

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Tulang

Tulang merupakan satuan jaringan yang membentuk kerangka tubuh manusia dan berfungsi untuk melindungi organ-organ vital yang terletak didalam rongga dada, tulang tengkorak dan berfungsi sebagai tempat menampung sumsum tulang serta sebagai tempat terbentuknya sel darah (Mescher, 2011). Tulang memiliki struktur yang keras dan padat. Hal ini disebabkan karena tulang merupakan struktur jaringan ikat yang tersusun atas sel, *fibers*, dan substansi dasar (Paulsen, 2010).

a. Matriks

Matriks tulang merupakan struktur yang menyusun tulang. Matriks tulang terbagi menjadi 2 yaitu : struktur organik atau disebut dengan *osteoid* dan struktur anorganik atau struktur mineral tulang. Material organik tulang tersusun atas *fibers* yang mengandung 90-95% tipe I kolagen dan substansi dasar seperti kristal hidksiapatit, karbohidrat, dan proteoglikan (Guyton dan Hall, 1997). Material anorganik tulang menyusun 50% dari komponen material penyusun tulang dan 75% dari berat tulang. Material anorganik tulang tersusun atas ion-ion mineral seperti; kalsium, fosfor, bikarbonat, sitrat, magnesium dan natrium (Mescher, 2011).

b. Sel**1) Sel *Osteoprogenitor***

Sel *osteoprogenitor* merupakan sel puncak dari tulang yang belum mengalami diferensiasi. Sel *osteoprogenitor* terdapat pada bagian dalam dari lapisan periosteum permukaan tulang, endosteum dan pada *system vascular* tulang. Sel *osteoprogenitor* dapat melakukan proliferasi dan dapat bermitosis serta berdiferensiasi membentuk sel *osteoblast* (Jonhson, 2011).

2) *Osteoblast*

Osteoblast merupakan sel yang memiliki kemampuan mensintesis matriks organik tulang seperti kolagen tipe I, proteoglikan dan glikoprotein (Junqueira, 2012). *Osteoblast* terletak pada permukaan tulang dan dikelilingi oleh matriks produk sekresinya yang kemudian menghasilkan osteosit yang terselubung di dalam ruang yang disebut dengan *lacunae* (Jonhson, 2011).

3) *Osteocytes*

Osteocytes merupakan sel yang menyusun komponen seluler pada tulang dewasa yang selama hidupnya akan mengalami proses resorpsi dan deposisi dengan sel tulang baru atau disebut dengan proses *remodelling*. Kedua proses ini selalu berjalan beriringan. Sel yang berperan dalam proses resorpsi adalah *osteoclasts* (Jonhson, 2011).

4) *Osteoclasts*

Osteoclasts merupakan sel yang berperan dalam proses resorpsi tulang dan *remodelling* tulang. *Osteoclasts* memiliki ukuran sel yang besar dan jumlah inti sel banyak (Jonhson, 2011).

c. *Remodelling* tulang

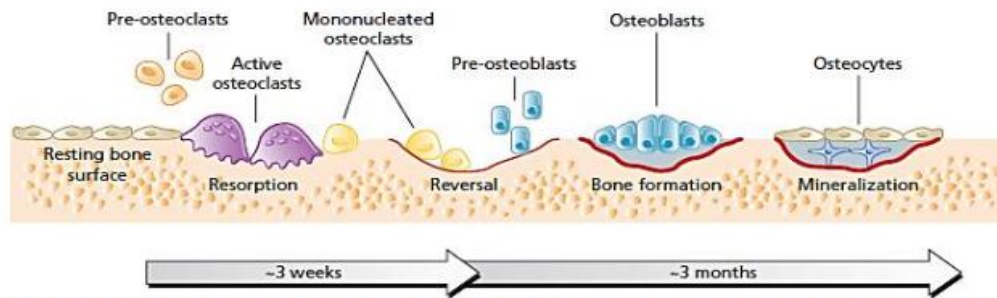
Tulang akan melakukan adaptasi agar dapat mempertahankan ukuran, bentuk dan integritasnya serta homeostatis mineralnya, karena tulang merupakan suatu jaringan yang dinamis. Adaptasi tulang dilakukan dengan cara pemodelan dan *remodelling*. Pemodelan tulang berperan dalam proses pertumbuhan dan induksi adaptasi tulang secara mekanik serta mensyaratkan pertumbuhan dan resorpsi tulang. *Remodelling* bertanggungjawab dalam proses resorpsi untuk memperbaiki tulang yang mengalami kerusakan sehingga dapat dipertahankan bentuk dan integritas tulang serta menjaga homeostatis mineral dalam tulang. Sel yang berperan dalam proses *remodelling* adalah osteoklas, osteoblast dan osteosit serta adanya sel imun. Sel imun berperan terutama saat terjadi kerusakan yang bersifat patologis. Contohnya adalah T-sel dan sel mast (Raggatt dan Partridge, 2010).

