

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tulang merupakan jaringan hidup yang memiliki vaskularisasi baik, dengan kerangka kolagen yang mengandung kalsium dan fosfat, terutama hidroksiapatit. Fungsi tulang antara lain melindungi organ-organ vital, dan memungkinkan tubuh untuk bergerak dan menyangga beban terhadap gravitasi (Barrett *et al.*, 2012). Salah satu cedera berat yang dapat terjadi pada tulang adalah patah tulang (fraktur). Fraktur adalah kondisi dimana kontinuitas jaringan tulang, tulang rawan sendi, dan atau tulang rawan epifisis terputus baik yang bersifat total maupun parsial. Fraktur dapat disebabkan karena trauma seperti kecelakaan, cedera saat berolahraga, kanker tulang, juga osteoporosis yaitu terjadi pengeroposan pada tulang dan membuatnya lebih mudah patah (AAOS, 2021).

Pada tahun 2011 – 2012 *World Health Organization* (WHO) mengemukakan bahwa terdapat 5,6 juta orang meninggal dunia dan 1,3 juta orang mengalami fraktur akibat kecelakaan (World Bank & World Health Organisation, 2013). Sedangkan angka kasus fraktur di Indonesia mencapai 5,5% dengan kasus yang paling banyak ditemui adalah fraktur pada ekstermitas bawah dengan prevalensi sekitar 67,9% (RISKESDAS, 2018).

Penanganan medis dalam perbaikan tulang dan rekonstruksi akibat fraktur umumnya menggunakan pengisi tulang (*bone graft*). Terdapat empat macam *bone graft* yaitu autograft (*bone graft* yang berasal dari host itu sendiri); allograft (*bone graft* dari donor berasal dari spesies yang sama); xenograft (*bone graft* dari donor yang berasal dari spesies berbeda); dan material sintesis alloplast atau alloimplant (material yang digunakan memiliki karakteristik yang sama dengan tulang asli). Adapun kekurangan dari autograft yaitu adanya prosedur operasi tambahan yang menyebabkan trauma, morbiditas, dan keterbatasan jumlah material tulang. Allograft dan xenograft memiliki kekurangan rendahnya vaskularisasi, meningkatnya resorpsi, lemahnya sel, dan perlu biaya tinggi. Pengembangan dari *bone graft* adalah menggunakan biomaterial sebagai alternatif pilihan dalam merestorasi jaringan tulang yang

rusak. Material tersebut bisa berasal dari bahan sintetik non-logam yang didapatkan dari bahan keramik (kalsium fosfat), komposit dan polimer (Ardhiyanto, 2011). Idealnya *bone graft* harus memiliki struktur pori yang saling terhubung dan memiliki porositas yang tinggi agar memungkinkan penetrasi serta difusi sel. Ukuran pori yang ideal adalah 100-600 μm , dengan ukuran tersebut membantu sel bermigrasi, berproliferasi, serta memungkinkan terjadinya angiogenesis (Dorozhkin, 2010).

Hidroksiapatit (HA) merupakan biomaterial dari komponen utama pembentuk jaringan tulang dan gigi. HA bersifat biodegradabel dimana material mampu untuk terdegradasi seiring dengan tumbuhnya tulang secara alami (Chamy & Rosenkranz, 2013). Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) bisa diperoleh dari tulang sapi yaitu Bovin Hidroksiapatit (BHA) dapat digunakan sebagai bahan terapi substitusi tulang atau *bone graft*. Material ini bersifat biokompatibel karena dapat menyatu dengan tulang, bioaktif untuk merekonstruksi ulang jaringan tulang yang telah rusak dalam jaringan lunak dan bersifat osteokonduktif yaitu dapat merangsang pertumbuhan dan pembentukan tulang (Kusrini & Sontang, 2012).

BHA memiliki sifat osteokonduktif yang lebih baik dibanding HA hasil sintetik, sehingga lebih menarik sel dan meningkatkan proliferasi sel. BHA berfungsi sebagai tempat diferensiasi sel menjadi ostosid (*hard callus*) dalam penutupan defek. Hal ini didasarkan dari pertumbuhan tulang pada area defek secara *in vivo* (Budiatin *et al.*, 2014). BHA memiliki porositas yang tinggi. Porositas yang tinggi dari BHA mempercepat proses kolonisasi sel osteoblas serta menjadi media bagi sel osteoblas untuk menempel (Ardhiyanto, 2012). Selain itu, BHA rapuh jika digunakan sebagai *bone graft*, sehingga perlu dikombinasikan dengan gelatin sebagai perekat (Budiatin *et al.*, 2014).

