraselular jaringan tulang, dan mereka memulai kalsifikasi. Sel osteoblas mengelilingi dirinya dengan matriks ekstraselular, mereka terjebak didalam sekresi dan menjadi osteosit.

3) Osteosit, adalah sel tulang dewasa, sel utama dalam jaringan tulang, dan mempertahankan metabolisme sehari-hari, seperti pertukaran nutrisi dan limbah dengan darah. Sama seperti osteoblas, osteosit tidak mengalami pembelahan sel.

4) Osteoklas, merupakan sel yang besar yang berasal dari penggabungan 50 monosit (sejenis sel darah putih), dan terkonsentrasi didalam endosteum (Tortora dan Derrickson, 2011).

2. *Bone graft*

Bone graft merupakan tulang yang ditransplantasikan dari satu area ke area yang membutuhkan perawatan, kekuatan, atau meningkatkan fungsinya. Tulang atau bahan yang menyerupai tulang yang digunakan pada *bone graft* bisa berasal dari tubuh kita, dari pendonor, atau bisa berasal dari buatan manusia. Pemindahan tulang dari pendonor ke penerima disebut *bone grafting* (Bojrab, 1997). Dalam banyak kasus, *bone graft* tersebut digunakan untuk mengisi area yang kosong terbentuk di dalam atau di antara tulang belakang oleh penyakit, cedera, perubahan bentuk, atau prosedur selama pembedahan seperti penggabungan tulang belakang. *Bone graft* yang baik adalah *bone graft* yang secara struktur dan komposisinya mirip dengan komposisi tulang alami.

Material yang digunakan dalam *bone grafting* dapat di bagi kedalam beberapa kategori besar yaitu :

- a. *Autografts*. Merupakan “standart emas” dalam rekonstruksi kerusakan kecil tulang dan memiliki sifat osteogenik yang kuat yang relevan untuk penyembuhan tulang, *modeling*, dan *remodeling* (Athanasίου, 2010). *Autografts* bisa didapat dari tulang yang sehat dari pasien itu sendiri.

Bahan dari *autografts* terdiri dari tulang kortikal, konselus, atau kombinasi dari keduanya dan bisa didapatkan dari ekstra oral maupun intra oral. Tulang konselus memiliki kemungkinan keberhasilan yang lebih besar karena tulang konselus memiliki komposisi yang kurang padat. Tetapi tulang ini sulit diambil dan biasanya tersedia dalam jumlah yang terbatas. Oleh karena itu digunakan kombinasi kombinasi tulang kortikal dan tulang konselus dengan dengan prosentase tulang kortikal lebih besar (Dewi, 2012).

Tulang *autografts* paling aman digunakan beresiko rendah terhadap transmisi penyakit. Tulang *autografts* dapat diterima dengan baik dan efektif pada daerah transplant karena mengandung sejumlah besar sel tulang pasien sendiri dan protein. Pembentukan tulang pada *autografts* terjadi dalam dua fase. Fase pertama terjadi lebih kurang dalam 4 minggu. Dalam fase ini kontribusi utama pembentukan tulang berasal dari sel *graft*. Fase kedua, sel dari *host* mulai terlibat. Sel lapisan endosteal dan stroma sumsum memproduksi setengah dari tulang baru, sedangkan osteosit hanya sedikit terlibat, yaitu sekitar 10%. *Autografts* sering juga dikenal sebagai *autologous bone graft*.

- b. Allografts.* Berasal dari pembekuan tulang orang lain atau species yang sama tetapi beda genetic, umumnya berasal dari bank tulang yang dicangkok dari tulang cadaver. Tulang dibersihkan dan di disinfeksi untuk mengurangi kemungkinan terjadinya penularan penyakit dari

pendonor, tetapi hal ini dapat menyebabkan menurunnya efektifitas karena sel pertumbuhan tulang dan protein akan hilang saat pembersihan. Karena *allografts* telah luas digunakan, maka metode *screeining* donor, preparasi, dan penyimpanan tulang terus berkembang seiring upaya untuk menghilangkan kejadian transmisi penyakit. Penelitian menunjukkan bahwa resiko kontak infeksi HIV pada penggunaan *allografts* adalah kurang dari 1 per 1 juta prosedur. *Allografts* dapat menimbulkan respon jaringan yang merugikan dan respon penolakan hospes, kecuali diproses secara khusus. Beberapa tipe dari *allografts* yaitu *fresh*, *fresh frozen*, *freeze-dried*, dan *bone matrix gelatin*.

