

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan teknik regenerasi tulang ialah kebutuhan klinis banyak negara. Perihal ini berlangsung sebab jumlah penderita yang membutuhkan serta menerima pencangkokan implan guna memperbaiki cacat atau keretakan pada tulang rangka serta pengobatan penyakit bertambah. Penderita yang mengalami keretakan atau patah tulang, terutama tulang pinggul, tulang lutut, paha, memerlukan rekonstruksi jaringan tulang dengan bahan tambahan dari luar yang digunakan untuk mengganti atau memperbaiki tulang dan bentuk jaringan ataupun fungsi organ yang rusak. Serta mempunyai potensi sebagai pengisi atau pengganti tulang yang hilang dan mampu membawa bahan aktif seperti obat dan hormon yaitu implan tulang, engsel sendi, katup buatan pada jantung, dan lain sebagainya (Adeosun *et al.*, 2014; Heimann, 2001).

Pada kala ini Amerika serta Eropa ada ≥ 600.000 cangkokan tulang pinggang serta sendi lutut yang dicoba selalu meningkat tiap tahun. Di Amerika sudah dicoba mencangkokkan 138.000 sambung tulang pinggang serta ≥ 245.000 sendi tulang lutut tiap tahunnya. Pasar dunia diperkirakan membutuhkan sekitar 260.000 katup jantung (Heimann, 2001). Di Indonesia kebutuhan material *bone graft* tiap tahunnya meningkat 4 kali. Dari riset yang dilakukan oleh Springer (2004) secara prospektif dari tahun 2000 hingga 2004 ditemukan operasi pembedahan 36 lutut dari 34 penderita. Di RSUD Dokter Soetomo Surabaya penelitian retrospektif antara tahun 2008 sampai 2010 diketemukan data 57 operasi penggantian sendi dari 54 pasien karena ada 3 pasien dua kakinya yang direkonstruksi dengan menggunakan semen tulang (Nather *et al.*, 2007).

Implan tulang dalam bentuk pelet dapat berasal dari bahan alam atau sintetik dan digunakan dalam fabrikasi sebagai piranti pelekatan tulang yang retak dan sambungan tulang buatan (*artificial joints*). Pelet yang digunakan dalam operasi atau pembedahan orthopedik tersebut antara lain adalah *bovine hydroxyapatite*, kalsium fosfat, kalsium karbonat, kalsium sulfat dan golongan protein seperti kolagen dan gelatin. *Hydroxyapatite* digunakan pada pemakaian ikatan tulang untuk membantu menyatupadukan tulang yang dicangkokkan. Syarat pelet yang berhubungan langsung dengan jaringan hidup yakni bersifat biokompatibel dengan tubuh manusia, artinya material tersebut dapat diterima oleh tubuh dan biofungsional, artinya sesuai dengan fungsi organ yang diganti, *bioadhesion* artinya ketahanan korosi yang sesuai dengan biomaterial yang akan diganti. Karena cairan tubuh sangat korosif, yang dapat mengarah tidak hanya korosi yang seragam (*uniform corrosion*) tetapi juga serangan korosi celah (*crevice corrosion*) dan lekuk (*pitting corrosion*). Selain itu material tidak boleh membebaskan ion yang bersifat toksin ataupun karsinogen bagi sel serta tubuh manusia (Adeosun *et al.*, 2014; BerrnL’ldez-Reyes, 2009; John, 2005).

Di RSUD Dr Soetomo berdasarkan rekam medik di bagian *Orthopaedi & Traumatologi* dari tahun 2010 sampai 2012 diketemukan 40 kasus osteomielitis dan bakteri penyebab utamanya adalah *Staphylococcus aureus* (KURDIANA, 2013). Osteomielitis merupakan peradangan pada tulang akibat infeksi mikroorganisme yaitu bakteri, *mycobacterium*, ataupun jamur. Meskipun tulang secara normal resisten terhadap kolonisasi bakteri, tetapi dalam keadaan trauma, pembedahan, adanya benda asing (implan) atau prosthesis akan merusak integritas tulang dan menyebabkan terjadinya infeksi. Osteomielitis tidak dapat diobati dengan semua jenis antibiotik,

dikarenakan terjadinya *sequester*, serta mikroorganisme yang dapat membentuk *biofilm* serta hidup secara intraselular memberi tantangan dalam eradikasi infeksi. Antibiotik yang digunakan harus bersifat dapat menembus tulang. Gentamisin (GEN) adalah antibiotik golongan *aminoglikosida* sebagai pencegah atau pengobatan infeksi. Merupakan pilihan antibiotik yang tepat karena mempunyai spektrum yang luas, efektif secara lokal, karena sifatnya yang larut dalam air sehingga mudah berdifusi keluar dari pengisi celah tulang atau sistem penghantaran obat yang digunakan dengan konsentrasi lebih besar dari *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan berpenetrasi ke dalam tulang. Di RSUD Soetomo Surabaya juga pernah digunakan PMMA sebagai pembawa antibiotik GEN dan pengisi tulang, tetapi belum ada laporan efek samping yang terjadi (Michno *et al.*, 2018; Riise *et al.*, 2008).

