

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tulang adalah komponen penting untuk menopang tubuh, melindungi organ-organ penting, dan menyimpan mineral seperti kalsium dan fosfat (Florencio-Silva *et al.*, 2015). Salah satu gangguan pada tulang yang sering terjadi adalah fraktur, yang merujuk pada kondisi dimana terputusnya kontinuitas struktural korteks tulang, dengan tingkat cedera pada jaringan lunak di sekitarnya (Kraus *et al.*, 2017). Fraktur pada hewan dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti kecelakaan kendaraan, perkelahian, jatuh, dan cedera olahraga. Penyembuhan fraktur melibatkan beberapa tahap, yaitu pembentukan hematoma, pembentukan jaringan granulasi, pembentukan kalus tulang, hingga remodelling tulang. Dalam proses ini, endosteum dan periosteum memainkan peran penting sebagai sumber fibroblas (Mahajan *et al.*, 2015). Namun, dalam beberapa kasus pasca penanganan fraktur, terkadang tulang tidak dapat menyatu atau sembuh, biasanya karena fiksasi yang tidak sempurna atau adanya gangguan pada proses penyembuhan tulang. Salah satu solusi yang dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan adalah melalui implantasi *bone graft*, yang berfungsi untuk mendukung dan mempercepat regenerasi jaringan tulang (Wang dan Yeung, 2017).

Bone graft adalah material yang berfungsi untuk mempercepat proses penyembuhan tulang dengan cara memberikan dukungan mekanis dan sinyal terhadap molekul tubuh untuk memaksimalkan pertumbuhan jaringan tulang yang ideal. Dimana dalam prosedurnya, melibatkan penempatan tulang baru atau pengganti tulang ke dalam ruang di sekitar tulang yang rusak (Roberts and Rosenbaum, 2012). Secara umum, terdapat empat jenis *Bone graft* berdasarkan sumbernya. Diantaranya terdapat *autograft* (berasal dari tulang pasien sendiri), *allograft* (berasal dari tulang kadaver yang biasanya diperoleh dari bank tulang), *xenograft* (berasal dari donor berbeda spesies), dan *alloplast* (terbuat dari hidroksiapatit atau jaringan lain yang terjadi dengan cara yang alami dan biokompatibel) (Hung, 2012). Untuk membantu mempercepat penyembuhan tulang, *bone graft* harus memiliki struktur dan sifat yang mirip dengan tulang. Idealnya, *bone graft* harus bersifat osteoinduktif dan osteokonduktif, memberikan stabilitas biomekanik, bebas dari penyakit, memiliki faktor antigen minimal, serta bersifat bioaktif, *biodegradable*, *bioresorbable*, dan biokompatibel dengan tubuh tanpa bersifat toksik (Fadhilah *et al.*, 2015).

Bone graft terdiri dari bahan yang berasal dari alam atau sintesis, diimplantasikan ke dalam lokasi kerusakan tulang, yang terbukti memiliki sifat (Titsinides *et al.*, 2019). Bahan baku utama *Bone graft* adalah lengan formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang merupakan satu keramik karena secara kimia dan fisika kandungan mineralnya sama yanto, 2011). Saat ini, berbagai bahan restoratif tulang dengan berbeda tersedia, diklasifikasikan dalam berbagai kategori biologis, asal embriologis, bentuk, dan suplai darah (Titsinides *et*



al., 2019). Beberapa penelitian yang memanfaatkan bahan alami sebagai bahan baku *Bone graft* antara lain menggunakan cangkang telur (Suprianto *et al.*, 2019), tulang kuda (Liding, 2023), tulang ikan sapu-sapu (Larasati, 2022), tulang sapi (Afifah dan Cahyaningrum, 2020). Dalam penelitian ini, bahan baku yang akan digunakan untuk sintesis hidroksiapatit adalah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*).

Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan salah satu kerang yang banyak dijumpai di perairan Indonesia dan banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena kandungan proteinnya yang tinggi. Berdasarkan data statistik PPID Sulawesi Selatan, jumlah produksi kerang darah daerah Makassar tahun 2022 sebanyak 13,5 ton. Mengingat masyarakat banyak mengonsumsi dagingnya tanpa memanfaatkan limbah cangkangnya lebih lanjut, limbah ini dapat menjadi masalah bagi lingkungan. Cangkang kerang darah mengandung mineral aragonit yang cukup tinggi, dimana cangkang kerang darah dapat digunakan sebagai sumber CaCO_3 (Tasari, 2022). Cangkang kerang darah mengandung 98,7% kalsium karbonat, 0,05% Mg, 0,9% Na, 0,02% P dan 0,2% lainnya. Karena kandungan kalsium karbonat (CaCO_3) yang tinggi pada cangkang kerang darah, maka cangkang kerang darah menjadi sumber kalsium yang baik untuk digunakan sebagai bahan baku biomaterial hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) sebagai alternatif *xenograft* yang dapat mempercepat kesembuhan tulang.

Proses sintesis hidroksiapatit dapat dilakukan melalui metode basah dan kering. Contoh dari metode basah diantaranya metode *sol gel* dan metode pengendapan basah (presipitasi). Sedangkan metode kering diantaranya dapat dilakukan dengan metode sintering dan metode kalsinasi. Proses sintesis yang berbeda pasti menghasilkan HAp yang berbeda, seperti ukuran partikel, homogenitas ukuran partikel dan bentuk partikel yang dihasilkan (Akbar *et al.*, 2021). Pada penelitian ini, akan menggunakan metode kombinasi antara metode pemanasan basah (presipitasi) dan pemanasan kering (sintering). Beberapa keuntungan proses presipitasi adalah reaksi kimianya relatif sederhana, ukuran partikel yang diperoleh seringkali sangat baik, komposisi tinggi dapat dengan mudah dicapai pada suhu rendah, prosesnya ekonomis dan sederhana (Saputra *et al.*, 2016). Sementara sintering adalah proses termal di mana partikel yang terikat secara bebas diubah menjadi massa padat yang konsisten di bawah pengaruh panas dan/atau tekanan tanpa melelehkan partikel. Selama proses tersebut, atom-atom dalam material bermigrasi menuju batas-batas partikel baik melalui difusi atau asimilasi (Indurkar *et al.*, 2021). Temperatur *sintering* merupakan faktor utama yang mempengaruhi porositas, densifikasi, ukuran butiran, rasio kalsium/fosfor (Ca/P) yang dapat mempengaruhi perubahan sifat-sifat biokeramik dan sifat-sifat mekanik (Bohner *et al.*, 2020).



Penelitian sebelumnya mengenai pemanfaatan cangkang kerang darah dalam sintesis hidroksiapatit telah dilakukan, salah satunya yaitu penelitian mengenai sintesis hidroksiapatit dari cangkang kerang darah sebagai agen remineralisasi setelah perawatan gigi. Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu gigi yang telah dirawat dengan pasta gigi. Sebelum penelitian ini belum banyak yang mengkaji potensi cangkang kerang darah sebagai biomaterial *xenograft* untuk penyembuhan tulang, khususnya dalam aplikasi

pada hewan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi cangkang kerang darah sebagai bahan baku hidroksiapatit dan aplikasinya sebagai alternatif *xenograft* untuk mempercepat penyembuhan tulang. Hasil radiografi akan digunakan untuk mengamati efek penggunaan material ini pada proses penyembuhan tulang.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut.

- a. Bagaimana potensi hidroksiapatit dari limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai alternatif *xenograft* untuk mempercepat kesembuhan tulang yang diamati dari aspek radiografi?
- b. Bagaimana aktivitas pembentukan kalus tulang pasca implantasi *xenograft* dari limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) yang diamati dari aspek radiografi?

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui potensi hidroksiapatit dari limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai alternatif *xenograft* untuk mempercepat kesembuhan tulang yang diamati dari aspek radiografi
- b. Mengetahui aktivitas pembentukan kalus tulang pasca implantasi *xenograft* dari limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) yang diamati dari aspek radiografi

1.3.2 Manfaat Penelitian

1.3.2.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

Manfaat pengembangan ilmu pada penelitian ini yaitu sebagai tambahan ilmu pengetahuan dan literatur terkait potensi hidroksiapatit dari limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai alternatif *xenograft* untuk mempercepat kesembuhan tulang pasca penanganan fraktur untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

1.3.2.2 Manfaat Aplikasi

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif *xenograft* untuk mempercepat kesembuhan tulang pada penanganan fraktur.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan uraian teori di atas dapat ditarik hipotesis bahwa implantasi *bone graft* dari limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) berpotensi sebagai alternatif *xenograft* untuk mempercepat kesembuhan tulang pada penanganan fraktur dan tidak terjadi respon penolakan tubuh terhadap implantasi rasi.



nelitian

engenai “potensi hidroksiapatit dari limbah cangkang kerang *anos*) sebagai alternatif *xenograft* untuk mempercepat asca penanganan fraktur” sebelumnya telah dilakukan, namun metode yang berbeda.

