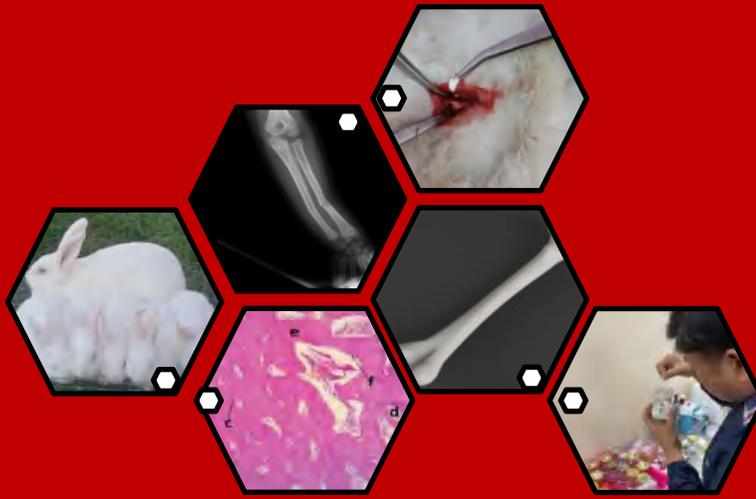


**GAMBARAN HISTOPATOLOGI TERHADAP
KESEMBUHAN DEFEK TULANG KELINCI
(*Oryctolagus cuniculus*) PASCA IMPLANTASI *EQUINE*
*EPIPHYSIS BONE XENOGRAFT***



MUHAMMAD FURQAN HIDAYAT

C031 20 1071



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI TERHADAP KESEMBUHAN DEFEK
TULANG KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) PASCA IMPLANTASI
*EQUINE EPIPHYSIS BONE XENOGRAFT***

**MUHAMMAD FURQAN HIDAYAT
C031 20 1071**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI TERHADAP KESEMBUHAN DEFEK
TULANG KELINCI (*Oryctulagus cuniculus*) PASCA IMPLANTASI
*EQUINE EPIPHYSIS BONE XENOGRAFT***

**MUHAMMAD FURQAN HIDAYAT
C031 20 1071**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kedokteran Hewan

Pada

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



SKRIPSI

GAMBARAN HISTOPATOLOGI TERHADAP KESEMBUHAN DEFEK TULANG KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) PASCA IMPLANTASI EQUINE EPIPHYSIS BONE XENOGRAFT

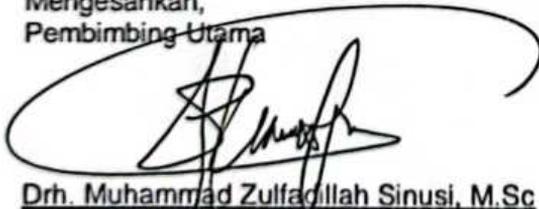
MUHAMMAD FURQAN HIDAYAT
C031 20 1071

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian, Sarjana pada 28 Mei 2024 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
Pada

Program Studi Kedokteran Hewan
Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan,
Pembimbing Utama



Drh. Muhammad Zulfadillah Sinusi, M.Sc
NIP. 19931023 202205 5 002

Mengesahkan,
Pembimbing Pendamping



Drh. Dian Fatmawati, M.Biomed
NIP. 19921202 202205 6 001



Optimized using
trial version
www.balesio.com

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, Ap.vet
NIP. 197302161999

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Gambaran Histopatologi Terhadap Kesembuhan Defek Tulang Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) Pasca Implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing drh. Muhammad Zulfadillah Sinusi, M.Si sebagai pembimbing utama dan drh. Dian Fatmawati, M.Biomed sebagai pembimbing pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 28 Mei 2024

Yang menyatakan



Muhammad Furqan Hidayat
C031 20 10 71



Optimized using
trial version
www.balesio.com

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Segala puji dan syukur diucapkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala, atas berkat rahmat dan karunia-Nya lah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Gambaran Histopatologi Terhadap Kesembuhan Defek Tulang Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) Pasca Implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft*" ini. Banyak terimakasih saya ucapkan kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam pembuatan skripsi ini.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi syarat dalam menempuh ujian dan memperoleh gelar sarjana kedokteran hewan dalam program pendidikan strata satu Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi dan penelitian ini tidak akan terwujud tanpa adanya doa, bantuan, bimbingan, motivasi dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis merasa sangat bersyukur dan ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. **Prof. DR. dr. Haerani Rasyid, Sp.PD, KGH, Sp.GK, M.Kes** selaku dekan fakultas kedokteran.
3. **Dr. Drh. Dwi Kesuma sari, APVet** sebagai Ketua Program Studi Kedokteran hewan serta dosen pengajar yang telah banyak memberikan ilmu dan berbagi pengalaman kepada penulis selama mengikuti pendidikan di PSKH UH.
4. **Drh. Muhammad Zulfadillah Sinusi, M.Si** sebagai pembimbing utama penulis dan juga sebagai mentor terbaik selama ini dalam menyusun skripsi hingga selesai.
5. **Drh. Dian Fatmawati, M.Biomed** sebagai pembimbing kedua atas waktu dan bimbingannya selama ini hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. **Drh. Ardiansyah Nurdin, M.Si** dan **Drh. Musdalifah, M.Biomed** selaku penguji/pembahas dalam skripsi ini yang telah memberikan masukan-masukan ke dalam karya ini.
7. Segenap panitia seminar proposal dan seminar hasil atas segala bantuan dan kemudahan yang diberikan kepada penulis.
8. Staf pengajar dan staf administrasi yang telah banyak membantu dan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan pada Program Studi Kedokteran Hewan
9. Kepada ayahanda tercinta **Drs. Makmur Hidayat M.M**, sosok yang menjadi panutan dalam setiap aspek kehidupan dari penulis, sosok yang menunjukkan dan mengajarkan apa arti kerja keras yang tak kenal lelah, sosok yang telah mengarahkan dan membimbing penulis. Terimakasih karena telah kehidupan penulis, terimakasih atas semua doa dan dukungan sampai di titik ini, terima kasih karena telah memberikan nngga penulis dapat tumbuh menjadi anak yang bertanggung h atas segala bentuk kasih sayang yang telah diberikan kepada alu papa.



10. Kepada ibunda tercinta **Insana Rauf S.Pd**, sosok yang selalu menjadi tempat penulis bercerita tanpa harus takut dihakimi, sosok yang selalu menunjukkan dan mengajarkan kesabaran serta keikhlasan yang tiada batasnya, sosok yang senantiasa mengajarkan arti kesederhanaan, sosok yang selalu memberikan semangat kepada penulis, sosok yang tak henti-hentinya mendoakan penulis agar sukses dunia akhirat. Terima kasih karena telah memberikan kasih sayang dengan penuh cinta sejak penulis masih di dalam kandungan hingga sekarang dan selamanya, terima kasih atas bimbingan dan motivasi yang telah membuat penulis dapat lebih percaya diri dan pantang menyerah. Sehat selalu mama.
11. Kepada kakak tersayang **Eka Puteri Nurul Azizah Hidayat S.Kh**, terima kasih karena telah membimbing dan mengajar penulis selama berkuliah. Terima kasih karena telah menjadi tempat penulis berkeluh kesah serta bercerita tentang perkuliahan. Terima kasih atas segala dukungan, semangat, dan segala bentuk bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
12. Kepada sosok yang tak kalah pentingnya, **Azzahra Budiman** yang senantiasa menghibur penulis, memberi semangat kepada penulis, selalu menjadi tempat cerita dan tempat mengeluh, selalu memberikan dukungan dan kontribusinya serta selalu ada dalam setiap proses penulis sampai saat ini.
13. Kepada saudara seperjuangan **RSN A-115: Muhammad Arya Hidayat Bahrum, Muhammad Akbar Sasmita, Arya Mizard Shohibul Asda, I Putu Swastu, Fredi Novianto Paerunan, dan Andi Muhammad Farid Mujahidin** yang telah banyak membantu penulis, menjadi tempat berkeluh kesah penulis, dan menghibur penulis. Terima kasih atas segala bentuk support, canda, tawa, tangis air mata, dan masalah-masalah yang telah membuat kita bisa belajar bagaimana cara menyelesaikan masalah tersebut yang sekaligus mengajarkan kita bagaimana kerasnya kehidupan.
14. Kepada teman-teman **CIONE** yang telah membantu dalam memberikan saran dan masukan selama pengerjaan skripsi.
15. Kepada **Kak Didik** dan **Kak Riska** yang telah membantu serta mendampingi penulis dalam mengerjakan sampel hasil penelitian ini.
16. Kepada **Reza Hardiansyah** dan **Muhammad Husain Ramadhan** yang telah membantu dan membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini.