- c. *Xenografts*. Merupakan tulang yang diambil dari spesies yang berbeda, dapat diperoleh dari hewan dan diproses dengan cara diawetkan menggunakan etilen diamin (Manson, 1993). Proses ini diperlukan untuk menghilangkan semua bahan organik sehingga hanya meninggalkan bagian anorganik yang sebagian besar adalah hidroksiapatit, tetapi kemungkinan juga ada bahan organik lainnya. Karena produk anorganik ini memiliki porositas seperti tulang normal dan mengandung karbonat serta trikalsium fosfat sebagai tambahan komponen hidroksiapatit, bahan ini memiliki kecenderungan bagi osteoklas untuk meresorpsi material.

3. *Bone Tissue Engineering* (BTE)

Sebuah teknik perawatan telah diperkenalkan untuk penyembuhan tulang atau jaringan yang rusak, yaitu *bone tissue engineering* (BTE). BTE merupakan solusi dari *bone graft* yang memiliki beberapa kekurangan. BTE adalah sebuah prosedur untuk regenerasi tulang yang rusak dengan cara menanamkan sel, molekul sinyal dan *scaffold* (perancah) untuk menyediakan dukungan mekanik pada area kosong. BTE menciptakan bahan biologis yang dapat menyediakan pilihan untuk pencangkokan ataupun prostesis.

Ada tiga syarat yang dibutuhkan dalam BTE yaitu perancah biomaterial osteokonduktif, sel osteogenik, dan molekul osteoinduktif (Vachiraroj N, Ratanavaraporn J. et al, 2009). Beberapa bahan yang umum digunakan dalam BTE yaitu chitosan, gelatin, HA (hidroksiapatit), dan koral. *Chitosan* merupakan polisakarida yang bisa di sintesis dari cangkang *crustacean* dan cangkang tinta cumi-cumi (squid pen). Struktur dari *chitosan* sama dengan glikosaminoglikan, yang merupakan komponen utama dari matriks ekstraselular tulang dan tulang rawan (Thein-Han W.W, R.D.K Misra et al, 2009). Gelatin dapat diperoleh dengan denaturasi termal dan degradasi kimia kolagen (Panzavolta S., M. Fini et al, 2009). Gelatin juga diketahui memiliki manfaat untuk kelangsungan hidup sel (Kim H.W, Kim H.E et al, 2005). HA (hidroksiapatit) adalah biomaterial property yang tidak merangsang respon imunologis (Brinker, 2008). HA juga merupakan

mineral utama pada gigi dan tulang dan sudah digunakan secara luas sebagai biomaterial untuk rekonstruksi pada defek tulang dalam aplikasinya sebagai *bone graft*. HA memiliki sifat biokompatibel, osteokonduktif, bioaktif dan secara kristalografi mempunyai kesamaan struktur mineral tulang (Gosh, 2008). HA memiliki komposisi kimia yang mirip dengan jaringan mineral manusia dan dapat disintesis dari berbagai sumber daya alam dengan struktur berbasis kalsium seperti tulang sapi, cangkang moluska, dan koral (Vecchio K.S, Zhang X. et al, 2007).

Koral merupakan bahan yang saat ini dikembangkan sebagai perancah pada BTE. Koral mengandung kalsium karbonat yang merupakan bahan pengganti tulang yang bisa diolah menjadi bentuk dan ukuran yang diinginkan. Koral memiliki sifat biokompatibilitas dan osteoinduksi yang baik serta dapat diabsorpsi (Hou R., 2006).