Proses regenerasi tulang terdiri dari 3 tahapan mekanisme, yaitu : osteogenesis yang merupakan proses tahap awal pembentukan dan perkembangan tulang, osteoinduksi merupakan proses dimana sel mesenkimal *stem cell* mengalami perubahan menjadi *osteoblast* dan *chondroblast* serta

osteokonduksi yang merupakan proses resorpsi dari *bone graft* yang kemudian digantikan oleh sel tulang baru (Liu dan Kerns, 2014).

110

Adrian Rustam, dkk: Kombinasi perancah silk-fibroin dari kepompong ulat sutera



Gambar 2 Proses remodeling tulang (Sumber: Jan L, Niklaus P, Karring T. Clinical periodontology and implant dentistry, 5th Ed. Oxford: Blackwell Publisher; 2008. p. 87-90)

Gambar 1. Proses Remodeling Tulang

Proses pertumbuhan tulang selalu beriringan dengan proses resorpsi parsial dari jaringan tulang sebelumnya dan diikuti dengan perlekatan jaringan tulang baru. *Remodelling* tulang pada anak-anak sangat aktif 200 kali lebih cepat dibandingkan proses *remodelling* pada orang tulang dewasa. Proses *remodelling* pada tulang dewasa terjadi secara dinamis dan terjadi secara bersamaan di berbagai tempat pada kerangka tubuh. Proses *remodelling* tulang pada tulang dewasa tidak berhubungan dengan pertumbuhan, berbeda dengan proses *remodelling* pada anak yang selalu berhubungan dengan proses pertumbuhan (Junqueira, 2012).

2. Bone tissue engineering

Ilmu pengetahuan dan teknologi telah mengalami perkembangan yang cukup pesat, ditemukan berbagai metode dalam proses penyembuhan tulang. *Tissue engineering* meliputi : transplantasi sel, *biomaterial scaffold* dan *bioengineering* yang berfungsi sebagai bahan yang menyusun pengganti jaringan

sehingga dapat memperbaiki jaringan yang rusak sehingga dapat berfungsi kembali secara normal (Indahyani, 2008).

Bone tissue engineering merupakan proses rekayasa jaringan struktur tulang yang bertujuan untuk memperbaiki jaringan rusak, mengembalikan dan mempertahankan serta meningkatkan fungsinya. Hal ini dilakukan karena tulang memiliki kemampuan untuk melakukan regenerasi jaringan. *Bone tissue engineering* harus memiliki syarat *biocompatible* agar dapat diterima dengan baik oleh jaringan tubuh dan dapat membantu dalam proses osteoinduksi, osteogenesis dan osteokonduksi, sehingga proses pembentukan jaringan tulang baru dapat berjalan dengan baik (Wahl dkk., 2006). Terdapat 3 faktor yang dapat mempengaruhi proses *tissue engineering* yaitu sel progenitor, perancah dan *signal* (O'Brien, 2011).

3. Perancah

Perancah di dalam proses *tissue engineering* memiliki peran dan fungsi yang cukup penting. Salah satu peran penting perancah adalah sebagai *osteoinduktor* yang akan membantu dalam proses pembentukan tulang baru atau sebagai perantara antara sel progenitor dengan *signal* atau faktor pertumbuhan (Greenwald, 2003).

Perancah berperan penting dalam *tissue engineering* sebagai kerangka tempat pertumbuhan sel jaringan sehingga harus memiliki beberapa syarat yang perlu dipenuhi agar proses pertumbuhan sel dapat berjalan dengan lancar, seperti :

