

BAB 1**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Tulang merupakan jaringan ikat khusus yang mengeras dengan proses mineralisasi oleh kalsium fosfat dalam bentuk hidroksiapatit. Tulang memiliki fungsi mekanik yaitu sebagai pembentuk rangka dan alat gerak tubuh, pelindung organ-organ internal (Barret *et al.*, 2010) serta tempat penyimpanan mineral (kalsium-fosfat dan sumsum tulang) (Datta *et al.*, 2008). Tulang termasuk organ yang sulit diprediksi status kesehatannya, umumnya seseorang akan menyadari telah mengidap penyakit tulang ketika kondisi tulangnya tidak memungkinkan untuk diobati. Terdapat berbagai macam penyakit tulang, sendi, dan otot (TSO) pada manusia antara lain fraktur terbuka, fraktur tertutup, osteoporosis, osteoarthritis, osteomalacia, osteomielitis, polimialgia reumatik, arthritis gout, arthritis rheumatoid dan lainnya. Cedera traumatis organ besar yang paling umum pada manusia adalah fraktur tulang (Einhorn & Gerstenfeld, 2015).

Fraktur merupakan rusaknya neuromuscular akibat trauma pada jaringan (Noorisa *et al.*, 2017) dan mengakibatkan adanya celah pada tulang karena jaringan sekitarnya juga terjadi kerusakan. Meskipun perbaikan fraktur umumnya dapat mengembalikan organ rangka yang rusak ke komposisi seluler, struktur, dan fungsi biomekanik sebelum cedera, namun sekitar 10% fraktur tidak akan sembuh secara normal (Einhorn & Gerstenfeld, 2015). Pada tahun 2011, *World Health Organization* (WHO) mencatat lebih dari 1,3 juta orang menderita fraktur akibat kecelakaan. Angka kasus kecelakaan yang memiliki prevalensi cukup tinggi salah satunya adalah fraktur ekstremitas bawah yaitu 40% dari kejadian kecelakaan yang terjadi. Hasil Riset Kesehatan Dasar oleh Badan Litbangkes pada tahun 2018, angka kasus tulang fraktur di Indonesia mencapai 5,5%. Sementara untuk prevalensi cedera menurut bagian tubuh, bagian ekstremitas bawah memiliki prevalensi tertinggi yaitu 67,9% (RISKESDAS, 2018). Berdasarkan penelitian dari Noorisa *et al* (2017) kejadian fraktur tulang di RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada tahun 2013-2016 sebesar 36% (40 kasus) dari 112 pasien dengan usia 15-24 tahun. Hal ini banyak terjadi karena kecelakaan lalu lintas yaitu sebesar 92% dengan total 100 insiden (Noorisa *et al.*, 2017).

Penanganan medis yang paling banyak digunakan untuk rekonstruksi dan memfasilitasi regenerasi tulang dalam bidang ortopedi, kedokteran gigi dan bedah maksilofasial adalah terapi *Bone graft* (Mahyudin, 2018) dengan prosedur pembedahan yang menempatkan tulang baru atau bahan pengganti (matriks komposit) ke dalam ruang sekitar patah tulang atau lubang tulang yang rusak (defek) untuk membantu mempercepat proses penyembuhan (Helmi, 2014). Penyembuhan dengan menggunakan tulang *allograft* lebih lama dibanding menggunakan *autograft* dan bila proses pengolahan tidak baik memiliki risiko menularkan penyakit. Faktor lain yang sangat penting adalah ketersediaan *graft* tulang alami baik *autograft* maupun *allograft* belum dapat memenuhi kebutuhan klinis (Mahyudin, 2018). Saat ini penggunaan *graft* alami perlahan bergeser menjadi penggunaan bahan tulang sintetis dan faktor-faktor pertumbuhan (*growth factors*). *Graft* tulang sintetis atau faktor-faktor pertumbuhan yang sering digunakan adalah material berbasis kalsium fosfat (Ca_2PO_4 , hidroksiapatit [HA], dan keramik), serta *recombinant human Bone Morphological Proteins* (rhBMPs [rhBMP-2 dan rhBMP-7]). Material pengganti tulang umumnya hanya memiliki sifat osteokonduktif (Mahyudin, 2018). Hidroksiapatit bersifat rapuh dan kurang stabil jika ditanam sebagai implan (Warastuti & Abbas, 2011). Sementara itu rhBMPs memiliki sifat osteoinduktif dan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan penyembuhan tulang. Namun aplikasi klinis BMPs masih terbatas (*off-label*), dosis suprafisiologis, efek samping dan biaya yang mahal juga menjadi pertimbangan sebagai bahan terapi *bone graft* (Mahyudin, 2018).

