

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Defek tulang adalah kondisi serius yang umumnya disebabkan oleh keadaan patologis (seperti osteoporosis dan osteopenia) atau trauma lokal yang menimbulkan terjadinya fraktur. Dalam studi 1010 prevalensi defek tulang adalah 97% (Sachdeva, 2020). Menurut Kironde (2019) dalam penelitiannya dari 123 pasien menghasilkan total 136 fraktur tulang panjang terbuka terdaftar. Prevalensi defek tulang traumatis yang disebabkan oleh fraktur tulang panjang terbuka adalah 26,5%. Dari 36 fraktur tulang panjang terbuka dengan defek tulang traumatis 61,1% adalah defek tulang traumatis yang signifikan ($\geq$ panjang 2,5 cm). Sedangkan menurut Riskesdas (2018) prevalensi fraktur akibat kecelakaan (trauma) yang paling tinggi adalah pada daerah ekstremitas bawah yaitu 67%, yang paling besar terjadi pada tulang femur. Insiden fraktur secara keseluruhan di seluruh dunia adalah 11,3% dalam 1.000 per tahun. Di Indonesia angka kecelakaan fraktur tercatat ada 300-400 kasus perbulannya. Menurut data yang dikumpulkan oleh Unit Pelaksana Teknis Terpadu Imunoendokrinologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2006 di Indonesia dari 1.690 kasus kecelakaan lalu lintas, 249 kasus atau 14,7%-nya mengalami fraktur femur (Rahmasari, 2008). Bagian tulang tibia, femur, dan humerus adalah tulang yang paling banyak dilaporkan dengan fraktur tulang panjang terbuka masing-masing sebesar 68,4%, 20,6%, dan 5,2% (Kironde, 2019).

Fraktur adalah rusaknya kontinuitas tulang yang disebabkan tekanan eksternal yang datang lebih besar dari yang dapat diserap oleh tulang. Tulang memiliki fungsi yang sangat penting bagi tubuh. Fungsi mekanik tulang antara lain memberikan bentuk dan struktur bagi tubuh, melindungi organ vital, dan merupakan alat gerak, selain itu tulang menyimpan kalsium, fosfat, dan sumsum tulang (Barret *et al.*, 2010 dan Datta *et al.*, 2007). Saat jaringan tulang beregenerasi, penyembuhan defek pada tulang dapat terjadi dengan sendirinya, terutama pada defek ringan atau patah tulang dengan celah kecil. Namun, proses ini membutuhkan waktu yang cukup lama, bahkan dalam beberapa kondisi menyebabkan keterlambatan dan kegagalan penyembuhan tulang (Gani *et al.*, 2021).

Prinsip pada pengobatan fraktur adalah mereduksi yaitu memperbaiki posisi fragmen yang terdiri dari reduksi tertutup (tanpa operasi) dan reduksi terbuka (dengan operasi), kemudian mempertahankan reduksi (*immobilisasi*) yaitu tindakan untuk mencegah pergeseran antar tulang terjadi secara terus-menerus, pembebatan dengan gips, pemakaian

penahan fungsional, fiksasi internal dan fiksasi eksternal. *Immobilisasi* dengan internal fiksasi adalah: (1) plate and screws, (2) cortical bone graft and screws, (3) intra modular nail, (4) screw plate and screws, (5) nail plate, (6) oblique transfixion screws, (7) circumferential wire band (Adams, 1992). Metode yang sering digunakan adalah plate and screw (Salter, 1999). Pada metode ini umumnya digunakan dalam terapi fraktur articular. Dalam *Plate and screw* terdapat pelat penyangga yang tahan karat terbuat dari bahan baja untuk tujuan mekanis pada tulang agar dapat bergerak secara dinamis. Selain itu, dilengkapi dengan bone screw atau baut tulang yang terbuat dari bahan tahan karat (*non degradable*) untuk mengikat pelat baja tersebut pada tulang (Denkan *et al.*, 2011). Kekurangan dari material bahan *bone screw* yang *non degradable* seperti diperlukannya operasi kedua untuk mengambil *bone screw* yang telah diimplankan dan sulit untuk mendapatkan gambar dari sinar-X dan MRI (*magnetic resonance imaging*). Pengambilan *bone screw non degradable* pada operasi kedua dapat menimbulkan trauma lanjutan pada pasien serta bekas lubang yang tinggalkan screw berpotensi menimbulkan fraktur tulang lanjutan (Witte, 2008 dan Zhao, 2009).