ABSTRAK

MUHAMMAD FURQAN HIDAYAT. **Gambaran Histopatologi Terhadap Kesembuhan Defek Tulang Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) Pasca Implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft*** (dibimbing oleh Muhammad Zulfadillah Sinusi dan Dian Fatmawati).

Latar belakang. Salah satu organ yang terpenting dalam tubuh hewan yaitu tulang, tulang merupakan organ vital pada tubuh hewan yang berfungsi dalam membentuk tubuh, alat gerak pasif, melindungi tubuh serta tempat penyimpanan mineral dalam tubuh hewan. Tulang sering mengalami permasalahan yang dimana dapat mengganggu dari struktur tulang itu sendiri, salah satu diantaranya yaitu fraktur, fraktur adalah kondisi dimana terputusnya kontinuitas tulang. Ada begitu banyak metode dalam penanganan kasus tulang dalam hal ini yaitu kasus fraktur, salah satu metode yang digunakan dalam penanganan kasus fraktur pada tulang yaitu implantasi *bonegraft*. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk melihat keefektifan penggunaan *bonegraft* yang berasal dari bahan baku tulang epifisis kuda dalam percepatan kesembuhan defek tulang atau dalam hal ini kasus fraktur pada hewan kelinci. **Metode.** Penelitian ini menggunakan metode deskriptif histopatologi serta metode eksperimental dengan melihat data, 12 ekor kelinci *New Zealand White* betina yang dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan yaitu 6 ekor Kelompok I (tanpa implantasi *bonegraft*) dan 6 ekor Kelompok II (implantasi *bonegraft*), dimana seluruh kelinci akan dilakukan tindakan operasi dengan memberikan defek pada tulang femur, pengambilan sampel dilakukan pada minggu ke-2 pasca operasi dan minggu ke-6 pasca operasi dengan masing-masing berjumlah 3 ekor perkelompok. **Hasil.** Hasil pengamatan histopatologi pada penelitian ini menunjukkan jumlah sel osteogenesis pada Kelompok II lebih banyak dibandingkan dengan Kelompok I dengan hasil data analisis yaitu jumlah total sel osteoblas pada minggu ke-2 untuk Kelompok I yaitu $77,67 \pm 6,43$ dan Kelompok II yaitu $154,33 \pm 3,06$ serta untuk jumlah total sel osteoklas pada minggu ke-2 untuk Kelompok I yaitu $5,67 \pm 1,53$ dan Kelompok II yaitu $8,67 \pm 2,52$. **Kesimpulan.** Penggunaan *equine epiphysis bone xenograft* (EEBX) dalam kesembuhan defek tulang pada kelinci memberikan perubahan yang signifikan serta percepatan dalam aktivasi sel-sel osteogenesis dalam kesembuhan fraktur.

Kata kunci: *bonegraft*, fraktur, kelinci, tulang kuda



ABSTRACT

MUHAMMAD FURQAN HIDAYAT. **Histopathological Description of the Healing of Rabbit Bone Defects (*Oryctolagus cuniculus*) After Equine Epiphysis Bone Xenograft Implantation** (Supervised by Muhammad Zulfadillah Sinusi and Dian Fatmawati).

Background. One of the most important organs in an animal's body is bone. Bone is a vital organ in the animal's body which functions in forming the body, as a means of passive movement, protecting the body and as a storage place for minerals in the animal's body. Bones often experience problems which can disrupt the structure of the bone itself, one of which is fracture, a fracture is a condition where the continuity of the bone is broken. There are so many methods for treating bone cases, in this case, namely fracture cases, one of the methods used in treating bone fracture cases is bonegraft implantation. **Aim.** This study aims to see the effectiveness of using bone grafts derived from horse epiphyseal bone as raw material in accelerating the healing of bone defects or in this case fractures in rabbits. **Method.** This research used descriptive histopathological methods and experimental methods by looking at the data, 12 female New Zealand White rabbits were divided into 2 treatment groups, namely 6 Group I (without bonegraft implantation) and 6 Group II (bonegraft implantation), where all rabbits will Surgery was carried out by providing a defect in the femur bone, samples were taken at the 2nd week post-surgery and the 6th week post-surgery with 3 individuals per group. **Results.** The results of histopathological observations in this study showed that the number of osteogenesis cells in Group II was greater than in Group I with the results of the analysis data namely the total number of osteoblast cells in the 2nd week for Group I, namely 77.67 ± 6.43 and Group II, namely 154.33 ± 3.06 and for the total number of osteoclast cells in the 2nd week for Group I, namely 5.67 ± 1.53 and Group II, namely 8.67 ± 2.52 . **Conclusion.** The use of equine epiphysis bone xenograft (EEBX) in healing bone defects in rabbits provides significant changes and acceleration in the activation of osteogenesis cells in fracture healing.

Key words: bonegraft, fracture, rabbit, horse bone



DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.4.1. Manfaat Pengembangan Ilmu	2
1.4.2. Manfaat Aplikasi	2
1.5 Hipotesis.....	2
1.6 Keaslian Penelitian	3
1.7 Kajian Pustaka	4
1.7.1 <i>Kelinci New Zealand White</i>	4
1.7.2 Tulang	5
1.7.2.1 Pengertian Tulang	5
1.7.2.2 Struktur Tulang	5
1.7.2.3 Komposisi Tulang.....	6
1.7.2.4 Proses Pembentukan Tulang	6
a. Osifikasi Intramembranosa.....	6
b. Osifikasi Intrakartilagenosa	7
1.7.3 Fraktur.....	7
1.7.3.1 Pengertian Fraktur.....	7
1.7.3.2 Etiologi Fraktur.....	8
1.7.3.3 Patofisiologi Fraktur.....	8
1.7.3.4 Tanda Klinis Fraktur.....	8
1.7.4 Kesembuhan Fraktur	9
1.7.4.1 Kesembuhan Primer	9
1.7.4.2 Kesembuhan Sekunder	9
Bonegraft	10
Pengertian Bonegraft.....	10
Tipe-tipe dan jenis-jenis Bonegraft	10
Indikasi Bonegraft	10
Kontraindikasi Bonegraft.....	11
Prosedur Bonegraft.....	11



1.7.6 Pemanfaatan Tulang Kuda Menjadi <i>Bonegraft</i>	11
1.7.7 Histopatologi Kesembuhan Tulang	11
BAB II METODOLOGI PENELITIAN	13
1.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	13
1.2 Jenis Penelitian.....	13
1.3 Materi Penelitian	13
1.3.1 Populasi Penelitian	13
1.3.2 Sampel Penelitian	13
1.3.3 Alat yang diperlukan	14
1.3.4 Bahan yang diperlukan.....	14
1.4 Prosedur Penelitian	14
1.4.1 Pembuatan Implantasi Tulang Kuda	14
a.Preparasi tulang.....	14
b.Deproteinasi.....	14
c.Sintering.....	15
1.4.2 Uji Coba Pada Hewan Percobaan	15
a. Persiapan hewan coba.....	15
b. Operasi implantasi	15
1.4.3 Koleksi Sampel.....	16
1.4.4 Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Histopatologi	16
1.4.5 Penghitungan Jumlah Osteoblas dan Osteoklas	17
1.5 Analisis Data	17
1.6 Alur Penelitian.....	18
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
3.1. Hasil	19
3.1.1 Pemeriksaan Histopatologi	19
a. Minggu kedua pasca operasi implantasi.....	19
b. Minggu keenam pasca operasi implantasi	20
3.1.2 Penghitungan Jumlah Sel Osteogenesis.....	23
BAB IV PENUTUP	26
4.1 Kesimpulan.....	26
4.2 Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN.....	30



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Perbandingan kesembuhan tulang pada setiap minggu berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologis	21
2. Nilai rata-rata jumlah sel osteoblas kelinci pada setiap kelompok dengan waktu pengambilan minggu ke-2 dan minggu ke-6	23
3. Nilai rata-rata jumlah sel osteoklas kelinci pada setiap kelompok dengan waktu pengambilan minggu ke-2 dan minggu ke-6	23