Pada proses pembedahan ortopedi sangat memungkinkan terjadi infeksi akibat adanya bakteri yang menempel pada tulang maupun implan. Infeksi tersebut dapat menghambat proses penyembuhan tulang karena endotoksin yang dihasilkan dapat mengaktifkan sitokin proinflamasi sehingga meningkatkan aktivitas osteoklast dan kematian sel tulang juga meningkat (Thomas and Puleo, 2009). Untuk itu perlu inovasi baru menggunakan *Bovine Hydroxyapatite* (BHA) yang merupakan bahan anorganik tulang sapi sebagai komponen komposit alternatif yang terdiri dari 93% hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) dan 7% β -trikalsium fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) sehingga lebih porus dan hanya dapat mengadsorpsi antibiotika, hormon atau faktor pertumbuhan (*growth factor*) (Budiati *et al.*, 2014).

Bovine Hydroxyapatite (BHA) memiliki sifat yang mirip dengan hidroksiapatit dalam tulang manusia serta merupakan kerangka (*scaffold*) yang lebih osteokonduktif dibandingkan hidroksiapatit sintetis lainnya, bersifat *biocompatible* dan porositas yang

tinggi namun rapuh sebagai material pembentuk tulang baru, sehingga diperlukan penambahan gelatin sebagai perekat (Budiatin *et al.*, 2013). Gelatin (GEL) merupakan makromolekul yang dihasilkan oleh hidrolisis parsial kolagen dari kulit, jaringan ikat putih dan tulang hewan yang terdiri dari residu asam amino (Marfil *et al.*, 2012). GEL biasa disebut kolagen tipe satu yang bersama osteoblast membentuk osteoid (*soft callus*) dan difungsikan sebagai penghalus serta perekat yang dapat diresorpsi oleh tubuh. GEL dapat memperkuat BHA yang rapuh (*fragile*) dan mampu mendispersikan bahan aktif. Komposit BHA-GEL yang menyerupai komponen mineral pada manusia mampu membentuk tulang baru dan mengisi celah tulang akibat fraktur (Budiatin *et al.*, 2013) dengan sifat *biocompatible* yang tinggi, osteokonduktif, osteoinduktif, *biodegradable*, bioresorpsi, dan non toksik. Hal ini menghasilkan keuntungan lain yaitu tidak perlu dilakukan operasi ulang untuk pengambilan implan (Budiatin *et al.*, 2014).

Implan komposit BHA-GEL telah dibuktikan mampu mempercepat proses perbaikan tulang pada femur kelinci yang mengalami fraktur yaitu dalam waktu 28 hingga 42 hari, serta memiliki kemampuan sebagai biomaterial bahan pengisi tulang yang baik (Khotib *et al.*, 2019). Namun kurun waktu tersebut masih terhitung lama jika mempertimbangkan efek nyeri yang dirasakan oleh pasien dengan tulang fraktur dan dapat mempengaruhi tingkat psikologis (kecemasan) pasien (Mandagi dkk., 2017). Untuk itu dilakukan penelitian pada defek tulang akibat fraktur dengan implan pelet BHA-GEL dan penambahan pemberian BHA atau kalsium laktat melalui rute oral sebagai suplemen dengan tujuan membuktikan apakah masa pertumbuhan tulang di sekitar defek dapat menjadi lebih singkat.

Pemberian BHA secara oral diharapkan dapat meningkatkan efektivitas pelet BHA-GEL yang diimplantasikan pada defek tulang femur kelinci. Hal ini karena BHA diketahui memiliki substitusi karbonat seperti yang ada pada hidroksiapatit manusia dan tidak ditemukan pada HA sintetik lainnya (Bouropoulos *et al.*, 2010; Cunha *et al.*, 2015; Budiatin *et al.*, 2021). Gugus karbonat meningkatkan proliferasi osteoblast sehingga mempercepat pembentukan tulang baru (Germaini *et al.*, 2017). BHA juga memiliki bioavailabilitas lebih baik dibanding kalsium karbonat (Straub, 2007) dan sama baiknya atau lebih baik dari kalsium glukonat (Buclin *et al.*, 1986). Absorpsi dari *microcrystalline hydroxyapatite compound* (MCHC) sekitar 42,5% (Stellon *et al.*, 1985). Sedangkan kalsium laktat yang merupakan bentuk garam dari asam laktat dengan bentuk serbuk, kristal atau granular berwarna putih (Sweetman, 2009) juga diberikan secara oral karena dapat meningkatkan jumlah osteoblast (Muliani, 2014). Asupan kalsium laktat dapat

meningkatkan kadar kalsium ekstraseluler, kalsium intraseluler sehingga menstimulasi pembentukan tulang secara signifikan, meningkatkan proliferasi atau kemotaksis osteoblast (Muliani, 2014). Kalsium laktat juga menurunkan resorpsi tulang secara signifikan (Wagner *et al.*, 2007). Namun berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa BHA memiliki sifat lebih osteoinduktif yang tidak dimiliki material lain (Khotib *et al.*, 2021). Selain itu kalsium laktat dalam tubuh mudah terkonversi menjadi kalsium bikarbonat (Standard Process, 2008) dan hanya terabsorpsi sekitar 25% di usus halus dari asupan kalsium melalui difusi pasif dan transport aktif (Pubchem, 2022). Hasil penelitian menyebutkan bioavailabilitas kalsium laktat pada tikus sebesar $8,9 \pm 1,4\%$ (Ueda & Taira, 2013). Untuk itu dapat dimungkinkan bahwa pemberian BHA oral pada implan pelet BHA-GEL lebih efektif terhadap pertumbuhan tulang dibanding pemberian oral kalsium laktat pada implan pelet BHA-GEL.