Dikembangkanlah sebuah inovasi yaitu *Bioscrew* yang memiliki sifat *biodegradable* dengan harapan dapat menyatu dengan tulang. Kelebihan dari *bioscrew* yakni, tidak perlu dilakukan proses operasi kedua untuk pengangkatan *bone screw*, karena saat fiksasi tulang telah sempurna maka *bioscrew* telah terdegradasi penuh. Hal ini dapat meminimalkan terjadinya iritasi, trauma pada pasien serta bekas lubang *bone screw* (Hermanto *et al.*, 2016). *Bioscrew* dapat terbuat dari bahan polimer yang memiliki berat molekul yang besar seperti PLA (*polylactic acid*) atau PGA (*polyglycolic acid*). Berdasarkan penelitian, *bioscrew* dari PLA akan terdegradasi pada 24 minggu ditunjukan dengan jumlah *foreign-body giant cells* dan sel makrofag yang tinggi. Dalam waktu 6-9 minggu, akan terjadi pertumbuhan jaringan konektif yang menyebabkan terpisahnya *screw* dari daerah intra articular dan menyatunya tulang ditempat pemasangan *screw*. PLA akan terdegradasi menghasilkan senyawa yang bersifat asam yang memiliki pH 3-4 dengan berat molekul yang lebih rendah yaitu asam laktat (*lactic acid*). Hal ini akan memberikan efek toksik dan menurunkan pH serta menimbulkan rasa nyeri pada tempat pemasangan (Weiler *et al.*, 2002). Sedangkan bahan *biodegradable* lain yang dapat digunakan adalah PGA tetapi memiliki kekurangan pada proses degradasi PGA ditemukan monosit antiinflamasi. Selain itu, pada campuran *bioscrew* PGA terdapat magnesium yang sangat rentan terhadap korosi dalam kondisi fisiologis (Wang *et al.*, 2010).

Berdasarkan kelemahan yang dimiliki oleh cangkang *bioscrew* PLA, maka dilakukan pengisian material yang memiliki sifat struktur mirip dengan tulang dengan tujuan

membantu mempercepat pertumbuhan tulang di sekitar bioscrew dan menetralkan pH asam akibat degradasi PLA. Material yang digunakan untuk mengisi bioscrew yaitu, BHA (*Bovine Hydroxyapatite*) yang digunakan sebagai material basis, gelatin, dan alendronate. BHA digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan bioscrew dengan kelebihan komposisi yang mirip dengan tulang yakni tersusun atas Ca (kalsium) dan P (fosfor), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. BHA merupakan bahan anorganik yang berasal dari tulang sapi dengan porositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan HA (*Hydroxyapatite*) sintesis, memiliki osteokonduktivitas yang baik serta berfungsi sebagai penyangga sel saat proses remodeling (Budiati *et al.*, 2014 dan Ratner *et al.*, 2004). Kekurangan dari BHA adalah sifatnya yang rapuh, mudah terlepas dari *screw*, dan penghantaran obat yang kurang optimal. Dilakukan penambahan polimer berupa gelatin yang diharapkan dapat meningkatkan sifat fisik dari *bioscrew* dengan mengikat BHA membentuk ikatan kovalen antara R-COO^- dengan Ca^{2+} dari BHA dan tempat distribusi obat (Budiati *et al.*, 2014; Kemence and Bolgen 2013; Putra *et al.*, 2018).