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Kelinci New Zealand White	4
2. Struktur Makroskopik dan Mikroskopik tulang.	5
3. Histopatologi tulang pasca fraktur.	12
4. Gambaran histopatologi tulang kelinci kelompok kontrol pada minggu ke-2 pasca operasi.	19
5. Gambaran histopatologi tulang kelinci kelompok implantasi EEBX pada minggu ke-2 pasca operasi.	19
6. Gambaran histopatologi tulang kelinci kelompok kontrol pada minggu ke-6 pasca operasi.	20
7. Gambaran histopatologi tulang kelinci kelompok implantasi EEBX pada minggu ke-6 pasca operasi.	21
8. Grafik jumlah osteoblas setiap periode pada setiap kelompok.	24
9. Grafik jumlah osteoklas setiap periode pada setiap kelompok.	24



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Kegiatan Penelitian.....	30
2. Sampel Penelitian.....	31
3. Data Penelitian	33



Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tulang adalah komponen utama dalam tubuh hewan, memiliki peran vital dalam menjaga integritas otot, melindungi organ dalam, membentuk kerangka tubuh, dan sebagai tempat produksi sel-sel darah seperti yang telah disebutkan oleh Nurhidayat et al., (2018). Selain itu, tulang juga berfungsi sebagai penyimpan mineral seperti kalsium, fosfat, dan ion lainnya. Komposisi tulang terdiri dari 60% garam anorganik, 30% matriks organik, dan 10% air. Komponen seluler tulang meliputi osteoblas, osteoklas, dan sel tulang. Proses fisiologis yang disebut *remodeling* tulang, sebagaimana dijelaskan oleh Gartner dan Hiatt (2014), adalah mekanisme di mana tulang mengalami perubahan struktural seiring berjalannya waktu. Dalam proses ini, tulang akan dirombak, diserap, dan diregenerasi. Tulang juga sering mengalami suatu permasalahan, salah satu permasalahan pada tulang yang sering dialami oleh hewan yaitu fraktur.

Fraktur adalah salah satu kondisi dalam sistem muskuloskeletal yang dapat terjadi, yang ditandai dengan terpisahnya sambungan tulang akibat berbagai faktor seperti trauma, tekanan, atau kelainan patologis lainnya (Fossum et al., 2013). Trauma yang dapat disebabkan oleh berbagai insiden seperti tabrakan kendaraan, jatuh dari ketinggian, perkelahian, atau kecelakaan saat hewan bergerak cepat, biasanya merupakan penyebab utama patah tulang pada hewan, seperti yang disebutkan oleh Morgan (2013). Proses penyembuhan patah tulang sering dipecah menjadi lima tahap, yang meliputi tahap inflamasi, tahap proliferasi sel, tahap kalus, tahap pengerasan, dan tahap regenerasi (Jay dan Gary, 2015). Salah satu teknik yang dapat diterapkan untuk mempercepat proses penyembuhan patah tulang adalah penerapan implantasi tulang atau *Bonegraft*

Bonegraft dalam konteks ini adalah suatu bahan yang berguna untuk mempercepat regenerasi jaringan tulang setelah patah, dengan memberikan dukungan mekanis dan memberikan sinyal kepada molekul dalam tubuh hewan untuk menstimulasi pertumbuhan jaringan tulang. Komposisi *Bonegraft* harus mencakup unsur-unsur seperti kalsium dan fosfor. Fungsi utama dari *Bonegraft* adalah menyediakan sel-sel yang diperlukan untuk pembentukan tulang dan produksi sel-sel tulang melalui proses osteogenesis, seperti yang dijelaskan oleh Markel (2020). Kalsium (Ca) dan fosfor (P) adalah mineral penting yang memiliki peran yang krusial dalam membentuk jaringan keras dalam tubuh, termasuk tulang, eksoskeleton, dan kerangka (cddin, 2012). Sejumlah penelitian telah



penggunaan bahan-bahan seperti tulang ikan Nila (Novalina et al., 2012), dan cangkang telur (Azis et al., 2017) untuk *hidroksiapatite*. Sebagai tambahan, penggunaan tulang hewan kuda, sebagai bahan baku untuk pembuatan *Bonegraft* tersedia dalam bentuk produk komersial (Mucalo, 2015).

Menurut informasi yang diberikan oleh Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan tahun 2020, jumlah pemotongan kuda dari tahun 2016 hingga tahun 2020 telah mencapai 11.400 ton. Diketahui bahwa limbah tulang kuda memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan baku dalam produksi *Bonegraft* karena memiliki struktur yang lebih padat dan kuat. Kandungan mineral dalam tulang kuda juga sangat tinggi, terutama kalsium dan fosfor. Tulang kuda memiliki kandungan mineral yang cukup tinggi, dengan kandungan kalsium sekitar 42% dan fosfor sekitar 14%, jika dibandingkan dengan tulang hewan lain. Oleh karena itu, tulang kuda mampu berperan sebagai mediator dalam proses penyembuhan fraktur (Cooper et al., 2010).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka dapat diambil rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana efektifitas implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari limbah tulang kuda untuk penanganan fraktur pada kelinci yang ditinjau dari aspek histopatologi?
2. Bagaimana aktifitas sel osteogenesis pada tulang yang diberi implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft*

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui efektifitas implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari limbah tulang kuda untuk penanganan fraktur pada kelinci yang ditinjau dari aspek histopatologi
2. Untuk mengetahui aktifitas sel osteogenesis pada tulang yang diberi implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Pengembangan Ilmu

Manfaat pengembangan ilmu pada penelitian ini yaitu sebagai tambahan ilmu pengetahuan dan literatur terkait efektifitas implantasi *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari bahan baku tulang kuda pada penanganan fraktur untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

1.4.2. Manfaat Aplikasi

Manfaat aplikasi pada penelitian ini yaitu dapat melatih kemampuan peneliti dan menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya. Penelitian ini juga menjadi salah satu alternatif pada penanganan fraktur.

1.5 Hipotesis



uraian teori di atas dapat ditarik hipotesis bahwa implantasi *ne Xenograft* dari limbah tulang kuda efektif digunakan pada dan tidak terjadi respon penolakan tubuh terhadap implantasi *ne Xenograft* pasca operasi.

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai Gambaran histopatologi terhadap kesembuhan fraktur kelinci pasca implantasi menggunakan *Equine Epiphysis Bone Xenograft* belum pernah dilakukan. Namun, penelitian sejenis yang pernah dilakukan antara lain :

No.	Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1.	Putra et al., 2022. Gambaran Total Leukosit Darah Kelinci Pasca-implantasi Bahan Cangkok Demineralisasi Asal Tulang Sapi Bali.	Penelitian ini juga menunjukkan total leukosit darah kelinci pasca implantasi <i>Bonegraft</i> sebagai gambaran ada tidaknya reaksi penolakan dari imunitas tubuh.	Material <i>Bonegraft</i> yang digunakan berasal dari bahan baku tulang sapi
2.	Sudimartini et al., 2019. Gambaran Radiografis Penggunaan Tulang Babi Sebagai Bahan Cangkok untuk Penanganan Fraktur <i>Femur</i> pada Anjing	Penelitian ini menunjukkan efektifitas implantasi <i>Bonegraft</i> tulang babi pada penanganan fraktur yang ditinjau dari aspek radiografi	Material <i>Bonegraft</i> yang digunakan berasal dari bahan baku tulang babi yang dilakukan pada fraktur anjing
3.	Wirata et al., 2017. Radiografis Tulang <i>Femur</i> Kelinci Pasca Implantasi Bahan Cangkok Asal Tulang Sapi Bali	Penelitian ini menunjukkan efektifitas implantasi <i>Bonegraft</i> tulang sapi pada penanganan fraktur yang ditinjau dari aspek radiografi	Material <i>Bonegraft</i> yang digunakan berasal dari bahan baku tulang sapi



1.7 Kajian Pustaka

1.7.1 Kelinci *New Zealand White*

Menurut Hustamin (2016), Kelinci *New Zealand White* diklasifikasi sebagai berikut :



Gambar 1. Kelinci *New Zealand White* (Santoso and Sutarno, 2010)