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Penulis	Judul
Yonatasya <i>et al.</i> 2019	Pengaruh <i>Bone graft</i> Senyawa Kalsium Hasil Sintesis Cangkang Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i>) dengan Variasi Waktu <i>Sintering</i> terhadap Proliferasi Sel Fibroblas pada Proses <i>Socket Healing</i>
Praja <i>et al.</i> , 2022	Calcium Carbonate of Blood Cockle (<i>Anadara granosa</i>) Shells induced VEGF-A Expression in Dentin Pulp Complex An In Vivo Study
Hikmah <i>et al.</i> 2023	Potential of nano hydroxyapatite synthesized from blood clam shells as a remineralizing agent after in-office bleaching

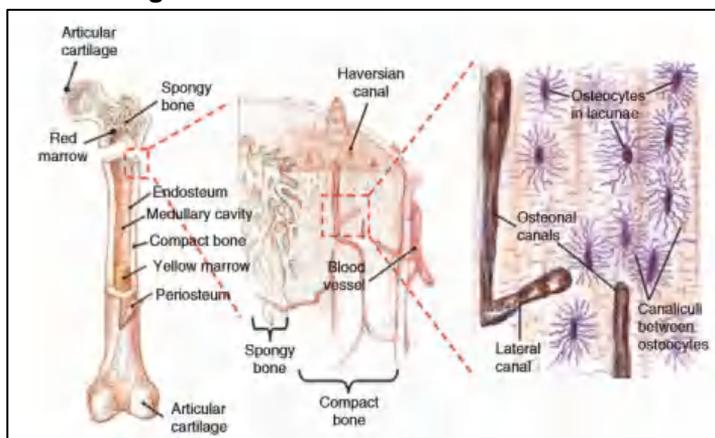
1.6 Kajian Pustaka

1.6.1 Tulang

1.6.1.1 Pengertian Tulang

Tulang adalah komponen penting untuk menopang tubuh dan melekatkan otot dan tendon, serta pergerakan tubuh. Tulang melindungi organ-organ rongga tengkorak dan rongga dada dari cedera, serta menampung dan melindungi sumsum tulang di dalam rongga-rongga tersebut. Selain itu, tulang memiliki peran penting sebagai reservoir mineral seperti kalsium dan fosfat, yang dapat dilepaskan ketika kebutuhan tubuh meningkat, dan dalam menjaga homeostasis serum. Fungsi-fungsi konvensional tulang ini bergantung pada homeostasis tulang itu sendiri (Su *et al.*, 2019).

1.6.1.2 Struktur Tulang



Gambar 1. Struktur Makroskopik dan Mikroskopik tulang (Akers *et al.*, 2013).



roskopik

roskopis tulang dibagi menjadi dua jenis, yaitu tulang kompak) dan tulang spons (substansi spongiosa). Tulang kompak) padat dengan ruang-ruang kecil yang hanya dapat dilihat ada tulang panjang, seperti tulang femur dan humerus, diafisis) tulang kompak berdinding tebal dengan rongga sumsum tulang.

Sementara itu, epifisis terdiri dari tulang spons yang dilapisi dengan korteks tulang kompak yang tipis, dan zona pertumbuhan terletak di antara tulang rawan epifisis dan tulang spons metafisis. Tulang ditutupi dengan periosteum, jaringan ikat khusus dengan potensi osteogenik. Jika periosteum tidak berfungsi, kemampuan untuk membentuk tulang dan menyembuhkan patah tulang akan hilang. Rongga sumsum diafisis dan rongga tulang spons dilapisi dengan endosteum yang juga bersifat osteogenik. Pada tulang pipih tengkorak, substansi padat terbentuk pada permukaan luar dan dalam. Periosteum tulang tengkorak disebut perikranium di bagian luar dan dura mater di bagian dalam. Baik periosteum maupun endosteum pada tulang panjang dan tulang pipih memiliki kemampuan osteogenik yang serupa (Fawcett, 2010).

b. Struktur Mikroskopik

Struktur mikroskopis tulang panjang terdiri dari matriks tulang termineralisasi yang tersusun berlapis-lapis atau lamela dengan ketebalan 3-7 nm. Di dalam matriks terdapat lakuna, yaitu ruang kecil yang masing-masing berisi sel osteosit, yang saling berhubungan dengan kanalikuli, saluran halus yang menjalar ke segala arah untuk mendukung distribusi nutrisi. Lamela tulang kompak tersusun dalam tiga pola utama: konsentris, yang mengelilingi saluran pembuluh darah dan membentuk sistem Haversian atau osteon; interstitial, yaitu lamela yang tidak beraturan yang dipotong di antara osteon; dan sirkumferensial, yaitu lamela melingkar yang mengelilingi bagian luar dan dalam batang tulang. Kanal Haversian mengandung pembuluh darah yang terhubung ke jaringan lakuna dan kanalikuli, memastikan suplai darah yang optimal dan fungsi metabolisme tulang (Fawcett, 2010).

1.6.1.3 Komposisi Tulang

Tulang terdiri dari dua komponen utama, yaitu 30% matriks organik, 60% garam anorganik, dan 10% air. Komponen seluler tulang terdiri dari osteoprogenitor, osteoblas, osteoklas, dan osteosit. Osteoprogenitor adalah sel pipih tak berdiferensiasi yang ditemukan di lapisan seluler periosteum, endosteum, dan kanal Haversian. Sel-sel ini berproliferasi dan berdiferensiasi selama proses renovasi tulang. Osteoblas, yang berbentuk kubus, bertanggung jawab atas sintesis matriks tulang, mengatur mineralisasi tulang, dan berperan dalam pembentukan dan pemeliharaan osteoklas untuk memulai resorpsi tulang. Osteosit adalah sel pipih yang terletak di dalam lakuna dan berfungsi untuk mempertahankan struktur tulang. Sementara itu, osteoklas adalah sel besar dengan banyak inti yang berasal dari prekursor monosit dan berfungsi untuk resorpsi tulang (Mescher, 2018). Tulang mengandung empat jenis sel yang berbeda yaitu sel osteoblas, sel osteogenik (osteoprogenitor), osteosit, dan osteoklas.



S

adalah sel berbentuk kubus yang berfungsi membentuk tulang dari total sel tulang. Sel-sel ini berasal dari sel punca mesenkimetikulum endoplasma yang menonjol serta aparatus golgi untuk Osteoblas menghasilkan osteoid ke dalam matriks tulang yaitu pengendapan matriks organik dan mineralisasi. Matriks agen tipe I, protein non-kolagen (*osteocalcin*, *osteopontin*, dll.),

dan proteoglikan seperti *decorin* dan *biglycan*. Mineralisasi terjadi melalui fase vesikular dan fibrilar, di mana vesikula matriks dilepaskan dan mengatur ion kalsium menggunakan proteoglikan dan protein *annexin*. Osteoblas yang matang membentuk satu lapisan sel, beberapa di antaranya berubah menjadi osteosit, beberapa mengalami apoptosis, atau tetap aktif. Menariknya, osteoblas juga dapat menurunkan sel apoptosis selama pembentukan tulang (Marks dan Popoff, 1988).

b. Sel osteogenik (osteoprogenitor)

Sel osteogenik merupakan sel punca pluripoten yang belum berdiferensiasi, berasal dari jaringan ikat mesenkim yaitu jaringan ikat yang masih bersifat embrional, oleh karena itu osteoprogenitor masih memiliki kemampuan untuk mitosis, dengan demikian sel ini berfungsi sebagai sumber sel baru dari osteoblas dan osteoklas. Sel-sel ini biasanya ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, di endosteum, dan di saluran pembuluh darah pada tulang kompak. Ada dua jenis sel osteoprogenitor: 1) preosteoblas yang memiliki sedikit retikulum endoplasma dan akan menghasilkan osteoblas; dan 2) preosteoklas yang mengandung lebih banyak mitokondria bebas dan ribosom, dan menghasilkan osteoklas (Marks dan Popoff, 1988).

c. Sel osteosit

Osteosit adalah sel tulang yang paling banyak (90-95%) dengan masa hidup hingga 25 tahun, berasal dari diferensiasi osteoblas. Terletak di dalam lakuna yang dikelilingi oleh matriks tulang termineralisasi, osteosit memiliki proses sitoplasma dendritik yang melintasi kanalikuli, membentuk sistem lakunokanalikular untuk komunikasi antar sel tulang dan transportasi molekul kecil. Osteosit bertindak sebagai sensor mekanis, mendeteksi tekanan dan beban untuk mengatur remodeling tulang dengan memengaruhi aktivitas osteoblas dan osteoklas. Osteosit juga menghasilkan sinyal biokimia seperti ATP, NO, dan prostaglandin sebagai respons terhadap rangsangan mekanis. Apoptosis osteosit memicu resorpsi tulang oleh osteoklas, sehingga menjadikannya pengatur penting adaptasi tulang terhadap kekuatan mekanis sehari-hari (Marks dan Popoff, 1988).

d. Sel osteoklas

Osteoklas adalah sel yang berperan penting dalam pemeliharaan, perbaikan, dan remodeling tulang melalui proses resorpsi, yaitu pemecahan matriks tulang yang termineralisasi untuk mendukung remodeling tulang normal dan homeostasis kalsium. Sel-sel ini berasal dari progenitor hematopoietik mononuklear, dengan perkembangannya dipengaruhi oleh sitokin dan faktor pertumbuhan tertentu. Aktivitas osteoklas diatur oleh hormon seperti hormon paratiroid (PTH) dan kalsitonin, serta faktor lokal yang diproduksi oleh osteoblas dan sel lain dalam



ntukan Tulang

entukan tulang atau yang dikenal dengan proses osteogenesis satu dari dua proses, yaitu osifikasi intramembranosa, di mana siasi secara langsung dari mesenkim dan mulai mengeluarkan endokondral, di mana matriks tulang rawan hialin yang sudah kikis dan diinvasi oleh osteoblas, yang kemudian memulai

produksi osteoid. Nama-nama tersebut mengacu pada mekanisme pembentukan tulang pada awalnya; dalam kedua proses tersebut, tulang rawan diproduksi terlebih dahulu dan segera digantikan oleh tulang pipih yang lebih kuat. Selama pertumbuhan semua tulang, area tulang rawan, area resorpsi tulang, dan area tulang pipih, semuanya berdekatan satu sama lain (Mescher, 2018).

