

Kadar Alkaline Fosfatase Darah Kelinci Sebelum dan Setelah Rekonstruksi Tulang Mandibula dengan Teknik Blok Autograft Dekortikasi dan Non Dekortikasi

Alkaline Phosphatase Blood Levels Before and After Rabbit Mandibula Bones Reconstruction by The Block of Autograft Decortication And Non Decortication Technique

Ira Sari Yudaniyanti¹, Novi Ruhqi Salami², M. Zainal Arifin¹,
Djoko Galijono¹, Arimbi³, Rudi Sukanto⁴

¹Departemen Klinik Veteriner, ² Sarjana Kedokteran Hewan, ³Departemen Patologi Veteriner,

⁴Departemen Anatomi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga,
jalan Mulyorejo Kampus C Unair Surabaya, Telepon : 031-5927832;
e-mail : irasari.vet@gmail.com

The aims of this study was comparing the increase level of the alkaline phosphatase in the reconstruction of mandibula bones procedure, by autogenous iliac bone decortications and nondecortication technique. Eighteen male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with the age approximately sixth month and the weight between 1,5-2 kg was used as trial animal. Rabbits was maintained in the individual pen and adapted to the food and environment for one week. The food consists of corn, pellet and carrots. The rabbits as model were randomly divided into two groups of treatment and two groups of bleeding. Group I were autogenous iliac bone decortications and group II were autogenous iliac bone non-decortications. Both group I and II were taken the blood before the operation was done then after 35th day post operation the blood samples were taken again. The blood samples from femoral vein was analyzed for the alkaline phosphatase. The data were analyzed by *t* test using SPSS for windows program. The result indicated that the level of alkaline phosphatase in autogenous iliac bone decortications treatment were significantly higher ($p < 0.05$) than autogenous iliac bone non-decortications.

Keywords: Alkaline phosphatase, autogenous draft, decortications, non-decortications, bone healing

PENDAHULUAN

Tulang mandibula merupakan daerah yang paling sering mengalami gangguan penyembuhan tulang baik itu penyatuan tulang yang patah pada posisi salah (mal-union) ataupun kegagalan ujung patahan tulang untuk menyatu (non-union). Faktor resiko yang paling besar yang berpotensi untuk menimbulkan terjadinya malunion ataupun non-union adalah infeksi, kemudian aposisi yang kurang baik, kurangnya imobilisasi segmen fraktur, adanya benda asing, tarikan otot yang tidak menguntungkan pada segmen fraktur. (Leopard, 1994).

Tumor mandibula adalah salah satu penyebab yang berpotensi menimbulkan

gangguan penyembuhan tulang pada mandibula. Adapun prosedur eradikasi tumor pada mandibula sering menimbulkan defek mulai dari hanya celah pada tulang alveolus sampai dengan diskontinuitas tulang mandibula (Smith and Blackwell, 2006).

Tandur tulang dapat dipergunakan untuk merekonstruksi defek tulang pasca eradikasi tumor. Jenis tandur tulang yang banyak dipergunakan untuk prosedur rekonstruksi di regio maksilofasial adalah tandur tulang *autograft* (Yanuar, 2003). Tandur tulang yang ideal adalah tulang yang baru diambil bersamaan saat operasi rekonstruksi berlangsung (Baehaqi, 2009). Tipe tandur autogenous ini banyak

digunakan pada bidang bedah mulut. Krista illiaka merupakan sumber donor yang sering dipergunakan sebagai sumber dari tandur tulang ini. Seluruh ketebalan *ilium* dapat digunakan, atau *os illium* dilakukan kuretase untuk mendapatkan bagian yang lebih tipis dari blok tandur tulang (Nulend *et al.*, 2005).

Tandur tulang autogenous dapat dibedakan menjadi tandur tulang dengan dekortikasi dan non-dekortikasi. Penggunaan tandur tulang dengan teknik blok *autograft* yang dibuang atau diambil sebagian pada korteks tulang (dekortikasi) terlebih dahulu dapat meningkatkan angka keberhasilan tandur tulang dan menurunkan angka resorpsi. Apabila dilakukan dekortikasi maka elemen pembuluh darah yang berasal dari periosteum akan berhubungan langsung dengan osteoblas pada tulang *cancellous*, sehingga jumlah osteoblas akan semakin banyak dan menjamin kehidupannya (Smith and Blackwell, 2006). Pada tandur tulang dekortikasi diawali oleh proliferasi osteoblas untuk membentuk osteoid yang akan mengalami mineralisasi dan akhirnya akan menjadi tulang yang matur.