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
SubPhylum	: Vertebrata
Class	: Mamalia
Ordo	: Lagomorpha
Famili	: Leporidae
Sub Famili	: Lepus
Spesies	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

Kelinci *New Zealand* berbulu putih (*Oryctolagus cuniculus*) adalah varietas kelinci yang sering digunakan dalam konteks penelitian laboratorium dan juga untuk tujuan konsumsi daging. Biasanya, kelinci *New Zealand* dari varietas ini memiliki berat tubuh berkisar antara 8 hingga 12 pon. Mereka memiliki bulu putih yang bersih dan sesekali mungkin memiliki sentuhan warna hitam. Telinga mereka berdiri tegak, berukuran sedang, dan memiliki panjang yang khas (Santoso dan Sutarno, 2010). Kelinci *New Zealand* putih ini memiliki mata berwarna merah dan telinga yang berwarna merah muda. Khususnya, kelinci ini termasuk dalam kelompok albino, yang artinya bulu mereka tidak memiliki pigmen. Berat badan mereka biasanya mencapai sekitar 1,8 kg ketika berumur 58 hari, 2 hingga 3 kg saat mencapai usia 4 bulan, dan 3,6 kg ketika sudah dewasa (Marhaeniyanto et al., 2015).

Kelinci ini dikenal dengan sebutan *New Zealand White* karena asalnya dari



Optimized using
trial version
www.balesio.com

1. Salah satu keunggulan utama yang dimiliki oleh kelinci ini adalah pertumbuhannya yang sangat cepat. Namun, pertumbuhan yang cepat ini dapat menimbulkan masalah kesehatan bagi kelinci, terutama pada bagian tulang. Tulang mereka, yang berfungsi sebagai penyangga tubuh, tidak dapat menahan beban yang sama dengan bagian besar mamalia lainnya karena proses ossifikasi yang lambat. Akibatnya, tulang-tulang kelinci pada bagian ekstremitas sering kali patah atau retak. Banyak laporan kasus yang menunjukkan bahwa kelinci mengalami patah tulang saat mereka aktif atau menerima

perlakuan kasar (Hustamin, 2016).

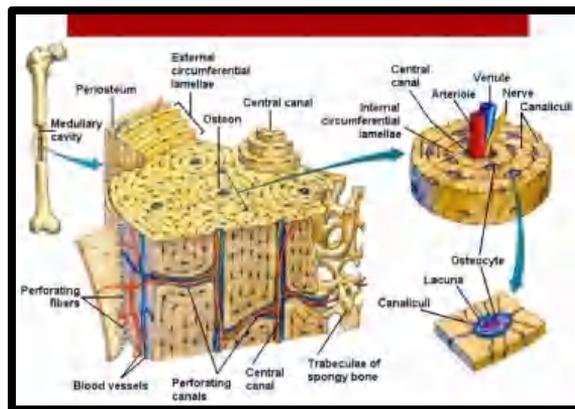
1.7.2 Tulang

1.7.2.1 Pengertian Tulang

Tulang merupakan struktur jaringan ikat khusus yang berperan dalam penyusunan otot, perlindungan organ-organ vital yang sensitif, pembentukan kerangka tubuh, dan berfungsi sebagai wadah untuk sumsum tulang, di mana sel-sel darah diproduksi. Selain itu, tulang memiliki peran dalam penyimpanan ion-ion seperti kalsium, fosfat, dan ion-ion lainnya. Ion-ion ini dapat disimpan atau dilepaskan secara teratur untuk menjaga konsentrasi ion dalam cairan tubuh (Nurhidayat et al., 2018).

Jaringan tulang mengalami perubahan seiring berjalannya waktu. Terjadi pemecahan atau absorpsi tulang yang kemudian diikuti oleh pembentukan kembali dalam sebuah proses yang dikenal dengan istilah *remodeling* tulang. Dalam situasi yang normal, proses pembentukan dan penghancuran tulang berjalan seimbang. Osteoblas dan osteoklas bekerja secara terkoordinasi, memastikan bahwa tulang selalu mengalami regenerasi, dengan satu fase mengaktifkan fase berikutnya. Struktur individual tulang mencakup berbagai mineral seperti kalsium dan fosfor, serta protein seperti kolagen, glikoprotein, dan proteoglikan (Nurhidayat et al., 2018).

1.7.2.2 Struktur Tulang



Gambar 2. Struktur Makroskopik dan Mikroskopik tulang (Akers et al., 2013).

Struktur tulang memiliki dua kategori utama, yaitu tulang kompak dan tulang spons. Tulang kompak terutama terdiri dari matriks tulang dan mineral yang ada di dalamnya, tersimpan dalam lapisan setebal 3 hingga 7 nanometer. Komponen



tengahnya, membentuk struktur silinder yang dikenal sebagai sistem Havers atau tulang Havers. Pada sistem ini, terdapat fragmen-fragmen tipis tulang yang bervariasi dalam ukuran dan bentuk. Beberapa lamela memanjang secara terus-menerus mengelilingi tubuh tulang kortikal di bagian luar, tepat di bawah periosteum pada permukaan dalamnya (Fawcett, 2010).

1.7.2.3 Komposisi Tulang

Tulang terdiri dari dua komponen utama, yakni 30% matriks organik, 60% garam anorganik, dan 10% air. Komponen seluler dalam struktur tulang mencakup osteoblas, osteosit, osteoklas, dan osteogenik. Sel nenek moyang tulang adalah sel datar yang belum berdiferensiasi, dan biasanya mereka ditemukan dalam lapisan sel pori, di endotel, dan melapisi saluran Havers. Sel osteogenik memiliki kemampuan untuk berkembang biak dan mengalami diferensiasi saat terjadi regenerasi tulang. Osteosit, pada gilirannya, adalah sel kuboid yang memiliki peran penting dalam mensintesis matriks tulang. Osteoblas bertanggung jawab atas pengaturan mineralisasi tulang, serta berperan dalam pembentukan, rekrutmen, pemeliharaan osteosit, dan inisiasi resorpsi tulang. Sementara osteosit, yang biasanya menempati kekosongan, terlibat dalam pemeliharaan umum struktur tulang. Di sisi lain, osteoklas adalah sel berinti besar yang berasal dari prekursor monosit dan memiliki peran utama dalam proses resorpsi atau penguraian tulang (Gartner dan Hiatt, 2014).

1.7.2.4 Proses Pembentukan Tulang

a. Osifikasi Intramembranosa

Proses osifikasi melibatkan tahap yang kaya akan vaskularisasi. Pada daerah yang akan mengalami pembentukan tulang, sel-sel mesenkim mengalami penggumpalan. Sel mesenkim ini mengalami diferensiasi, mengarah kepada pembentukan fibroblas dan sel-sel osteoprogenitor. Fibroblas bertanggung jawab dalam pembentukan jaringan ikat. Sementara itu, sel osteoprogenitor, yang aktif mengalami mitosis, mengalami diferensiasi menjadi osteoklas. Osteoblas berperan dalam mensintesis serta mengeluarkan matriks organik yang memiliki peran penting dalam proses mineralisasi. Komponen organik utama yang dihasilkan oleh osteoblas meliputi serat kolagen dan unsur-unsur matriks organik lainnya (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Proses awal osteogenesis intramembranosa dimulai dari osteoblas dikelilingi oleh pengapuran matrik yang belum sempurna (jaringan osteoid). Secara bertahap unsur osteoid dan proses pengapuran (mineralisasi) terus bertambah, sehingga osteoblas terkurung dalam lakuna dan substansi intra seluler menjadi osteosit. Tulang yang mula-mula kecil ditengah mesenkim disebut sebagai pusat ossification). Sel-sel osteoprogenitor pada permukaan pusat mitosis dan membentuk osteoblas baru yang meletakkan lebih (Junqueira dan Carneiro, 2005). Periosteum secara kontinuu lang kompak, memperkuat tulang dan memperbesar diameter. ik melalui aktifitas osteogenesis dimusnahkan oleh osteoklas sampai diameter definitif tulang itu tercapai (Junqueira dan



Carneiro, 2005).

