

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur dan Biologi Dasar Tulang

Tulang merupakan jaringan penghubung yang terdiri dari fase mineral dan organik yang secara khusus dirancang untuk berperan sebagai struktur penahan beban tubuh. Untuk memenuhi tugas ini, tulang dibentuk dari kombinasi tulang kompak yang padat dan tulang kanelus. Fase mineral dari kerangka berkontribusi dalam dua per tiga dari berat kerangka, dan sepertiganya adalah matriks organik, yang terutama mengandung kolagen tipe I dan sejumlah kecil protein non-kolagen.⁹

Tulang itu sendiri merupakan jaringan yang termineralisasi dengan tiga tipe sel yang berbeda: osteoblas, osteosit dan osteoklas.¹⁰ Jaringan ini terdiri atas: sel-sel dan matriks organik yang termineralisasi (kolagen, non-kolagen protein dan proteoglikan).² Tulang mengandung sekitar 65% mineral yang kebanyakan adalah hidroksiapatit, 25% matriks organik, dan 10% air. Kandungan kolagennya sebanyak 90% dari fase organik dan 10% sisanya mengandung proteoglikan dan protein non-kolagen. Di antara kandungan-kandungan tersebut terdapat komponen-komponen spesifik tulang, yaitu osteokalsin dan osteopontin. Osteokalsin diproduksi oleh osteoblas dan konsentrasi serumnya dianggap mencerminkan pembentukan tulang, sedangkan osteopontin kemungkinan berperan dalam perlekatan sel, khususnya osteoklas.¹¹

2.1.1 Sel – Sel Tulang

2.1.1.1 Sel Osteoprogenitor

Sel osteoprogenitor merupakan sel yang belum berdiferensiasi, berasal dari jaringan ikat mesenkim.¹² Sel ini memiliki daya mitotik dan kemampuan untuk berkembang menjadi dewasa. Sel ini biasanya ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, pada endosteum, dan dalam saluran vaskular dari tulang kompak.^{12, 13} Ada 2 jenis sel osteoprogenitor, yaitu:¹²

- 1) Preosteoblas → memiliki sedikit retikulum endoplasma dan akan menghasilkan osteoblas.
- 2) Preosteoklas → mengandung lebih banyak mitokondria dan ribosom bebas dan menghasilkan osteoklas.

2.1.1.2 Osteoblas

Osteoblas adalah sel mononukleat datar yang berasal dari *stem cells* mesenkimal.^{1,14} Osteoblas bertanggung jawab untuk osteogenesis dan pembentukan matriks tulang baru.^{9,14} Konstituen utama dari matriks ini adalah kolagen tipe I, tipe V dan sejumlah kecil proteoglikan serta beberapa protein nonkolagenous. Pada membran luar osteoblas terdapat kandungan fosfatase alkali, dimana enzim ini dapat memecah ikatan fosfat secara organik. Lalu fosfat yang dibebaskan ini akan berkontribusi terhadap inisiasi dan pertumbuhan progresif dari kristal mineral tulang.⁹

Osteoblas menghasilkan berbagai macam sitokin yang membantu meregulasi metabolisme sel. Faktor kunci pada kecepatan pertumbuhan sel tulang adalah perluasan jumlah faktor pertumbuhan dari osteoblas, prekursor, atau keduanya. Osteoblas menghasilkan sejumlah *bone morphogenetic protein* (BMP) *superfamily*, yaitu BMP-2, BMP-7, dan perubahan pertumbuhan faktor β , dengan tambahan *insulin-like growth factors* (IGF-I dan IGF-II), *platelet-derived growth factors* (PDGF), dan *fibroblastic growth factors* (FGF). Walaupun waktu dari sekresi dan interaksi kompleks pada faktor pertumbuhan ini masih harus diklarifikasi lagi, kombinasi IGF-I, TGF- β , dan PDGF meningkatkan kecepatan dari formasi tulang dan perbaikan tulang, serta berguna dimasa yang akan datang pada terapi dental. Kombinasi ini dapat digunakan untuk kecepatan penyembuhan dan peryumbuhan tulang setelah *periodontal surgery* atau untuk mencegah penyakit periodontal pada perawatan awal dari poket periodontal.¹⁴