Upaya untuk mengatasi masalah ini adalah penggunaan implan tulang dalam bentuk pelet yang dapat berperan sebagai sistem penghantaran antibiotik, bertujuan untuk menolong proses pengobatan tulang yang meliputi terbentuk hematoma, inflamasi, neovaskularisasi, resorpsi osteoklastik serta terjadinya pembentukan tulang baru (Yaszemski, 2003). Syarat yang harus dipenuhi oleh implan tulang dalam bentuk pelet yaitu bisa diterima tubuh, biokompatibel serta menguntungkan untuk proses osteokonduksi (membimbing perkembangan reparatif dari tulang), osteoinduksi (mendesak sel terdiferensiasi jadi osteoblast aktif), serta osteogenesis (sel tulang hidup yang berkontribusi dalam remodeling tulang). Berdasarkan riset, syarat minimum untuk dimensi pori $\sim 100\mu\text{m}$ sebab dimensi sel, syarat migrasi serta perpindahan sel. Tetapi, disarankan dimensi pori $\geq 300\mu\text{m}$ sebab meningkat terbentuknya tulang baru serta bentuk kapiler. Makrositas besar bisa

meningkat terbentukkan tulang, namun nilai $\geq 50\%$ bisa menyebabkan hilang karakteristik mekanik bahan biomaterial (Karageorgiou & Kaplan, 2005). Pelet yang baik adalah struktur dan komposisi mirip dengan tulang alami. *Hydroxyapatite* (HA) sebagai bahan utama dalam komposisi pellet, kompatibel serta bioaktif sebab memiliki faktor anorganik penyusun tulang. BHA mempunyai komposisi sama seperti tulang manusia ialah terdiri oleh mineral kalsium serta fosfor (Noshi *et al.*, 2000). Komposit kolagen dan hidroksiapatit merupakan bahan sama seperti tulang. Tulang mengandung kolagen serta BHA selaku komposisi yang terdapat dalam tulang serta sebagian persentase komposisi yang lain. Tidak hanya itu, komposisi kolagen dan BHA teruji biokompatibel pada manusia ataupun hewan. Komposisi kolagen dan BHA dikala ditanam pada badan manusia membentuk watak osteokonduktif terbaik dibanding BHA monolitik serta memberi hasil klasifikasi matriks tulang yang persis sama (Vaccaro, 2002).

Dalam penelitian ini, biomaterial yang digunakan untuk implan dalam bentuk pelet yakni *Bovine Hydroxyapatite* (BHA) yang sudah dibuat oleh Bank Jaringan RSUD Dokter Soetomo Surabaya, gelatin sebagai basis sediaan, serta gentamisin sebagai antibiotik untuk mencegah infeksi. Selain itu, untuk meningkatkan kekuatan mekanik pelet melalui pembentukan ikatan kovalen antara BHA-Gelatin-Gentamisin maka ditambahkan *crosslink agent* yakni glutaraldehid (Haugh *et al.*, 2011).

Kombinasi komponen BHA-Gel bertujuan buat memenuhi kekurangan serta kelebihan, agar tercipta matriks HA-polimer natural yang dihasilkan dari protein yang dikenal sebagai biopolimer dengan komposisi yang mempunyai sifat mekanik, fisik serta biologis mirip tulang manusia (Budiatin, 2014). Komposisi formula pelet, rasio perbandingan BHA dan

gelatin yang digunakan adalah 80:10, pemilihan rasio perbandingan tersebut didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Tampieri *et al.*, 2003), penelitian tersebut bertujuan untuk membuat komposit tulang dan sebagai sistem penghantaran obat dengan menggunakan komposisi Hidroksiapatite dan gelatin dengan berbagai perbandingan kadar gelatin sebesar 2,5%, 5,0% dan 10,0%. Kemudian dihasilkan kadar gelatin yang optimal adalah sebesar 10,0% (Tampieri *et al.*, 2003).