Pertumbuhan tulang dimulai dari fase inflamasi, dimana kerusakan struktural tulang menyebabkan perubahan fibrinogen menjadi fibrin dan terbentuk hematoma. Hematoma sebagai penyangga sementara sebelum invasi sel inflamasi seperti sitokin, TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 dan lainnya yang meningkat secara signifikan dalam beberapa hari pertama terjadinya fraktur tulang (Mountziaris & Mikos, 2008). Selanjutnya fase proliferasi yang ditandai dengan pembentukan kalus dan pertumbuhan pembuluh darah, sekresi osteoid dan adanya serat kolagen. Tulang yang terbentuk pada fase proliferasi kurang stabil secara mekanis (Oryan *et al.*, 2015). Kemudian terjadi fase remodeling yaitu fase resorpsi yang kedua oleh osteoklast dan deposisi oleh osteoblast. *Hard callus* melalui tahap remodeling berubah menjadi struktur tulang kortikal sehingga tulang akan kembali mendekati kondisi semula (Einhorn & Gerstenfeld, 2015).

Proses formasi tulang dapat diketahui dengan implantasi pelet BHA-GEL pada hewan coba kelinci selama 7, 14 dan 28 hari yang merupakan hari pertumbuhan tulang (Einhorn & Gerstenfeld, 2015) dan melakukan analisis perbaikan defek melalui pengamatan radiologi X-Ray dan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). Penggunaan radiologi X-Ray sebagai evaluasi fisik mengenai gambaran tulang setelah pemberian pelet dengan mengamati ukuran defek tulang. Radiologi X-Ray banyak digunakan oleh klinisi dalam mendiagnosa organ dalam dengan melibatkan radiasi pengion sehingga menghasilkan visualisasi bentuk gambar (Radiology info, 2020). Sinar-X merupakan pancaran gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang yang sangat pendek yaitu hanya 1/10.000 panjang gelombang cahaya yang tampak sehingga sinar-X memiliki daya tembus yang tinggi sampai lapisan logam (Rasad, 1990). Pertumbuhan tulang dapat

dievaluasi dari hasil pengamatan radiologi X-Ray dengan skoring Lane- Sandhu (Ferdiansyah dkk., 2011). Sedangkan pada pewarnaan HE diamati mengenai jumlah sel tulang baru meliputi osteoblast, osteoklast dan osteosit setelah penanaman pelet BHA-GEL pada defek tulang dan pemberian oral BHA maupun kalsium laktat. Spesimen jaringan tanpa pewarnaan tidak memiliki kontras, semua bahan yang difiksasi memiliki indeks bias yang sama dan warna yang serupa sehingga penampakan di bawah mikroskop hanya warna abu-abu kusam yang seragam (BitesizeBio, 2016). Melalui pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* sel tulang baru yang terbentuk akan nampak berwarna biru (Rentsch *et al.*, 2014).

1.2 Rumusan Masalah

- (1) Apakah penutupan celah tulang sekitar defek akibat fraktur dengan implantasi pelet BHA-GEL setelah penambahan oral BHA lebih cepat dibanding penambahan kalsium laktat berdasarkan hasil analisis radiologi X-Ray?
- (2) Apakah jumlah osteoblast, osteoklast dan osteosit pada defek tulang akibat fraktur dengan implantasi pelet BHA-GEL setelah penambahan oral BHA lebih tinggi dibanding penambahan kalsium laktat berdasarkan hasil pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian Umum

Membuktikan perbedaan penutupan celah tulang dan jumlah sel tulang setelah penanaman implan pelet BHA-GEL dan pemberian oral BHA atau kalsium laktat berdasarkan hasil radiologi X-Ray dan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* pada defek tulang akibat fraktur.

1.3.2 Tujuan Penelitian Khusus

- (1) Membuktikan penambahan oral BHA dapat menghasilkan penutupan celah tulang lebih cepat dibanding penambahan kalsium laktat pada defek tulang dengan implantasi pelet BHA-GEL melalui analisis radiologi X-Ray.
- (2) Membuktikan penambahan oral BHA dapat meningkatkan jumlah osteoblast, osteoklast dan osteosit dibanding penambahan kalsium laktat pada defek tulang akibat fraktur dengan implantasi pelet BHA-GEL melalui pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dan masukan bagi klinisi juga farmasis mengenai efek pemberian oral BHA atau kalsium laktat pada defek tulang dengan implan pelet BHA-GEL terhadap pertumbuhan tulang yang diidentifikasi berdasarkan hasil radiologi X-Ray dan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai pendahuluan untuk penelitian selanjutnya maupun referensi untuk penelitian terkait di masa yang akan datang.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai pengembangan di bidang biomaterial sebagai penanganan masalah kerusakan tulang utamanya akibat fraktur.