2.1.1.3 Osteosit dan Sel Tulang Tepi

Osteosit merupakan osteoblas dewasa yang melekat dalam matriks tulang dan juga berkontribusi dalam produksi tulang. Osteosit relatif merupakan sel yang tidak

aktif, namun penekanan aktivitas metabolik mereka penting dalam viabilitas sel dan untuk memelihara homeostasis (pemeliharaan kondisi internal yang konstan dalam tubuh). Proses kompleks dari homeostasis diatur oleh interaksi fisiologik diantara sel, jaringan, organ dan faktor pemberi tanda seperti hormon dan faktor pertumbuhan. Vitalitas tulang dipastikan melalui sebuah jaringan dari proses sitoplasmik osteositik yang melewati kanalikuli (jaring-jaring dari saluran interkoneksi yang melalui tulang). Sistem ini memungkinkan osteosit untuk berinteraksi melalui *gap junction* dan membiarkan transmisi sinyal ke osteoblas dan dari osteoblas ke osteosit. Interaksi utamanya adalah diantara osteoblas dengan osteosit, dan terkadang dengan osteoklas. Jangka waktu hidup osteosit pada manusia adalah beberapa tahun hingga beberapa dekade.¹

Sel tulang tepi masih merupakan keluarga osteoblas yang memiliki tugas untuk mengontrol pergantian ion antara ruang ekstraselular dengan cairan tulang. Sel tepi juga berfungsi untuk menjaga hubungan sitoplasmik dengan osteosit yang berada di bawahnya melalui *gap junction* antara proses sitoplasmik. Selain itu sel tepi juga bertanggung jawab untuk melepaskan faktor pengaktivasi osteoklas dan dengan kontraksi aktif, dimana diperkirakan untuk memaparkan permukaan tulang sehingga menjadi tempat perlekatan osteoklas.¹

2.1.1.4 Osteoklas

Osteoklas adalah sel multinukleat berdiameter hingga 100 μm , dengan jumlah rata-rata nukleus sebanyak 10-12 dan berasal dari prekursor makrofag-granulotik yang ditemukan dalam sumsum tulang.¹ Diameter selnya bervariasi dari 30 hingga 100 μm . Osteoklas terdapat di sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, *remodeling* dan perbaikan tulang.¹³ Berbeda dengan makrofag polikaryon, osteoklas memiliki batas yang berkerut (*ruffled border*) yang berfungsi untuk membangun wilayah resorptif dari osteoklas dimana terjadi penghancuran enzimatik pada permukaan tulang.¹

Zona perlekatan antara batas berkerut dan tulang mengisolasi permukaan lingkungan mikro, menyediakan enzim tambahan, seperti karbonik anhidrase untuk

menurunkan pH, lalu membangun solubilisasi dari matrik inorganik dari kalsium dan phosphatase dan memaparkan matriks organik pada enzim proteolitik ini. Mengikuti proses selular dari konstituen organik, terbentuklah kavitas resorptif, yaitu lakuna Howship.¹

2.2 Proses *Remodeling* Tulang

Tulang secara konstan mengalami *remodeling* dimana merupakan proses yang kompleks yang mengikutsertakan resorpsi tulang pada beberapa permukaan, lalu diikuti oleh fase pembentukan tulang (Gambar 2.1). Pada orang dewasa normal, terdapat keseimbangan antara jumlah tulang yang diresorpsi oleh osteoklas dan yang dibentuk oleh osteoblas. *Remodeling* tulang muncul dalam paket kecil sel yang disebut *basic multicellular units* (BMUs), dimana mengubah tulang dalam permukaan tulang *multiple* (Frost 1991).

Konsep terbaru dari *remodeling* tulang adalah berdasarkan hipotesis dimana prekursor osteoklasik menjadi teraktivasi dan berdiferensiasi menjadi osteoklas dan memulai proses resorpsi tulang. Tahap ini akan diikuti oleh fase pembentukan. Tanda-tanda yang mengawali *remodeling* tulang belum dapat diidentifikasi, namun bukti yang ada menunjukkan jika tekanan mekanik dapat mengubah struktur lokal tulang. Saat ini, telah diketahui bahwa tekanan mekanik dapat dirasakan oleh osteosit dan sel-sel ini akan mensekresi faktor parakrin seperti *insulin-like growth faktor* (IGF)-I sebagai respon terhadap tekanan mekanik. Urutan dari *remodeling* tulang pada keadaan normal selalu sama yaitu resorpsi tulang oleh osteoklas, fase reversal, diikuti oleh pembentukan tulang oleh osteoblas untuk memperbaiki defek.