a. Osifikasi intramembranosa

Osifikasi intramembranosa terjadi pada tulang pipih, seperti tulang frontal dan parietal, yang dibentuk oleh pematatan mesenkim. Prosesnya dimulai di pusat osifikasi primer, di mana sel mesenkim berdiferensiasi menjadi osteoblas. Osteoblas menghasilkan matriks tulang yang terkalsifikasi, mengubah beberapa sel menjadi osteosit. Proses ini membentuk krista-krista tulang atau spikula yang berkembang menjadi jaringan spons, dengan rongga-rongga yang berisi kapiler, sel-sel sumsum tulang, dan sel-sel mesenkim yang belum berkembang. Pembuluh darah dan sel mesenkim baru memasuki ruang-ruang ini untuk menghasilkan sumsum tulang. Pusat-pusat osifikasi meluas secara radial dan akhirnya menyatu, menggantikan jaringan ikat yang ada, sementara lapisan jaringan ikat yang tidak menyatu menjadi endosteum dan periosteum (Soesilawati, 2020).

b. Osifikasi Endokondral

Osifikasi endokondral adalah proses pembentukan tulang yang dimulai dengan model tulang rawan hialin, yang membentuk tulang panjang dan pendek. Proses ini terjadi dalam dua tahap. Pada tahap pertama, kondrosit mengalami hipertrofi dan penghancuran, memperlebar *lacunae* yang kemudian dipisahkan oleh matriks tulang rawan yang terkalsifikasi. Pada tahap kedua, kuncup osteogenik yang mengandung osteoprogenitor dan pembuluh darah menembus matriks tulang rawan, memulai pembentukan tulang. Osteoblas yang dihasilkan membentuk lapisan di atas matriks yang terkalsifikasi, menghasilkan matriks tulang primer. Saat osifikasi berlangsung, sel progenitor sumsum tulang memasuki matriks tulang rawan yang terkalsifikasi. Pada diafisis, osifikasi primer mengisi seluruh ruang, sementara pusat osifikasi sekunder muncul di epifisis, mengarahkan pertumbuhan tulang. Satu-satunya tulang rawan kalsifikasi yang tersisa adalah tulang rawan articular dan lempeng epifisis. Pada tulang rawan epifisis, terdapat lima zona yang berperan dalam proses pembelahan, hipertrofi, kalsifikasi, dan osifikasi, dengan pembentukan spikula tulang yang mengarah ke pembentukan tulang endokondral (Soesilawati, 2020).

1.6.2 Fraktur

1.6.2.1 Etiologi Fraktur



Fraktur merupakan salah satu gangguan pada muskuloskeletal hewan yaitu rusaknya kontinuitas struktural korteks tulang, dengan tingkat keparahannya lunak di sekitarnya (Kraus *et al.*, 2017). Fraktur secara umum dibagi menjadi fraktur tertutup dan fraktur terbuka. Fraktur terbuka dan tertutup adalah dua jenis cedera tulang yang berbeda dalam hal ada atau tidaknya kulit (Liu *et al.*, 2011). Fraktur pada hewan dapat disebabkan oleh faktor ekstrinsik dan juga faktor intrinsik sebagai berikut.

a. Penyebab Ekstrinsik

Penyebab ekstrinsik fraktur pada hewan dapat disebabkan oleh tekanan langsung atau tidak langsung. Tekanan langsung, seperti trauma akibat kecelakaan atau terjatuh, sering kali menyebabkan fraktur kominutif atau fraktur multipel yang tidak dapat diprediksi. Sebaliknya, fraktur akibat tekanan tidak langsung lebih dapat diprediksi, biasanya terjadi ketika tekanan diberikan pada titik lemah pada tulang. Tekanan pembengkokan menyebabkan fraktur pada sisi yang berlawanan dengan tekanan tersebut, sedangkan tekanan puntir terjadi ketika tekanan puntir diterapkan, menghasilkan fraktur spiral yang panjang yang dapat membahayakan jaringan lunak. Fraktur puntir sering terjadi pada kasus-kasus di mana salah satu ujung tulang tetap tidak bergerak (Mahajan *et al.*, 2015).

b. Penyebab Intrinsik

Penyebab intrinsik fraktur pada hewan meliputi fraktur avulsi akibat kontraksi otot yang hebat, terutama pada hewan muda dengan lempeng tulang rawan yang terbuka. Fraktur ini terjadi ketika otot menarik tonjolan tulang, seperti akromion atau tuberositas tibialis, dan sering dikaitkan dengan pemendekan otot yang dipaksakan. Selain itu, fraktur patologis dapat terjadi karena kondisi penyakit tulang atau gangguan sistemik, seperti neoplasia, kista tulang, atau osteoporosis. Pada fraktur patologis, tulang menjadi lebih rapuh dan rentan patah, bahkan hanya dengan berat badan hewan, tanpa trauma yang jelas (Mahajan *et al.*, 2015).

1.6.2.2 Tanda Klinis Fraktur

Fraktur tulang sering kali disebabkan oleh kecelakaan kendaraan, senjata api, perkelahian, atau jatuh. Fraktur bisa terbuka atau tertutup dan melibatkan satu atau beberapa tulang. Karakteristik fraktur seperti sederhana, kominutif, miring, melintang, atau spiral didasarkan pada kekuatan trauma yang mengganggu (pembengkokan, kompresi, tarikan, dan rotasi). Tanda-tanda klinis selalu meliputi ketimpangan, nyeri, dan pembengkakan. Pada bagian tulang yang fraktur akan terlihat bengkak, kemerahan, hingga bisa mengkilatkan kebengkokan pada daerah yang mengalami fraktur. Bila yang terjadi merupakan fraktur terbuka maka akan membuat tulang yang fraktur tampak ke permukaan. Jika dilakukan palpasi, tulang yang mengalami fraktur akan terasa ada patahan dan akan terasa adanya gesekan antar tulang dan terasa sakit. Radiografi berguna untuk menggambarkan pola fraktur. Perawatan didasarkan pada jenis patah tulang, usia dan kesehatan hewan, keahlian teknis ahli bedah, dan keuangan pemilik (Gemmil dan Clements, 2016).

1.6.2.3 Kesembuhan Fraktur

Penyembuhan fraktur merupakan proses jangka panjang dan kompleks, dan cara perbaikan serta kecepatan penyembuhannya dipengaruhi oleh berbagai faktor. Proses kesembuhan fraktur dapat dibagi menjadi dua mekanisme, primer dan sekunder, yang masing-masing memiliki karakteristik berbeda.



Primer

Penyembuhan fraktur primer, atau penyembuhan tulang secara alami, terjadi ketika tulang yang patah disatukan dengan baik dan stabil, tanpa memerlukan prosedur pembedahan seperti reduksi terbuka dan fiksasi internal.

Dalam proses ini, setelah patah tulang terjadi, tubuh segera memulai respons inflamasi yang menghasilkan hematoma di sekitar area yang cedera. Hematoma ini berfungsi sebagai kerangka awal pembentukan kalus. Selanjutnya, sel osteoprogenitor yang berasal dari periosteum dan medula tulang akan bermigrasi ke lokasi fraktur, di mana mereka berdiferensiasi menjadi osteoblas. Osteoblas kemudian mulai memproduksi tulang lamelar yang akan menggantikan kalus tulang rawan yang terbentuk sebelumnya. Proses ini terjadi tanpa fase remodeling yang signifikan, sehingga tulang dapat segera membentuk struktur Haversian yang normal. Selama beberapa minggu, tulang yang baru terbentuk akan mengalami revaskularisasi, dan secara bertahap, tulang yang baru akan diperkuat dan ditata ulang untuk mengembalikan kekuatan dan integritas struktural tulang. Proses ini sangat bergantung pada stabilitas fraktur dan kondisi biomekanik di sekitarnya, yang memungkinkan penyembuhan yang efisien dan efektif (Marsell dan Einhorn, 2011).

b. Kesembuhan Sekunder

Proses penyembuhan fraktur sekunder, atau penyembuhan tulang secara tidak langsung, adalah mekanisme yang lebih umum dan melibatkan beberapa tahap yang kompleks. Setelah fraktur, tubuh memulai respons inflamasi yang menghasilkan hematoma di lokasi cedera, yang berfungsi sebagai kerangka untuk pembentukan kalus. Dalam beberapa hari setelah trauma, sel-sel dari jaringan lunak yang mengelilingi fraktur, termasuk sel mesenkim, ditarik ke area tersebut. Sel-sel ini kemudian berkontribusi pada pembentukan kalus tulang rawan, yang memberikan stabilitas awal pada fraktur. Kalus ini mengalami mineralisasi dan resorpsi, di mana jaringan tulang baru mulai terbentuk melalui proses osifikasi endokondral dan intramembran. Selama fase ini, kalus lunak secara bertahap digantikan oleh kalus keras yang lebih kuat, yang memungkinkan tulang menahan beban. Proses ini juga melibatkan pembentukan pembuluh darah baru (revaskularisasi) yang sangat penting untuk memasok nutrisi dan oksigen ke jaringan yang sedang dalam proses penyembuhan. Setelah beberapa minggu, kalus yang keras mengalami renovasi, di mana tulang yang baru terbentuk ditata ulang untuk mengembalikan kekuatan dan integritas struktural tulang. Seluruh proses ini sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti stabilitas mekanis, vaskularisasi, dan aktivitas seluler yang terkoordinasi dengan baik (Marsell dan Einhorn, 2011).