Tandur tulang *autogenous* non dekortikasi adalah tandur tulang dalam bentuk blok tanpa perlakuan membuang lapisan tulang kortikal dan ditanamkan pada resipien dengan ukuran yang sesuai dengan defek pada resipien (Peterson *et al.*, 2003). Tandur tulang non-dekortikasi proses kesembuhan tulang diawali oleh aktifitas resorpsi yang dilakukan oleh osteoklas sehingga menimbulkan area nekrotik yang akan merangsang aktifitas dari osteoblas untuk berproliferasi dan akhirnya menjadi tulang yang matur (Burchardt, 1986; Kingsbury *et al.*, 1986).

Penegakan diagnosa pada proses penyembuhan tulang bisa dilakukan dengan berbagai macam cara seperti dengan menggunakan sinar-X dan histopatologi. Alat diagnosa tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangan dalam beberapa hal. Kelebihan dari diagnosa menggunakan sinar-X mampu memberikan gambaran yang jelas kepada pasien melalui gambaran medis (*medical image*) sehingga dapat membantu dalam membuat diagnosa yang tepat, sedangkan resiko utama dalam pemeriksaan radiografi adalah terjadinya kanker meskipun angka yang menunjukkan resiko ini sangat kecil. Kekurangan lain dari pemeriksaan radiografi adalah biaya yang relatif mahal. Diagnosa

lain dengan histopatologi dapat memberikan penjelasan yang lebih rinci oleh karena pemeriksaan ditujukan pada jaringan yang akan dilakukan diagnosa. Namun, dalam pelaksanaannya dibutuhkan jaringan yang masih segar dari pasien yang diperiksa. Hal ini akan menyebabkan jaringan tersebut berkurang dan memerlukan waktu untuk proses kesembuhan. Selain itu dibutuhkan keahlian yang memadai dalam pembuatan preparat histopatologi (Robin dan Kumar, 2002).

Alkaline fosfatase dalam darah dapat menjadi indikator yang baik pada proses kesembuhan tulang. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Bourne (1948) bahwa alkaline fosfatase terlibat dalam proses kesembuhan sebuah tulang yang di lubangi sedalam 1 mm yang dilakukan oleh dokter gigi pada femur dan tengkorak marmut. Dalam 24 jam aktifitas alkaline fosfatase yang kuat muncul dalam periosteum tepat di sekitar area yang mengalami cedera.

Djojosoebagio (1990) menyatakan, bahwa terdapat hubungan yang erat antara aktifitas osteoblas dengan konsentrasi alkaline fosfatase di dalam plasma, dimana aktifitas enzim ini bertanggung jawab terhadap proses kalsifikasi fibril kolagen sebagai bahan dasar dari tulang. Peran alkaline fosfatase dalam proses mineralisasi tulang adalah menyiapkan suasana alkalis (basa) pada jaringan osteoid yang terbentuk, supaya kalsium dapat mudah terdeposit pada jaringan tersebut. Selain itu dalam tulang enzim ini menyebabkan meningkatnya konsentrasi fosfat, sehingga terbentuk ikatan kalsium-fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit dan berdasarkan hukum massa (*law of mass action*) kristal tersebut pada akhirnya akan mengendap di dalam tulang.

Beberapa peneliti telah menemukan aktivitas enzim alkaline fosfatase ini paling besar di dalam area pembentukan tulang baru, tempat kolagen disintesis dan pertumbuhan tulang bermula (Turner dan Bagnara, 1998).

Penelitian pada proses kesembuhan tulang telah dilakukan secara radiologis maupun histologis (Baehaqi, 2009). Berdasarkan pernyataan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan aktifitas alkaline fosfatase pada penggunaan teknik tandur tulang bentuk blok *autograft* dekortikasi dengan non-

dekortikasi sebagai indikator proses kesembuhan tulang.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Operasi dilaksanakan di Rumah Sakit Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pengujian kadar alkalin fosfatase dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

Bahan yang digunakan dalam pengujian kadar alkalin fosfatase serum darah adalah reagen I (Diethanolamine buffer (DEA) pH 9.8 1,1 mol/L, Magnesium sulfate 0,56 mmol/L, NaN3 1 g/L), reagen II (p-nitrophenylphosphate 112 mmol/L) dan reagen III (NaN3 1 g/L).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 18 ekor kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) dengan berat 1,5-2 Kg dan berumur enam bulan. Masing-masing kelinci ditempatkan dalam kandang individu dan telah diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan selama satu minggu (sudah mendapatkan surat ijin *etical clearance*). Selanjutnya hewan coba dibagi secara acak dalam dua kelompok yaitu kelompok dekortikasi dan non-dekortikasi, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor kelinci.