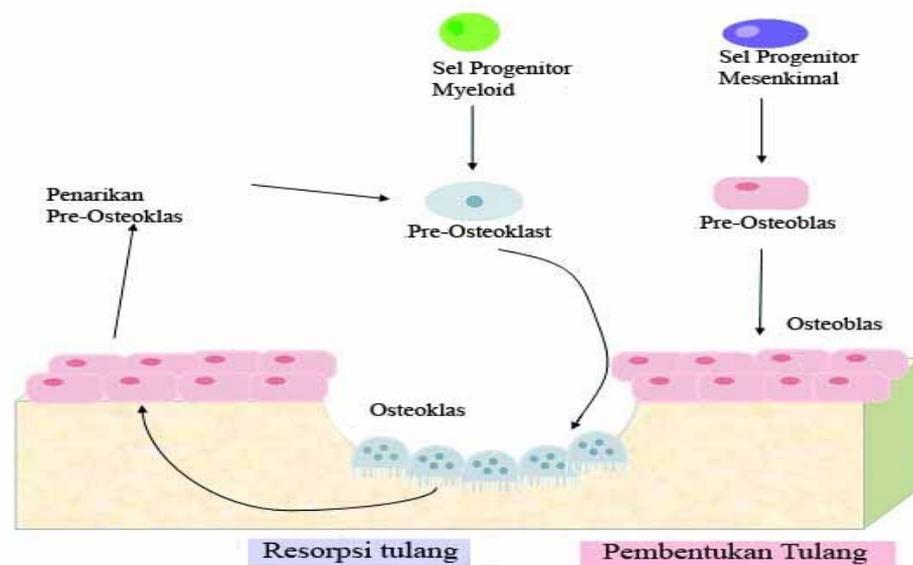
Resorpsi tulang mengikutsertakan beberapa tahap yang langsung mengarah pada pembuangan baik mineral dan konstituen organik dari matriks tulang oleh osteoklas, dibantu oleh osteoblas. Tahap pertama adalah pengerahan dan penyebaran progenitor osteoklas ke tulang melalui aliran darah. Sel-sel progenitor ini berasal dari jaringan hemopoietik seperti sumsum tulang dan disebut sebagai prekursor osteoklas. Selanjutnya sel-sel prekursor osteoklas tersebut akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi osteoklas. Selama resorpsi, osteoklas melepaskan faktor lokal

dari tulang, dimana faktor lokal tersebut memiliki dua efek, yaitu inhibisi fungsi osteoklas dan stimulasi aktivitas osteoblas.

Aktivasi resorpsi tulang oleh osteoklas terjadi karena produksi ion hidrogen dan enzim proteolitik dalam lingkungan yang terlokalisasi dibawah tepi yang berkerut dari sel. Sitokin yang mendorong aktivitas osteoklas berperan dalam meningkatkan jangka waktu hidup osteoklas dan faktor yang menghambat aktivitas osteoklas, muncul sebagai pemicu apoptosis osteoklas dan memblok pembentukan osteoklas dan resorpsi tulang. Akhirnya saat osteoklas menyelesaikan siklus resorptif, mereka akan mensekresikan protein yang nantinya akan menjadi substrat untuk perlekatan osteoblas.

Setelah resorpsi selesai, maka akan dilanjutkan dengan pembentukan tulang. Pembentukan tulang ini diawali dengan penarikan kemotaktik osteoblas atau prekursornya ke daerah defek resorpsi. Proses ini dimediasi oleh faktor lokal yang diproduksi selama proses resorpsi, salah satunya adalah TGF- β . Selanjutnya terjadi proliferasi prekursor osteoblas yang dimediasi oleh faktor pertumbuhan yang juga dilepaskan selama proses resorpsi tulang berlangsung. Faktor-faktor pertumbuhan tersebut adalah TGF- β dan beberapa faktor pertumbuhan yang terdapat dalam matriks tulang dan menstimulasi proliferasi sel osteoblas, termasuk IGF-I dan II, *fibroblast growth factors* (FGFs) dan *platelet derived growth faktor* (PDGF).

