

Leukocyte Profile and Bone Fracture Recovery post Scaffold Biphasic Calcium Phosphate/Alginate implantation in Sheep

Gunanti Soejono^{1*}, Ki Agus Dahlan², Afifah Binti Abd Latif³, Liza Oktafani³, Selma Laily Nur Afifa⁴, Shavrilia Inovanny Angesti⁴, Rr Soesatyoratih¹, Sus Derthi Widhyari⁵, Erwin Erwin⁶

¹Divisi Bedah dan Radiologi Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

²Departemen Fisika Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam, IPB University

³Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

⁴Mahasiswa Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan, IPB University

⁵Divisi Penyakit Dalam Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

⁶Laboratorium Klinik Bedah, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

*Alamat Korespondensi: gunanti.soe@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study is to evaluate the leukocyte profile and bone fracture recovery post scaffold biphasic calcium phosphate/alginate implantation in the sheep's os tibia. Three sheep involved in this study and defect is made on each left and right os tibia. Left os tibia as a control while scaffold biphasic calcium phosphate/alginate is implanted on the right os tibia. Blood is collected before and after implantation to be evaluated, while the radiograph is used to evaluate the bone fracture recovery post biphasic calcium phosphate/alginate implantation. The result shows that scaffold biphasic calcium phosphate/alginate has no significant effect to the leukocytes profile and shows a good result on affecting the recovery process of bone fracture, although it still not able to increase the recovery periods.

Keywords: bone implant, biphasic calcium phosphate, leukocytes profile, bone recovery.

PENDAHULUAN

Trauma patah tulang menyebabkan nyeri, hilangnya produktivitas, dan kerugian ekonomi (Buckley, 2004). Seiring berkembangnya moda transportasi, angka kejadian patah tulangpun meningkat. Tidak hanya itu, tingkat keparahan patah tulang yang terjadi juga ikut meningkat. Hal ini menyebabkan kerugian individu yaitu cacat fisik seumur hidup atau perawatan trauma pasca kecelakaan yang harus dilakukan seumur hidup (Nazarian *et al.*, 2017).

Manajemen penanganan klinis kasus patah tulang bertujuan untuk mengembalikan bentuk anatomi tulang yang utuh seperti sedia kala, mengembalikan fungsinya secara fisiologis dengan waktu yang efektif dan tanpa menimbulkan komplikasi. Manajemen yang dilakukan dengan tidak tepat akan

memperpanjang proses persembuhan yang berisiko tidak kembalinya bentuk tulang secara anatomi maupun secara fungsi fisiologisnya karena tulang yang patah tidak bersatu atau bersatu dalam bentuk yang tidak sempurna (Gerbrhard *et al.*, 2015). Proses persembuhan tulang yang mengalami fraktur meliputi tiga tahapan: peradangan, reparasi, dan *remodelling* tulang (Cheung *et al.*, 2016).

Biomaterial adalah bahan alami sintesis yang bisa diimplantasikan ke dalam sel hidup dengan tujuan terapeutik. Bahan-bahan ini akan berinteraksi secara kimia, fisika, atau biologis dengan proses fisiologis dalam tubuh resipien. Bahan biomaterial yang digunakan harus memiliki sifat bioaktif, *biodegradable* dan *biocompatible* dengan tubuh dalam waktu yang lama (Winkler *et al.*, 2018).

Salah satu biomaterial yang sesuai

adalah biokeramik *Biphasic Calcium Phosphate* (BCP) yang tersusun dari *hydroxyapatite* (HA) dan β -*tricalcium phosphate*(β -TCP). *Biphasic Calcium Phosphate* saat ini dinilai sebagai *gold standard* untuk biomaterial yang digunakan dalam proses rekonstruksi tulang. Hydroxyapatite memiliki sifat bioaktif dan osteokonduktif sehingga dapat merangsang pertumbuhan jaringan tulang baru, sementara β -*tricalcium phosphate* (β -TCP) mampu terdegradasi dalam medium cair sehingga dianggap sebagai penyeimbang yang baik (Bouler *et al.* 2017). *Alginate* merupakan polimer alam *biodegradable* yang dapat mendukung proses pertumbuhan sel tulang dan dapat memperbaiki karakteristik mekanik *scaffold* berbahan HA dan β -TCP, serta dapat membentuk pori. Banyaknya pori dapat meningkatkan pertumbuhan tulang karena migrasi dan proliferasi osteoblast dan sel mesenkim (Latif 2017).

Titik kritis dari implantasi biomaterial adalah respon leukosit pasca implantasi biomaterial. Leukosit merupakan salah satu pertahanan yang dimiliki oleh tubuh. Fungsi leukosit adalah untuk menghalau infeksi dengan cara fagositosis, menelan dan mencerna mikroorganisme maupun sisa dari sel tubuh yang sudah mati (Oktafani 2017). Leukosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, basophil, monosit dan limfosit (Amalia *et al.* 2019).