4. *Scaffold*

Scaffold merupakan perancah 3 dimensi (3D), berfungsi sebagai tempat sel-sel dan sebagai template untuk regenerasi jaringan. Perancah yang ideal harus biokompatibel, *biodegradable*, mendukung interaksi selular dan pengembangan jaringan, dan memiliki sifat mekanik dan fisik yang tepat (Bonadio J., Smiley E. et al, 1999).

Beberapa persyaratan harus dipertimbangkan dalam desain perancah 3D, yaitu :

- a. Biokompatibilitas. Salah satu persyaratan utama dari setiap perancah adalah biokompatibilitas. Biokompatibilitas perancah digambarkan sebagai kemampuan untuk mendukung aktivitas selular normal termasuk sistem molekul signal tanpa efek toksik local maupun sistemik untuk jaringan tulang. Perancah yang ideal juga harus ostekonduktif dimana perancah memungkinkan sel-sel tulang untuk menempel, berkembang biak, dan membentuk matriks ekstraselular di permukaan dan pori-pori. Perancah juga harus mampu menginduksi pembentukan tulang baru melalui signal biomolekular dan merekrut sel-sel progenitor. Selanjutnya, perancah yang ideal perlu membentuk pembuluh darah di atau sekitar implant dalam beberapa minggu implantasi untuk secara aktif mendukung nutrisi, oksigen, dan transportasi limbah (Olszta M.J, 2007)
- b. Sifat mekanis. Sifat mekanis dari suatu perancah tulang yang ideal harus sesuai dengan karakteristik tulang manusia. Sifat mekanik tulang sangat bervariasi mulai dari tulang konselus hingga tulang kortikal. Modulus young dari tulang kortikal adalah antara 15 dan 20 GPa sedangkan tulang konselus adalah antara 0.1 dan 2 GPa. Kekuatan tekannya bervariasi antara 100 dan 200 MPa untuk tulang kortikal, dan antara 2 hingga 20 MPa untuk tulang konselus. Variasi yang besar dalam sifat mekaniknya menyulitkan untuk membuat perancah yang ideal (Olszta M.J, 2007).

- c. Ukuran pori. Karakteristik yang harus dimiliki perancah adalah porositas yang saling berhubungan dimana ukuran pori setidaknya harus sekitar 100 μm dengan diameter untuk difusi nutrisi dan oksigen agar sel dapat bertahan hidup (Rouwkema J, 2008). Studi terbaru menunjukkan *multi-scale porous* pada perancah yang melibatkan porositas mikro dan makro lebih baik dibandingkan dengan perancah yang hanya memiliki porus makro (Woodard J.R., 2007). Sayangnya, porositas mengurangi sifat mekanik seperti kekuatan tekan (Rezwan K., 2006).
- d. *Bioresorbability*. *Bioresorbability* merupakan faktor penting lain bagi perancah untuk regenerasi jaringan tulang (Williams D.F., 2008). Perancah yang ideal harusnya tidak hanya memiliki sifat mekanik yang sama dengan jaringan host, tetapi juga bisa terdegradasi dari waktu ke waktu, sebaiknya pada tingkat penyerapan terkontrol dan nantinya menciptakan ruang untuk pertumbuhan jaringan tulang yang baru. Degradasi perancah harus bervariasi berdasarkan pengaplikasiannya seperti 9 bulan atau lebih untuk perancah pada penggabungan tulang belakang atau 3 sampai 6 bulan untuk perancah yang diaplikasikan di kranio-maksilofasial (Olszta M.J, 2007).

Perancah harus memiliki stabilitas mekanik yang cukup untuk menyediakan lingkungan yang sesuai untuk pembentukan jaringan tulang

yang baru. Tingkat degradasi perancah harus diatur untuk mencocokkan tingkat regenerasi jaringan tulang yang baru, untuk menjaga integritas structural dan memberikan isyarat perancah untuk pembentukan jaringan baru. Selain itu, perancah harus memiliki permukaan kimia yang cocok untuk adhesi dan fungsi sel tulang (Liu X. dan Peter X., 2004). Beberapa jenis perancah yaitu :

a. *Polymer scaffold*

Polymer scaffold merupakan perancah yang paling sering digunakan.