Prosedur Tandur Tulang Dekortikasi

Hewan coba sebanyak 9 ekor kelinci diadaptasikan dengan lingkungan kandang selama tujuh hari. Menjelang operasi, kelinci dipuaskan selama 12 jam sebelum dilakukan pemberian obat anestesi umum dan masing-masing kelinci diberikan identitas sehingga bisa dilakukan pengamatan. Pengambilan tandur tulang dilakukan pada krista iliaka atau tulang ilium pada sisi kiri dengan diameter ukuran 4,8 mm dengan menggunakan *trephine* bor. Setelah tandur tulang diambil, dekortikasi atau pengurangan pada elemen kortikal dilakukan dengan alat bor *fraser/round box* pada kedua sisi.

Prosedur pembuatan defek dilakukan pada tulang mandibula kiri dengan ukuran diameter 4,8 mm dilakukan dengan menggunakan *trephine* bor berjarak 2 mm dari *margo inferior mandibula* meliputi elemen kortikal dan *cancellous* pada *regio*

angulus mandibula dengan mempertahankan periosteum. Proses fiksasi tandur tulang pada resipien dengan menggunakan benang *absorbable* jenis kromik catgut pada dua tempat di *superior* dan *inferior*

Prosedur Tandur Tulang Non-Dekortikasi

Prosedur tandur tulang non-dekortikasi secara umum adalah sama seperti yang dilakukan pada tandur tulang dekortikasi. Namun perbedaannya adalah pada prosedur tandur tulang non-dekortikasi, tandur tulang ditanamkan langsung tanpa perlakuan membuang lapisan tulang kortikal dan dilakukan fiksasi tandur tulang ke resipien dengan menggunakan benang *absorbable* jenis kromik catgut pada dua tempat, yakni di *inferior* dan *superior*.

Teknik Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan dua kali selama penelitian berlangsung. Pertama, darah diambil pada hari pertama, tepatnya dilakukan sebelum operasi dimulai. Darah pada pengambilan pertama bertujuan sebagai acuan kadar alkalin fosfatase normal pada hewan coba sebelum pemberian masing-masing perlakuan. Kedua, pengambilan darah dilakukan pada waktu pasca penyembuhan operasi (hari ke-35 sesudah operasi). Pengambilan darah dilakukan melalui vena *femoralis* pada kelinci. Darah diambil sebanyak dua mililiter dengan menggunakan spuit.

Pemeriksaan Alkalin Fosfatase

Pengujian kadar alkalin fosfatase dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya dengan menggunakan Prestige 24i yang sistem kerjanya secara otomatis. Aktivitas alkalin fosfatase ditetapkan dengan metode standar yang dioptimalisasikan sesuai rekomendasi. Prinsip kerjanya adalah *p-nitrophenyl phosphate* bersama dengan air akan diubah oleh enzim alkalin fosfatase menjadi fosfat dan *p-nitrophenol*.

Analisis data

Analisis data yang digunakan untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan terhadap peningkatan kadar alkalin fosfatase pada prosedur tandur tulang blok autograft dekortikasi dengan non-dekortikasi pada prosedur rekonstruksi tulang mandibula adalah dengan Uji *t*.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah data tentang kadar alkalin fosfatase pada perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi dan non-dekortikasi dengan dua kali pengambilan darah melalui vena *femoralis* yaitu hari pertama sebelum operasi dan hari ke-35 sesudah operasi, setelah dilakukan proses rekonstruksi mandibula kelinci (Tabel 1).