Peristiwa selanjutnya adalah diferensiasi prekursor osteoblas menjadi sel dewasa. Beberapa faktor pertumbuhan yang berasal dari tulang akan membentuk tanda yang menunjukkan bahwa osteoblas telah terdiferensiasi, hal ini termasuk ekspresi aktivitas fosfatase alkali, kolagen tipe I dan osteokalsin. Osteoblas yang sudah matang akan berkumpul pada dasar kavitas resorpsi dan membentuk osteoid dan terjadi mineralisasi. Osteoblas akan terus membentuk dan melakukan mineralisasi osteoid hingga kavitas terisi. Waktu yang diperlukan kavitas terisi hingga permukaan adalah 124-168 hari pada individu yang normal.²



Gambar 2.1 Proses *Remodeling* Tulang

(Gambar Proses Remodeling Tulang Diambil dari Osteoblastos e formação óssea, <http://www.spreumatologia.pt>)

2.3 *Graft* Tulang

2.3.1 Mekanisme *Graft* Tulang

Terdapat tiga proses berbeda yang berkaitan dengan keberhasilan *grafting* tulang, yaitu osteogenesis, osteoinduksi dan osteokonduksi. Osteogenesis adalah pembentukan dan pertumbuhan tulang. *Graft* osteogenik berasal dari jaringan yang terlibat dalam pertumbuhan dan perbaikan tulang. Sel osteogenik dapat mendorong pembentukan tulang dalam jaringan lunak atau mengaktifasi pertumbuhan tulang yang lebih cepat pada area tulang.

Osteoinduksi adalah aksi atau proses penstimulasian osteogenesis. *Graft* osteoinduktif dapat digunakan untuk meningkatkan regenerasi tulang, dan tulang dapat bertumbuh atau membesar ke dalam area dimana pertumbuhan tidak ditemukan normal. Osteokonduksi menyediakan matriks fisik atau *scaffold* yang memadai untuk deposisi tulang baru. *Graft* osteokonduktif kondusif untuk pertumbuhan tulang dan membiarkan aposisi tulang dari tulang yang sudah ada, namun mereka tidak

memproduksi pembentukan tulang saat ditempatkan di dalam jaringan lunak. Untuk mendorong pertumbuhan tulang melewati permukaannya, *graft* osteokonduktif memerlukan kehadiran tulang yang sudah ada atau sel mesenkim yang terdiferensiasi. Semua material *grafting* tulang memiliki paling tidak salah satu dari tiga pola aksi tersebut.¹

2.3.2 Jenis – jenis *Graft* Tulang

2.3.2.1 *Graft* Tulang *Autogenous*

Graft tulang *autogenous* juga dikenal sebagai *autografts* atau *self-grafts*, merupakan jaringan *grafts* yang diambil dari individual yang sama. *Fresh autogenous grafts* adalah materi *graft* tulang yang paling ideal. *Graft* ini unik, karena merupakan satu-satunya *graft* yang mempunyai *supply living*, serta *immunocompatible*.³

Graft tulang *autogenous* menyembuhkan perumbuhan tulang melalui proses osteogenesis, osteoinduksi dan osteokonduksi. Tulang *autogenous* dapat diambil dari *iliac crest* atau area intraoral (seperti simfisis mandibular, *tuberositas* maksila, ramus dan eksostoses). Resorpsi yang mengikuti transplantasi dilaporkan lebih sedikit dengan *graft* tulang mandibular dibandingkan dengan *graft iliac crest*. Bone *graft* yang diperoleh secara intraoral umumnya lebih kecil menghasilkan keadaan yang tidak sehat. Namun, daerah donor intraoral menyediakan volume tulang yang lebih kecil dibandingkan dengan *iliac crest*. Daerah donor biasanya tergantung pada volume dan tipe tulang yang diinginkan dan diperlukan.¹

Tulang *autogenous* memiliki sifat osteogenik yang tinggi dan sangat baik memenuhi persyaratan *grafting* dental untuk menyediakan penyangga untuk regenerasi tulang. Namun, kerugiannya adalah memerlukan daerah operatif kedua, menghasilkan keadaan yang tidak sehat bagi pasien dan kemungkinan tidak dapat menghasilkan jumlah material yang dibutuhkan (terutama dari daerah intraoral), sehingga memacu perkembangan *allograft* dan *alloplast* sebagai material *grafting* alternatif.¹