Gelatin merupakan polimer yang bersifat degradabel sehingga dapat dikombinasi dengan BHA. Gelatin berfungsi sebagai perekat, penghalus, dan tubuh dapat meresorpsi gelatin, serta gelatin membantu mendispersikan bahan aktif, disebut juga sebagai kolagen tipe satu yang merupakan komposisi utama dari tulang. Kolagen tipe satu berperan penting dalam pembentukan osteoid (*soft callus*) yang secara cepat membentuk trabekula dan menjembatani atau menghubungkan dua sisi pada defek dan membuat tulang lebih cepat terhubung (Budiatin *et al.*, 2014). Pelet BHA-GEL yang digunakan sebagai bonegraft dapat mempercepat proses pembentukan tulang baru dan dapat bersatu dengan jaringan disekitarnya (Budiatin *et al.*, 2014). Gelatin dari pelet akan terdegradasi menjadi kolagen tipe satu yang merupakan

pembentuk utama osteoid (*soft callus*) dan osteoblas pada sel tulang. Sedangkan BHA akan melekat dan bersatu dengan jaringan disekitarnya dengan meningkatkan proliferasi sel dan sebagai tempat diferensiasi sel menjadi ostosid (*hard callus*) (Budiatin *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini terdapat kelompok perlakuan yaitu implantasi BHA-GEL dengan tambahan oral BHA dan kelompok perlakuan yang diberikan implantasi BHA-GEL dengan tambahan oral kalsium laktat. Tujuan penambahan suplemen kalsium pada kelompok perlakuan adalah untuk membandingkan efektivitas dari kedua perlakuan terhadap defek tulang. Pada kasus patah tulang, asupan kalsium yang cukup diperlukan untuk homeostasis, pertumbuhan tulang dan pemeliharaan tulang (DiPiro *et al.*, 2020). Asupan kalsium berperan penting dalam menjaga kesehatan tulang, yaitu untuk mencapai massa tulang puncak dan mencegah tulang kehilangan massanya (Straub, 2007). Kalsium merupakan mineral penting yang memiliki berbagai fungsi biologis (Wang *et al.*, 2014). Penyerapan kalsium terjadi di usus halus dan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya kadar vitamin D, lingkungan asam di usus, usia, kadar estrogen, dan asupan serat makanan yang berperan dalam penyerapan kalsium (Straub, 2007).

BHA dapat digunakan sebagai suplemen kalsium yang diperoleh dari tulang sapi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Stellan *et al.* pada tahun 1985, absorpsi dari hidroksiapatit pada manusia adalah sekitar 42,5% (Stellan *et al.*, 1985). Komponen organik suplemen ini terdiri dari kolagen dan peptida pertumbuhan khusus tulang, yang bermanfaat untuk kesehatan tulang. Komponen anorganik menyediakan kalsium dan fosfor. Digunakan BHA karena berdasarkan penelitian yang dilakukan di Eropa, menemukan bahwa hidroksiapatit lebih efektif daripada kalsium karbonat dalam memperlambat kehilangan tulang trabekula perifer dari tibia distal dan radius distal (Straub, 2007). Peran oral BHA adalah meningkatkan proliferasi dari HA dengan merangsang sel-sel masekrim. Mempromosikan deposisi kristal kalsium hidroksiapatit diantara serabut kolagen bersama dengan kolagen tipe satu yang merupakan degradasi dari gelatin. Selama proses mineralisasi, ujung fragmen tulang diselubungi oleh masa fusiformis berisi woven bone. Semakin banyak mineral yang terdeposisi, maka akan semakin keras *callus* yang terbentuk (Ardhiyanto, 2012). Sedangkan, oral kalsium laktat diberikan karena memiliki kemampuan lebih menstimulasi aktivitas tulang jika dibandingkan dengan kalsium karbonat atau kalsium sitrat. Absorpsi kalsium laktat pada manusia adalah sekitar 32% (Taira & Ueda, 2013). Peran kalsium laktat

mampu meningkatkan kalsium ekstraseluler, kalsium intraseluler dan proliferasi osteoblas pada tulang. Dengan meningkatnya kalsium ekstraseluler mampu menstimulasi pembentukan tulang dengan signifikan, dapat meningkatkan proliferasi dan atau kemotaksis osteoblas (Muliani, 2014). Kalsium laktat membantu HA dalam meningkatkan proliferasi osteoblas dan dalam pembentukan *hard callus*.

