

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Terdapat beberapa kondisi yang menyebabkan tulang tidak dapat sembuh secara spontan tanpa intervensi rekonstruksi bedah (Qu *et al.*, 2019), terutama pada tulang dengan *critical size defect*. *Critical size defect* merupakan defek dengan lebar lebih dari 1-2 cm atau lebih dari 50% sirkumferensial tulang (Marei *et al.*, 2018; Nauth *et al.*, 2018). *Critical size defect* pada mandibula dapat terjadi pasca trauma atau reseksi tulang rahang akibat tumor, dimana pada defek ini terjadi pembentukan jaringan fibrous saat proses penyembuhan tulang tulang sehingga hanya 10% dari defek akan digantikan oleh jaringan tulang baru (Marei *et al.*, 2018).

Scaffold merupakan *graft* tulang yang berfungsi sebagai struktur kerangka yang dipergunakan untuk tempat melekatnya sel atau komponen bioaktif lain seperti faktor pertumbuhan, sehingga dapat dipergunakan suatu rekayasa jaringan tulang. *Scaffold* umumnya memiliki bentuk 3 dimensi (3D), misalnya berbentuk balok, sehingga dapat diperuntukkan untuk merekonstruksi defek yang membutuhkan suatu bahan dengan kemampuan *space making capability* (Yamada dan Egusa, 2018). *Scaffold* yang baik dapat menjadi tempat untuk melekatnya sel sehingga sel dapat tumbuh (osteokonduksi), berproliferasi, dan berdiferensiasi menjadi sel *osteoblastic line* (osteoinduksi), serta membentuk formasi tulang baru (osteogenik) (Ghassemi *et al.*, 2018; Kamadjaja *et al.*, 2019; Qu *et al.*, 2019).

Autogenous bone graft merupakan *gold standard* suatu *scaffold* dalam merekonstruksi defek tulang karena memiliki ketiga sifat yang diperlukan untuk mencapai osteointegrasi dengan jaringan di sekitarnya selama proses regenerasi, yaitu: osteokonduktif, osteoinduktif, dan osteogenik (Brown, Kumbar dan Laurencin, 2013; Ferdiansyah, Utomo dan Suroto, 2017). Meskipun demikian, penggunaan *autogenous bone graft* sebagai suatu *scaffold* mempunyai beberapa kekurangan, diantaranya adalah kerusakan dan nyeri pada lokasi donor pasca pengambilan tulang donor. Selain itu, tulang yang diambil pada lokasi memiliki keterbatasan bentuk, ukuran dan jumlah (Lyles *et al.*, 2015).

Scaffold berbahan *allograft*, diperoleh melalui donor atau *cadaver*, menjadi salah satu alternatif *autogenous bone graft*, dan telah digunakan sejak tahun 1980 (Ladd dan Wirsing, 2009). *Allograft* memiliki biokompatibilitas yang baik karena diambil dari spesies yang sama sehingga dapat diterima dengan baik oleh resipien dengan rejeksi minimal. A diproduksi dengan skala yang lebih besar dibandingkan dengan *autogenous bone graft* tanpa memerlukan tambahan tindakan pembedahan (Jacobsen dan Easter, 2009; Ghassemi *et al.*, 2018).

Penggunaan *scaffold allograft*, memiliki resiko penyebaran penyakit infeksi seperti HIV dan hepatitis, sehingga selama pembuatan membutuhkan proses sterilisasi dan denaturasi protein (Laurencin *et al.*, 2006). Proses ini dapat menyebabkan hilangnya beberapa komponen *extracellular matrix* (ECM) yang berfungsi untuk menunjang sifat osteoinduksi dan osteogenik, misalnya faktor pertumbuhan tulang dan material bioaktif lain (Ladd dan Wirsing, 2009; Chen dan Lv, 2018). Jumlah *scaffold allograft* lebih banyak dibandingkan dengan *autogenous bone graft*, namun masih belum cukup banyak untuk mencukupi

kebutuhan kebutuhan penggunaan *scaffold* untuk rekonstruksi *critical size defect* tulang, yang mencapai 1 juta kasus per tahun dengan angka pertumbuhan kasus mencapai 13% pertahun (Arifin, Mahyudin dan Edward, 2020).

Scaffold xenomaterial yang berasal dari tulang sapi (*bovine bone*) dikembangkan sebagai alternatif untuk memenuhi kebutuhan *scaffold*. Tulang sapi memiliki ukuran yang relatif lebih besar sehingga lebih fleksibel untuk dibentuk dengan ukuran tertentu. Selain itu, jumlah ketersediaan tulang sapi jauh lebih banyak dibandingkan *allograft* dan *autogenous bone graft* (Arifin, Mahyudin dan Edward, 2020).

Bovine bone scaffold memiliki sifat osteokonduktif dan osteoinduktif karena pada ECM-nya mengandung berbagai komponen, seperti: kolagen tipe I, kolagen tipe II, protein non-kolagen (*glycosaminoglican*, *chondro adherin*, dan *Bone Morphogenic Proteins* (BMPs)) yang mendukung daya osteoinduktif (Khoshzaban *et al.*, 2011; Bracey *et al.*, 2019). Berdasarkan proses pembuatannya, terdapat 3 varian *bovine bone scaffold* yaitu: *deproteinized bovine bone matrix* (DBBM), *freezed dried bovine bone* (FDBB), dan *demineralized freezed dried bovine bone* (DFBB) (Arifin, Mahyudin dan Edward, 2020).