2.3.2.2 *Graft* Tulang Allogenik

Graft tulang allogenik disebut juga *allografts* atau *homografts*. *Graft* allogenik merupakan *graft* yang didapat dari individu lain dari spesies yang sama.³ Tulang *allograft* diperoleh dari kadaver, kerabat yang masih hidup dan orang lain yang tidak memiliki hubungan kekerabatan yang masih hidup. Bentuk utama dari *allograft* adalah *frozen*, *freeze dried* dan tulang yang diradiasi.¹

Graft tulang allogenik tidak memiliki sifat osteogenik sehingga pembentukan tulang memakan waktu yang lebih panjang dan menghasilkan volume yang lebih kecil dibandingkan dengan yang ditemukan dengan *graft autogenous*.¹ Beberapa keuntungan *allograft* adalah telah tersedia material *graft*, eliminasi kebutuhan untuk daerah donor, mengurangi anestesia dan waktu bedah, mengurangi kehilangan darah dan beberapa komplikasi.³ Kerugiannya berkaitan dengan penggunaan jaringan dari individu lain, sehingga tulang yang ditransplantasi tersebut dapat menginduksi respon imun host. Selain itu juga, telah terdapat laporan bahwa terjadi transmisi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) melalui penggunaan *allograft* dan kualitas *graft* tulang dan kelangsungan kesehatan resipien bergantung pada sejarah medis donor.^{1,2}

2.3.2.3 *Graft* Tulang Xenogenik

Juga dikenal dengan sebutan *xenografts* atau *heterografts*. *Graft* xenogenik diambil dari satu spesies dan digraftkan pada yang lain. Spesies yang biasa digunakan adalah sapi muda.^{10,15} *Graft* tulang ini telah digunakan sejak abad ke-17. *Graft* xenogenik sebaiknya digunakan sebagai material untuk mengisi defek yang kecil pada rahang dan klinisi pada umumnya telah menegaskan bahwa *graft* ini tidak memberikan efek osteogenik tetapi terjadi pembentukan matriks dari pertumbuhan tulang baru dengan proses penyembuhan tulang yang berjalan lambat.¹⁰ Antigenisitasnya lebih besar dibanding *graft* allogenik. Matriks organik dari tulang xenogenik memiliki antigen yang tiak sama dengan tulang manusia. *Graft* ini jarang digunakan pada oral dan operasi *maxillofacial*. Keuntungan dari *graft* ini tidak membutuhkan operasi pada tempat lain dari host, dan dapat diperoleh tulang dalam jumlah yang besar. Kerugian dari *graft* ini tidak dapat menghasilkan sel-sel hidup dalam proses osteogenesis.

2.3.2.4 *Graft Tulang Alloplast*

Material *alloplastik* tersedia dalam beragam tekstur, ukuran dan bentuk. Berdasarkan porositasnya, *alloplast* dapat diklasifikasikan sebagai padat (*dense*), makroporus atau mikroporus dan juga dapat sebagai kristalin atau amorfus. Yang termasuk pengganti tulang adalah material tulang porus yang berasal dari *bovine*, keramik kalsium *fosfat* sintetik (HA dan TCP), kalsium karbonat, polimer *hard tissue replacement* (HTR), keramik kaca bioaktif dan faktor pertumbuhan, sitokin dan BMPs.¹

Alloplast yang paling sering digunakan adalah *xenograft* (tulang *bovine*), material kalsium *fosfat* sintetik (HA dan TCP) dan material yang berasal dari sumber alami (koral). Mekanisme dari material-material ini adalah osteokonduksi. Material-material ini digunakan untuk merekonstruksi defek tulang dan menggantikan *ridge* alveolar yang teresorpsi dengan menyediakan penyangga untuk meningkatkan perbaikan dan pertumbuhan jaringan tulang.¹