1.6.2.4 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Kesembuhan Fraktur

Penyembuhan fraktur dipengaruhi oleh beberapa faktor yang saling terkait. Stabilitas fraktur adalah salah satu aspek yang penting. Fiksasi yang baik dapat mempercepat proses penyembuhan, sementara ketidakstabilan dapat menghambatnya. Selain itu, aliran darah yang memadai ke area fraktur sangat penting untuk regenerasi jaringan. Respons inflamasi yang teratur dan terkontrol diperlukan, karena inflamasi yang berlebihan dapat berdampak negatif pada penyembuhan tulang. Usia pasien adalah faktor penting lainnya, dengan lansia cenderung mengalami penyembuhan yang lebih lambat. Nutrisi yang kaya akan asupan protein dan vitamin, sangat penting untuk mendukung proses penyembuhan (ElHawary *et al.*, 2021). Kondisi medis seperti diabetes mellitus, penyakit vaskular perifer, hipotiroidisme, dan *polytrauma* juga



dapat memperlambat proses penyembuhan. Selain itu, obesitas juga dapat memberikan tekanan tambahan pada tulang yang retak, sehingga mempengaruhi proses penyembuhan. Serta penggunaan obat-obatan tertentu, seperti NSAID, kortikosteroid, antibiotik, dan antikoagulan, juga dapat memengaruhi hasil penyembuhan (Claes *et al.*, 2012).

Aktivitas resorpsi dan pembentukan tulang diatur oleh berbagai faktor sistemik yang kompleks. Keseimbangan antara aktivitas osteoklastik dan osteoblastik dipertahankan oleh suplai hormon steroid yang konstan ke sel-sel tulang. Gangguan pada regulasi ini terlihat jelas pada penuaan dan defisiensi estrogen. Selain usia dan menopause, faktor risiko yang juga diketahui memengaruhi massa dan kepadatan tulang termasuk kepadatan tulang awal (yang ada saat lahir) dan ketersediaan kalsium. Faktor lain yang berperan dalam mengatur remodeling tulang adalah vitamin D, di mana suplementasi vitamin D telah terbukti dapat meningkatkan kepadatan tulang. Hormon paratiroid dapat meningkatkan resorpsi tulang dengan melepaskan kalsium dari matriks tulang ke dalam sirkulasi darah untuk mempertahankan kadar kalsium darah agar tetap normal. Regulator lainnya adalah hormon paratiroid dan berbagai sitokin serta enzim yang berperan sebagai koregulator dan koreseptor dalam diferensiasi dan aktivitas sel-sel tulang (Sihombing *et al.*, 2012).

1.6.3 *Bone Graft*

1.6.3.1 Pengertian *Bone Graft*

Bone grafting adalah prosedur pembedahan yang bertujuan untuk mengganti jaringan tulang yang hilang, terutama pada kasus fraktur kompleks yang tidak dapat sembuh total atau menimbulkan risiko kesehatan yang signifikan bagi pasien. Prosedur ini memiliki sejarah yang panjang, dengan implan tulang yang pertama kali tercatat dilakukan pada tahun 1668. Pencangkokan tulang digunakan untuk menangani berbagai kondisi, seperti penyatuan patah tulang yang terhambat, *pseudoarthrosis* bawaan, dan cacat tulang akibat trauma, infeksi, atau tumor. Selain itu, teknik ini juga diterapkan dalam bedah plastik dan rekonstruksi wajah. Meskipun tulang memiliki kemampuan regenerasi yang sempurna, namun proses ini membutuhkan celah patahan yang sangat kecil atau perancah yang sesuai untuk mendukung pembentukan jaringan tulang yang baru (Hung, 2012).

Keberhasilan *bone grafting* bergantung pada tiga mekanisme utama, yaitu osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis. Osteokonduksi berfungsi sebagai pemandu pertumbuhan tulang reparatif alami, sedangkan osteoinduksi berperan dalam menstimulasi diferensiasi sel yang belum berdiferensiasi menjadi osteoblas di sisi lain, melibatkan kontribusi sel tulang hidup dalam bahan s perbaikan dan regenerasi jaringan tulang, tetapi mekanisme i cangkok autograf. Cangkok tulang memiliki berbagai aplikasi gisi rongga atau defek tulang akibat kista, tumor, atau faktor sendi untuk menghasilkan artrodesis; memperbaiki cacat besar ontinuitas tulang panjang; menyediakan blok tulang untuk an sendi (*arthrosis*); membangun penyatuan pada kasus



pseudarthrosis; meningkatkan penyembuhan atau mengisi cacat pada fraktur nonunion, malunion, fraktur baru, atau osteotomi; dan digunakan pada artroplasti asetabular untuk mengobati dislokasi pinggul bawaan dan penyakit *Perthes* (Hung, 2012).

1.6.3.2 Jenis-Jenis *Bone Graft*

Secara umum, terdapat empat jenis *Bone graft* berdasarkan sumbernya. Diantaranya terdapat *autograft* (berasal dari tulang pasien sendiri), *allograft* (berasal dari tulang kadaver yang biasanya diperoleh dari bank tulang), *xenograft* (berasal dari donor berbeda spesies), dan *allopplast* (terbuat dari hidroksiapatit atau jaringan lain yang terjadi dengan cara yang alami dan biokompatibel) (Hung, 2012). Sebagian besar cangkok tulang dapat diserap kembali dan diganti seiring dengan penyembuhan tulang alami dalam beberapa bulan (Hung, 2012).

a. *Autograft*

Autograft, atau cangkok tulang autogenous, adalah prosedur cangkok tulang yang menggunakan jaringan tulang dari individu yang sama sebagai donor dan penerima. *Autograft* menjadi pilihan utama dalam praktik medis karena risiko penolakan cangkok yang minimal, mengingat jaringan yang digunakan berasal dari tubuh pasien sendiri. Namun, salah satu kelemahan dari metode ini adalah perlunya prosedur pembedahan tambahan untuk mengambil jaringan tulang dari donor, yang dapat meningkatkan risiko rasa sakit dan komplikasi pasca operasi di lokasi donor. Keberhasilan *autograft* sangat bergantung pada suplai darah di lokasi transplantasi. Pada beberapa kasus, terutama jika lokasi transplantasi besar atau melibatkan cangkok dengan ukuran yang signifikan, suplai darah tambahan mungkin diperlukan. Oleh karena itu, *autograft* sering kali melibatkan ekstraksi periosteum dan pembuluh darah bersama dengan tulang donor, yang kemudian dikenal sebagai cangkok tulang vital. Selain itu, cangkok juga dapat dilakukan tanpa melibatkan struktur tulang yang solid, misalnya dengan menggunakan tulang yang diambil dari tulang belakang iliaka superior anterior. Dalam hal ini, meskipun terdapat aktivitas osteoinduktif dan osteogenik, cangkok tidak memiliki kemampuan osteokonduktif karena tidak ada struktur tulang padat yang dapat bertindak sebagai kerangka pendukung (Hung, 2012).

b. *Allograft*

Jaringan yang ditransplantasikan dari satu individu ke individu lain dalam spesies yang sama atau berbeda disebut *allograft* atau cangkok alogenik. *Allograft* tidak hanya memiliki kemampuan untuk menstimulasi regenerasi tulang, tetapi juga berpotensi menyebabkan reaksi jaringan yang merugikan atau respons penolakan dari inang jika tidak diproses dengan benar. Salah satu keuntungan utama *allograft* dibandingkan dengan *autograft* adalah tidak diperlukannya an pada pasien untuk mengambil donor, sehingga mengurangi komplikasi pada lokasi donor. Selain itu, kemampuan perbaikan *allograft* secara umum sebanding dengan *autograft*. Salah satu jenis *allograft* yang digunakan dalam terapi periodontal adalah *DeminerIALIZED Allograft* (DFDBA). Bahan ini diperoleh melalui proses larutan asam klorida, diikuti dengan pengeringan beku (*freeze-*



drying). Proses ini bertujuan untuk meningkatkan potensi osteoinduktif dari bahan alograft sekaligus mengurangi risiko respon imun pada host (Hung, 2012).

c. **Xenograft**

Xenograft, atau cangkok xenogenik, adalah bahan cangkok yang diperoleh dari satu spesies untuk digunakan pada spesies lain. Salah satu contoh bahan *xenograft* yang sering digunakan adalah hidroksiapatit yang berasal dari tulang sapi. Hidroksiapatit ini diproduksi melalui proses kimiawi, seperti pada produk *Bio-Oss*, atau melalui panas yang tinggi. Proses ini menghasilkan hidroksiapatit tulang alami dengan struktur mikroporositas dan makroporositas yang mirip dengan tulang manusia. Struktur berpori ini memungkinkan integrasi biologis yang baik dengan jaringan tulang penerima. Selain itu, partikel hidroksiapatit dari *xenograft* ini diketahui dapat diserap kembali secara bertahap seiring dengan proses pengendapan tulang baru, sehingga mendukung regenerasi tulang yang efektif (Hung, 2012).

d. **Alloplast**

Alloplastic graft dapat dibuat dari hidroksiapatit, yang merupakan mineral alami dan komponen utama tulang. Hidroksiapatit sering dipilih sebagai bahan cangkok tulang sintesis karena sifat osteokonduktif, kekuatan, dan penerimaan tulang yang baik. Selain hidroksiapatit, bahan cangkok aloplastik juga dapat dibuat dari bahan seperti *bioactive glass*, yang memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan jaringan biologis. Salah satu bahan sintesis yang sebelumnya digunakan adalah kalsium karbonat, tetapi penggunaannya kini semakin berkurang. Hal ini disebabkan oleh kemampuan kalsium karbonat yang tidak dapat diserap seluruhnya dalam waktu singkat, sehingga dapat menyebabkan tulang menjadi rapuh dan berisiko patah kembali. Sebagai alternatif, trikalsium fosfat sekarang digunakan dalam kombinasi dengan hidroksiapatit, yang memberikan manfaat ganda yaitu osteokonduksi dan resorpsi yang lebih terkendali, sehingga mendukung proses regenerasi tulang dengan lebih efektif (Hung, 2012).