Ada beberapa tipe dari perancah ini yaitu :

1) *Poly (propylene fumarate)*.

Ini merupakan *polymer* yang disuntikan. *Polymer* ini dapat ditanam tanpa melakukan pembedahan. Bahan ini telah dikembangkan untuk bisa mencapai sifat dari tulang trabecular manusia dengan penambahan β -tricalcium phosphate (β -TCP), dan bahan ini berhasil mempertahankan sifat mekanik selama beberapa minggu degradasi (Peter S.J., 1998).

2) *Polyethylene oxide-polybutylene terephthalate* (PEO-PBT).

Bahan jenis ini memperlihatkan sifat *bone-bonding* yang menjanjikan. Kopolimer ini telah digunakan sebagai perancah biodegradabel dan didapatkan hasil yang baik setelah dilakukan implantasi pada kambing femora (Sakkers R.J.B., 2000).

3) *Polycaprolactone* (PCL).

Polimer jenis ini didesain melalui proses *fused deposition modeling*. Porositas dari *scaffold* ini lebih dari 55% (Hutmacher D.W., 2001).

4) *Poly lactide-polyglycolide* (PLA-PGA).

Polimer ini telah banyak digunakan, sendiri ataupun sebagai kopolimer dalam banyak penelitian (Middleton J.C, dan Tipton A.J, 2000). Dalam penelitian didapatkan fakta bahwa laju degradasi mereka, bila digunakan sebagai kopolimer, relatif terhadap rasio dari kedua polimer (Tomson R.C., n d).

b. *Hydroxyapatite scaffolds*.

Hydroxyapatite scaffolds telah banyak diteliti. HA menyajikan sifat osteokonduksi yang baik karena merupakan bagian utama dari bahan anorganik dalam tulang dan gigi manusia (Leboucher J.A., n d).

c. *Alternate scaffold strategies*.

Alternate scaffold strategies (strategi perancah alternatif) merupakan penggunaan perancah alami yang didasarkan pada alasan bahwa kerangka hewan telah dirancang untuk melalui seleksi alam, secara fisik mendukung dan secara fisiologis mempertahankan jenis jaringan yang beragam. Perancah ini terdiri dari bahan material lembar kolagen tipe I, pada HA yang telah diendapkan, digulung dengan fragmen tulang didalam (Almqvist N., 1999).

5. Porositas

Porositas dan ukuran pada pori perancah biomaterial memiliki peran penting dalam pembentukan tulang *in vitro* dan *in vivo*. Pori-pori diperlukan untuk pembentukan jaringan tulang agar sel osteoblas dan sel mesenkimal dapat bermigrasi dan berproliferasi serta vaskularisasi (Kuboki Y., 1998). Porositas juga mempengaruhi tingkat penyerapan. Ada beberapa tingkat variasi berdasarkan komposisi dari perancah. Pada *calcium sulfate* penyerapan yang terjadi sangat cepat, pada *hydroxyapatite* (HA) penyerapannya sangat lambat. Ada beberapa produk perancah yang dikombinasikan untuk dapat mengoptimalkan terjadinya penyerapan (Hak D., 2010). Selain itu, permukaan berpori dapat meningkatkan hubungan mekanik antara biomaterial implant dan sekitar tulang (Story B.J., 1998). Hal ini ditunjukkan dengan menghitung lamanya waktu penyerapan yang diperlukan permukaan perancah terhadap pengaplikasian cairan. Perancah juga harus memiliki *microposity* yang adekuat untuk memungkinkan terjadinya pertumbuhan kapiler (Freed L.E, 1998).