2.4 Kandungan Pasta *Graft Tulang* Hasil Produksi BATAN

2.4.1 *Xenograft*

Xenograft merupakan *graft* tulang yang diambil dari spesies lain (sapi) dan digraftkan pada spesies lainnya. Spesies yang biasa digunakan, yaitu sapi muda, babi.² Bahan yang digunakan pada pasta *graft* tulang yang diproduksi oleh BATAN adalah *bovine* (sapi muda) yang didemineralisasi. *Bovine xenograft* yang telah didemineralisasi adalah bahan *graft* yang telah mengalami pembersihan semua komponen bahan organik dan patogennya. *Graft* ini bertindak sebagai *scaffold* untuk mendukung pertumbuhan jaringan baru dan selanjutnya akan digantikan dengan jaringan host.¹⁶

2.4.2 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) adalah senyawa inorganik $(Ca_3(PO_4)_2)_3 \cdot Ca(OH)_2$ yang ditemukan dalam matriks tulang dan gigi yang memberikan kekuatan pada struktur tersebut.³ Senyawa yang memiliki formula kimia seperti ini diproduksi untuk digunakan sebagai suplemen kalsium dan membantu prostetik. Senyawa ini juga disebut hidroksilapatit. HA berjumlah 95 % dari berat enamel, sedangkan pada dentin hanya satu per sepuluh dari jumlah yang terdapat pada enamel.¹⁷

Penggunaan HA sebagai material *graft* telah dipelajari baik pada hewan maupun manusia dengan menggunakan mikroskop cahaya. Mayoritas penelitian dengan hewan menunjukkan adanya pembentukan tulang dan sebagian lagi menunjukkan pembentukan jaringan penghubung. Hal tersebut juga dilaporkan terjadi pada manusia.¹⁸ Sebagai material alternatif *graft* tulang *autogenous*, HA telah mendapat perhatian khusus, karena memiliki struktur yang stabil, biokompatibilitas yang baik dan cepat bergabung dengan jaringan tulang. Selain itu, hidroksiapatit juga dapat diperoleh tanpa ada batasan kuantitas dan bentuk, tidak menunjukkan respon penolakan imun, dan memiliki sifat osteokonduktif.⁴

2.4.3 Kitosan

Kitin adalah polisakarida linear dari β -(1-4)-2 acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose yang seluruhnya terdiri dari kelompok acetamido $-NH-COCH_3$. Hal ini disebut asetilisasi penuh. Kitosan merupakan polimer linear dari β -(1-4)-2 acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose dimana semua residu terdiri dari kelompok amino $-NH_2$. Hal ini disebut deasetilasi penuh. Dalam kenyataannya, rentang deasetilasi umumnya 70-90%.

Kitosan telah diteliti secara luas sebagai biomaterial. Telah dilaporkan bahwa Kitosan meningkatkan rasio penyembuhan luka, *wound strength*, mendukung pertumbuhan sel dan memberikan hasil yang baik dalam aplikasi pada bidang *tissue engineering*.⁶

2.4.4 *Hydroxypropylmethylcellulose* (HPMC)

HPMC merupakan bahan semisintetik, non-reaktif (tidak terpengaruh oleh reaksi kimia dan biologi), polimer viskoelastis yang digunakan sebagai pelumas *ophthalmik*, salah satu bahan yang digunakan dalam medikamen oral yang ditemukan disejumlah produk komersil. HPMC ini dapat berupa bubuk atau butiran berwarna putih yang akan mengembang di air untuk menghasilkan larutan koloid yang kental, dan bersifat non ionik. HPMC ini akan larut secara perlahan didalam air dingin, tidak dapat larut pada air panas, larut pada kebanyakan bahan pelarut polar, tidak larut pada alkohol yang tidak mengandung air, eter, dan kloroform. Fungsi HPMC, yaitu:¹⁹

1. Dalam makanan → digunakan sebagai emunisi, agent pengental, stabilisator, sebagai gel, *film former*, koloid protektif, barier lemak, agen suspensi pada produk makanan.
2. Dalam farmasi → *drug carrier*, *coating agent*, *tableting agent*, emunisi pada pembuatan salep.