1.6.3.3 Metode Pembuatan **Bone Graft**

Bahan baku utama *Bone graft* adalah hidroksiapatit (HAp) dengan formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang merupakan satu keramik yang biokompatibel karena secara kimia dan fisika kandungan mineralnya sama dengan tulang (Ardhiyanto, 2011). Sintesis hidroksiapatit dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode basah dan kering. Contoh dari metode basah diantaranya metode *sol gel* dan metode pengendapan basah (presipitasi). Sedangkan metode kering diantaranya dapat dilakukan dengan metode sintering dan metode kalsinasi. Proses sintesis yang berbeda pasti menghasilkan HAp yang berbeda, seperti ukuran partikel, homogenitas ukuran partikel dan bentuk partikel yang dihasilkan (Akbar *et al.*, 2021).



s harus melewati proses kalsinasi, suhu dan waktu kalsinasi terhadap kualitas hidroksiapatit sintesis, proses kalsinasi atau droksiapatit juga harus dilakukan agar ion karbonat dapat a tidak mengganggu proses sintesis (Savitri dan Bella, 2016). h melakukan kalsinasi pada suhu diatas 850°C dan waktu lebih ri-pori pada hidroksiapatit semakin kecil dan butiran yang

berbentuk bulat sempurna sehingga hidroksiapatit dapat homogen seiring dengan bertambahnya suhu kalsinasi (Ketut dan Asmi, 2014).

Metode pemanasan basah dengan presipitasi atau pengendapan merupakan reaksi asam basa yang menghasilkan padatan kristalin untuk membentuk garam dan air. Beberapa keuntungan proses presipitasi adalah reaksi kimianya relatif sederhana, ukuran partikel yang diperoleh seringkali sangat baik, komposisi tinggi dapat dengan mudah dicapai pada suhu rendah, prosesnya ekonomis dan sederhana (Saputra *et al.*, 2016). Sementara metode pemanasan kering dengan sintering adalah proses termal di mana partikel yang terikat secara bebas diubah menjadi massa padat yang konsisten di bawah pengaruh panas dan/atau tekanan tanpa melelehkan partikel. Selama proses tersebut, atom-atom dalam material bermigrasi menuju batas-batas partikel baik melalui difusi atau asimilasi (Indurkar *et al.*, 2021). Temperatur *sintering* merupakan faktor utama yang mempengaruhi porositas, densifikasi, ukuran butiran, rasio kalsium/fosfor (Ca/P) yang dapat mempengaruhi perubahan sifat-sifat biokeramik dan sifat-sifat mekanik material yang dihasilkan (Bohner *et al.*, 2020).

1.6.3.4 Mekanisme Kerja *Bone graft* dalam Pembentukan Tulang Baru

Bone graft berfungsi sebagai matriks yang mendukung proses pembentukan tulang baru melalui beberapa mekanisme biologis. Ketika *bone graft*, baik itu *autograft*, *xenograft*, atau biomaterial lainnya, ditransplantasikan ke lokasi cedera, ia menyediakan kerangka fisik yang memungkinkan sel-sel tulang dan faktor pertumbuhan untuk berinteraksi dan berfungsi. Proses ini dimulai dengan resorpsi tulang pada area *graft*, di mana sel-sel osteoklas menghilangkan jaringan tulang yang ada (Khan *et al.*, 2005). *Bone graft* berfungsi dalam pembentukan tulang baru melalui tiga mekanisme utama, yaitu osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis. Osteokonduksi adalah proses dimana *graft* bertindak sebagai scaffold atau kerangka yang mendukung migrasi dan penempatan sel-sel mesenkimal dari sumsum tulang atau jaringan sekitar dan mulai berdiferensiasi menjadi osteoblas dan osteoklas, sel yang bertanggung jawab untuk pembentukan tulang. *Graft* yang memiliki struktur berpori mirip dengan tulang spongiosa memungkinkan sel-sel ini untuk berinteraksi dan berkembang. Selanjutnya, osteoinduksi melibatkan rekrutmen dan diferensiasi sel-sel mesenkimal menjadi osteoblas, kondrosit, adiposit, dan sel endotel yang dipicu oleh faktor pertumbuhan seperti *bone morphogenic proteins* (BMPs) dan *fibroblast growth factor* (FGF) yang dilepaskan dari *graft* dan jaringan sekitarnya yang juga berperan penting dalam merangsang proliferasi dan diferensiasi sel-sel ini (Fillingham dan Jacobs, 2016). Terakhir, osteogenesis terjadi ketika *graft* mengandung sel-sel hidup, seperti osteoblas dan sel-sel mesenkimal, yang mampu membentuk tulang baru secara langsung (Fillingham dan Jacobs, 2016). Dengan demikian, *bone graft* tidak hanya berfungsi sebagai pengisi ruang, tetapi juga sebagai agen biologis yang mendukung regenerasi tulang melalui interaksi sel, matriks, dan faktor pertumbuhan (Khan *et al.*, 2005).



1.6.4 Kerang Darah (*Anadara granosa*)

1.6.4.1 Etiologi



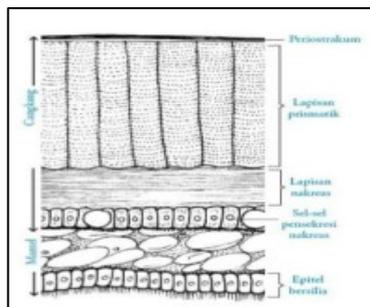
Gambar 2. Kerang Darah (*Anadara granosa*) (Masindi dan Herdyastuti, 2017)

Kerang darah (*Anadara granosa*) adalah jenis kerang yang ditemukan di pantai laut dengan substrat lumpur berpasir pada kedalaman 10 - 30 m. *Anadara granosa* dapat hidup pada perairan dengan suhu optimum 20-30°C dan salinitas 26-31 ppt (Arita *et al.* 2014). Berikut ini adalah klasifikasi kerang darah.

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Mollusca</i>
Class	: <i>Pelecypoda/Bivalvia</i>
Sub Class	: <i>Lamelladibranchia</i>
Ordo	: <i>Taxodonta</i>
Famili	: <i>Arcidae</i>
Genus	: <i>Anadara</i>
Species	: <i>Anadara granosa</i>

Tiram, kerang dan sejenisnya memiliki dua cangkang pada kedua sisi tubuhnya yang disebut katup. Cangkang terdiri dari dua bagian seperti pada Gambar 4, kedua cangkang tersebut disatukan oleh suatu sendi elastis yang disebut engsel (terletak pada permukaan dorsal). Bagian cangkang yang membesar atau menonjol di dekat sendi disebut umbo (bagian cangkang tertua). Di sekitar umbo terdapat garis konsentrasi yang menunjukkan garis interval pertumbuhan dan sel epitel luar mantel menghasilkan zat pembuat cangkang (Anggraini, 2016). Cangkang kerang terdiri dari tiga lapisan utama. Lapisan terluar disebut periostracum, yang merupakan lapisan tipis berbahan organik conchiolin dan seringkali tidak ditemukan di bagian umbo. Lapisan tengah, yaitu lapisan prismatic, terdiri dari kristal kapur (kalsium karbonat). Sementara itu, lapisan terdalam disebut nacreas, yang terbuat dari kristal kalsium karbonat dan memancarkan berbagai warna saat terkena cahaya, sehingga sering ra. Lapisan nacreas dihasilkan oleh seluruh permukaan mantel, eriostracum dan lapisan prismatic dihasilkan oleh tepi mantel





Gambar 3. Penampang melintang cangkang dan mantel kerang darah (*Anadara granosa*) (Rusyana, 2013)

1.6.4.2 Potensi Cangkang Kerang Darah Bahan Baku *Bone graft*

Cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) memiliki potensi yang signifikan sebagai bahan baku untuk bone graft karena kandungan kalsiumnya yang tinggi, mencapai sekitar 98%. Proses hidrotermal dapat digunakan untuk mengkonversi cangkang ini menjadi senyawa kalsium seperti hidroksiapatit (HA), trikalsium fosfat (TCP), dan kalsium karbonat (CaCO_3), yang semuanya memiliki sifat osteokonduktif dan osteoinduktif. Penelitian oleh Yonatasya *et al.* (2019), menunjukkan bahwa penggunaan *bone graft* yang terbuat dari senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah dapat meningkatkan proliferasi sel fibroblas, yang penting dalam proses penyembuhan tulang pasca pencabutan gigi. Selain itu, dalam penelitian oleh Divilia *et al.* (2016), menunjukkan bahwa cangkang kerang darah dapat meningkatkan adhesi sel, proliferasi, dan diferensiasi sel yang diperlukan dalam proses penyembuhan. Selain itu, cangkang kerang darah juga memiliki sifat biokompatibel dan bioaktif, yang memungkinkan interaksi yang baik dengan jaringan sekitarnya, sehingga dapat mendorong osteogenesis. Dengan memanfaatkan limbah cangkang kerang darah yang biasanya dibuang, kita tidak hanya meningkatkan nilai ekonomis dari sumber daya alam ini, tetapi juga memberikan solusi yang berkelanjutan untuk perawatan kerusakan tulang, terutama dalam konteks kedokteran gigi dan ortopedi.

