

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tulang

a. Struktur dan histologi tulang

Tulang seperti jaringan ikat lainnya, terdiri dari sel, serat dan substansi dasar yang berbeda dari yang lain, komponen ekstrasel pada jaringan tulang mengapur menjadi substansi keras yang cocok untuk fungsi penyokong dan pelindung kerangka. Tulang adalah penyokong tubuh dan tempat tahanan bagi otot dan tendo yang penting untuk daya gerak. Tulang melindungi organ vital dalam tengkorak dan rongga abdomen dan membungkus unsur pembentuk darah dari sumsum tulang. Tulang memiliki fungsi mekanis selain itu tulang juga menjalankan peran metabolik penting berupa gudang kalsium yang dapat ditarik sesuai kebutuhan dalam pengaturan konsentrasi ion penting dalam darah dan cairan tubuh lain (Fawcett, 2002).

Tulang memiliki kombinasi sifat fisik yang luar biasa, kuat dan tahan kompresi, sedikit elastis, sekaligus juga merupakan materi yang relatif ringan. Setiap tingkatan organisasi tulang, dari bentuk kasarnya sampai struktur mikroskopisnya, konstruksi tulang menjamin kekuatan secara materi dan berat minimal. Tulang

merupakan materi hidup yang dinamis, secara tetap diperbaharui dan dikonstruksi ulang seumur hidup. Tulang juga cukup responsif terhadap pengaruh metabolik, nutrisi dan endokrin (Fawcett, 2002).

Tulang terdiri dari dua komponen utama, yaitu 35% matriks organik dan 65% garam-garam anorganik dari berat keringnya. Komponen matriks organik tulang terdiri atas serat-serat kolagen yang terbenam dalam substansi dasar kaya akan proteoglikan. Hampir 90% kolagen dari matriks tulang adalah serat kolagen tipe I. Komponen matriks anorganik tulang terdiri atas endapan sejenis kalsium fosfat submikroskopik. Kekerasan tulang tergantung pada komponen anorganik, sedangkan kuat dan daya kenyalnya tergantung komponen organik (Fawcett, 2002).

b. Sel tulang

Kalfas (2001) menyatakan bahwa tulang yang sedang aktif tumbuh terdapat empat jenis komponen sel, antara lain prekursor osteogenik atau sel osteoprogenitor, sel osteoblas, sel osteosit dan sel osteoklas serta elemen hematopoetik dari sumsum tulang. Sel osteoprogenitor terdapat pada semua permukaan tulang dan membentuk lapisan periosteum dan endosteum. Sel osteoprogenitor hanya sanggup berproliferasi dan berkembang menjadi sel osteoblas dan paling aktif selama pertumbuhan tulang namun diaktifkan

kembali semasa dewasa pada pemulihan fraktur tulang dan cedera lainnya.

Sel osteoblas terdapat pada permukaan tulang, berasal dari prekursor sel stroma di sumsum tulang. Sel osteoblas menyekresikan sejumlah besar kolagen tipe I, protein, matriks tulang yang lain dan fosfatase alkali dan akan berdiferensiasi menjadi sel osteosit (Ganong, 2002). Sel osteoblas dapat menyintesis, menyekresi dan mengendapkan komponen organik matriks tulang baru. Sel osteoblas berdiferensiasi secara *in vivo* dan *in vitro* yang dapat di karakteristikkan dengan 3 tahap yaitu proliferasi sel, maturasi matriks dan mineralisasi matriks (Eroschenko, 2010). Sel osteoblas akan menghasilkan sel osteosit, matriks organik yang tidak termineralisasi yang akan mengalami mineralisasi, memberikan kekuatan tulang dan kekakuan tulang. Sel osteoblas juga berperan dalam aktivasi resorpsi tulang oleh sel osteoklas (Kalfas, 2001).