2.5 Kultur Sel

Sel adalah massa protoplasmik kecil yang membentuk jaringan terorganisasi, mengandung nukleus yang dikelilingi oleh sitoplasma yang mengandung berbagai macam organel dan dilindungi di dalam sel atau membran plasma.²⁰ Pengkulturan sel pertama kali dilakukan oleh Harrison pada tahun 1907. Kultur sel adalah suatu proses dimana sel prokariotik, eukariotik atau sel tanaman yang dikembangkan dalam kondisi yang terkontrol.²¹ Sel kultur merujuk kepada sebuah kultur yang berasal dari sel yang dipisahkan dari jaringan asal, dari kultur primer atau dari *cell line* atau *cell strain* dengan cara enzimatik, mekanikal atau penguraian kimia.²² Dengan pengkulturan sel maka kita dapat mempelajari banyak *cell lines*, kita dapat pula memperoleh sel percobaan yang bereplikasi secara identik karena lingkungan pertumbuhan sel dapat terkontrol, sehingga variansi analisa statistik dapat berkurang. Selain itu pengkulturan sel juga tidak memerlukan banyak pekerja untuk melakukannya dan biaya yang diperlukan juga rendah. Namun, kultur sel juga memiliki beberapa kekurangan seperti kondisi kultur sel yang harus selalu aseptik,

karena sel hewan tumbuh lebih lambat dibandingkan dengan kontaminan, seperti bakteri dan jamur sehingga sangat rentan terjadi kontaminasi.^{22,23}

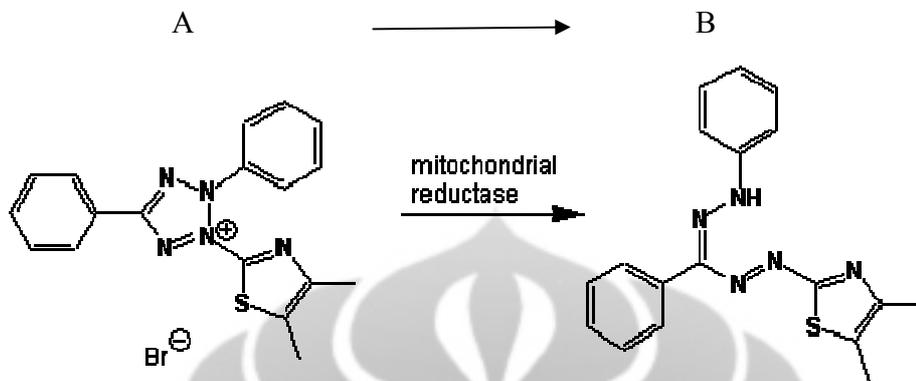
Secara teori, sel tipe apapun dapat dikultur, namun tidak semua sel mampu bertahan di dalam lingkungan buatan yang dikenal sebagai media kultur. Media kultur ini harus mengandung sumber energi yang mencukupi bagi sel. Media kultur sangat bervariasi dalam kandungan konsentrasi glukosa, faktor pertumbuhan, pH dan komponen nutrisi lainnya. Selain itu untuk menjaga pertumbuhan sel juga diperlukan temperatur dan pencampuran gas yang tepat.^{22,23}

2.6 Viabilitas Sel

Viabilitas adalah kemampuan untuk hidup setelah lahir.²⁰ Berbagai macam *assay* telah dikembangkan untuk mempelajari viabilitas dan proliferasi dalam populasi sel. *Assay* yang modern yang paling tepat adalah *assay* dengan format *microplate* (96-well plates). Parameter yang paling penting dalam *assay microplate* ini adalah aktivitas metabolik. Kerusakan selular pasti akan menghasilkan hilangnya kemampuan sel untuk mengatur dan menyediakan energi untuk fungsi metabolik dan perkembangan sel. Berdasarkan alasan inilah maka *assay* aktivitas metabolik dikembangkan. Salah satu metode dari *assay* aktivitas metabolik adalah dengan menggunakan substrat *colorimetric* MTT.²⁴

MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] *assay* adalah tes laboratorium dan *assay colorimetric* standard (sebuah *assay* yang mengukur perubahan warna) untuk mengukur pertumbuhan selular. Tes ini juga digunakan untuk menentukan sitotoksitas dari agen medikal dan material toksik lainnya.²² *Assay* ini pertama kali diperkenalkan oleh Mosmann pada tahun 1983 dan didasarkan oleh enzim dehidrogenase mitokondrial sel *viable* (hidup) yang mengubah cincin tetrazolium MTT kuning dan membentuk kristal formazan biru gelap yang tidak dapat menembus membrane sel, sehingga akan terakumulasi di dalam sel yang masih hidup. Jumlah dari sel yang bertahan hidup seimbang dengan tingkat pembentukan formazan. Perubahan warna yang terjadi dapat dihitung dengan

menggunakan *assay colorimetric* sederhana, dibaca dengan menggunakan *microplate reader*.²⁵