1.6.4.3 Pengolahan Cangkang Kerang Darah Sebagai Bone Graft

Pengolahan cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai *bone graft* melibatkan beberapa langkah penting yang bertujuan untuk mengubah cangkang yang kaya kalsium karbonat (CaCO_3) menjadi hidroksiapatit (HAp), biomaterial yang sangat cocok untuk aplikasi implan tulang. Proses dimulai dengan persiapan bahan baku, di mana cangkang kerang dicuci untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan, serta sisa-sisa daging, kemudian dikeringkan dan dihaluskan menggunakan alat seperti penggilingan dan blender, serta diayak untuk mendapatkan ukuran partikel yang diinginkan. Biasanya dalam rentang 350 μm hingga 710 μm , untuk meningkatkan luas permukaan dan reaktivitasnya. Selanjutnya, cangkang yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam *furnace* untuk mengubah CaCO_3 menjadi kalsium oksida melalui proses pemanasan yang menghilangkan karbon dioksida (CO_2). Proses ini merupakan sintesis HAp, salah satunya dengan metode hidrotermal, di



mana CaO dicampurkan dengan larutan ammonium hidrogen fosfat ((NH₄)₂HPO₄) dalam rasio mol tertentu dan dipanaskan dalam vessel hidrotermal untuk memfasilitasi reaksi pembentukan HAp. Produk HAp yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi menggunakan teknik seperti FTIR, XRD, dan SEM-EDX untuk memastikan bahwa material tersebut memiliki sifat yang diinginkan. Hasilnya, HAp yang dihasilkan dari cangkang kerang darah memiliki sifat bioaktif dan biokompatibel, menjadikannya material yang baik untuk digunakan sebagai *bone graft*, yang dapat membantu dalam proses regenerasi tulang dan memperbaiki jaringan tulang yang rusak (Khoirudin *et al.*, 2015).

1.6.5 Radiografi Kesembuhan Tulang

Radiografi merupakan alat penunjang diagnostik yang telah berkembang pesat baik di dunia kedokteran manusia maupun di dunia kedokteran hewan dengan tujuan untuk kesejahteraan. Penggunaan sinar-x pada radiodiagnostik dalam dunia kedokteran hewan sangat menunjang dalam melakukan diagnosis. Secara tidak langsung, hal ini akan memberikan kontribusi terhadap radiasi pasien yang berasal dari sumber radiasi buatan. Kontribusi radiasi buatan akan menimbulkan efek biologis yang secara langsung maupun tidak langsung akan diderita oleh penerima radiasi. Penggunaan radiasi yang sembarangan tanpa memperhatikan bahayanya sangat merugikan banyak pihak yang ikut andil dalam radiografi. Sinar-X ditemukan oleh seorang fisikawan Jerman bernama Wilhelm Conrad Roentgen pada tanggal 8 November 1895, sehingga sinar-X ini disebut juga dengan Sinar Roentgen. Perkembangan Roentgen di Indonesia diawali oleh Dr. Max Herman Knoch seorang ahli radiologi berkebangsaan Belanda yang bekerja sebagai dokter tentara di Jakarta. Penggunaan sinar-x terus berkembang dari tahun ke tahun dan telah banyak digunakan dalam dunia kedokteran hewan sebagai sarana penunjang diagnosis (Ulum dan Noviana, 2008).

1.6.5.1 Radiografi Kesembuhan Fraktur Dengan dan Tanpa Implantasi *Bone Graft*

Radiografi penyembuhan fraktur memberikan visualisasi penting dari proses penyembuhan tulang, yang melibatkan beberapa fase, termasuk inflamasi, proliferasi seluler, dan remodeling. Penyembuhan fraktur dimulai dengan pembentukan hematoma akibat perdarahan di lokasi fraktur. Perdarahan ini memicu respons inflamasi lokal yang ditandai dengan migrasi sel-sel inflamasi, seperti makrofag, ke lokasi fraktur. Sel-sel ini melepaskan sitokin, yang memfasilitasi proliferasi fibroblas dan pembentukan jaringan granulasi. Tahap ini merupakan awal dari regenerasi jaringan lunak yang dikenal sebagai kalus lunak melalui mekanisme



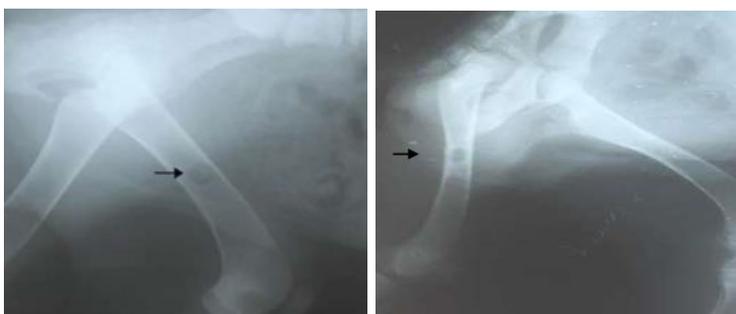
di. Pada tahap selanjutnya, jaringan kalus lunak ini mulai menjadi kalus keras melalui osifikasi intramembran. Proses ini diferensiasi sel punca mesenkim menjadi osteoblas yang membentuk tulang. Radiografi pada tahap ini menunjukkan pembentukan kalus dengan peningkatan kepadatan dan struktur tulang yang terlihat di area fraktur. Tahap akhir dari proses penyembuhan adalah kalus kasar secara bertahap digantikan oleh tulang lamelar

yang lebih teratur yang mampu menahan beban mekanis normal. Radiografi pada tahap ini menunjukkan struktur tulang yang mendekati kondisi sebelum cedera. Pada kasus non-union atau penyembuhan yang tertunda, radiografi sering menunjukkan tanda-tanda seperti pembentukan kalus yang tidak sempurna, fraktur yang tidak menyatu, atau ketidakstabilan mekanis pada lokasi fraktur (Harwood *et al.*, 2010).

Dalam dunia kedokteran hewan, penyembuhan fraktur merupakan suatu proses yang kompleks yang dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk metode pengobatan yang digunakan. Salah satu pendekatan yang banyak diteliti adalah penggunaan *bone graft* sebagai material tambahan untuk mempercepat proses penyembuhan tulang. Salah satunya dalam penelitian oleh Sudimartini *et al.* (2019), yang menunjukkan gambaran radiografi perbandingan kesembuhan tulang pasca penanganan fraktur dengan dan tanpa implantasi *bone graft* yang berasal dari tulang babi pada anjing sebagai berikut.



Gambar 4. Radiografis tulang femur anjing kelompok kontrol (Kiri) dan perlakuan (kanan) pada 24 jam pascaoperasi memperlihatkan adanya gambaran radiolusen pada tulang diafisis femur dengan diameter 1 cm. Belum terbentuknya pita kalus.

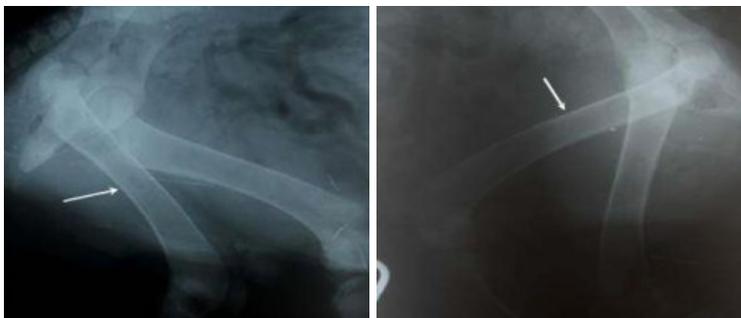


Gambar 5. Radiografis tulang femur anjing kelompok kontrol (kiri) dan Perlakuan (kanan) pada 2 minggu pasca operasi memperlihatkan adanya gambaran radiolusen pada diafisis femur dengan diameter 1 cm. Mulai terbentuknya pita kalus sekitar/tepi tulang yang dibor (fragmen yang hilang).





Gambar 6. Radiografi tulang femur anjing kelompok kontrol (Kiri) pada 4 minggu pascaoperasi memperlihatkan adanya gambaran radiolusen pada tulang diafisis femur dgn diameter 1 cm. Sudah terbentuknya pita kalus yang lebih tebal dengan gambar terlihat lebih radiopak pada semua individu. Sedangkan pada kelompok perlakuan (kanan), tulang sudah kembali seperti semula (normal).



