

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tulang

Tulang adalah kerangka khusus pendukung tubuh yang mempunyai karakteristik kaku, keras, serta mempunyai kemampuan untuk regenerasi dan perbaikan. Tulang selalu mengalami proses *modeling* atau *reshaping*, yaitu proses merubah bentuknya sendiri untuk beradaptasi karena adanya perubahan kekuatan biomekanik. Selain itu, *modeling* juga berperan sebagai pembaruan jaringan tulang dengan menghilangkan jaringan yang sudah tua dan menggantinya dengan yang baru (Fogelman dkk., 2012).

Tulang mempunyai fungsi mekanis sebagai tempat menempelnya otot dan tendo yang penting untuk daya gerak, serta dapat melindungi organ vital dalam tengkorak dan rongga abdomen. Selain menjalankan fungsi mekanis, tulang juga menjalankan peran metabolik yang penting yaitu sebagai gudang kalsium yang dapat dipergunakan sesuai kebutuhan dalam pengaturan konsentrasi ion dalam darah dan cairan tubuh lain. Tulang adalah materi hidup yang dinamis, yaitu dapat diperbarui dan dikonstruksi ulang seumur hidup, sehingga dapat dimodifikasi melalui bedah dan alat bantu bedah tulang atau ortodontis (Fawcett, 2002).

Struktur tulang tersusun atas komponen matrik organik sekitar 25%, air 5%, dan 70% mineral anorganik (Fogelman dkk., 2012). Matrik anorganik terdiri atas kalsium dan fosfat yang berlimpah dan juga terdapat

bikarbonat, sitrat, magnesium, kalium, dan natrium. Kalsium dan fosfat kebanyakan ditemukan dalam bentuk hidroksiapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], namun kalsium dan fosfat didapatkan juga dalam bentuk amorf. Komponen organik yang terdapat pada tulang sebagian besar adalah kolagen tipe I, yang memiliki ikatan silang yang kuat sehingga tidak mudah untuk diekstraksi. Kekerasan dan kekuatan pada tulang disebabkan hubungan antara kristal hidroksiapatit dengan kolagen (Gartner dan James, 2007).

Tulang terdiri atas sel-sel yang terletak di antara matrik ekstraseluler yang terkalsifikasi (Gartner dan Hiatt, 2007). Tulang yang aktif tumbuh mempunyai empat tipe sel, diantaranya :

a. Sel Osteoprogenitor

Sel osteoprogenitor merupakan perkembangan dari mesenkim embrional, yang mampu berkembang menjadi sel tulang dewasa. Sel-sel ini ditemukan di sepanjang bagian dalam periosteum, endosteum, dan juga terdapat dalam kanal tulang yang mengandung pembuluh darah. Sel osteoprogenitor dengan sedikit retikulum endoplasma akan menghasilkan osteoblas, sedangkan sel osteoprogenitor yang mengandung lebih banyak mitokondria dan ribosom akan menghasilkan osteoklas (Leeson dan Paporo, 1995).

Sel osteoprogenitor berperan aktif selama pertumbuhan tulang, dan akan teraktifasi kembali pada saat terjadi proses pemulihan akibat fraktur tulang atau bentuk cedera lainnya. Selama proses remodeling

tulang, sel osteoprogenitor akan berproliferasi dan berdiferensiasi menggantikan osteoblas yang telah hancur (Fewcett, 2002).

b. Osteoblas

Osteoblas adalah sel yang berperan dalam proses osteogenesis, yaitu proses pembentukan tulang baru (Fogelman dkk., 2012). Osteoblas akan mensintesis dan mensekresi serat kolagen serta komponen organik lainnya yang dibutuhkan untuk membangun matriks ekstraselular jaringan tulang. Osteoblas mengandung enzim *fosfatase alkali*, yang berarti selain menghasilkan matrik juga berperan pada proses kalsifikasi (Leeson dan Paporo, 1995).

c. Osteosit

Osteosit adalah sel osteoblas yang telah matur atau matang dan berada di lakuna dalam matrik tulang yang terkalsifikasi (Gartner dan Hiatt, 2007). Terdapat saluran yang keluar dari lakuna yang memungkinkan terjadinya transfer nutrisi dan pertukaran metabolit antar sel dan pembuluh darah. Saluran tersebut disebut dengan kanalikuli (Leeson dan Paporo, 1995).

d. Osteoklas

Osteoklas merupakan sel yang berperan dalam proses resorpsi tulang, dan akan mengalami apoptosis setelah proses resorpsi tulang telah selesai. Osteoklas mengeluarkan enzim kolagenase dan enzim proteolitik lainnya yang menyebabkan matrik tulang melepaskan

bagian substansi dasar yang mengalami pengapuran (Leeson dan Paporo, 1995).