Sel osteosit merupakan sel utama tulang dewasa yang terperangkap dalam matriks tulang (Kalfas, 2001). Sel osteosit mempertahankan keseimbangan kadar kalsium dan fosfat dalam tulang dan darah. Sel osteoklas adalah sel multinukleus yang berperan dalam resorpsi, *remodelling* dan perbaikan tulang (Eroschenko, 2010). Sel osteoklas melakukan pembaruan yang mencakup menghilangkan matriks dalam tulang dan diikuti deposisi tulang baru. Sel osteoklas menempati lekukan yang disebut lakuna

Howshi, terjadi akibat kerja erosi osteoklas tulang dibawahnya (Fawcett, 2002).

c. *Remodelling* tulang

Pembentukan dan resorpsi tulang sel yang terlibat adalah sel osteoblas dan sel osteoklas yang berasal dari sumsum tulang (Ganong, 2002). Trombosit kaya akan faktor pertumbuhan, oleh karena itu trombosit bertanggung jawab untuk meregenerasi fraktur tulang karena trauma. Seumur hidup, tulang tetap mengalami *remodelling intern* dan pembaruan yang mencakup menghilangkan matriks tulang pada banyak tempat, diikuti penggantinya berupa deposisi tulang baru. Agen resorpsi tulang dalam proses ini adalah sel osteoklas. Bentuk tulang dipertahankan selama pertumbuhan oleh *remodelling* yang mencakup deposisi tulang pada beberapa tempat di bawah periosteum dan absorpsi tulang pada daerah lain (Fawcett, 2002).

Kerusakan tulang merupakan suatu kondisi patologik hilangnya struktur tulang yang dapat disebabkan karena faktor sistemik maupun faktor mekanis. Terjadinya *remodelling* tulang karena adanya tekanan yang terus menerus dan aktivitas hormon yang selalu berubah. Proses *remodeling* tulang melibatkan interaksi sel osteoblas dan sel osteoklas (Indahyani, 2008).

2. Rekayasa jaringan

Kemajuan ilmu pengetahuan yang berkembang pesat sekarang ini telah memacu perkembangan transplantasi jaringan. Rekayasa jaringan merupakan salah satu teknologi biomedis dikembangkan untuk membantu regenerasi jaringan tubuh untuk mengobati cacat tulang ukuran besar yang tidak mungkin untuk memperbaiki diri. Rekayasa jaringan juga dapat membantu untuk menggantikan fungsi biologis organ yang rusak dengan memanfaatkan sel dengan mengaplikasikan bahan-bahan biomaterial, stem sel dengan cara implantasi yang sesuai dengan organ struktur jaringan tersebut (Tabata, 2003).

Adanya rekayasa jaringan ini diharapkan:

- a. Sebagai perawatan medis yang berpotensi dengan cara mengurangi operasi tulang dengan menggunakan pengganti bahan biologis.
- b. Sebagai pengganti biologis untuk memecahkan masalah penolakan implan, transmisi penyakit yang berhubungan dengan *xenograft* dan *allograft*.
- c. Menyediakan solusi jangka panjang dalam memperbaiki jaringan atau pengobatan penyakit.
- d. Menawarkan pengobatan untuk kondisi medis yang saat ini tidak dapat diobati (Wang, 2006).

Bahan pengganti tulang yang ideal membutuhkan faktor-faktor yang mampu memicu osteogenesis. Faktor pertumbuhan osteoinduktif atau

sel progenitor juga harus ada. Tabata (2003) menyatakan bahwa keberhasilan rekayasa jaringan ini dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu sel, perancah untuk proliferasi dan diferensiasi sel serta faktor pertumbuhan.

3. Perancah

a. Pengertian perancah

Kemajuan ilmu pengetahuan yang berkembang pesat sekarang ini telah memacu perkembangan implantasi jaringan. Perancah merupakan bahan pengganti tulang. Perancah merupakan bagian dari jaringan yang diambil dari individu kemudian di transplantasikan ke individu lainnya. Perancah sering digunakan dalam bidang kedokteran untuk memperbaiki tulang yang rusak karena trauma ataupun penyakit. Tujuan dari perancah adalah memperbaiki suatu kelainan atau cacat pada tulang yang disebabkan oleh faktor lokal ataupun faktor sistemik. Perancah yang baik harus mempunyai sifat biodegradabilitas dan biokompatibilitas (Indahyani, 2008). Perancah juga harus mempunyai potensi osteogenik serta harus mempunyai sifat osteokonduksi dan osteoinduksi (Kalfas, 2001). Empat elemen penting yang harus terpenuhi untuk bahan regenerasi tulang yaitu:

- 1) Osteogenesis adalah kemampuan bahan perancah dalam menghasilkan tulang baru dan proses ini tergantung pada sel-sel yang hidup di cangkok tulang. Osteogenesis ini mempunyai sel

osteoprogenitor dan mampu berdiferensiasi membentuk tulang baru.