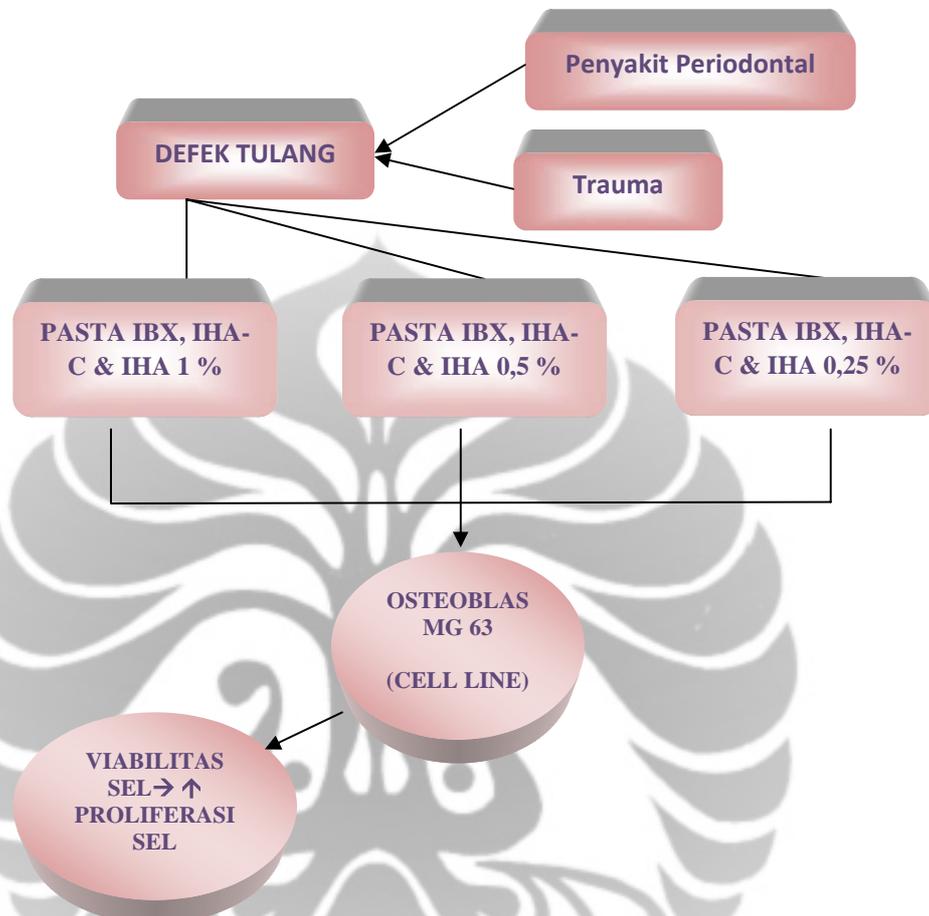
Gambar 2.2 Reaksi Pembentukan Kristal Formazan. A adalah struktur Tetrazole, sedangkan B adalah Kristal Formazan.

Hasil pembacaan *microplate reader* yang berupa nilai absorbansi (OD) dinyatakan dalam persentase terhadap kelompok kontrol sebagai viabilitas osteoblas *cell line* dengan menggunakan rumus dari *In vitro Technologies* sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas Sel (\% dari Kontrol)} = \frac{\text{Nilai absorbansi kelompok Perlakuan}}{\text{Nilai absorbansi kelompok Kontrol}}$$

Jika persentase viabilitas sel lebih kecil dari 100%, maka material yang dipaparkan pada sel tersebut dikatakan bersifat toksik.²⁵

2.7 Kerangka Teori



Keterangan: Pada defek tulang yang besar dapat disebabkan oleh penyakit periodontal dan trauma, memerlukan bahan substitusi tulang untuk pertumbuhan tulang baru. Dalam hal ini, pemberian pasta IBX, IHA-C, dan IHA diharapkan dapat menstimulasi proliferasi sel