Tabel 1. Rataan dan simpangan baku kadar alkalin fosfatase dekortikasi dan non-dekortikasi (sebelum dan sesudah operasi)

Waktu	Perlakuan	
	Dekortikasi	Non-dekortikasi
Sebelum operasi	63,33±24,01 ^a	71,44±40,84 ^a
Sesudah operasi	90,67± 5,98 ^b	68,67±31,48 ^{ab}

^{a, b}. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Berdasarkan data dari tabel 1. dapat diperoleh bahwa rata-rata kadar alkalin fosfatase pada perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi sebelum dan sesudah operasi secara berturut-turut adalah 63,33±24,01 dan 90,67±25,98, sedangkan rata-rata kadar alkalin fosfatase pada perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik non-dekortikasi sebelum dan sesudah operasi secara berturut-turut adalah 71,44±40,84 dan 68,67±31,48. Berdasarkan nilai rata-rata yang diperoleh, selanjutnya dilakukan analisis dengan menggunakan uji *t independen* dan uji *t berpasangan*.

Berdasarkan uji *t independen* didapatkan bahwa pada perbandingan kadar alkalin fosfatase antara perlakuan tandur tulang blok *autograft* teknik dekortikasi dengan dengan non-dekortikasi yang dilakukan sebelum operasi adalah tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini disebabkan masih belum dilakukan perlakuan pada hewan coba sehingga kadar alkalin fosfatase masih cenderung sama.

Perbandingan kadar alkalin fosfatase antara perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi dan non-

dekortikasi sesudah operasi adalah juga tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini dapat terjadi karena pada perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi kemungkinan sel osteoblas sudah mengalami mineralisasi, sehingga osteoblas sebagai penghasil alkalin fosfatase mulai mengalami penurunan. Sedangkan, pada perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik non-dekortikasi sel osteoblas baru mulai mengalami pembentukan sebagai kelanjutan dari yang dilakukan oleh osteoklas pada awal proses pembentukan tulang.

Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Newton dan Nunamaker (1985) bahwa sekresi alkalin fosfatase akan menurun jika mineralisasi jaringan osteoid sudah selesai. Burchardt (1986) menambahkan bahwa kadar alkalin fosfatase pada perlakuan teknik tandur tulang bentuk blok *autograft* non-dekortikasi sesudah operasi bisa terlihat karena pada metode ini secara fisiologis akan didahului oleh aktivitas osteoklas sehingga menimbulkan area nekrotik, dengan adanya area nekrotik tersebut maka akan merangsang afinitas dari sel osteoblas. Osteoblas kemudian mengadakan proliferasi membentuk matriks tulang (osteoid) yang akan mengalami mineralisasi dan akhirnya akan menjadi tulang yang matur.

Hasil yang sama juga didapat pada penelitian Baehaqi (2009) bahwa tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi didahului dengan afinitas dari osteoblas yang lebih aktif dan berdasarkan pengamatan secara histologis dengan cara menghitung jumlah komponen sel tulang. Sel osteoblas lebih banyak ditemukan daripada teknik tandur tulang bentuk blok *autograft* non-dekortikasi. Pada metode tandur tulang blok autogenous dengan dekortikasi ditemukan sel osteoblas dan osteosit per satu lapangan pandang. Sedangkan pada tandur tulang autogenous non-dekortikasi terdapat sel osteoklas dan osteoblas.

Berdasarkan uji *t berpasangan* didapat bahwa perbandingan kadar alkalin fosfatase antara tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi yang dilakukan sebelum dan sesudah operasi adalah berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini disebabkan pada perlakuan teknik tandur tulang bentuk blok *autograft* dekortikasi sesudah operasi, sel osteoblas banyak ditemukan karena terjadi kerusakan

pada elemen kortikal yang memicu aktifitas osteoblas untuk berproliferasi membentuk osteoid. Namun sel osteoblas sudah mulai mengalami penurunan karena sudah mengalami mineralisasi.