- 2) Osteoinduksi adalah kemampuan bahan perancah untuk menginduksi sel induk untuk berdiferensiasi menjadi sel-sel tulang dewasa. Proses osteoinduksi terkait dengan kehadiran faktor pertumbuhan dalam bahan perancah.
- 3) Osteokonduksi adalah kemampuan bahan perancah untuk mendukung perlekatan sel dan menyebabkan pembentukan dan deposisi matriks tulang (Kalfas, 2001).
- 4) Osteointegrasi adalah kemampuan untuk berikatan secara kimia pada permukaan tulang tanpa campur tangan jaringan fibrosa (Moore *et al.*, 2001)

b. Macam-macam Perancah

Perancah ini diperlukan sebagai media menempelnya *Platelet-Rich Plasma*. Dewi (2009) mengemukakan ada tiga macam perancah yaitu:

- 1) *Autograft* ini diambil dari individu yang sama. Memiliki kelebihan karena berasal dari jaringan tubuh sendiri, namun memiliki kekurangan dapat menimbulkan injury. *Autograft* ini merupakan bahan perancah yang paling efektif yang mempunyai empat karakteristik, yaitu osteointegrasi, osteoinduksi, osteokonduksi dan osteogenesis.

2) *Allograft* merupakan bahan yang diambil dari individu yang berbeda sehingga dapat menimbulkan respon jaringan yang merugikan dan respon penolakan hospes, namun pasien tidak perlu mengalami luka bedah (Regar, 2009). *Allograft* memiliki tiga karakteristik, yaitu osteointegrasi, osteokonduksi dan mungkin menunjukkan potensi osteoinduksi (Moore *et al.*, 2001).

3) *Xenograft* biasanya diambil dari spesies lain, dibuat melalui proses kimia yang akan menghasilkan *kalsium hidroksid* yang sesuai dengan tubuh manusia (Regar, 2009). *Xenograft* memiliki dua karakteristik, yaitu osteointegrasi dan osteokonduksi. Idealnya bahan perancah ini harus memiliki sifat biokompatibilitas, menunjukkan sedikit reaksi fibrosis, terjadi perubahan, dan mendukung pembentukan tulang baru (Moore *et al.*, 2001)

Alloplastic graft termasuk bahan perancah *allograft*. Hung & Zorsi (2012) berpendapat bahwa *alloplastic graft* dapat dibuat dari *hydroxylapatite*, mineral alami yang juga merupakan komponen utama mineral tulang. Beberapa bahan perancah terbuat dari kalsium karbonat, salah satunya yaitu perancah koral buatan.

c. Perancah koral buatan

Perancah koral telah digunakan sebagai bahan pengganti tulang sejak beberapa tahun lalu. Penelitian sebelumnya menyebutkan jika koral memiliki sifat biokompatibilitas, osteokonduksi, mudah

diabsorpsi serta dapat sebagai tempat yang menyediakan faktor pertumbuhan tulang. Koral memiliki bentuk berongga seperti tulang manusia. Beberapa tahun ini perancah yang sedang dikembangkan berupa perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat). Penerapan perancah koral telah banyak digunakan dalam augmentasi sinus maxillary, perbaikan tulang periodontal, rekonstruksi rahang atas karena atrofi yang parah tidak hanya pada hewan tetapi juga manusia (Hou *et al.*, 2006).

Koral memiliki struktur porus interkonektif tiga dimensi, dimana menyediakan permukaan internal yang besar untuk sel bermigrasi dan memungkinkan pertumbuhan tulang baru dibentuk ke dalam pori-pori. Perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) merupakan tiruan dari perancah koral alami yang didesain mirip seperti tulang manusia yang memiliki rongga.

Pembuatan perancah koral buatan akan dicampur dengan pendispersi sitrat (*Trisodium Citrate Anhydrate*). Pendispersi merupakan bahan yang digunakan saat mencampur suatu zat dengan zat lain akan terjadi penyebaran secara merata. Bahan pendispersi yang digunakan adalah *Trisodium Citrate Anhydrate* yang berasal dari asam sitrat yang memiliki rumus molekul $C_6H_5Na_3O_7$. Sifatnya mudah larut dalam air dan tidak mudah larut dalam alkohol (WHO Pharmacopoeia Library, 2006).