Campuran antara BHA-GEL-GEN memiliki ikatan yang lemah sehingga menyebabkan GEN terdispersi dalam GEL menyebabkan kekuatan GEL untuk melapisi BHA melemah, porositas membesar, densitas berkurang, penetrasi cairan semakin besar. GEN mudah lepas, BHA dan GEL cepat bereaksi dengan tulang (Budiatin, 2014). Usaha untuk meningkatkan efektivitas ikatan antara BHA-GEL dan GEN dapat dilakukan melalui ikatan silang (*cross-link*) dengan menggunakan *cross-link agent*. Salah satu *crosslink agent* glutaraldehid (GTA) adalah yang paling banyak digunakan untuk proses *crosslinking* dengan biomaterial berbasis kolagen (Parenteau-Bareil *et al.*, 2010). *Crosslink agent* glutaraldehid memiliki 2 gugus $-HC = O$ bebas membentuk ikatan kovalen yang kuat dengan NH_2 bebas dari GEL dan GEN, terjadi reaksi basa $Shift\ 2-HC=O + 2H_2N-, -CH=N- + 2H_2O$ sebagai pengikat GEL dan GEN. GA menyebabkan ikatan BHA-GEL-GEN-GTA kuat, polimer GEL menjadi lebih pendek, sifat menyerap cairan, porositas berkurang, densitas meningkat, mekar (*swelling*), degradasi berkurang, dan pelepasan GEN terkontrol. GEL kolagen tipe 1 + sel tulang *softcallus* dan BHA + sel tulang *hardcallus* terbentuk vaskularisasi baru (Budiatin, 2014). Reaksi *cross-linking* terjadi pada gugus karboksil glutamat dan gugus amina lisin dari

kolagen maupun gelatin dengan gugus karbonil dari glutaraldehid. Glutaraldehid dapat membentuk ikatan kovalen karena adanya gugus : –NH₂; –COO⁻¹; –OH⁻¹ dan S⁻² yang kuat (Kazemzadeh Narbat *et al.*, 2006). Ikatan tersebut menyebabkan sediaan menjadi kaku dan keras tergantung dari tingginya konsentrasi glutaraldehid dan durasi perendaman dalam glutaraldehid. Pada penelitian oleh (Bigi *et al.*, 2001), dalam penelitian tersebut untuk melihat persentase *crosslinking* glutaraldehid terhadap gelatin. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa dengan persentase glutaraldehid terendah yakni 0,5% mampu melakukan proses *crosslinking* sebanyak 60% hingga 100% dari keseluruhan gelatin. Dan glutaraldehid memiliki efisiensi yang tinggi terhadap stabilitas kolagen, serta mudah tersedia, murah dan larutan *aqueousnya* dapat mengikat kolagen atau gelatin dalam waktu yang singkat (Bigi *et al.*, 2001). Mekanisme *crosslink* antara gelatin dengan glutaraldehid melibatkan reaksi antara asam amino bebas dari residu asam amino dari lisin atau hidroksisin dari rantai polipeptida dengan aldehida dari glutaraldehid. Reaksi ini diawali dengan adisi nukleofilik dari gugus –NH₂ ke gugus karbonil dari aldehid untuk membentuk senyawa tetrahedral yang tidak stabil yang disebut *carbinolamine*. Selanjutnya terjadi protonasi pada gugus –OH dari glutaraldehid diikuti dengan hilangnya molekul air dan menghasilkan *conjugated Schiff base*. Reaksi *Schiff* merupakan reaksi antara asam amino dengan gugus aldehid. Mekanisme di atas tadi akan menghasilkan ikatan kovalen sehingga hasil akhirnya yaitu dapat meningkatkan sifat mekanik, termal dan ketahanan dalam air (Bigi *et al.*, 2001).

Pemakaian glutaraldehid sebagai *cross-link agent* mempunyai keuntungan antara lain: (1) bersifat larut dalam air, (2) dalam konsentrasi

rendah sudah dapat membentuk ikatan kovalen, (3) sisanya dapat dihilangkan dengan mencuci ataupun memanaskan pada saat pengeringan butiran selama 24 jam pada suhu 40°C, dan (4) mempercepat terjadinya kalsifikasi jaringan. Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa senyawa GA tidak memberikan efek toksik pada konsentrasi 2,5%. Pada penelitian (Ajayan, 2008), menyatakan bahwa GA tidak memberikan efek toksik pada konsentrasi <10%. Glutaraldehid merupakan *crosslink agent* yang dapat mengatur penetrasi cairan ke dalam sediaan lebih lama dan daya pemekaran (*swelling*) dari gelatin menurun sehingga sediaan tidak mudah terdegradasi secara cepat (Ajayan, 2008).