2. Kerusakan Tulang

Kerusakan tulang dapat terjadi sebagai akibat dari trauma, penyakit degeneratif, pengangkatan tumor, atau adanya gangguan pada saat masa tumbuh kembang tulang (Blackwood dkk., 2012). Kerusakan tulang dalam bidang kedokteran gigi contohnya adalah kehilangan tulang alveolar yang merupakan struktur jaringan penunjang gigi.

3. Proses Remodeling dan Regenerasi Tulang

Proses remodeling tulang adalah proses dimana tulang yang rusak dan sudah tua atau mengalami penurunan fungsi akan dihancurkan dan diresorpsi oleh osteoklas, kemudian akan digantikan dengan tulang yang baru oleh aktivitas osteoblas (Fogelman dkk., 2012). Secara fisiologis, proses remodeling tulang terdiri dari tiga fase, yaitu aktivasi, resorpsi, dan formasi. Fase aktivasi terjadi ketika agen stimulus seperti hormon, obat, dan vitamin mengaktivasi sel prekursor pada daerah tertentu untuk membentuk osteoklas. Sel osteoklas mulai bekerja pada fase kedua, yaitu dengan melakukan resorpsi tulang sehingga terbentuk rongga resorpsi, kemudian masuk ke fase tiga yaitu pembentukan formasi baru dengan melibatkan peran osteoblas yang ditandai dengan terbentuknya jaringan tulang baru pada rongga resorpsi. Tulang baru tersebut disebut juga dengan tulang sekunder (Mc Cance dan Huether, 2006)

4. Teknologi Rekayasa Jaringan (*Tissue Engineering*)

Teknologi rekayasa jaringan merupakan strategi yang telah dikembangkan untuk membantu mengembalikan struktur dan fungsi jaringan yang mengalami kerusakan atau penurunan fungsi. Tiga kunci yang merupakan faktor keberhasilan proses pertumbuhan jaringan tulang yaitu : sel progenitor yang bersifat osteogenik, faktor pertumbuhan yang bersifat osteoinduktif dan perancah yang osteokonduktif (Schieker dkk., 2006). Osteogenik, artinya memiliki kemampuan untuk membentuk tulang baru oleh sel osteoblas. Osteoinduktif artinya mampu menginduksi sel-sel osteoprogenitor sehingga dapat beriferensiasi menjadi osteoblas. Osteokonduktif merupakan kemampuan untuk mendukung pertumbuhan tulang yaitu dengan menyediakan tempat untuk sel dapat menempel, berproliferasi, dan berdiferensiasi (Khan, 2008).

5. *Scaffold* atau Perancah

Perancah adalah suatu kerangka sementara yang dapat memberikan dukungan mekanik untuk sel dapat menjalankan fungsinya yaitu membentuk jaringan tulang yang baru (Chen, 2002). Perancah dengan struktur tiga dimensi dalam teknologi rekayasa jaringan berperan sebagai penyedia tempat yang sesuai untuk regenerasi jaringan dan organ (O'Brien, 2011).

Perancah sebagai pengganti fungsi matrik ekstraseluler yang bersifat sementara di dalam tubuh harus bersifat *biocompatible* dan *biodegradable*. *Biocompatible*, yaitu perancah tidak dianggap sebagai benda asing

sehingga tidak menimbulkan reaksi imunologis. *Biodegradable*, artinya perancah harus dapat terdegradasi sehingga memungkinkan sel dapat menghasilkan matrik ekstraseluler. Hasil produk degradasi dari perancah juga harus bersifat non-toksik dan dapat keluar dari tubuh tanpa mengakibatkan gangguan pada organ lain. Selain itu, perancah yang ideal juga harus mempunyai sifat mekanik yang cukup kuat untuk sel dapat melekat, berproliferasi dan berdiferensiasi, dan cukup kuat untuk bertahan sampai jaringan tulang yang baru terbentuk. Struktur porusitas yang tinggi dengan pori yang saling berhubungan memungkinkan untuk transfer nutrisi dan difusi hasil metabolisme dan produk degradasi perancah yang harus keluar dari tubuh tanpa harus mengganggu organ lain (O'Brien, 2011).