Trisodium Citrate Anhydrate dihasilkan oleh netralisasi lengkap asam sitrat dengan kemurnian tinggi natrium hidroksida atau karbonat yang dikristalisasi kemudian didehidrasi. Bentuk hidrat umum, *Trisodium Citrate Dihydrate*, secara luas digunakan dalam makanan, minuman dan berbagai aplikasi teknis terutama sebagai *buffering*, eksekusi atau pengemulsi agen. *Trisodium Citrate Anhydrate* dibuat dari *Trisodium Citrate Dihydrate*. Molekul air kristal *dihydrate* dikeluarkan melalui proses yang dipatenkan tanpa merusak kristal asli. Kristal yang dihasilkan memiliki matriks berpori yang dapat digunakan sebagai pembawa untuk bahan anorganik atau organik terutama setelah diresapi dengan cairan (Jungbunzlauer, 2014).

4. *Platelet-rich plasma*

Marx (2008) mengemukakan bahwa *Platelet-Rich Plasma* (PRP) merupakan volume plasma yang memiliki konsentrasi trombosit diatas batas serta terdapat tujuh faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan tersebut adalah *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\beta\beta$ dan PDGF $\alpha\beta$), *Transforming Growth Factors*- β (TGF β 1 dan TGF β 2), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Epithelial Growth Factor* (EGF) serta *Insulin Growth Factor* (IGF) (Marx, 2004; Anila & Nandakumar, 2006). *Platelet-Derived Growth Factor* merupakan faktor pertumbuhan yang sangat kuat dan fungsi utama untuk merangsang replikasi (mitogenesis). *Transforming Growth Factors* mengikat

osteoblas dan sel induk untuk memulai mitosis dan merangsang produksi osteoid. *Insulin Growth Factor* juga penting dalam penyembuhan luka dan merangsang proliferasi dalam osteoblas. *Epithelial Growth Factor* bertanggung jawab untuk diferensiasi sel dan merangsang kembali aktivitas epitelisasi, angiogenesis dan kolagenesis (Anila & Nandakumar, 2006).

Marx (2004) mengemukakan bahwa PRP dikembangkan dari autologous darah manusia yang aman dan terbebas dari penyakit menular seperti HIV, Hepatitis, *West Nile fever* dan *Cruetzfeld-Jacob disease* (CJD).

Dalam bekuan darah alami mengandung 95% sel darah merah, 5% trombosit, 1% sel darah putih dan fibrin. Bekuan darah PRP mengandung 4% sel darah merah, 95% trombosit dan 1% sel darah putih. Faktor pertumbuhan yang berasal dari trombosit memulai penyembuhan jaringan ikat, perbaikan regenerasi tulang dan merangsang penyembuhan proses luka. *Platelet-Rich Plasma* yang diperoleh menghasilkan 2,16 kali pematangan dan kepadatan yang lebih besar dari prosedur cangkok tulang (Anila & Nandakumar, 2006). Jumlah trombosit normal dalam darah manusia sekitar antara 150.000/ μ L dan 200.000/ μ L dengan jumlah rata-rata berkisar 200.000/ μ L. Bukti ilmiah menunjukkan terjadi peningkatan penyembuhan tulang dan jaringan menggunakan PRP dengan konsentrasi 1.000.000 trombosit/ μ L, konsentrasi trombosit dalam

volume 5 ml plasma yang merupakan definisi kerja PRP atau sebagai PRP terapi (Marx, 2001). Beberapa komponen dalam *Platelet-Rich Plasma* yaitu:

- a. Faktor pertumbuhan
- b. *Whole blood cells* (WBC) dan sel fagosit
- c. Konsentrasi fibrogen asli
- d. Agen vasoaktif dan kemotaksis
- e. Konsentrasi tinggi dari trombosit (Anila & Nandakumar, 2006)