Proses perbaikan tulang diawali dengan fase inflamasi, dimana terjadi pembentukan jendalan darah, fase ini berlangsung pada minggu pertama setelah cedera yaitu hari pertama hingga hari ke-7. Pada fase inflamasi terjadi perilsan sitokin pro-inflamasi dalam jumlah banyak. Sitokin pro-inflamasi yang dirilis antara lain IL-1, 1L-6, TNF- α , dan TNF- β . Diikuti dengan faktor angiogenik seperti VEGF dan angiopoetin-1 (Claes *et al.*, 2012). Selanjutnya fase reparasi berlangsung pada hari 10-21. Pada fase ini terbentuk *soft callus* yang tersusun oleh jaringan fibrous dan kartilago (Ardhiyanto, 2011). Fibroblas menyimpan kolagen di jaringan granulasi, sementara beberapa sel osteogenik menjadi kondroblas dan menghasilkan tambalan fibrokartilago yang disebut *soft callus* (Sutton, 2012). Osteoblas akan membantu proses mineralisasi *soft callus* dengan cara mensekresi matriks yaitu kolagen tipe 1 yang nantinya menjadi *hard callus* atau *woven bone* (Ardhiyanto, 2011). Kalus berperan dalam meningkatkan stabilitas mekanis melalui kerja dengan menyokong dari luar (Mahyudin, 2018). Selanjutnya adalah fase remodeling, berlangsung pada hari 16-35. Pada fase ini terjadi aktivitas osteoblas dan osteoklas dalam merubah tulang yang awalnya imatur menjadi matur, dan *woven bone* yang susunan awalnya tidak beraturan menjadi lebih beraturan menjadikan daerah fraktur lebih stabil (Ardhiyanto, 2011). Pada remodeling tulang, osteoklas akan menyerap tulang, dan osteoblas akan membentuk tulang baru di bagian yang sama (Barrett *et al.*, 2012). Osteoblas akan menghasilkan osteocalcin, yang merupakan protein non kolagen pada tulang yang jumlahnya paling banyak (Halimah *et al.*, 2016).

Marker perbaikan tulang yang diamati pada penelitian ini adalah ekspresi VEGF dan osteocalcin. VEGF merupakan salah satu regulator penting dari angiogenesis dan menstimulasi pembentukan pembuluh darah baru di berbagai jaringan (Kawata *et al.*, 2011). VEGF terlibat dalam perbaikan tulang karena efek langsung terhadap osteoblas yang dapat meningkatkan pembentukan tulang dan juga dapat memiliki efek langsung pada osteoklas dalam menurunkan resorpsi dari tulang. Selama perbaikan tulang, VEGF juga berperan dalam mineralisasi kalus yang normal (Filvaroff, 2003). VEGF dapat terdeteksi pada minggu

pertama setelah cedera yaitu pada fase inflamasi (Claes *et al.*, 2012). Sedangkan osteocalcin merupakan protein non kolagen pada tulang yang jumlahnya paling banyak dan diproduksi oleh osteoblas (Halimah *et al.*, 2016). Osteocalcin berperan dalam proses mineralisasi dan homeostasis ion kalsium. Osteocalcin dapat terdeteksi pada kalus *mature*, tidak pada kalus muda (Mahyudin, 2018). Kalus matur mulai terbentuk pada fase remodeling yaitu pada hari 21-35 (Ardhiyanto, 2011). Pemeriksaan osteocalcin merupakan parameter yang baik dalam menentukan gangguan metabolisme tulang pada saat pembentukan dan penggantian tulang. Hasil pemeriksaan osteocalcin diketahui cukup akurat dan stabil dalam menilai proses pembentukan tulang (Huldani, 2012).

Pada penelitian ini, dilakukan evaluasi sampel tulang dalam rentang waktu pengamatan yaitu hari ke 7, 14 dan 28. Dilakukan pengamatan pada hari ke 7, karena pada periode ini terjadi perilsan VEGF dalam jumlah banyak (Claes *et al.*, 2012). Pengamatan pada hari ke 14, pada periode ini telah terbentuk *soft callus* yang tersusun dari jaringan fibrous dan kartilago kemudian mulai terbentuk *hard callus* (Ardhiyanto, 2011). Sedangkan pengamatan pada hari ke 28, karena pada periode ini telah terjadi perubahan dari kalus *immature* menjadi kalus matur dan osteocalcin dapat terdeteksi pada kalus matur (Mahyudin, 2018).

1.2 Rumusan Masalah

- (1) Bagaimana perbandingan efektivitas oral BHA dan oral kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi BHA-GEL berdasarkan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dalam rentang waktu 7, 14 dan 28 hari?
- (2) Bagaimana perbandingan efektivitas oral BHA dan oral kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi BHA-GEL berdasarkan ekspresi osteocalcin dalam rentang waktu 7, 14 dan 28 hari?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan perbandingan efektivitas oral BHA dan oral kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi BHA-GEL berdasarkan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan osteocalcin

1.3.2 Tujuan Khusus

- (1) Membuktikan perbandingan efektivitas oral BHA dan oral kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi BHA-GEL berdasarkan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dalam rentang waktu 7, 14 dan 28 hari
- (2) Membuktikan perbandingan efektivitas oral BHA dan oral kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi BHA-GEL berdasarkan ekspresi osteocalcin dalam rentang waktu 7, 14 dan 28 hari

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Teoritis

Penelitian ini dapat menjadi informasi atau acuan referensi ilmiah terkait efektivitas oral BHA dan oral kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi BHA-GEL yang berkaitan dengan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Osteocalcin dalam pembentukan tulang.

1.4.2 Praktis

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai pengembangan dibidang biomaterial dan suplementasi kalsium sebagai penanganan masalah kerusakan tulang utamanya akibat fraktur.