Porositas dan interkoneksi juga penting untuk difusi nutrisi dan gas yang akurat dan untuk menghilangkan sisa metabolisme yang dihasilkan dari sisa aktivitas sel-sel yang sementara telah tumbuh didalam perancah. Ukuran pori juga merupakan masalah yang sangat penting, karena jika pori-pori ukurannya terlalu kecil, akan terjadi oklusi pori oleh sel. Hal ini akan mencegah penetrasi seluler, produksi matriks ekstraseluler, dan

neovaskularisasi dari area perancah. Penelitian yang dilakukan Hulbert et al, ukuran pori minimum yang diperlukan untuk regenerasi mineral tulang umumnya 100mm (Hulbert S.F., 1970). Pori-pori dengan ukuran yang besar (100-150mm dan 150-200mm) menunjukkan pertumbuhan tulang besar. Pori-pori dengan ukuran yang kecil (75-100mm) menghasilkan pertumbuhan jaringan osteoid yang tidak termineralisasi. Pori-pori dengan ukuran yang lebih kecil (10-40mm dan 44-75mm) hanya bisa ditembus oleh jaringan fibrosa (Hulbert S.F., 1970). Kebutuhan porositas dalam regenerasi tulang telah ditunjukkan dalam penelitian oleh Kuboki et al dengan menggunakan tikus dan partikel HA padat dan berpori. Penelitian tersebut menunjukkan tidak ada tulang baru yang terbentuk pada partikel HA padat, sementara di partikel yang berpori terjadi proses osteogenesis secara langsung (Kuboki Y., 1998).

Teknik yang paling umum digunakan untuk membuat porositas adalah dengan pencucian garam (*salt leaching*), *gas foaming*, pemisahan fase (phase separation), *freeze-drying* dan pemanasan tergantung pada material yang akan digunakan untuk membuat perancah (Hulbert S.F., 1970).

B. Landasan Teori

Tulang merupakan kerangka pokok dalam tubuh manusia, memiliki banyak fungsi seperti melindungi organ-organ vital, menampung sumsum tulang, sebagai tempat cadangan kalsium, dan juga membantu tubuh untuk

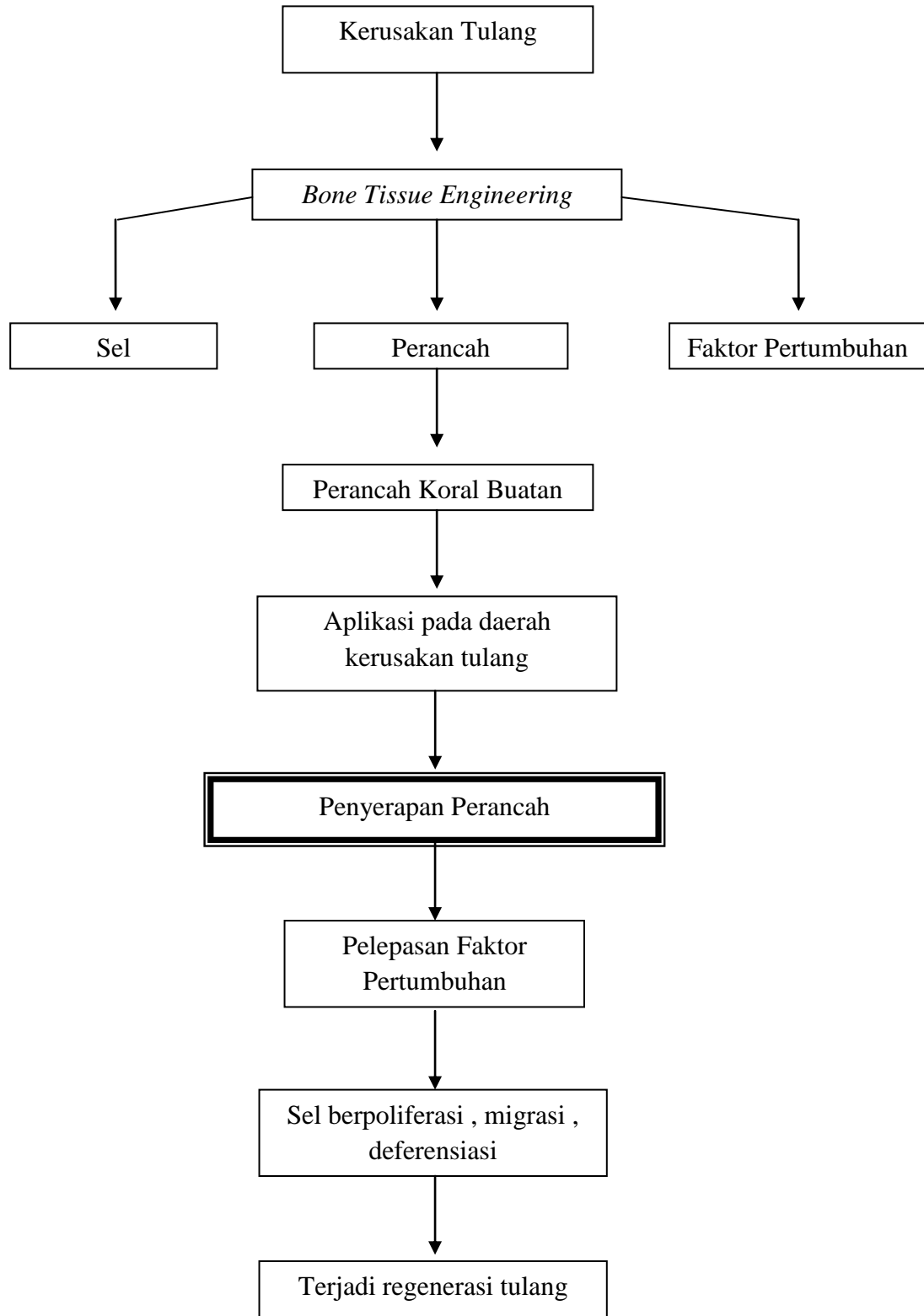
dapat bergerak. Pada manusia, 18% berat badannya merupakan berat dari jaringan tulang. Tulang memiliki beberapa sel didalamnya seperti sel osteogenic, osteoblast, osteoklas, dan osteosit.