b. Osifikasi Intrakartilagenosa

Osteogenesis intrakartilagenosa adalah metode pembentukan tulang yang memungkinkan tulang untuk bertahan dari tekanan fungsional selama perkembangannya dalam tulang panjang. Proses ini dimulai dengan pembentukan struktur awal tulang panjang yang kecil dari tulang rawan hialin padat. Massa tulang rawan ini terdiri dari batang atau diafragma. Pertumbuhan tulang tergantung pada kelanjutan produksi tulang rawan. Secara perlahan, lapisan tulang rawan ini akan mengalami degenerasi, menjadi pusat osifikasi primer. Sel-sel tulang rawan yang terdegenerasi akan mengalami hipertrofi dan kemudian mengalami pengapuran. Kalsifikasi tulang rawan menunjukkan tahap kematian jaringan ini, yang pada akhirnya harus dihilangkan. Osteoklas berperan dalam menghilangkan bagian tengah tulang rawan yang telah mengalami kalsifikasi. Ruang yang ditinggalkan oleh kondrosit juga diisi oleh sel-sel progenitor tulang, yang selanjutnya berkembang biak dan bertransformasi menjadi osteoblas. Osteoblas ini membentuk lapisan penuh pada matriks tulang rawan dan mulai menghasilkan matriks tulang. Lapisan tulang rawan yang telah mengalami kalsifikasi ini memiliki peran penunjang penting saat tahap awal pembentukan tulang dimulai (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Pembentukan jaringan tulang rawan fisik ini mengalami penipisan seiring berjalannya waktu, dan pada individu yang sudah tidak mengalami pertumbuhan lagi, jaringan ini akan menghilang secara alami. Pertumbuhan tulang panjang tidak hanya melibatkan pemanjangan fisik matang, tetapi juga melibatkan peningkatan diameter tulang dengan menambahkan jaringan tulang baru melalui proses osteogenesis yang terjadi di lapisan dalam periosteum, sekaligus mengalami erosi jaringan tulang pada permukaan luar. Penambahan diameter di bagian dalam tulang penting untuk memastikan kekuatan tulang tetap terjaga, sementara proses erosi diperlukan untuk menghindari penambahan berat tulang yang berlebihan yang dapat mengganggu fungsi tulang (Junqueira dan Carneiro, 2005).

1.7.3 Fraktur

1.7.3.1 Pengertian Fraktur

Fraktur adalah kondisi di mana tulang mengalami gangguan keberlanjutan akibat trauma, tekanan, atau gangguan patologis. Istilah "patah tulang" juga digunakan untuk merujuk pada cedera pada jaringan tulang yang mengakibatkan hilangnya kesinambungan tulang tersebut. Patah tulang biasanya dapat dikelompokkan menjadi dua kategori utama, yaitu patah tulang tertutup dan patah tulang terbuka. Patah tulang tertutup terjadi ketika tulang patah tanpa disertai luka terbuka dan perdarahan. Namun, jika penanganan terlambat, cedera tersebut dapat



merusakkan jaringan, pembuluh darah, dan sistem saraf di sekitarnya. Pada itu, patah tulang terbuka melibatkan adanya keretakan pada kulit yang dapat meningkatkan risiko infeksi. Patah tulang juga dapat asarkan arah patahannya, termasuk patahan transversal, patahan spiral, patahan kominutif, patahan tumbukan, dan patahan komminutif (Junqueira dan Carneiro, 2005).

1.7.3.2 Etiologi Fraktur

Patah tulang pada hewan biasanya disebabkan oleh trauma, seringkali karena dampak benturan dengan kendaraan, jatuh dari ketinggian, terlibat dalam perkelahian, atau tersandung saat hewan bergerak dengan cepat (Morgan, 2013). Hewan yang tidak mendapatkan perawatan atau terkurung dalam kandang juga berisiko mengalami patah tulang. Penting untuk segera menangani patah tulang guna mencegah pembentukan jaringan parut yang dapat menutupi area patah, karena hal ini dapat mempersulit proses penyembuhan (Denny et al., 2013).

1.7.3.3 Patofisiologi Fraktur

Fraktur dapat disebabkan oleh dua faktor utama: trauma (patah tulang traumatis) dan kondisi patologis (patah tulang patologis). Patah tulang traumatis umumnya terjadi ketika tulang mengalami tekanan eksternal yang signifikan, seperti akibat benturan dengan objek keras, kecelakaan kendaraan bermotor, jatuh dari ketinggian, atau tersandung saat hewan bergerak dengan cepat. Fraktur traumatis dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Fraktur langsung adalah jenis fraktur yang terjadi pada lokasi cedera awal, dan seringkali arah fraktur akibat trauma langsung adalah horizontal. Sementara itu, fraktur tidak langsung terjadi di lokasi lain karena adanya gaya yang ditransmisikan melalui tulang (Denny et al., 2013).

Fraktur patologis adalah jenis patah tulang yang terjadi akibat penyakit, yang membuat tulang menjadi lebih rentan terhadap patah bahkan dari cedera yang seharusnya kecil. Beberapa penyakit yang dapat menyebabkan fraktur patologis mencakup osteosarkoma, tumor tulang, osteomyelitis, dan rakhitis. Selain itu, faktor usia juga berkontribusi pada risiko patah tulang, di mana hewan yang lebih muda memiliki risiko lebih tinggi karena tulang mereka lebih lembut dan masih mengandung lebih banyak perekat. Sebaliknya, hewan yang lebih tua memiliki tulang yang lebih keras karena daya rekatnya yang berkurang, sehingga tulangnya lebih padat saat menerima tekanan (Piermattei et al., 2006). Selain usia, faktor lain yang memengaruhi risiko patah tulang adalah asupan gizi hewan. Hewan yang kekurangan nutrisi lebih rentan terhadap patah tulang dibandingkan dengan hewan yang mendapatkan nutrisi yang cukup. Di samping membangun otot yang kuat melalui asupan karbohidrat, protein, dan lemak, perkembangan tulang yang sehat juga bergantung pada asupan mineral dan vitamin yang memadai. Hewan yang kekurangan mineral, terutama yang berperan sebagai komponen tulang seperti kalsium dan fosfor, memiliki struktur tulang yang lebih rapuh. Selain itu, risiko patah tulang juga lebih tinggi pada bagian tubuh hewan yang tidak dilindungi oleh otot atau ditutupi oleh lapisan otot yang tipis, dibandingkan dengan tulang pada area yang lebih tebal (Brunner, 2015).



1.7.3.4 Tanda-tanda Klinis Fraktur

Hewan yang mengalami patah tulang akan menunjukkan tanda-tanda klinis yang khas, seperti pembengkakan, deformasi, nyeri, dan kemerahan. Selain itu, hewan yang mengalami patah tulang akan menunjukkan tanda-tanda klinis lainnya, seperti anemia, demam, dan penurunan nafsu makan. Pada kasus patah tulang pada tulang tibialis, hewan tersebut akan menunjukkan tanda-tanda klinis lainnya, seperti ketidakseimbangan dalam kaki belakangnya. Hewan cenderung

enggannya menggunakan kaki yang mengalami patah untuk berjalan karena berjalan dengan kaki yang terluka akan sangat menyakitkan. Terkadang, hewan tersebut juga dapat terlihat pincang saat bergerak, terutama jika ada kerusakan otot di sekitar lokasi patah. Kerusakan otot ini dapat mengakibatkan masalah dalam pergerakan. Tulang yang mengalami patah akan mengalami pembengkakan, perubahan warna menjadi merah, dan dapat menyebabkan kelengkungan atau pergeseran pada area yang patah. Jika patah tulang terbuka, maka tulang yang patah akan terlihat jelas di permukaan. Sentuhan pada tulang yang patah dapat memberikan sensasi seakan-akan tulang tersebut terpisah dan dapat menimbulkan rasa nyeri (Carlson dan Griffin, 2013).

1.7.4 Kesembuhan Fraktur

1.7.4.1 Kesembuhan Primer

Metode penyembuhan ini melibatkan proses perbaikan internal yang melibatkan upaya langsung oleh korteks serebral untuk memperbaiki dirinya sendiri ketika kontinuitasnya terganggu. Untuk penyembuhan patah tulang, penting agar bagian korteks tulang di satu sisi menyatu kembali dengan bagian korteks tulang di sisi lainnya dengan kontak langsung. Proses ini tidak melibatkan pembentukan jaringan parut. Ini melibatkan perbaikan internal melalui sistem Havers dan penyatuan tepi fragmen tulang yang patah. Syarat utama untuk rekonstruksi fraktur dalam sistem Havers ini mencakup reduksi yang akurat, fiksasi yang stabil, dan pasokan darah yang mencukupi (Jay dan Gary, 2015).