Proses penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan tulang sapi sebagai model tulang manusia sesungguhnya. Untuk membentuk pelet yang mirip dengan tulang, maka terlebih dahulu perlu diketahui bagaimana karakteristiknya melalui serangkaian pengujian yaitu uji kuat tekan (*compressive strength*) serta uji degradasi. Uji kuat tekan ialah ketahanan maksimum sampel pada tekanan yang diberikan hingga sampel mengalami keretakan sebab sampel tidak sanggup lagi menahan beban yang diberikan. Metode pengujian kekuatan tekan suatu bahan dengan cara pelet ditekan dengan kecepatan *load cell compress machine* 5 mm/menit, sampai pelet mulai hancur, kemudian mencatat angka yang tertera pada alat. Hasil yang didapat berupa kekuatan tekan dengan satuan N/mm², dan menghasilkan data berupa besarnya gaya (F) yang dibutuhkan untuk menekan sampel sampai terjadi retakan pada sampel diperoleh dari gaya (F dengan satuan *Newton*) yang terbaca di layar instrumen dibagi dengan luas area permukaan (mm²). Sebelum pelet diberi beban, pelet diukur terlebih dahulu berupa diameter badan pelet (mm) menggunakan mikrometer sekrup dan panjang

badan pelet (mm) menggunakan jangka sorong. Kekuatan tekan pelet yang dinyatakan optimal yaitu memenuhi persyaratan kekerasan implan sebagai pengisi tulang keras ($100-125 \text{ N/mm}^2$). Rentang kekuatan tekan tulang *cancellous* yaitu $2-12 \text{ N/mm}^2$ dan rentang kekuatan tekan tulang kortikal $100-230 \text{ N/mm}^2$ (Van Noort, 2012).

Uji degradasi adalah metode pengujian suatu bahan untuk mengamati pegurangan bobot pelet dengan cara pelet yang direndam dalam larutan 2ml PBS pH 7,4. Kemudian memasukkan *venoject* yang sudah diberi penanda ke dalam inkubator dengan suhu 37°C dan menjaga PBS berada pada pH $7,4^{\circ}\text{C}$. Melakukan pengamatan pada jam 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24 serta hari 1, 3, 7. Mengambil pelet dalam *venoject* dari masing masing formula dalam inkubator dan dikeringkan permukaannya menggunakan kertas saring untuk membersihkan sisa cairan sampai tidak ada cairan PBS yang meresap lagi. Setelah sediaan pelet kering, melakukan penimbangan bobot (m). Selanjutnya mengeringkan pelet pada oven dengan suhu 50°C hingga berat konstan. Melakukan penimbangan dan mencatat bobot dari pelet (md). Selanjutnya dihitung rata-rata presentase bobot yang hilang (*Wlost*) dan presentase air yang terserap (*swelling*) (Cotton *et al.*, 2008).

1.2 Rumusan Masalah

Bersumber pada latar belakang, perumusan permasalahan diuraikan pada skripsi sebagai berikut:

- 1) Bagaimana pengaruh ditambahkan glutaraldehid selaku *crosslink agent* dengan beberapa variasi konsentrasi dalam komposisi *Bovine Hydroxyapatite* -gelatin-gentamisin pada uji kuat tekan (*compressive strength*) pelet ?
- 2) Bagaimana pengaruh ditambahkan glutaraldehid selaku *crosslink agent* dengan beberapa variasi konsentrasi dalam komposisi *Bovine Hydroxyapatite* (BHA)-gelatin-gentamisin terhadap uji degradasi pelet ?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh penambahan glutaraldehid sebagai *cross-link agent* dengan beberapa variasi konsentrasi dalam komposisi *Bovine Hydroxyapatite* (BHA)-gelatin-gentamisin pada uji degradasi dengan media *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan juga membuktikan adanya pengaruh penambahan glutaraldehid sebagai *cross-link agent* dengan beberapa variasi konsentrasi terhadap uji kekuatan tekan (*compressive strength*) pada pelet *Bovine Hydroxyapatite* (BHA)-gelatin-gentamisin.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil riset skripsi berikut, diharapkan dapat memberi data secara ilmiah serta sebagai bahan pertimbangan riset lanjutan pada pelet *Bovine Hydroxyapatite*-gelatin-gentamisin yang di *crosslink* menggunakan glutaraldehid dalam beberapa variasi konsentrasi untuk mendapat sifat fisik yang baik.