- 1) memiliki struktur berpori, pori-pori pada bagian dalam kerangka harus saling terhubung agar sistem vaskularisasi jaringan dapat berjalan dengan baik dan pori-

pori dapat berfungsi menjaga ruang sebagai tempat berkembangnya sel baru, 2) terbuat dari bahan yang memiliki sifat biodegradabilitas dan bioabsorbabilitas yang terkendali, sehingga perancah dapat terabsorpsi dan terdegradasi sedikit demi sedikit sehingga jaringan baru dapat terbentuk dan dapat menggantikan perancah dengan sempurna dan dapat memiliki perlekatan yang baik dengan jaringan disekitarnya, 3) *three dimensial* (3D) organ dan jaringan, sehingga sel dapat berproliferasi dan berdiferensiasi yang berorientasi 3D dan membentuk anatomi jaringan dengan baik sesuai yang diinginkan (Indahyani, 2008), 4) *Acceptability*, yaitu dapat diterima oleh tubuh sehingga tidak menimbulkan reaksi imun yang menolak keberadaan perancah, 5) *Predictability* yang artinya hasil yang didapat dari perawatan dengan menggunakan perancah dapat dipikirkan (Hardhani dkk., 2013).

Hasil regenerasi tulang atau pembentukan tulang baru yang optimal, membutuhkan perancah yang memiliki beberapa syarat ideal yang harus dipenuhi, seperti perancah harus memiliki struktur morfologi dan biokimia yang dapat membantu dalam proses adhesi, proliferasi, migrasi, diferensiasi serta viabilitas dari sel pembentuk tulang atau sel *osteoblast* dan sel progenitor tulang. Selain itu, perancah juga harus memiliki porositas yang baik untuk mencukupi suplai nutrisi dan hasil metabolisme agar proses pertumbuhan sel dapat berjalan dengan baik (Rustam dkk., 2017).

Perancah memiliki kemampuan osteoinduktif dan angiogenik yang berperan dalam proses regenerasi tulang. Kemampuan ini dapat ditingkatkan

dengan penambahan *signal* pada perancah sehingga dapat mempercepat proses regenerasi tulang (Rustam dkk., 2017).

4. *Platelet rich plasma*

Platelet rich plasma atau trombosit yang banyak mengandung plasma merupakan agen *autologous*. *Platelet rich plasma* mengandung banyak *platelet* yang kaya akan faktor pertumbuhan dan berfungsi membantu dalam proses regenerasi jaringan. Pada proses pembuatannya dilakukan penambahan *thrombin* untuk mengaktifasi *fibrin* dan *platelet* (Maisarah dkk., 2014). Proses polimerisasi PRP berjalan secara spontan dan cepat, hal ini karena adanya penambahan *thrombin* dan antikoagulan. Proses polimerisasi akan berpengaruh terhadap sifat mekanis dan sifat biologis dari matriks fibrin (Dohan dkk., 2006).

Penggunaan PRP pertama kali dilakukan oleh Whitman dkk (1997) dan mulai banyak dikembangkan untuk perawatan dibidang *periodontology* terutama pada kasus – kasus kerusakan pada tulang alveolar (Maisarah dkk., 2011).

Platelet rich plasma didapatkan dari hasil proses pemisahan *whole blood* yang melalui proses sentrifugasi untuk memisahkan eritrosit, PPP dan PRP. Proses sentrifugasi dilakukan melalui 2 tahap sentrifugasi sehingga terbentuk PRP (Sakata dan Reddi, 2016).

Tahap pertama, *whole blood* dimasukkan dalam tabung yang telah terisi sodium sitrat sebanyak 3,2% yang kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada suhu 18⁰C dengan kecepatan 300 x g. Tahap pertama akan dihasilkan lapisan sel darah merah yang mengendap di dasar tabung dan sel darah putih pada lapisan atas yang mengandung lebih banyak *platelet* dan *plasma*. Kemudian lapisan atas

dipisahkan dan dilakukan sentrifugasi tahap kedua. Tahap kedua dilakukan pada suhu 18⁰C selama 17 menit dengan kecepatan 700 x g untuk memisahkan PRP dengan PPP. Kemudian dilakukan aktivasi *platelet* dengan menambahkan 20 Mm CaCl₂ dan 25 IU/ml *human thrombin* dan diinkubasi pada suhu tubuh yaitu 37⁰C selama 1 jam dan pada suhu 4⁰C selama 16 jam. Selanjutnya aktivasi PRP dapat dilakukan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 3,000 x g selama 20 menit pada suhu 18⁰C (Amable dkk., 2013). Jumlah PRP dapat dihitung secara manual di dalam *Neubauer chamber* (Gabling dkk., 2009).

Konsentrasi dan komposisi dari PRP yang dihasilkan dapat berbeda pada setiap pembuatan. Hal ini dipengaruhi oleh kekuatan dan durasi selama proses sentrifugasi (Lee dkk., 2011).