1.7.4.2 Kesembuhan Sekunder

Proses penyembuhan luka sekunder meliputi reaksi pada periosteum dan jaringan lunak eksternal. Proses penyembuhan patah tulang seringkali dibagi menjadi 5 tahapan, yaitu tahap hematoma (inflamasi), tahap proliferasi, tahap kalus, osifikasi dan regenerasi (Jay dan Gary, 2015). Proses regenerasi tulang diawali dengan fase inflamasi (minggu 1 sampai 2), khususnya sel inflamasi (neutrofil, makrofag dan fagosit) dan fibroblas akan menyusup ke area luka dan dirangsang oleh prostaglandin. Fungsi sel inflamasi dan osteoklas adalah membersihkan jaringan nekrotik dan mempersiapkannya untuk fase perbaikan. Berikutnya adalah fase perbaikan, artinya tulang yang dicangkokkan akan merangsang pertumbuhan secara induksi dan menjadi penopang sel induk dan osteoblas untuk menempel, hidup dan berkembang dengan baik pada area tulang yang rusak; Luka tersebut kemudian akan difiksasi dengan tulang rawan (kalus lunak) dan akhirnya menjadi tulang (kalus keras). Ciri khas fase perbaikan adalah diferensiasi sel mesenkim multipoten dan kondroblas serta fibroblas yang menginvasi area hematoma yang retak dan kemudian mengangkut matriks ke area luka. Cangkok tulang akan diserap dan digantikan oleh tulang yang sesuai selama fase perbaikan dan akan menjadi tulang yang matang dan berfungsi sebagai sel induk di area kerusakan tulang untuk berdiferensiasi menjadi tulang yang matang. Oleh karena itu, osteogenesis dapat diinduksi oleh faktor pertumbuhan yang ada di area tersebut. Setelah fase regenerasi tulang (Ardhiyanto, 2011).

Kesembuhan tulang berakhir ketika fase *remodeling* tulang berlangsung beberapa bulan atau bahkan bertahun-tahun.



Pada masa ini terjadi perbaikan bentuk, struktur dan sifat mekanik tulang melalui perubahan aktifitas osteoblas dan osteoklas dari tulang imatur menjadi tulang matur, perubahan cara susunan jalinan tulang menjadi lebih teratur dan teratur. Terbentuk. Membuat area fraktur lebih stabil.. Osteoblas sebagai sel sekretori yang aktif secara metabolik menghasilkan sejumlah *bone morphogenetic protein* (BMP) superfamily (BMP-2 dan BMP- 7), perubahan faktor β , dengan tambahan *Insulin-Like Growth Factor*, (IGF-I dan IGF-II), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Fibroblastic Growth Factors* (FGF), TGF- β , interleukin I, dan osteoid yang sebagian terdiri dari kolagen tipe-I untuk proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi osteosit dan matriks tulang (Ardhiyanto, 2011).

1.7.5 Bonegraft

1.7.5.1 Pengertian *Bonegraft*

Bone-grafting adalah metode yang dilakukan untuk menggantikan jaringan tulang yang mengalami kerusakan dengan menggunakan berbagai jenis bahan, baik yang diambil dari tubuh pasien, bahan sintesis/kimia, atau bahan alami. Bahan cangkok tulang yang digunakan harus memenuhi kriteria tertentu, seperti biokompatibilitas yang baik, tidak menimbulkan reaksi atau efek samping yang merugikan, tidak bersifat toksik atau menular, mudah berintegrasi dengan jaringan tubuh, tahan lama, dan mampu merangsang pertumbuhan jaringan baru (Maulidah et al., 2018). Jenis-jenis bahan bone- grafting yang umum digunakan mencakup *Autograft* (tulang diambil dari individu yang sama), *allograft* (tulang diambil dari individu yang berbeda tetapi dari spesies yang sama), *xenograft* (tulang diambil dari spesies yang berbeda), dan *alloplastic* (sintetis) (Liu dan David, 2014). Namun, terdapat beberapa kekurangan dalam penggunaan metode ini, seperti keterbatasan ketersediaan, kesulitan dalam pengaplikasian oleh praktisi medis, dan beberapa potensi risiko penularan penyakit. Selain itu, biaya penggunaan metode ini relatif tinggi, dan terdapat penolakan dari berbagai budaya dan agama terkait dengan penggunaan sumber cangkok tulang yang berasal dari hewan. Sebagai respons terhadap kelemahan ini, telah dilakukan penelitian dalam mengembangkan alternatif bahan alami untuk bone-grafting, yang dikenal sebagai *xenografts* (Fauzia et al., 2019).

1.7.5.2 Jenis-jenis *Bonegraft*

Graft adalah bahan yang digunakan untuk menggantikan atau memperbaiki jaringan yang rusak. Cacat tulang didefinisikan sebagai ruang di tulang yang perlu diisi dengan tulang baru. Definisi ini berlaku untuk pengisian tulang pada cacat periodontal, lokasi implan, dan celah yang timbul setelah operasi (Mozartha, 2015). Adapun jenis-jenis *Bonegraft* antara lain :



adalah prosedur transplantasi yang melibatkan pengambilan tulang yang sama dan kemudian dipindahkan ke area yang rusak. Dari aspek fisiologis, metode ini memiliki keunggulan karena menggunakan tulang yang berasal dari tubuh sendiri, namun terdapat beberapa keterbatasannya ketersediaan jaringan donor, kesulitan dalam

memperoleh cangkok, peningkatan risiko infeksi, peningkatan risiko kehilangan darah, serta peningkatan durasi anestesi, morbiditas, dan potensi kerusakan pada area donor. Dalam konteks pencangkokan tulang autologus, terdapat dua jenis utama: pencangkokan tulang autologus yang jaraknya jauh dan pencangkokan tulang autologus yang berdekatan. *Autograft* dapat terdiri dari tulang kortikal, tulang *spongiose*, atau kombinasi keduanya, dan dapat diambil dari lokasi di luar rongga mulut atau di dalam rongga mulut.

b. Allograft

Allograft adalah jaringan yang ditransplantasikan dari satu spesies ke spesies lain, dalam spesies yang sama atau dalam spesies berbeda. Meskipun *allograft* mempunyai potensi untuk menginduksi regenerasi tulang, bahan-bahan ini juga dapat menyebabkan reaksi jaringan yang merugikan dan penolakan host kecuali jika diobati secara khusus. Keuntungan penggunaan *allograft* dibandingkan *autologous graft* adalah pasien tidak perlu menjalani trauma bedah tambahan untuk mendapatkan donor dari tubuhnya sendiri, sementara kemampuan memperbaiki tulangnya tetap sama. Salah satu bahan *allograft* yang umum digunakan dalam perawatan periodontal adalah *freeze-dried demineralized bone allograft* (DFDBA). DFDBA adalah cangkok tulang yang didekalsifikasi dalam asam hidrokoloid kemudian diliofilisasi.

c. Xenograft

Xenograft merujuk pada penggunaan bahan cangkok yang diambil dari spesies yang berbeda, seringkali berasal dari hewan seperti sapi atau babi, dan digunakan pada manusia. *Graft* hidroksilapatit yang dihasilkan dari tulang sapi diciptakan melalui proses kimia (disebut juga Bio-Oss) atau dengan pemanasan tinggi. Proses ini menghasilkan struktur tulang hidroksilapatit yang alami, menyerupai struktur mikroporositas dan makroporositas pada tulang manusia, serta partikel-partikelnya tampak mengalami resorpsi sementara tulang baru terbentuk.