Gambar 7. Radiografi tulang femur kiri kelompok kontrol (kiri) pada minggu kedelapan pasca operasi memperlihatkan fragmen tulang yang hilang (tanda panah) sudah hampir menyatu, ukuran kalus mengecil dan hampir menyerupai tulang normal. Sedangkan pada kelompok perlakuan (kanan) bahan cangkok sudah menyatu dengan tulang femur (tanda panah).

Berdasarkan pengamatan radiologis pada penelitian tersebut, pada minggu kedua setelah operasi, semua kelompok menunjukkan pembentukan kalus. Pada pemeriksaan radiologi, pembentukan kalus merupakan tanda awal penyembuhan fraktur, dengan mineralisasi yang mulai terlihat pada minggu ke-1 hingga ke-3. Proses ini dimulai dengan mineralisasi minimal, kemudian berkembang menjadi bony callus, dan secara bertahap trabekula terbentuk lebih teratur. Selama mineralisasi, ujung-ujung tulang secara bertahap membentuk selubung di dalam kalus dan unit



n kalus sangat penting dalam proses penyembuhan tulang untuk menyambung fragmen tulang yang rusak atau patah (19).

Keempat setelah operasi, pengamatan radiologi menunjukkan kelompok kontrol yang belum mengalami penutupan kalus secara menyeluruh. Hal ini disebabkan karena jarak yang jauh di antara fragmen tulang menghambat suplai darah ke lokasi tersebut, yang pada akhirnya memperlambat pembentukan kalus. Sebaliknya,

pada kelompok II yang diberi cangkok tulang, kalus terlihat lebih kompak dan memiliki gambaran radiopak yang lebih jelas. Hal ini disebabkan oleh degradasi bahan cangkok yang sudah mulai terjadi, meskipun belum sepenuhnya selesai (Sudimartini *et al.*, 2019). Temuan ini sejalan dengan penelitian Puricelli *et al.* (2010), yang melaporkan bahwa bone graft yang mengalami demineralisasi mulai terdegradasi dengan baik dalam waktu 30-60 hari setelah implantasi, meskipun mineralisasi tulang rawan belum sepenuhnya terjadi.

Pada minggu kedelapan setelah operasi, pengamatan radiologis menunjukkan bahwa fragmen tulang pada kelompok kontrol dan perlakuan telah menyatu kembali ke bentuk normalnya. Massa kalus yang terbentuk mengalami mineralisasi dan mulai diserap oleh tubuh, sehingga tulang tampak normal kembali. Penyembuhan fraktur yang sempurna ditandai dengan membaiknya sirkulasi darah pada area fraktur, yang mendukung pembentukan kalus dan mineralisasi. Kalus yang terbentuk diharapkan memiliki kekuatan dan stabilitas yang cukup untuk menyambung kedua fragmen tulang dan mempertahankan stabilitas tulang sementara (Sudimartini *et al.*, 2019).



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September 2024-Januari 2025 di Laboratorium Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Teknologi Proses Mineral Politeknik ATI Makassar. Penelitian ini melakukan dua kegiatan utama yaitu pembuatan *bone graft* dan uji coba pada hewan percobaan. Penelitian ini menggunakan sampel cangkang kerang darah (*Anadara granosa*). Proses sintering dari cangkang kerang darah akan dilakukan di Laboratorium Teknologi Proses Mineral Politeknik ATI Makassar, sementara proses sintesis dan implantasi *graft* akan dilakukan di Laboratorium Terpadu Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

2.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang akan dibahas secara deskriptif dengan melihat gambaran radiografi kesembuhan tulang pasca implantasi *graft* dari bahan baku cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) untuk penanganan fraktur. Dimana penelitian ini melakukan dua kegiatan utama yaitu pembuatan *bone graft* dan uji coba pada hewan percobaan.

2.3 Materi Penelitian

2.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu botol vial, lumpang alu, cawan porselin, kertas saring, gelas ukur, gelas beaker, mesin *furnace*, automatic stirrer, *magnetic stirrer*, PH digital, tabung reaksi, timbangan digital (@Mettler Toledo), Mesin Autoklaf, alat cukur, *kit bone drill*, *set orthopedic*, set bedah minor, spuit 1 cc, sarung tangan.

2.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu fosfor, amonium hidroksida (NH_4OH), *aquabidest*, hidrogen peroksida (H_2O_2), *diammonium hydrogen phosphate* ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), 1 Kg cangkang kerang darah (*Anadara granosa*), 12 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 200-250 gram berusia sekitar ± 3 bulan, *ketamine*, *xylazine*, *atropine sulfate*, *epinephrine*, tampon, *catgut chromic 3/0* (@Gea), *silk 3/0* (@OneMed), *povidone iodine*, Alkohol 70%, NaCl Steril.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Pembuatan *Bone Graft* Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*)



Material Sebelum Disintesis

Cangkang kerang darah yang digunakan diperoleh dari pasar lokal. Cangkang kerang darah pertama-tama dibersihkan dengan cara mencuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari. Setelah itu, cangkang kerang darah dipecah menjadi ukuran lebih kecil sekitar 2-3 cm dan selanjutnya

direndam dalam larutan H_2O_2 secara bertahap selama 2-4 hari dengan tujuan untuk deproteinisasi dan menghilangkan sisa kotoran dan jaringan di dalam kerang (Yusan *et al.*, 2024).

Cangkang kerang yang telah diproteinase akan menjadi lebih putih dan bersih secara bertahap dengan mengganti larutan H_2O_2 . Larutan H_2O_2 berfungsi sebagai oksidator, mengoksidasi pengotor-pengotor pada lapisan permukaan tulang dan membunuh bakteri yang menempel pada tulang. Proses ini memastikan bahwa cangkang yang akan digunakan dalam penelitian telah bebas dari kontaminan biologis dan siap untuk tahap selanjutnya dalam sintesis hidroksiapatit (Afifah dan Cahyaningrum, 2020).

2.4.1.2 Sintesis Hidroksiapatit (HA) Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*)

a. Sintering Tahap 1

Sintering bertujuan untuk meningkatkan kekuatan mekanik, mengoptimalkan porositas, dan meningkatkan biokompatibilitas dan stabilitas kimia. Proses ini dilakukan dengan memanaskan material pada suhu tinggi sehingga partikel-partikel menyatu melalui difusi, menghasilkan struktur yang lebih kuat dan lebih tahan terhadap degradasi. Selain itu, sintering memungkinkan kontrol terhadap ukuran pori, yang penting untuk osteointegrasi dan penetrasi sel tulang (Hadiwinata *et al.*, 2023).

Proses sintering ini juga membantu menghilangkan sisa pelarut atau zat pengikat yang dapat mengganggu biokompatibilitas bahan. Sintering dilakukan dengan menggunakan mesin *furnace* pada suhu 1000°C selama 2 jam dengan kenaikan suhu $10^\circ\text{C}/\text{menit}$. Selanjutnya, cangkang kerang dihaluskan lebih lanjut menjadi partikel yang lebih kecil sehingga diperoleh serbuk kalsit (CaCO_3) (Hadiwinata *et al.*, 2023).

b. Sintesis Hidroksiapatit

Serbuk kalsit yang telah diperoleh akan disintesis dengan menggunakan metode pemanasan basah yaitu dengan presipitasi. Suspensi kalsit sebanyak 25 mg dibuat dengan mencampurkannya dalam 250 ml aquabidest. Pada suhu 70°C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, lalu menambahkan fosfor dengan suspensi 100 ml *aquades* dengan konsentrasi 0,68 molar secara bertahap kedalamnya sambil terus diaduk selama 1 jam (Prayoga *et al.*, 2024).

Kondisi suhu dan pH saat proses sintesis dijaga agar tetap pada pH 8-9 dengan pemberian amonia secara bertahap. Hal ini bertujuan untuk untuk mengontrol kestabilan reaksi kimia, mencegah terbentuknya fase kalsium fosfat yang tidak diinginkan, serta memastikan kristalisasi hidroksiapatit yang optimal. Amonia berperan sebagai basa yang membantu menjaga keseimbangan ion dalam larutan,



reaksi berlangsung dengan baik dan menghasilkan hidroksiapatit serta struktur yang sesuai. Selanjutnya, larutan dibiarkan agar terbentuk endapan kalsit. Endapan kalsit kemudian disaring hingga terbentuk serbuk hidroksiapatit (Prayoga *et al.*, 2024).

Tahap II

Tahap II dilakukan dengan cara yang sama dengan sintering tahap kedua bertujuan meningkatkan kekuatan mekanik,

mengoptimalkan porositas, dan meningkatkan ikatan antarpartikel. Sintering tahap kedua juga membantu agar didapatkan struktur yang lebih homogen dan stabil, sehingga material memiliki sifat yang lebih sesuai untuk aplikasi implan tulang (Hadiwinata *et al.*, 2023).

Serbuk kalsit yang sudah disintesis dan disaring dидiamkan dan dikeringkan dengan menggunakan mesin autoklaf. Selanjutnya, serbuk kalsit tersebut dipanaskan kembali dengan mesin furnace selama 2 jam pada suhu 1000°C dengan kenaikan suhu 10°C/menit (Hadiwinata *et al.*, 2023). Selanjutnya, serbuk kalsit kemudian dimasukkan dan disimpan kedalam wadah vial sampai diaplikasikan dan diberi label GHA (*Granosa Hidroksiapatit*).