Wu dan Ding (2004) mengemukakan bahwa proses degradasi secara umum dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap I dengan ciri-ciri adanya kestabilan kuasi, tahap II yaitu ditandai dengan penurunan sifat mekanik secara drastis, dan pada tahap III perancah mengalami kehilangan berat. Pada tahap pertama, proses degradasi dibagi lagi menjadi dua yaitu tahap I-1 dengan karakteristik adanya peningkatan sifat mekanik disertai dengan penurunan dimensi dari struktur perancah tiga dimensi, dan pada tahap I-2 terjadi penambahan berat molekul.

Biomaterial yang dapat digunakan sebagai bahan dasar perancah adalah keramik, polimer natural atau polimer alam, dan polimer sintesis. Keramik yang digunakan dapat berupa hidroksiapatit (HA) dan *tri-calcium phosphate* (TCP). Perancah dengan bahan dasar keramik memiliki

karakteristik kekakuan mekanik yang tinggi, elastisitas rendah, permukaan keras dan mudah rapuh. Interaksi antara sel osteogenik dan keramik dalam teknologi rekayasa jaringan telah terbukti dapat meningkatkan proses proliferasi dan diferensiasi dari osteoblas. Namun, bahan keramik mempunyai kelemahan untuk dijadikan sebagai bahan dasar perancah karena laju degradasi yang sulit dikontrol (O'Brien).

Polimer alam yang digunakan sebagai bahan rekayasa jaringan yaitu fibrin, kolagen, gelatin, kitosan, alginat, agarose, dan asam hyaluronic (Lee dan Mooney, 2001). Bahan polimer alam secara biologis dapat meningkatkan aktivitas sel untuk adhesi dan tumbuh dengan baik. Selain itu, polimer alam juga bersifat *biodegradable* sehingga memungkinkan sel-sel untuk menghasilkan matrik ekstraseluler yang akan menggantikan perancah yang terdegradasi (Hunt dan Grover, 2010). Hidrogel merupakan struktur jaringan tiga dimensi yang diperoleh dari polimer sintesis atau polimer alami yang dapat menyerap dan mempertahankan sejumlah cairan tetap berada didalamnya (Gulrez dkk., 2010).

6. *Platelet-Rich Plasma* (PRP)

Platelet-rich plasma adalah produk autologus yang diperoleh dari proses sentrifugasi darah lengkap. Darah lengkap dimasukkan ke dalam tabung yang sebelumnya telah diisi oleh antikoagulan, dan kemudian dilakukan sentrifugasi (Matsui dan Tabata, 2012). Darah yang telah disentrifugasi akan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu *platelet-poor plasma*

(PPP), *platelet-rich plasma* (PRP), dan sel darah merah. *Platelet-poor plasma* mengandung sedikit *platelet* (Tozum dkk., 2003).

Platelet-rich plasma merupakan plasma darah yang kaya akan *platelet* atau trombosit. *Platelet* merupakan sumber alami faktor pertumbuhan dan sitokin yang terlibat dalam penyembuhan jaringan (Sánchez dan Andia, 2012). Komponen yang terkandung dalam *platelet* meliputi : molekul protein, membran protein, protein regulator sitoskeleton, sitokin, dan peptida bioaktif lain yang menginisiasi dan merupakan aspek dasar regulasi proses penyembuhan luka (Sánchez-González dkk., 2012).

Faktor pertumbuhan yang terkandung dalam PRP adalah : *platelet-derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor- β* (TGF- β), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *epithelial growth factor* (EGF), *insulin growth factor-1* (IGF-1), dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF) (Jimi, dkk., 2012). Faktor pertumbuhan yang berperan dalam kontrol proliferasi dan diferensiasi sel adalah *transforming growth factor- β* (TGF- β). Sedangkan yang berperan untuk menginduksi terjadinya angiogenesis adalah *basic fibroblast growth factor* (bFGF) (Matsui dan Tabata, 2012).