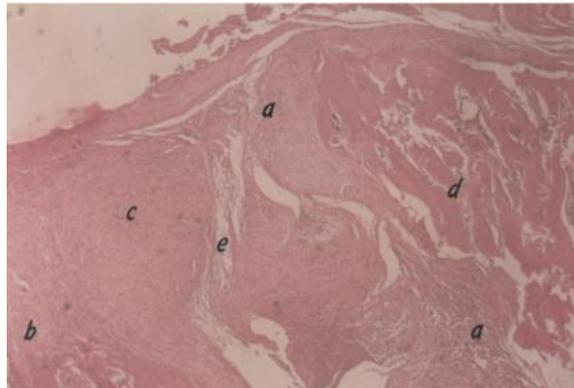
1.7.6 Pemanfaatan Tulang Kuda Menjadi Bonegraft

Tulang kuda memiliki kandungan mineral, terutama kalsium (Ca) dan fosfor (P), yang lebih tinggi dibandingkan dengan sebagian besar hewan lain. Kalsium dan fosfor adalah mineral yang penting dalam pembentukan jaringan keras seperti tulang. Kandungan mineral yang tinggi ini membuat tulang kuda menjadi salah satu sumber mineral tulang yang baik. Tulang kuda mengandung kolagen, protein yang penting dalam pembentukan dan kekuatan jaringan tulang. Kolagen adalah komponen utama matriks organik tulang dan berperan dalam memberikan struktur dan kekuatan pada tulang. Kandungan mineral yang tinggi ini yang membuat pemanfaatan tulang kuda ideal dalam bahan baku pembuatan *bonegraft* (DeCamp, 2015).



Prognosis Kesembuhan Tulang

Pada fraktur merupakan suatu proses rumit dan kompleks, melibatkan matriks protein dan deposit mineral. Komplikasi seperti *delayed union* bisa terjadi akibat kurangnya deposit mineral, atau aposisi dari tulang yang tidak sempurna. Serta nutrisi yang baik dalam mendukung proses penyembuhan pada fraktur.



Gambar 3. Histopatologi tulang pasca fraktur. Jaringan ikat fibrosa (a), kartilago (b), woven bone (c), trabekula (d), gap tulang (e) (Yudaniayanti *et al.*, 2008).

Salah satu komponen yang memengaruhi proses kesembuhan tulang adalah nutrisi, dan asupan kalsium yang cukup adalah salah satunya. Kalsium diperlukan untuk proses kalsifikasi kalus. Ini karena pembentukan kalus sangat penting untuk menjembatani fragmen tulang yang patah dan mempertahankan stabilitas temporer. Namun, kendala yang sangat tidak diharapkan pada patah tulang adalah kurangnya kalsifikasi pada kalus yang terbentuk atau kurangnya jembatan kalus kesembuhan antara kedua fragmen. Pada proses kesembuhan tersebut, hanya jaringan fibrosa yang terlihat, sehingga mungkin terjadi union yang tertunda atau bahkan non-union. Selain menyebabkan masalah penampilan dan mengganggu gerakan atau lokomosi otot, syaraf, atau tulang, komplikasi seperti itu juga dapat menyebabkan biaya yang lebih tinggi karena proses penyembuhan yang lebih lama dan memerlukan operasi ulang (Yudaniayanti *et al.*, 2008).



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

1.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Februari 2024 di Laboratorium Terpadu Rumah Sakit Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

1.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen untuk melihat efektifitas penggunaan *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari tulang kuda terhadap penyembuhan fraktur pada kelinci. Penelitian ini juga termasuk dalam penelitian deskriptif, karena memperlihatkan deskripsi perubahan yang terjadi pada fraktur kelinci pasca implantasi tulang.

1.3 Materi Penelitian

1.3.1 Populasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam 2 kegiatan yaitu pembuatan material *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari limbah tulang kuda dan uji coba *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari limbah tulang epifisis kuda pada hewan coba, dalam hal ini adalah Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) betina yang dinyatakan sehat melalui hasil pemeriksaan dan aklimatisasi selama 14 hari dengan umur 7 bulan.

1.3.2 Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini, dilakukan dua jenis perlakuan diantaranya kelompok 1 sebagai kelompok kelinci yang tidak diberikan implantasi *bonegraft*, kelompok 2 sebagai kelompok kelinci yang diberikan implantasi *bonegraft*. Penentuan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rumus *Federer*, yaitu:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n: jumlah sampel

t: jumlah kelompok/perlakuan

Dengan menggunakan rumus di atas, maka dapat diperoleh jumlah sampel perkelompok, yaitu:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(2-1) \geq 15$$

$$(n-1)(1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 15 + 1$$

$$n \geq 16$$

$$n \geq 16$$



g diperlukan berdasarkan hasil perhitungan menggunakan 16×2 (jumlah kelompok perlakuan) = 32

hasil perhitungan menggunakan rumus *Federer* diketahui kelompok sampel yang digunakan adalah sebanyak 16 ekor kelinci.

Namun, sebagai makhluk hidup istilah *animal welfare* tidak lepas dalam penggunaan kelinci sebagai hewan coba. Oleh karena itu dengan pertimbangan *animal welfare*, digunakan pendekatan “*Degree of Freedom (E)*” untuk meminimalisir jumlah sampel yang digunakan. Menurut Ilyas *et al.*, (2017), derajat kebebasan yang dijadikan patokan dalam pendekatan *Degree of Freedom (E)* yaitu harus antara 10-20. Jika nilai E berada di antara 10-20 maka adapun rumus dalam perhitungan E, yaitu:

$E = \text{Jumlah keseluruhan hewan sampel} - \text{Jumlah kelompok}$
 $E_1 = 32 - 2 = 30$

$E_2 = 30 - 2 = 28$

$E_3 = 28 - 2 = 26$

$E_4 = 26 - 2 = 24$

$E_5 = 24 - 2 = 22$

$E_6 = 22 - 2 = 20$

$E_7 = 20 - 2 = 18$

$E_8 = 18 - 2 = 16$

$E_9 = 16 - 2 = 14$

$E_{10} = 14 - 2 = 12$

Hasil dari perhitungan dengan rumus E menjadi penentu jumlah sampel yang digunakan pada penelitian, yaitu sebanyak 12 ekor kelinci.

1.3.3 Alat yang diperlukan

Pisau, gergaji, mesin *furnace* (@Controlab), *electronic* blender, *automatic stirrer*, alu, mortir, timbangan digital (@Mettler Toledo) dan gelas ukur.

1.3.4 Bahan yang diperlukan

Dua belas ekor Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) betina yang didomestikasi umur 7 bulan, limbah tulang kuda, aquades, fosfat, larutan H₂O₂ (*hydrogen peroxide*), *ketamine*, *xylazine*, *atropine sulfat*, tampon, *catgut chromic 3/0* (@Gea), *silk 3/0* (@OneMed), *povidone iodine*, antibiotik dan tabung penyimpanan.

1.4 Prosedur Penelitian

1.4.1 Pembuatan Implantasi Tulang Kuda

a. Preparasi tulang

Proses demineralisasi seperti membersihkan limbah tulang epifisis kuda dari sisa otot yang menempel menggunakan *blade*. Tulang epifisis kuda yang telah dibersihkan kemudian dijemur selama 1-5 hari untuk menghilangkan lemak. Selanjutnya tulang kuda dibersihkan dan dipotong dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm (Putra *et al.*, 2022).

b. Deproteinasi

Tulang kuda kemudian direndam pada larutan Hidrogen peroksida (H₂O₂). Lakukan perendaman yaitu guna menghilangkan sisa lemak dan t pada tulang kuda. Selanjutnya tulang yang sudah dilakukan bah warna menjadi lebih putih dan pucat. Proses ini dilakukan ggga warna tulang berubah menjadi putih bersih dengan 2O₂ secara bertahap. Larutan H₂O₂ juga berfungsi sebagai ngoksidasi kotoran yang menempel pada lapisan permukaan an Sari, 2020).



c. Sintering

Tulang kuda yang telah melalui proses deproteinasi kemudian dikeringkan pada temperatur tinggi selama kurang lebih 1-2 jam. Proses ini bertujuan dalam menghilangkan bahan organik dari tulang agar diperoleh material calcit. Setelah pengeringan, tulang kemudian didiamkan hingga suhu turun lalu tulang dihancurkan menggunakan alu dan mortir. Tulang yang masih berbentuk kasar akan dihaluskan dengan blender dan disaring, hasilnya akan berupa serbuk. Serbuk calcit atau CaCO_3 selanjutnya dicampur dengan fosfat dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama kurang lebih 3 jam. Serbuk calcit selanjutnya dihomogenkan dengan aquades dan dipanaskan dalam *furnace* pada temperatur $30-40^\circ\text{C}$ selama 1-2 jam. Serbuk calcit yang sudah dipanaskan didiamkan hingga terbentuk sebuah endapan dan dipanaskan lagi selama 2 jam. Serbuk kemudian dimasukkan dan disimpan dalam tabung sampai dapat digunakan, lalu dilakukan pengujian kadar mineral kalsium dan fosfor pada serbuk hingga didapatkan kadar normal (Wathi *et al.*, 2014; Jang *et al.*, 2014).