2.4.2 Uji Coba Pada Hewan Percobaan

2.4.2.1 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 200-250 gram, berusia sekitar ± 3 bulan, memiliki kondisi fisik yang sehat, dan tidak memiliki cacat anatomis digunakan sebagai kriteria. Sebelum perlakuan, tikus diaklimatisasi selama 10 hari untuk penyesuaian fisiologisnya. Dimana Tikus diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Adapun jumlah sampel ditentukan berdasarkan jumlah minimum dan maksimum hewan yang diperlukan untuk mendapatkan kekuatan statistik yang memadai, sesuai dengan desain ANOVA yang digunakan. Idealnya, jumlah minimum dan maksimum hewan yang diperlukan yaitu sebanyak 10-20 ekor untuk studi hewan. Dengan ini, jumlah hewan yang dibutuhkan dapat diminimalkan dengan tetap mendapatkan data yang valid dan andal, sehingga mendukung prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dalam penelitian hewan. Hal ini penting untuk memastikan kesejahteraan hewan dan mematuhi regulasi etis yang ada (Arifin dan Zahiruddin, 2017).

Berdasarkan jumlah minimum dan maksimum sampel untuk studi hewan yang diperlukan, sebanyak 12 ekor tikus putih kemudian secara acak dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu sebagai berikut.

K- : Kelompok kontrol negatif tanpa implantasi *bone graft*

K+ : Kelompok kontrol positif dengan implantasi *bone graft* komersil (*Batan Graft*)

KP : Kelompok perlakuan dengan implantasi *bone graft* cangkang kerang darah (GHA)

2.4.2.2 Operasi Implantasi

Sebelum operasi, area kaki belakang dicukur. Tikus dianestesi dengan *ketamine* 10% dosis 50 mg/kg bb dan *xylazine* 2% dosis 5 mg/kg bb secara intramuskular. Prosedur bedah dilakukan secara aseptis dan steril dengan *povidone*



kulit area femur sampai terlihat *m. vastus lateralis*, *m. vastus* n dikuakkan hingga mencapai tulang femur (Erwin *et al.*, 2020).

bagian diafisis dilubangi menggunakan mata bor berdiameter *ne graft* dimasukkan ke dalam lubang tersebut sesuai luas defek *l'usculus* dan *fascia* dijahit menggunakan benang *catgut chromic* ola jahitan *simple interrupted suture*. Kulit dijahit menggunakan

benang *silk 3/0* (®OneMed) *simple continuous suture*. Luka area bedah dibersihkan dengan NaCl 0,9% (Erwin *et al.*, 2020).

2.4.2.3 Koleksi Sampel

Proses pengambilan sampel dilakukan pada kaki tikus, dimulai dari bagian proksimal tulang femur (*caput femur*) hingga ke bagian distal. Pengambilan sampel dilakukan dengan hati-hati untuk memastikan seluruh struktur tulang tetap utuh sesuai dengan anatomi aslinya. Penanganan yang hati-hati diperlukan untuk menghindari kerusakan yang dapat mempengaruhi hasil analisis.

Setelah persiapan selesai, sampel ditempatkan pada posisi lateral pada pelat radiografi untuk pengambilan gambar *X-ray*. Posisi ini dipilih agar visualisasi struktur tulang lebih jelas dan detail sesuai dengan posisi defek tulang yang dibuat, sehingga analisis dapat dilakukan secara akurat. Pencitraan yang akurat diperlukan untuk mendeteksi perubahan struktur, variasi kepadatan, serta potensi kelainan pada area defek tulang yang dianalisis.

2.4.3 Pengambilan Gambar dan Skoring Radiografi

Kaki tikus diposisikan dalam posisi rebah kesamping (*lateral recumbency*) untuk memastikan visualisasi optimal dari area defek tulang. Pencitraan dilakukan dengan menggunakan mesin *X-ray* untuk mendapatkan gambaran yang jelas tentang struktur defek tulang. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengevaluasi perkembangan penyembuhan tulang di lokasi defek setelah implantasi.

Hasil pencitraan radiografi dianalisis dengan mengamati berbagai indikator perbaikan tulang, seperti pembentukan tulang, penyatuan radiografi, penyerapan implan dan remodeling struktur tulang. Setiap hasil pengamatan kemudian diberi skor sesuai dengan tingkat perbaikan yang terjadi. Evaluasi radiografi dilakukan pada minggu ke-2 dan ke-4 setelah implantasi di *Makassar Pet Clinic* untuk memantau perkembangan penyembuhan tulang secara bertahap.



Tabel 2. Skoring Sistem untuk Evaluasi Penyembuhan Fraktur dari Defek Tulang pada Radiografi (Oryan *et al.*, 2015).

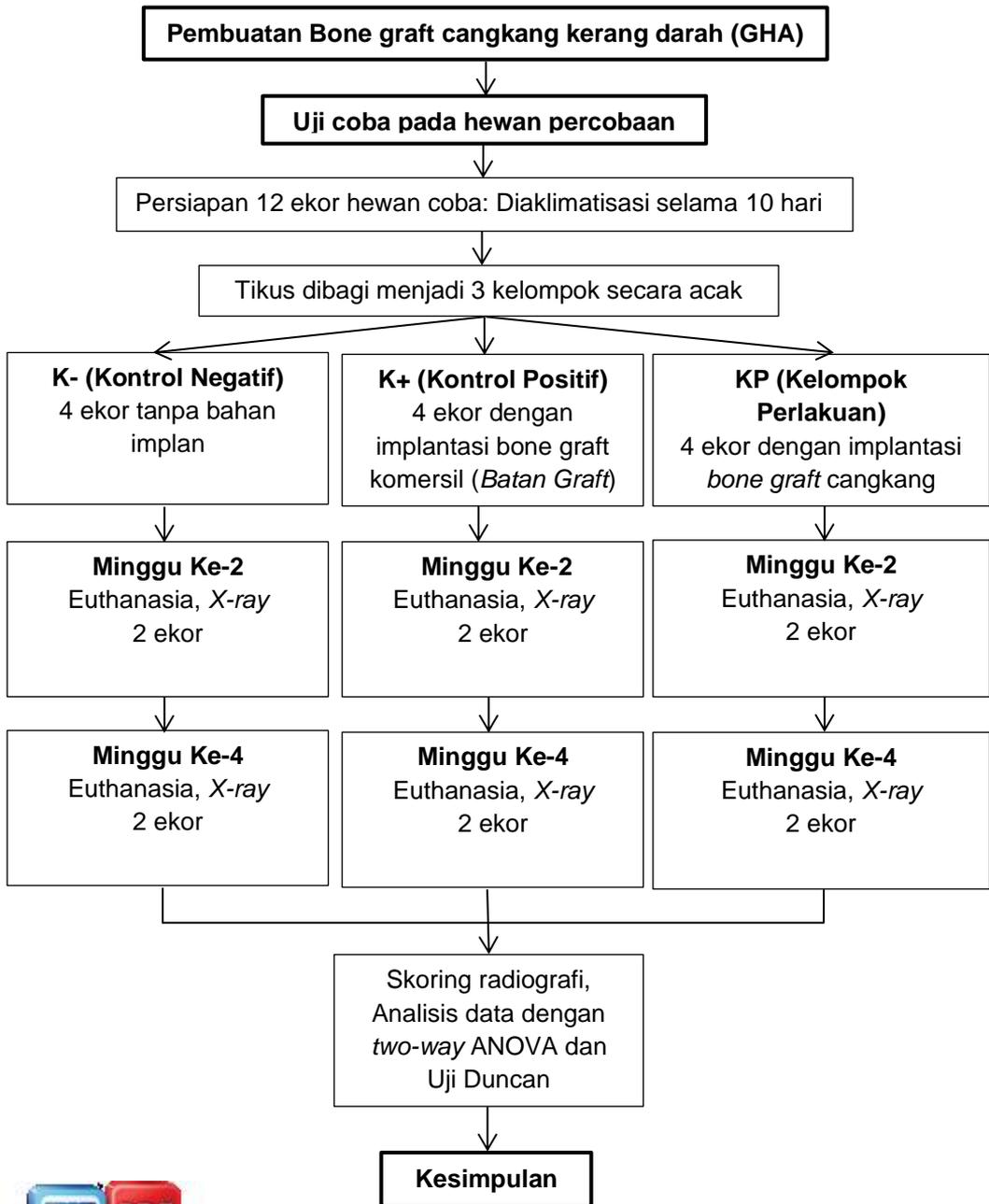
No.	Kriteria		Skor
1	Pembentukan Tulang	Tidak ada tanda pembentukan tulang	1
		Pembentukan tulang mencapai 25% dari defek	2
		Pembentukan tulang mencapai 50% dari defek	3
		Pembentukan tulang mencapai 75% dari defek	4
2	Total penyatuan radiografi	Tidak menyatu	1
		Ada kemungkinan menyatu	2
		Penyatuan radiografi	3
		Tidak adanya garis fraktur	7
3	Penyerapan implan	Tidak ada tanda penyerapan	1
		Penyerapan ringan	2
		Penuh	3
4	Remodeling	Tidak ada remodeling	1
		Remodeling kanal intrameduler	2
		Penuh	3

2.5 Analisis Data

Hasil radiografi kemudian dinilai dan dianalisis dengan uji *Two-Way ANOVA* dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 29.0 dan jika hasil analisisnya berdistribusi normal, uji dilanjutkan dengan uji *Duncan*.



2.6 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