Jimi dkk., (2012) mengatakan bahwa PRP dapat mempengaruhi pembentukan tulang melalui berbagai cara. Adanya faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh PRP dapat berkontribusi dalam proses penyembuhan tulang, yaitu sebagai sinyal molekuler untuk sel sehingga sel dapat berproliferasi dan berdiferensiasi (Sánchez-González dkk., 2012). *Platelet-*

rich plasma juga terbukti dapat meningkatkan proses angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru pada proses penyembuhan tulang yang mengalami kerusakan (Matsui dan Tabata, 2012). Selain itu, tiga protein darah seperti fibrin, fibronectin, dan vitronektin, dapat bertindak sebagai molekul osteokonduktif (Jimi dkk., 2012). Osteokonduktif berarti dapat berperan sebagai penyedia tempat untuk sel adhesi, berproliferasi, dan berdiferensiasi (Khan, 2008).

Matrik fibrin merupakan perancah alami yang bersifat viskoelastis yang terbentuk ketika proses penyembuhan, namun tidak memiliki stabilitas yang efisien ketika digunakan dalam bidang regeneratif. Kombinasi antara jalinan benang-benang fibrin hasil aktivasi PRP dengan perancah kitosan berporus terbukti dapat meningkatkan kekuatan mekanik jalinan benang fibrin yaitu dengan membentuk ikatan elektrostatik. Jalinan benang fibrin akan menutupi pori dari perancah dan menutup bagian permukaan perancah yang dapat memberikan area tambahan untuk sel adhesi, proliferasi dan diferensiasi (Shimojo dkk., 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pan dkk., (2010) perancah gelatin dengan struktur berporus tiga dimensi yang dilekati oleh serat fibrin pada porinya dapat menurunkan ukuran pori dan porositas perancah, namun penurunannya hanya sedikit.

7. Inkorporasi

Inkorporasi merupakan proses pemuatan PRP pada perancah, dimana pada saat proses pemuatan akan terjadi kontak antara molekul-molekul

penyusun perancah dengan PRP (Eppley dkk., 2004). Kontak antara PRP dengan gelatin akan mengaktivasi PRP sehingga trombosit akan mengeluarkan faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan akan dilepaskan dari perancah bersamaan dengan proses degradasi dari perancah (Matsui dan Tabata, 2012). Inkorporasi PRP pada perancah sangat penting dalam keberhasilan rekayasa jaringan, yaitu dikatakan efektif apabila *platelet* yang termuat pada perancah dalam jumlah yang banyak (Indahyani, 2008).

8. *Phosphate Buffer Saline* (PBS)

Phosphate buffered saline (PBS) merupakan larutan garam berbasis air yang mengandung natrium fosfat, natrium klorida, dan dalam beberapa formulasi mengandung kalium klorida dan kalium fosfat. Osmolaritas dan ion konsentrasi solusi cocok dengan tubuh manusia yaitu bersifat isotonik. *Phosphate buffered saline* dapat digunakan dalam penelitian yang dilakukan secara *in vitro* (Lichtenauer dkk., 2010).

9. Proses *Swelling*

Proses *swelling* merupakan kemampuan polimer untuk dapat membengkak saat berkontak dengan cairan dengan tetap mempertahankan keseimbangannya. Pembengkakan tersebut diimbangi dengan elastisitas jaringan sehingga bentuk perancah tidak mengalami perubahan dan akan menghasilkan gaya total. *Swelling* juga dapat didefinisikan sebagai proses penambahan berat, volume, atau panjang. Berat air yang mampu diserap oleh hidrogel (W_w) dapat dihitung dengan rumus :

Dimana WH_w adalah berat perancah saat basah atau setelah kontak dengan cairan, sedangkan DH_w adalah berat perancah saat kering atau sebelum kontak dengan cairan (Sarvazyan dkk., 2012).