Perbandingan kadar alkaline fosfatase antara tandur tulang blok *autograft* dengan teknik non-dekortikasi yang dilakukan sebelum dan sesudah operasi adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Hal ini mungkin disebabkan karena sel osteoblas baru mulai terbentuk pada hari ke-35 sehingga alkaline fosfatase yang dihasilkan pun masih dalam jumlah yang rendah. Proses pembentukan tulang pada tandur tulang dengan teknik non-dekortikasi diawali oleh aktifitas sel osteoklas yang berfungsi untuk melakukan resorpsi pada daerah tulang kortikal. Menurut Kingsbury (1986), tandur tulang autogenous dalam bentuk non-dekortikasi (kortikal) tidak terjadi penetrasi dari pembuluh darah sampai dengan hari ke-6, proses revaskularisasi baru lengkap setelah satu sampai dengan dua bulan. Waktu ini lebih panjang dua kali dibandingkan waktu yang diperlukan oleh tandur tulang yang hanya melibatkan elemen tulang *cancellous*. Pemanjangan waktu revaskularisasi ini berkaitan dengan struktur tulang kortikal yang padat, vaskularisasi dimulai dengan penetrasi pada tandur tulang melalui proses resorpsi hasil aktivitas dari osteoklas yang berada di perifer dan infiltrasi vascular yang berasal dari *kanalis volkman* dan *kanalis havers*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Perbandingan kadar alkaline fosfatase antara perlakuan tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi dan non-dekortikasi yang dilakukan sebelum maupun sesudah operasi adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$).
2. Perbandingan kadar alkaline fosfatase antara tandur tulang blok *autograft* dengan teknik dekortikasi yang dilakukan sebelum dan sesudah operasi adalah berbeda nyata ($p<0,05$).
3. Perbandingan kadar alkaline fosfatase antar tandur tulang blok *autograft* dengan teknik non-dekortikasi yang dilakukan sebelum dan sesudah operasi adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$).

Berdasarkan hal tersebut diatas maka aktifitas alkaline fosfatase dalam darah tidak bisa digunakan sebagai alat diagnostik pada kesembuhan tulang secara mandiri harus didukung oleh pemeriksaan diagnostik lain.

Demi kesempurnaan penelitian ini, maka untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu lebih lama dengan parameter yang lebih kompleks seperti :

1. *Bone Morphogenetic Protein (BMP)*, osteoklas dan indikator lain sebagai bahan diagnostik dalam proses kesembuhan tulang, kompleksnya parameter yang digunakan dalam proses kesembuhan tulang akan lebih meyakinkan dalam diagnosa kesembuhan tulang.

2. Pemeriksaan kadar alkaline fosfatase dalam darah sebaiknya dilakukan dalam interval yang lebih banyak pada proses penyembuhan sesudah operasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Baehaqi, R. 2009. Perbandingan Ukuran Resorpsi Secara Radiologis dan Tingkat Maturasi Tandur Tulang Secara Histopatologis pada Penggunaan Tandur Tulang Blok Autograft Dekortikasi dan Non-Dekortikasi dari Krista Iliaka Untuk Prosedur Rekonstruksi Mandibula Binatang Percobaan Kelinci. Media Kedokteran. Surabaya.
- Bourne, GH. 1948. Alkaline phosphatase and vitamin C deficiency in regeneration of skull bones. J. Anatomy. 82 (Pt 1-2): 81-87.
- Burchardt, H. 1986. *Biology of Cortical Bone Graft Incorporation*. Dalam *Osteochondral Allograft Biology, Banking and Clinical Application*. Friedbender Mankin. Little Brown
- Djojosoebagio, S. 1990. Fisiologi Kelenjar Endokrin. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati IPB Bogor. 162-163.

- Kingsbury, GH, MG Victor, EP Arnold, DB Gary, MZ Jocelyn. 1986. *Biology of Cancellous Bone Graft Repair. In Osteochondral Allograft Biology, Banking and Clinical Application*. Little Brown.
- Leopard, PF. Complications. 1994. In: Maxillofacial injuries Rowe Willama, 2nd ed, Volume 2. Churchill: Livingstone; 570-94.
- Newton, CD and DM Nunamaker. 1985. Text Book of Small Animal Orthopaedics. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. 35-61.
- Nulend, JK, A Vatsa, RG Bacabac, SD Tan and TH Smith. 2005. The Role of Osteocyte in Bone Mechanotransduction. *Current Opinion in Orthopaedics*. 16: 316-324.
- Peterson and J Larry. 2003. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery* 4th.ed. Elsevier. 646-661.
- Robin, ST dan V Kumar. 2002. Buku Ajar Patologi I. ECG Jakarta.
- Smith, JE and K Blackwell. 2006. *Mandibular Reconstruction, Plating*. www. E-medicine. Com. November 2005. diakses 25 Maret.
- Turner, CD dan JT Bagnara. 1988. Endokrinologi Umum Edisi VI. Airlangga University Press. Surabaya.
- Yanuar, A. 2003. *Teknik Baru Tandur Tulang dan Aplikasinya*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.