Demineralized Bovine Bone Matrix (DBBM), atau juga dikenal sebagai *Bovine hydroxyapatite* (BHA), merupakan salah satu bahan *scaffold* tulang yang sering digunakan secara klinis. Beberapa merek telah beredar luas di pasaran adalah Bio-Oss® dan GamaCHA®. Dalam proses pembuatannya, sel residual beserta komponen protein dari ECM akan hilang (Bano *et al.*, 2017) akibat proses pembakaran atau *furnace* pada suhu 1000°C. Proses ini akan menurunkan potensi imunogenik *scaffold* sehingga memiliki biokompatibilitas yang baik, tetapi

menghilangkan kemampuan osteoinduktif. Sifat osteokonduksi masih tetap ada karena adanya porositas dan interkoneksi dari struktur kristal *hydroxyapatite* dari DBBM (Katimani *et al.*, 2014; Katimani *et al.*, 2016).

Freezed dried bovine bone (FDBB) dipilih sebagai alternatif DBBM karena *scaffold* ini mengandung komponen ECM, sehingga masih memiliki sifat osteoinduksi dan osteokonduksi. Selama pembuatan, dilakukan proses deselurasirasi pada *scaffold* sebelum dilakukan proses *freeze dried*. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan komponen DNA, residual sel, dan protein asli (Shahabipour *et al.*, 2013) yang masih terdapat pada *scaffold*. Komponen natif tersebut mampu menginduksi respon imun dan inflamasi, sehingga menyebabkan kematian pada sel (Marantson *et al.*, 2018). Deselularisasi *scaffold* umumnya dilakukan dengan menggunakan detergen non-ionik *Triton X-100*, dan detergen ionik *sodium dodecyl sulfate* (SDS), dimana keduanya menghasilkan daya deselularisasi yang baik (Shahabipour *et al.*, 2013; Gardin *et al.*, 2015).

Proses deselularisasi yang diharapkan pada pembuatan *scaffold* adalah menghilangkan sel dan komponen natif dengan tetap mempertahankan keutuhan struktur 3D dan komponen ECM (Bracey *et al.*, 2018). Bahan deselularisasi tetap berpotensi menyebabkan penurunan kandungan ECM pada *scaffold*, yang menyebabkan penurunan potensi osteoinduksi dan osteogenik (Ghassemi *et al.*, 2018), sifat biomekanik *scaffold* (Gupta, Mishra dan Dhasmana, 2018) dan komponen residual dari bahan deselularisasi dapat mengakibatkan kematian sel sehingga *scaffold* menjadi tidak biokompatibel.

Pada penelitian ini *scaffold* yang akan digunakan adalah *freezed dried cancellous bovine bone scaffold* (FDBB) yang diproses dengan metode *freezed*

dried tanpa melalui proses pencucian dengan bahan ionik guna mempertahankan komponen ECM semaksimal mungkin. Material kedua yang akan diuji adalah *decellularized- freezeed dried cancellous bovine bone scaffold* (DC-FDBB) yang diproses dengan metode *freezeed dried* dan telah dicuci dengan bahan ionik (SDS) guna meningkatkan biokompatibilitas *scaffold*. Kedua *scaffold* tersebut akan dibandingkan dengan DBBK sebagai kontrol positif.

Biokompatibilitas suatu biomaterial merupakan salah satu indikator penting karena menunjukkan kemampuan suatu material untuk berinteraksi dengan sel-sel atau jaringan hidup atau sistem metabolisme, serta tidak menyebabkan toksisitas, atau reaksi imunologis saat berfungsi pada tempat spesifik antara materi biomedis dengan jaringan *host* (Suvaneeth dan Nair, 2018), yang akan mempengaruhi proses penyembuhan dan menimbulkan suatu reaksi rejeksi (O'Brien, 2011; Qu *et al.*, 2019). Biokompatibilitas *in vitro* antara *scaffold* FDBB, DC-FDBB diamati melalui uji toksisitas, dan proliferasi pada kultur *human umbilical cord mesenchymal stem cell* (hUC-MSC), dengan menggunakan *microtetrazolium* (MTT) *assay* (Aslantürk, 2018), serta gambaran pola perlekatan sel pada masing-masing *scaffold* yang dievaluasi menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM) (Mayeen *et al.*, 2018).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah *scaffold* FDBB dan DC-FDBB bersifat biokompatibel dan mampu menjadi tempat perlekatan kultur sel hUC-MSC ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa *scaffold* FDBB dan DC-FDBB bersifat biokompatibel dan mampu menjadi tempat perlekatan kultur sel hUC-MSC.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisa apakah *scaffold* FDBB dan DC-FDBB bersifat toksik terhadap kultur hUC-MSC melalui uji MTT *assay*.
2. Menganalisa pengaruh pemberian *scaffold* FDBB dan DC-FDBB terhadap proliferasi hUC-MSC melalui uji MTT *assay*.
3. Menganalisa gambaran perlekatan sel hUC-MSC pada permukaan *scaffold* FDBB dan DC-FDBB dengan pemeriksaan SEM.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan tentang biokompatibilitas *scaffold* FDBB dan DC-FDBB sebagai suatu *xenomaterial scaffold* alternatif untuk rekayasa jaringan.

1.4.2 Manfaat Praktis

Diharapkan FDBB dan DC-FDBB *scaffold* dapat dipergunakan secara klinis sebagai *xenomaterial scaffold* alternatif untuk rekayasa jaringan.