1.4.2 Uji Coba Pada Hewan Percobaan

a. Persiapan hewan coba

Eksperimen dimulai dengan menyiapkan delapan ekor kelinci yang telah diaklimatisasi terhadap pakan dan lingkungan selama dua minggu sebelum tindakan operasi dilakukan. Kelinci diberi makan dengan pakan jenis *@vital rabbit* dan memiliki akses bebas terhadap air minum. Sebelum operasi, kelinci dibiarkan berpuasa selama 8-12 jam. Setelah itu, kelinci dianestesi dengan menggunakan kombinasi *ketamine* dan *xylazine* dengan dosis masing-masing 0,7 ml/kg dan 0,5 ml/kg secara *intramuscular*, sesuai dengan pedoman dosis yang telah dijelaskan oleh Plumb (2013). Kemudian, area *femur* kanan pada kelinci dicukur di lokasi yang akan menjadi situs operasi.

b. Operasi implantasi

Setelah kelinci berhasil dianestesi, mereka ditempatkan dalam posisi *lateral recumbency* di atas meja operasi. Area kulit di mana operasi akan dilakukan disiapkan dengan membersihkan kulit menggunakan larutan alkohol 70% dan *povidone iodine* untuk menjaga kebersihan. Kemudian sebuah insisi kulit sepanjang 3 cm dibuat pada bagian lateral *femur*. Setelah insisi kulit, otot *m. vastus lateralis* dan *m. biceps femoris* ditarik untuk mengungkapkan tulang *femur* dengan jelas. Diafisis tulang *femur* kemudian dilubangi dengan menggunakan bor tulang berdiameter 0,35 mm hingga mencapai kapitas *medularis*. Selama proses pengeboran, tulang tetap diberikan NaCl fisiologis secara berkala untuk mencegah



tulang *femur* akibat panas yang dihasilkan oleh bor. Selanjutnya dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok I dan II. Masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor kelinci. Kelompok kontrol, yang tidak menerima perlakuan atau apapun pada diafisis tulang *femur*. Sementara kelompok II menerima perlakuan, di mana mereka menerima implantasi *Equine Bone* pada diafisis tulang *femur* yang telah dibor. Jumlah *Bonegraft* yang

diberikan disesuaikan dengan ukuran lubang yang telah dibuat sebelumnya. Terakhir, luka operasi ditutup dengan menjahit kembali *m. vastus lateralis* dan *m. biceps femoris* menggunakan benang *catgut chromic 3/0*, serta lapisan subkutan dan kulit menggunakan benang *silk 3/0* dengan pola jahitan *simple interrupted suture*.

1.4.3 Koleksi Sampel

Pada minggu kedua setelah operasi, enam ekor kelinci dari kelompok I dan II diberi tindakan *euthanasia* dan dilakukan pengambilan sampel tulang *femur* di wilayah tempat *bonegraft* diimplan. Pada minggu keenam pasca operasi, langkah yang serupa dilakukan pada enam ekor kelinci lainnya yang termasuk dalam kelompok I dan II. Sampel tulang tersebut digunakan untuk analisis histopatologi guna mengamati perubahan sel tulang setelah pemberian *Bonegraft*. Proses pembuatan histopatologi dilakukan di Rumah Sakit Hewan Pendidikan, Universitas Hasanuddin.

1.4.4 Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Histopatologi

Jaringan tulang didekalsifikasi dengan menggunakan larutan *Plank Rychlo* (aluminium klorida 7 gram, HCl 37% sebanyak 8,5 ml, asam formiat pekat sejumlah 5,0 ml, dan akuades steril yang digunakan untuk pengeceran hingga volume mencapai 100 ml) selama 1-4 hari. Hal bertujuan untuk menghilangkan sisa kalsium sehingga jaringan menjadi lebih lunak. Jaringan selanjutnya didehidrasi untuk menghilangkan sisa air yang terkandung dalam jaringan dengan cara direndam pada alkohol bertingkat (70%, 80%, 95% dan 100%) masing-masing selama 1,5 jam, dilanjutkan dengan penjernihan (*clearing*) dengan cara direndam dalam larutan *xylo I* selama 1 jam dan *xylo II* selama 1,5 jam untuk membuang alkohol yang terkandung di dalam jaringan.

Penanaman (*embedding*) jaringan dilakukan dengan cara infiltrasi jaringan pada *paraffin* cair bersuhu 57- 59°C selama 1,5 jam. Proses ini dimaksudkan agar rongga yang terdapat dalam jaringan dapat terisi oleh parafin sehingga diperoleh jaringan yang keras dan mudah dipotong. Proses penanaman dilanjutkan dengan tahap *embedding*, jaringan dimasukkan ke dalam blok cetakan berisi parafin cair selama 30 menit sampai parafin mengeras, kemudian dilepas dari cetakan dan diberi label. Pemotongan jaringan dilakukan secara mekanis dengan menggunakan mikrotom untuk mendapatkan irisan setebal 5 µm. Irisan yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam waterbath dengan suhu 50°C kemudian diambil menggunakan kaca objek dan diberi label. Hasil irisan kemudian diinkubasi dengan cara meletakkan kaca objek dan irisan jaringan di atas *hot plate* bersuhu 40°C selama 20 menit untuk menguapkan air yang terkandung dalam kaca objek sehingga



sampel dengan baik. Tahapan selanjutnya yaitu pewarnaan dengan menggunakan *Hematoksilin-Eosin* (HE). Pewarnaan pada preparat dilanjutkan dengan deparafinasi menggunakan *xylo* selama 5 menit. Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan parafin dalam sediaan supaya tidak menghalangi pengamatan. Sediaan kemudian direhidrasi menggunakan alkohol dengan bertingkat (100%, 95%, 80%, 70%) masing-masing selama 2 menit, dilanjutkan dengan menggunakan air mengalir selama 3 menit. Rehidrasi

bertujuan untuk menghilangkan *xyol* sehingga lingkungan sediaan sama dengan zat warna. Pewarnaan inti sel dilakukan dengan cara merendam sediaan pada larutan Hematoksilin selama 7 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir sehingga inti sel akan nampak berwarna biru keunguan. Pewarnaan dilanjutkan dengan menggunakan larutan eosin selama 30 detik kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk memberikan warna merah pada sitoplasma.

Preparat yang telah terwarnai selanjutnya didehidrasi dengan cara mencelupkan sediaan ke dalam alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 95% dan 100% masing-masing sebanyak 3 celupan, dikeringkan kemudian dilakukan *clearing* menggunakan larutan *xyol* selama 3 menit untuk menghilangkan alkohol. Tahap selanjutnya adalah mounting dengan cara diteteskan balsam Canada agar preparat menjadi awet dan jernih, kemudian preparat ditutup menggunakan *deck glass*.

1.4.5 Penghitungan Jumlah Osteoblas dan Osteoklas

Pengamatan dilakukan terhadap masing-masing preparat pada seluruh kelompok perlakuan dengan menggunakan *blind method*. Hal tersebut dilakukan untuk meningkatkan validitas dan objektivitas hasil pengamatan. Penghitungan jumlah osteoblas dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X. Setiap sediaan diamati pada 5 lapang pandang yang berbeda. Sel osteoblas akan nampak berbentuk kuboid atau kolumnar pada tepi matriks tulang. Hasil penghitungan dari 5 lapang pandang pada tiap preparat dijumlahkan dan dirata-rata. Selanjutnya hasil dari semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan menggunakan analisis statistik. Evaluasi keberhasilan penggunaan *Equine Epiphysis Bone Xenograft* dari tulang kuda dapat diketahui melalui pemeriksaan gambaran sampel histopatologi pada minggu ke-2 dan ke-6 untuk mengamati struktur sel serta jaringan tulang dan tingkat densitas tulang.

1.5 Analisis Data

Pengamatan hasil gambar sampel histopatologi dianalisis secara secara deskriptif. Pemeriksaan struktur jaringan tulang dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS dengan analisis *independent T-test*



1.6 Alur Penelitian