Jaringan tulang ini dapat rusak atau cacat. Kerusakan atau kecacatan tulang ini dapat terjadi karena trauma, tumor, kelainan kongenital, dan degenerasi. Perawatan yang dapat digunakan untuk mengatasi kerusakan tulang dapat digunakan metode perawatan dengan pencangkokan tulang atau *bone graft*. *Bone graft* atau cangkok tulang merupakan tulang yang ditransplantasikan dari satu area ke area yang kosong atau rusak. Berbagai macam *bone graft* telah banyak diperkenalkan seperti *autograft*, *allograft*, dan *xenograft* tetapi masih ada beberapa kekurangan dari *bone graft* tersebut. *Autograft* penggunaannya dibatasi karena tulang yang dapat diperoleh terbatas, *allograft* memiliki keberhasilan yang rendah karena dapat terjadi penolakan sistem imun dan infeksi dari pendonor ke host, sedangkan pada *xenograft* kemungkinan dapat terjadi transmisi penyakit dari hewan tersebut.

Bone tissue engineering (BTE) telah diperkenalkan sebagai solusi terhadap berbagai kekurangan yang ada pada *bone graft*. BTE merupakan prosedur perawatan untuk regenerasi tulang dengan menggabungkan sel, molekul sinyal, dan perancah 3D. Perancah berfungsi sebagai tempat untuk sel dan molekul sinyal, kemudian perancah ditanamkan pada area yang membutuhkan perawatan. Dalam desainnya, perancah harus memiliki

beberapa persyaratan seperti biokompatibilitas, sifat mekanis, porositas atau ukuran pori, dan *bioresorbability*. Perancah yang ideal harus memiliki porositas yang cukup agar sel osteoblas dan sel mesenkimal dapat bermigrasi serta berproliferasi. Ukuran pori pada perancah sangat penting karena jika ukuran pori terlalu kecil akan terjadi oklusi pori oleh sel, Hal ini akan mencegah penetrasi seluler, produksi matriks ekstraseluler, dan neovaskularisasi dari area perancah. Pencucian garam (*salt leaching*), *gas foaming*, pemisahan fase (phase separation), *freeze-drying* dan pemanasan merupakan beberapa teknik untuk membentuk porositas tergantung dari material yang digunakan.

C. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan waktu penyerapan permukaan perancah dengan konsentrasi gelatin murni 100%, gelatin 7:3 CaCO₃ dan gelatin 4:6 CaCO₃.