Selain itu gelatin juga berfungsi sebagai pembawa dengan sistem *controlled release* pada bentuk sediaan hidrogel dan nanopartikel. Hal ini karena gelatin memiliki sifat hidrofilik yang dapat memfasilitasi pelepasan obat secara difusi (S. Joshy *et al.*, 2017). Kelemahan dari gelatin adalah mudah larut dalam larutan aqueous, sedangkan untuk proses pertumbuhan tulang membutuhkan waktu jangka panjang karena itu dilakukan *crosslink* pada sediaan bioscrew BHA-GEL untuk mempertahankan stabilitas mekanik dan termal biopolimernya (Bigi *et al.*, 2001). Salah satu agen *crosslink* yang umum digunakan adalah Glutaraldehid, karena efisiensinya sangat baik untuk stabilitas gelatin agar lebih tahan lama terhadap air serta harganya yang murah. Gugus (-CHO) glutaraldehid akan berikatan dengan gugus amino bebas (-NH₂) dari lisin atau hidroklisin gelatin membentuk karbinolamin yang selanjutnya terproyonsasi oleh gugus (-OH) yang menyebabkan hilangnya molekul air dan menghasilkan *Schiff base* terkonjugasi. Sehingga terbentuklah ikatan kovalen baru antar molekul gelatin dan jembatan karena terjadinya polimerasi glutaraldehid dalam larutan berair (reaksi kondensasi aldol). Menghasilkan peningkatan dari sifat mekanik, termal, dan ketahanan terhadap air (Farris *et al.*, 2010). Kadar 0,1-1% glutaraldehid memiliki kemampuan *crosslink* yang meningkat dari 60% sampai 100%, sedangkan pada kadar 1,5% bersifat toksik untuk menghindari hal tersebut maka konsentrasi yang digunakan dibawah 1,5% (Bigi *et al.*, 2001).

Alendronate yang merupakan obat golongan aminobifosfonat sebagai modulator alami pada proses metabolisme tulang juga ditambahkan pada bioscrew (Capra *et al.*, 2011).

Gugus fosfonat dalam alendronate mampu mengikat ion Ca^{2+} dari BHA dan kalsium disekitar tulang. Ikatan ini mampu menurunkan aktivitas osteoklas untuk meresorpsi tulang sehingga dapat mempercepat proses penyatuan tulang. Mekanisme kerja lainnya dari Alendronat yaitu, menghambat enzim FPPS yang fungsinya untuk meningkatkan aktivitas osteoklas (Drake *et al.*, 2008).

Dalam perkembangan tulang salah satu faktor yang mempengaruhi adalah proses revaskularisasi. Sistem vaskularisasi memiliki fungsi penting sebagai penyedia sel-sel darah, oksigen, mineral, glukosa, hormone, ion, dan berbagai faktor pertumbuhan. Proses vaskularisasi diinisiasi oleh dua jalur salah satunya adalah VEGF (*Vascular Endothel Growth Factor*) (Marsell, 2011). Proses revaskularisasi ini dapat terhambat apabila terjadi infeksi yang mengaktifkan sitokin proinflamasi mengakibatkan meningkatnya aktivitas osteoklas dan kematian sel tulang. Pada pemeriksaan secara imunohistokimia (IHC) ekspresi VEGF ditunjukkan dengan terbentuknya sel osteoprogenitor (*mesenchymal stem cells*), yaitu sel yang akan mengalami diferensiasi menjadi osteoblas dan berperan dalam proses osteogenesis, pada proses pertumbuhan tulang yang baik akan terjadi penurunan ekspresi VEGF. Hasil pemeriksaan ekspresi VEGF akan menunjukkan warna kecoklatan pada sel (Pranoto A. *et al.*, 2017). VEGF telah banyak digunakan sebagai parameter untuk melihat regenerasi tulang. Suatu studi sistematik review yang dilakukan oleh Dreyer (2020) menyatakan bahwa beberapa artikel yang menggunakan parameter VEGF untuk formasi tulang mendapatkan hasil yang signifikan, dimana terjadi peningkatan ekspresi VEGF antara kelompok perlakuan dan kontrol.