Komponen PRP terdiri dari faktor pertumbuhan, sel darah putih dan sel fagosit, konsentrasi fibrinogen asli, agen vasoaktif dan kemotaktik, dan konsentrasi tinggi dari trombosit. *Platelet-Rich Plasma* harus memiliki konsentrasi trombosit 300 hingga 400% lebih besar dari seluruh darah agar dianggap sebagai PRP terapi. Konsentrasi yang lebih rendah dilaporkan tidak dapat diandalkan dalam meningkatkan penyembuhan luka, sedangkan konsentrasi yang lebih tinggi belum terbukti lebih meningkatkan penyembuhan luka (Marx, 2004). Proses sentrifugasi untuk persiapan PRP harus steril dan tepat untuk pemisahan platelet dari sel darah merah dan penyerapan dalam konsentrasi tinggi tanpa kerusakan atau lisis yang mungkin memicu pelepasan faktor pertumbuhan lebih awal (Nagata *et al.*, 2010). Teknik sentrifugasi ganda ini diperlukan untuk benar-benar mendapatkan konsentrasi trombosit dari sel darah autologous (Marx, 2004).

5. Pemuatan, pelepasan dan peluruhan *platelet-rich plasma*

Pemuatan PRP adalah cara pemuatan PRP pada perancah. Beberapa penelitian belum ada yang menyebutkan bagaimana cara pemuatan PRP. Metode celup merupakan metode pemuatan PRP yang paling sering digunakan. *Platelet-Rich Plasma* dapat digunakan dengan mencampurkan kedalam perancah, meletakkan secara berlapis pada perancah, menyemprotkan pada permukaan jaringan, diaplikasikan diatas perancah dan digunakan sebagai membran biologi (Marx, 2001). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa pemuatan PRP pada perancah menggunakan metode celup (Matsui & Tabata, 2012). Jangka hidup dari PRP pada luka kurang dari lima hari. Pemuatan pada PRP tidak boleh terlalu lama karena akan merusak platelet yang ada (Anila & Nandakumar, 2006).

Proses peluruhan, perilaku peluruhan perancah berpori memainkan peran penting dalam proses rekayasa jaringan baru. Laju degradasi perancah berpori mempengaruhi vitalitas sel, pertumbuhan sel dan menjadi respon utama. Perilaku degradasi biasanya dipengaruhi oleh struktur polimer dan sifat (berat molekul dan distribusi, komposisi kopolimer, kristalinitas, transtion kaca, suhu) dan kondisi lingkungan (Wu & Ding, 2004).

6. Metode celup dan tetes

Pemuatan PRP pada perancah sejauh ini lebih banyak menggunakan metode celup. Metode celup ini dimungkinkan memiliki kekurangan dimana PRP tidak terserap sempurna dan PRP banyak yang terbuang,

oleh karena itu dikembangkanlah metode terbaru yaitu metode celup. Pemuatan PRP dengan metode celup diharapkan akan banyak PRP yang dapat terserap.