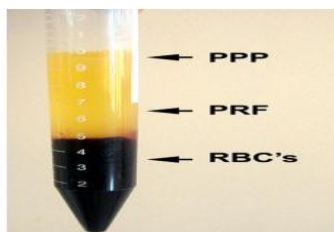
Platelet rich plasma mengandung banyak *growth factor* yang dapat membantu proses regenerasi jaringan seperti proliferasi, diferensiasi, kemotaksis dan morfogenesis jaringan baru (Tozum dkk., 2003).

5. *Platelet rich fibrin*

Platelet rich fibrin merupakan generasi kedua dari PRP, PRF merupakan *platelet* tanpa penambahan antikoagulan, sehingga PRF merupakan agen *autologous* yang mengandung lebih banyak sel darah putih dan beberapa sel yang berperan dalam proses penyembuhan luka seperti makrofag yang berperan dalam sekresi *growth factors* selama proses penyembuhan luka. Makrofag bersama dengan *neutrophil* dan trombosit menghasilkan sitokin yang dapat membantu dalam proses regenerasi jaringan (Miron dkk., 2017).

Prosedur pembuatan PRF lebih sederhana dibandingkan dengan pembuatan PRP. Hal ini karena dalam proses pembuatannya tidak diperlukan modifikasi biokimia atau penambahan *thrombin* dan antikoagulan (Maisarah dkk., 2014).

Platelet rich fibrin diperoleh dengan cara senrifugasi tanpa penambahan antikoagulan pada kekuatan 3.000 rpm (400 x g) selama 10 menit. Aktivasi *platelet* terjadi pada saat *whole blood sample* bersentuhan dengan dinding tabung. Sebelum dilakukan sentrifugasi, fibrinogen berada pada lapisan teratas. Setelah dilakukan sentrifugasi pada *whole blood sample* maka didapatkan gumpalan fibrin berada pada lapisan tengah tabung diantara sel darah merah dan plasma (Gabling dkk., 2009).



Gambar 3 Tiga lapisan berbeda terbentuk setelah sentrifugasi darah pasien; *platelet poor plasma* (PPP), *platelet rich fibrin* (PRF), *red blood cells* (RBC's) (Sumber: Bhandari S, Ashwini T, Naik R. Regenerative periapical surgery: A case report. Dental Hypotheses 2013; 4(2): 1)

Gambar 2. Lapisan PPP, PRF, RBC's

Proses polimerisasi PRF terjadi secara alami dan berjalan secara lambat selama proses sentrifugasi. Hal ini dikarenakan tidak adanya penambahan *thrombin* dan bahan antikoagulan yang berpengaruh dalam menentukan struktur *3-dimensional organization* dari fibrin. Struktur *3-dimensional organization* sendiri dapat memberikan elastisitas yang baik terhadap fibrin *network* (Dohan dkk., 2006).

Platelet rich fibrin mengandung banyak *growth factor* yang berperan dalam proses regenerasi tulang seperti *epidermal growth factor* (PD-EGF), *platelet derived growth factor* (PDGF A+B), *transforming growth factor beta 1* (TGF- β 1), *insulin like growth factor-1,2* (IGF 1,2), *vascular endothelial GF* (VEGF/ECGF) dan *basic fibroblast growth factor* (Bfgf) (Damayanti & yuniarti, 2016).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Gabling dkk., (2009), menyebutkan bahwa kandungan *growth factor* pada PRP lebih tinggi dibandingkan dengan PRF. Berdasarkan hasil perbandingan *growth factor level* yang telah dilakukan hasilnya sangat signifikan pada PRP lebih baik.

6. Swelling perancah

Perancah memiliki beberapa karakteristik yang harus dipenuhi agar terjadi proses regenerasi tulang yang optimal seperti biodegradasi, *swelling* dan porositas (Wattanuchariya & Changkowchai, 2014).

Proses *swelling* sangat penting dalam proses *tissue engineering*. Perancah dalam proses regenerasi tulang harus dapat melakukan degenerasi. Terdapat 2 faktor yang mempengaruhi degenerasi perancah yaitu *swelling* dan *gel fraction*. *Swelling* merupakan suatu proses dimana perancah mengalami pembengkakan setelah masuknya cairan kedalam perancah yang selanjutnya akan mengalami pemecahan setelah terjadinya pembengkakan maksimal (Pan dkk., 2010).