Salah satu protein spesifik *non kalegenous* yang disintesis oleh osteoblast dan sering ditemukan pada tulang adalah OC (*Osteocalcin*). OC berperan penting pada proses diferensiasi sel progenitor osteoblast dan saat sintesa matriks dan mineralisasi regulasinya akan meningkat. Umumnya OC tersimpan dalam matriks tulang pada masa perkembangan (Smane and Pilmare, 2016). OC memiliki fungsi dalam mengatur remodeling tulang melalui mekanisme umpan balik negatif, protein ini merupakan faktor endokrin dalam mengatur hemostasis glukosa. Selain itu, OC memiliki peran dalam proses mineralisasi di matriks tulang, *limiting factor* untuk formasi tulang, serta dalam merekrut dan diferensiasi osteoklas (Ivaska, 2005). Osteocalcin yang rendah dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko patah tulang (Thomas., 2012). Poundarik A. (2009) dalam penelitiannya, Peran Osteocalcin dalam Fraktur Tulang menyimpulkan bahwa Osteocalcin berperan dalam menentukan kekerasan/ketangguhan pada tulang yang mengalami fraktur. Sehingga pemeriksaan VEGF

dan OC merupakan parameter yang baik untuk menentukan keberhasilan pengobatan pada defek tulang dalam masa pembentukan (Sunu, 2010).

Berdasarkan uraian diatas diperlukan penelitian untuk membuktikan efektivitas sediaan implant *bioscrew* BHA-GEL-ALE yang di-*crosslink* menggunakan glutaraldehyd melalui uji imunohistokimia yaitu ekspresi VEGF (*Vascular Endothel Growth Factor*) dan OC (*Osteocalcin*). Penilaian ini dilakukan pada hari ke-28 dan 35 pasca operasi, saat terjadinya formasi pada bagian *trabecular* dan *medullar*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah penanaman implan Bioscrew PLA berisi suspensi BHA-GEL-ALE yang di *crosslink* Glutaradehida pada defek tulang femur kelinci dapat meningkatkan ekspresi VEGF (*Vascular Endothel Growth Factor*) dan OC (*Osteocalcin*) pada proses regenerasi tulang?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian Umum

Mengkaji efektivitas penanaman implan tulang dengan sediaan bioscrew PLA yang berisi suspensi BHA-GEL-ALE yang di *cross-link* Glutaradehida pada pertumbuhan tulang dalam defek tulang akibat fraktur.

1.3.2 Tujuan Penelitian Khusus

1. Membuktikan pembentukan sel tulang baru pada defek akibat fraktur setelah dilakukan penanaman implan Bioscrew berisi suspensi BHA-GEL-ALE yang di *cross-link* Glutaraldehyda melalui Ekspresi VEGF (*Vascular Endothel Growth Factor*)
2. Membuktikan pembentukan sel tulang baru pada defek akibat fraktur setelah dilakukan penanaman implan Bioscrew berisi suspensi BHA-GEL-ALE yang di *cross-link* Glutaraldehyda meauai Ekspresi OC (*Osteocalcin*)

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan masukan dan informasi bagi klinisi dan farmasis mengenai efektivitas formula bioscrew BHA-GEL-

ALE yang di *cross-link* Glutaraldehida sebagai implan defek tulang akibat fraktur sebagai upaya peningkatan kualitas pelayanan kesehatan pada pasien.

2. Data ini dapat digunakan sebagai pendahuluan untuk penelitian selanjutnya maupun referensi untuk penelitian terkait di masa yang akan datang.