Kemampuan polimer untuk mengalami proses *swelling* dapat dilihat dari volume air yang mampu diserap oleh polimer sebelum mengalami degradasi. Volume air yang terserap dapat dihitung dengan mengukur berat perancah kering dan berat perancah basah atau setelah perancah kontak dengan cairan selama beberapa waktu.

$$\text{Kemampuan } swelling (\%) = \times 100$$

Dimana W_o adalah berat awal perancah sebelum direndam dalam PBS, sedangkan W_w adalah berat basah perancah setelah perendaman (Wattanutchariya dan Changkowchai, 2014).

Proses *swelling* dan stabilitas struktural perancah sangat penting dalam proses rekayasa jaringan. Awal terjadinya proses *swelling* merupakan hal yang diinginkan dan dengan peningkatan ukuran pori akan dapat memfasilitasi sel untuk melekat pada perancah. Namun, pembengkakan yang terjadi secara terus menerus akan menyebabkan hilangnya integritas mekanik dan dapat mengakibatkan tekanan ke jaringan di sekitarnya (Li dkk., 2005).

Polimer yang terus menerus menyerap cairan maka dapat membengkak sampai maksimal dan terjadi proses pemecahan. Proses tersebut disebut dengan *gel fraction*.

$$\text{Gel fraction (hydrogel\%)} \times 100$$

Wi merupakan berat awal perancah kering sebelum perendaman dan Wd adalah berat perancah kering yang tidak larut setelah perendaman (Nagasawa dkk., 2004).

Wu dan Ding (2004) menemukan bahwa perancah yang direndam dalam larutan PBS akan mengalami proses *swelling* atau pembengkakan dengan menyerap larutan PBS melalui pori-pori. Masuknya cairan dalam perancah membuat perancah berada pada kondisi stabil, dan dapat meningkatkan kekuatan mekanik dari perancah. Setelah perancah mengalami pembengkakan maksimal, perancah akan terdegradasi. Periode degradasi perancah tergantung pada cairan yang terserap, semakin banyak cairan yang terserap maka semakin cepat perancah terdegradasi (Tabata, 2003).

B. Landasan Teori

Kerusakan dari sistem kerangka merupakan masalah yang dapat menjadi penghalangan organ manusia untuk berfungsi dengan normal. Tulang memiliki kemampuan memperbaiki dengan sendirinya apabila terjadi kerusakan, namun apabila kerusakan tulang yang terjadi parah dan melibatkan jaringan yang luas, tulang membutuhkan intervensi dari luar

untuk mendukung proses perbaikan. Teknologi rekayasa jaringan telah berkembang pesat di bidang kedokteran dalam pemanfaatannya untuk membantu regenerasi jaringan tulang. Keberhasilan teknologi rekayasa jaringan dipengaruhi oleh tiga faktor, yaitu sel, *scaffold* atau perancah, dan faktor pertumbuhan.

Sel bertanggungjawab untuk menghasilkan matrik ekstraseluler sehingga akan terbentuk jaringan tulang yang baru. Faktor pertumbuhan berperan sebagai sinyal molekuler yang akan mempengaruhi sel untuk dapat melekat pada perancah dan selanjutnya akan berproliferasi dan berdiferensiasi. Perancah dengan struktur tiga dimensi berperan sebagai kerangka sementara yang memungkinkan sel dan faktor pertumbuhan dapat melekat padanya sehingga dapat mendukung proses proliferasi dan diferensiasi sel.

Perancah harus bersifat *biocompatible* sehingga tidak dianggap sebagai benda asing dan tidak terjadi penolakan dari tubuh. Selain itu, perancah juga harus bersifat *biodegradable* yaitu akan hilang terdegradasi setelah pembentukan tulang yang baru telah selesai. Pengaturan proses degradasi perancah penting karena dapat mempertahankan sifat mekanik dari perancah sampai sel dapat membentuk jaringan baru yang dapat beradaptasi dengan lingkungan sekitar.