Prosentase *swelling* dapat diukur dengan menggunakan rumus :

$$Swelling (\%) = \frac{W_w - W_0}{W_0} \times 100$$

Keterangan :

W_0 = berat awal perancah

W_w = berat perancah setelah penyerapan maksimal

B. Landasan Teori

Tulang merupakan komponen kerangka tubuh yang memiliki struktur cukup keras dan kuat untuk menopang beban tubuh. Tulang memiliki fungsi yang salah satunya adalah untuk melindungi organ-organ vital. Tulang dapat mengalami kerusakan baik secara fisiologis dan patologis. Salah satu tulang yang sering mengalami kerusakan adalah tulang alveolar, yaitu tempat gigi melekat. Tulang alveolar dapat mengalami kerusakan seperti adanya fraktur akibat pencabutan gigi dan akibat keadaan patologis lainnya. Kerusakan tulang yang kecil dapat di sembuhkan sendiri oleh tulang karena tulang memiliki kemampuan untuk melakukan *self healing*. Namun, pada kerusakan yang cukup parah diperlukan tindakan medis khusus untuk membantu dalam proses penyembuhan dan regenerasi tulang karena akan sulit bagi tulang untuk melakukan *self healing*.

Rekayasa jaringan tulang merupakan salah satu metode untuk membantu penyembuhan kerusakan yang terjadi pada tulang. Metode rekayasa jaringan memiliki 3 komponen yang berperan didalamnya, yaitu adanya sel *progenitor*, perancah dan *signal*. Perancah merupakan bahan yang digunakan sebagai kerangka dan tempat sementara bagi sel *progenitor* untuk berdiferensiasi membentuk jaringan baru untuk menggantikan jaringan yang rusak. Perancah harus memiliki sifat *biodegradable* dan *biocompatible*, artinya perancah harus dapat terserap secara alami oleh tubuh dan tidak menimbulkan penolakan atau

respon imun oleh jaringan tubuh. Selain itu, perancah juga harus memiliki sifat mekanik yang baik, sehingga perancah dapat mengalami proses *swelling* secara maksimal. Proses degradasi dapat membantu untuk mempertahankan sifat mekanik dari perancah hingga sel progenitor dapat menyesuaikan dengan keadaan lingkungannya.

Platelet rich plasma dan PRF merupakan agen yang berasal dari *whole blood* yang melalui proses pemisahan dengan kandungan lainnya dengan cara di sentrifugasi. *Platelet rich plasma* dan PRF merupakan agen *autologous* yang mengandung banyak faktor pertumbuhan sehingga dapat membantu dalam proses pembentukan jaringan baru dan regenerasi jaringan. Kedua bahan tersebut dapat berfungsi sebagai perancah juga, hal ini dikarenakan adanya kandungan matriks fibrin yang dapat memperkuat struktur dari perancah jika dikombinasikan dengan bahan perancah lainnya.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Matsui dan Tabata (2012), menunjukkan bahwa PRP memiliki kandungan trombosit lebih banyak yang berperan penting dalam membantu proses regenerasi jaringan dan pembentukan sel baru oleh sel aktif di dalam *biodegradable* perancah matriks. *Platelet rich plasma* melepaskan faktor pertumbuhan yang dapat meningkatkan proliferasi sel, pembentukan matriks, produksi osteoid, penyembuhan jaringan ikat, angiogenesis dan sintesis kolagen.