B. Landasan Teori

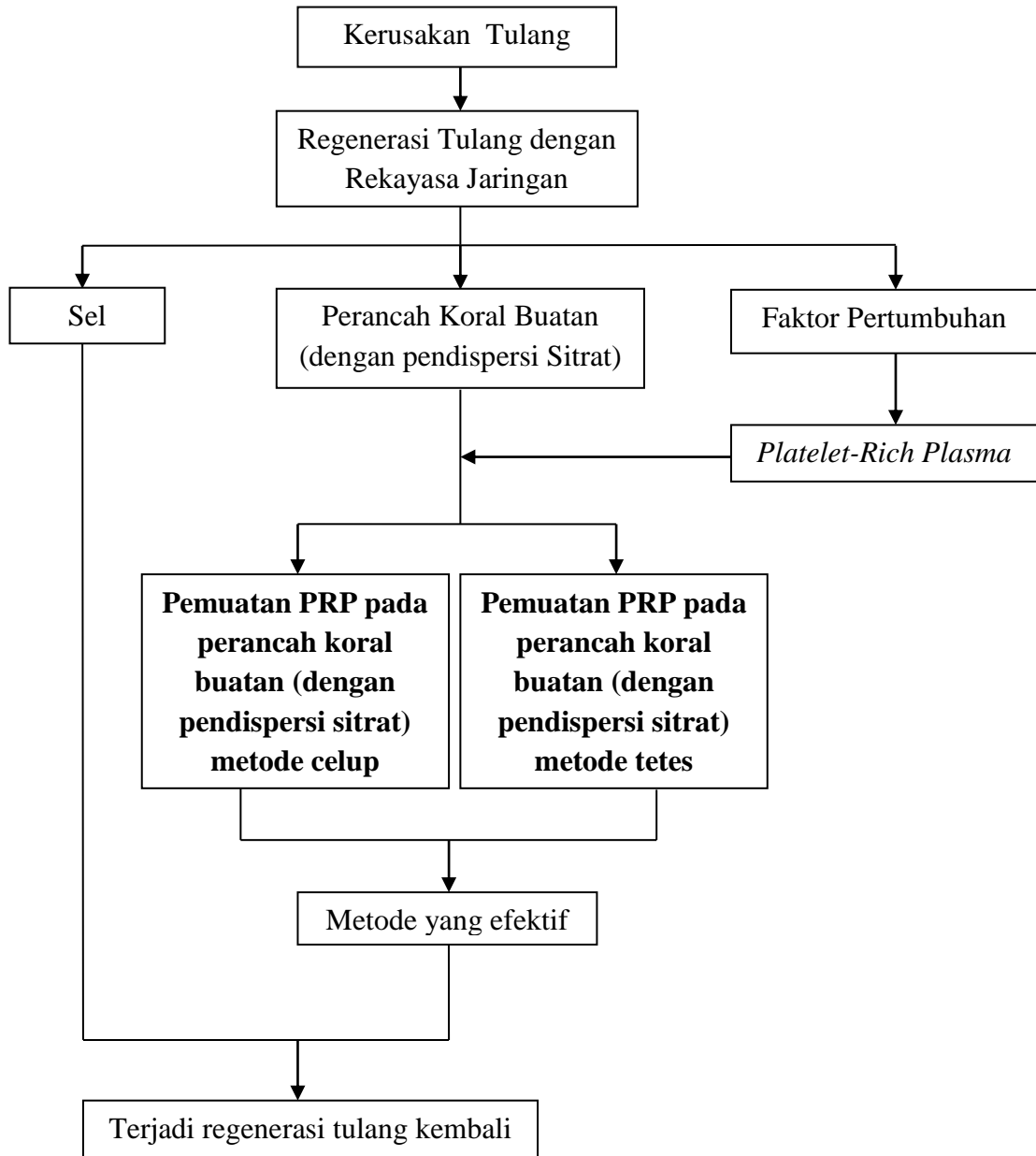
Rekayasa jaringan merupakan terobosan terbaru dalam bidang rekayasa jaringan. Bidang kedokteran gigi, rekayasa jaringan ini sudah mulai dipakai dan dikembangkan untuk mengatasi berbagai penyakit, salah satunya kerusakan tulang rahang. Tulang rahang yang mengalami fraktur tulang secara mekanik dan sistemik akan mengalami regenerasi tulang kembali. Namun pada keadaan kehilangan tulang yang banyak, maka butuh bantuan dari perancah, sel dan faktor pertumbuhan. Sel sudah terpenuhi dalam tulang tersebut. Perancah yang digunakan yaitu *allopastic graft* dengan bahan perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) yang harus memiliki sifat biodegradabilitas, biokompatibilitas, osteogenesis, osteoinduksi dan osteokonduksi. Faktor pertumbuhan diperoleh dari darah memiliki 7 jenis faktor pertumbuhan. *Platelet-Rich Plasma* didapatkan dengan cara mensentrifugasi trombosit, akan diperoleh 1.000.000/ μ L. *Platelet-Rich Plasma* akan diaplikasikan dalam perancah agar didapatkan platelet yang optimal yang akan diterapkan pada defek tulang.

Platelet-Rich Plasma sebelum dimuatkan akan dihitung jumlah platelet terlebih dahulu. *Platelet-Rich Plasma* diaplikasikan pada perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat) dengan cara metode celup dan tetes, dan

dihitung kembali jumlah platelet yang tersisa. Hasil yang diperoleh itu akan didapatkan jumlah platelet yang terserap paling banyak antara metode tetes dan celup.

Metode celup telah banyak digunakan dalam beberapa penelitian untuk pemuatan PRP pada perancah. Metode celup ini secara tidak langsung telah dibuktikan keefektifitasannya dalam pemuatan PRP dan banyaknya platelet yang termuat pada perancah.

C. Kerangka Konsep



Gambar 1. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah metode celup lebih efektif untuk pemuatan *Platelet-Rich Plasma* pada perancah koral buatan (dengan pendispersi sitrat).