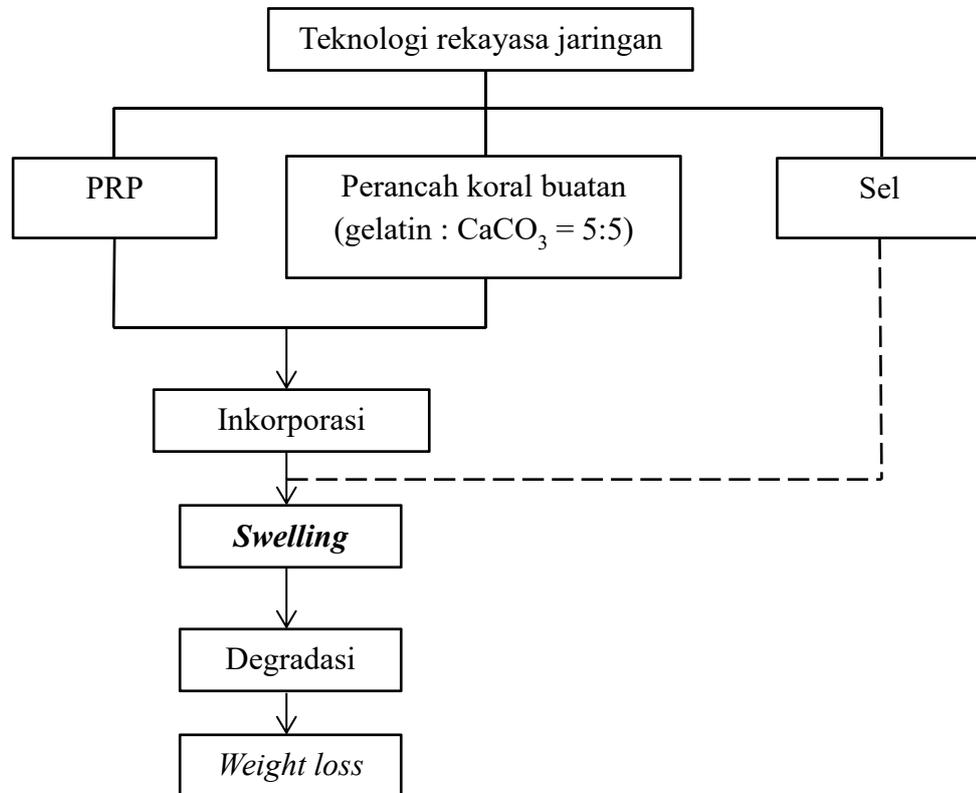
Koral merupakan salah satu bahan yang dikembangkan untuk perancah, yaitu merupakan bahan-bahan substitusi tulang yang biasa digunakan karena sifatnya yang mudah dibentuk sesuai dengan kebutuhan. Koral buatan dengan bahan dasar gelatin dan kalsium karbonat yang

diformulasikan dalam bentuk hidrogel, akan mengalami *swelling* atau pembengkakan ketika kontak dengan cairan karena sifat hidrogel yang dapat menyerap air tanpa larut di dalamnya.

Inkorporasi PRP pada perancah koral buatan menyebabkan kontak antara PRP dengan gelatin sehingga PRP akan teraktivasi. Aktivasi PRP dapat menyebabkan trombosit mengeluarkan faktor pertumbuhan yang diperlukan sebagai sinyal molekuler untuk membantu proses perlekatan, proliferasi dan diferensiasi sel. Selain itu, aktivasi PRP juga akan menghasilkan jalinan benang-benang fibrin yang dapat ditempel oleh sel sehingga menghasilkan area tambahan untuk perlekatan sel selain dari perancah. Perpaduan antara perancah dengan jalinan benang-benang fibrin dalam bidang regenerasi tulang dapat meningkatkan kekuatan mekanik dari kerangka tempat sel melekat, berproliferasi dan berdiferensiasi sehingga kerangka tersebut mampu bertahan sampai terbentuknya formasi tulang yang baru.

Perancah koral yang telah diinkorporasikan dengan PRP, dapat diaplikasikan pada jaringan yang mengalami kerusakan. Setelah kontak dengan cairan tubuh, maka perancah koral tersebut akan mengalami proses *swelling*, yaitu perancah akan menyerap cairan tersebut tanpa mengalami perubahan bentuk karena sifatnya yang elastis. Proses penyerapan air akan terus terjadi sampai mencapai maksimal yang akhirnya perancah tersebut akan pecah atau terjadi degradasi perancah yang disertai pelepasan faktor pertumbuhan dari perancah.

C. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan hipotesis terdapat pengaruh inkorporasi PRP pada perancah koral buatan terhadap proses *swelling*.