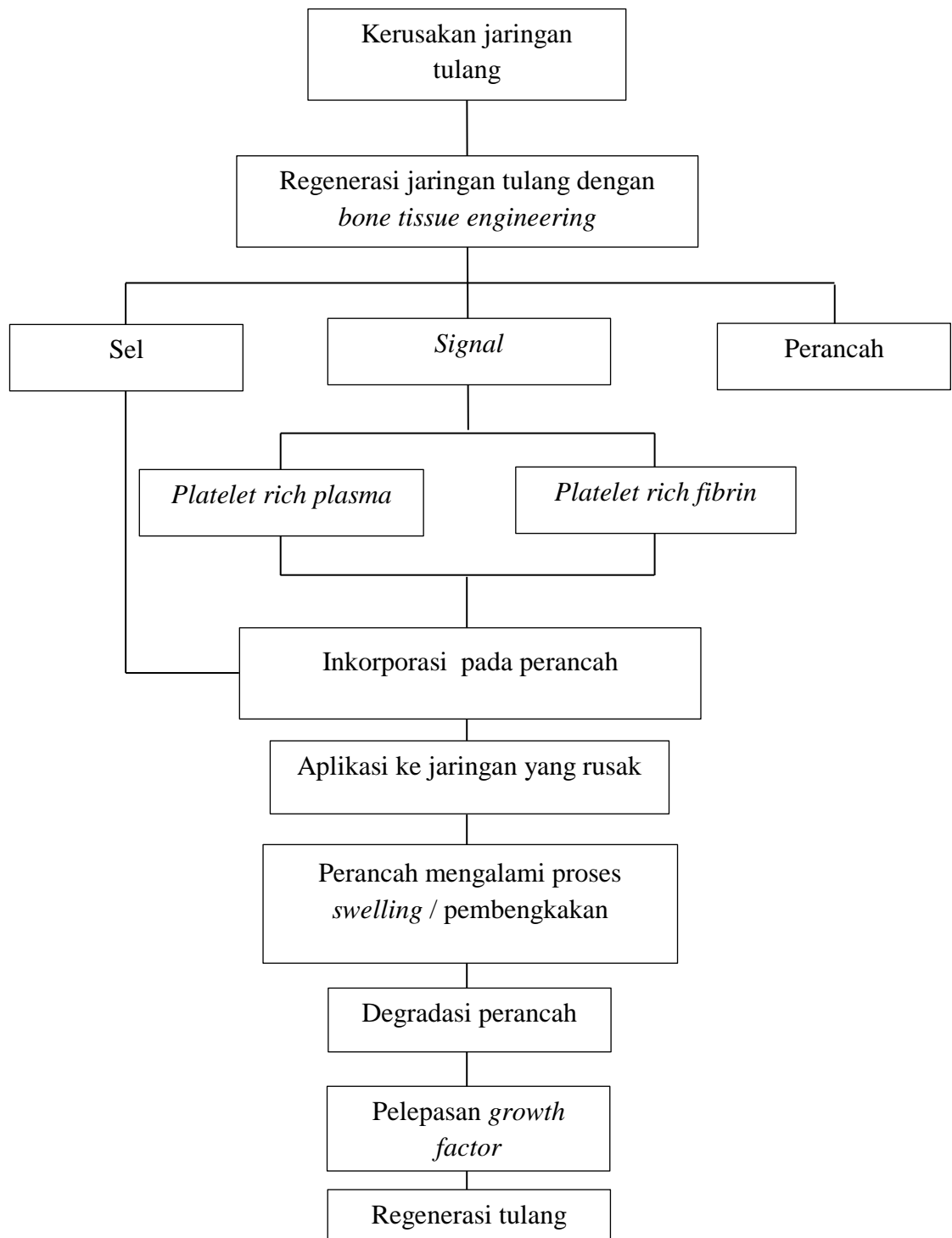
Menurut Kuen Young Lee dan David J. Mooney (2001), Proses polimerisasi enzimatis dari fibrinogen yang disimpan dalam suhu ruangan dan dengan bantuan dari *thrombin* mengakibatkan terbentuknya gel fibrin. Degradasi

dan remodeling yang dapat dilakukan oleh fibrin terkait dengan aktivitas enzimatik selama *cell migration* dan penyembuhan luka, sedangkan tingkat degradasi dari gel fibrin dapat dikontrol oleh *apronitin* yang merupakan sebuah *proteinase inhibitor*. Gel fibrin sendiri memiliki peran dimana gel fibrin dapat meningkatkan migrasi sel, proliferasi, dan sintesis matriks dengan adanya penggabungan dari *platelet-derived growth factors* dan *transforming growth factor α* . Sifat mekanis dari gel fibrin sendiri terbatas, sehingga penggunaannya terbatas pada aplikasi tertentu.

Proses *swelling* atau pembengkakan merupakan salah satu karakteristik dari perancah. Profil *swelling* berperan sangat penting dalam proses *bone tissue engineering*, karena *swelling* menjadi parameter dalam melihat perkembangan pertumbuhan sel sebelum perancah terdegradasi oleh tubuh. Oleh karena itu, agar proses *swelling* dapat terjadi secara maksimal, maka dibutuhkan sifat mekanik dari perancah yang cukup kuat.

Oleh karena itu, dilakukannya penambahan PRP dan PRF pada perancah dengan tujuan untuk memperkuat struktur dan waktu pelepasan *growth factor* dapat berjalan seimbang dengan waktu degradasi dari perancah. Hal ini karena melihat adanya kandungan fibrin didalam PRP dan PRF itu sendiri.

C. Kerangka konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka hipotesa dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan persentase profil *swelling* pada perancah yang diinkorporasi dengan PRP dan perancah yang diinkorporasi dengan PRF.