Biomaterial yang diimplantasikan ke dalam tubuh dikategorikan sebagai benda asing yang secara fisiologis akan dieliminasi oleh sistem imun tubuh melalui respon inflamasi dan migrasi leukosit dari sum-sum tulang (Chung *et al.* 2017). Hal ini menimbulkan hubungan antara profil leukosit dengan proses persembuhan tulang pasca implantasi *scaffold* BCP.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian secara *in vivo scaffold* BCP/*alginate* pada domba (*Ovisaries*) dilakukan di Laboratorium Bedah Eksperimental Divisi Bedah dan Radiologi

Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor (FKH IPB), pemeliharaan hewan selama pengamatan dilakukan di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium (UPHL) FKH IPB dan pemeriksaan leukosit dilakukan di laboratorium komersial yang ada di Bogor. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari–April 2017.

Prosedur Penelitian

Domba dirawat, dan diberi pakan hijauan. Air minum disediakan secara *ad libitum*. Domba diberi anthelmintik dan antibiotik. Darah domba diambil menggunakan syringe 5 mL melalui vena jugularis sebelum domba dianestesi. Anestesi menggunakan kombinasi ketamin HCL 10% dosis 2 mg/kg BB dan xylazine HCL 10% dosis 0.1 mg/kg BB dan diberikan secara intravena. (Rahmiati 2017). *Maintanance* anestesi selama prosedur operasi menggunakan ketamin HCL 10% 1 mg/kg BB secara intravena. Hewan yang telah dianestesi dicukur rambut bagian medial dan lateral (sepertiga distal femur, seluruh area tibia dan sepertiga proksimal tarsus), dibersihkan menggunakan sabun, dibilas dengan air, dikerinkingkan dan diberi alkohol 70% dan povidon iodine 10% secara berurut.

Pembuatan defek diawali dengan sayatan kulit di medial dengan titik orientasi 5.7cm ke distal dari persendian lutut, kemudian ditarik dari ujung titik ini 3.6 cm dari volar ke dorsal. Defek pada os tibialis kiri sebagai control tidak ditanam BCP/*alginate*, sedangkan os tibialis kanan sebagai perlakuan ditanam BCP/*alginate*. Defek dibuat dengan menggunakan bor tulang dan menyesuaikan ukuran pelet BCP/*alginate* dengan diameter 0.8 cm dan tinggi 0.4 cm. Pemberian antibiotik penicillin 3000000 IU secara topikal di dalam luka sebelum dilakukan penjahitan.

Luka di area defek dijahit dari periosteum, otot, jaringan subkutan, dan kulit. Secara berurut luka ditutup

menggunakan kasa dan perban. Luka setelah operasi dibersihkan setiap hari dan diberi salep perubalsem, salep gentamicin dan limoxin spray untuk mencegah infeksi setelah operasi.

Pengambilan Data dan Analisis Film X-ray

Standar pandang yang digunakan untuk pengambilan gambar radiografi tibia adalah *mediolateral* dan *craniocaudal*. Pengambilan gambar radiografi dilakukan dengan menggunakan mesin X-ray dengan jarak 100 cm dari sumber sinar, kVp 56, dan mAs 0,8. Pengambilan gambar dilakukan praoperasi dan pasca operasi hari ke- 7, 30, 60 dan 90 namun hanya pengambilan gambar pascaoperasi yang dievaluasi.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan aplikasi *software Statistical Product and Service Solution (SPSS®)* versi 16 yaitu *One Way Anova* dilanjutkan dengan *Duncan*. Interpretasi hasil analisa dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Leukosit Pasca Implantasi Scaffold Biphasic Calcium Phosphate/Alginate

Secara keseluruhan leukosit dan diferensial leukosit pada domba mengalami fluktuasi tetapi tidak menunjukkan perbedaan nyata selama pengamatan ($p>0.05$), hal ini dijelaskan pada Tabel 1. Peningkatan jumlah leukosit (leukositosis) pada domba terjadi apabila jumlah yang didapatkan berkisar antara 20.000–30.000 (sel/ μ L).

Jumlah Leukosit (sel/ μ L)

Leukosit mengalami fluktuasi tanpa menunjukkan perbedaan yang nyata selama pengamatan ($p>0.05$) dan di akhir pengamatan jumlah leukosit tidak menjauhi

jumlah leukosit preoperasi (hari ke-0). Jumlah leukosit normal pada domba berkisar antara 4000–12000 sel/ μ L (Thrall *et al.*, 2001). Peningkatan jumlah leukosit dapat disebabkan oleh peradangan akut. Peradangan akut menyebabkan pembuluh darah mengalami dilatasi, permeabilitas buluh darah meningkat, dan leukosit bermigrasi ke lokasi radang (Widick dan Winer, 2016). Adapun penurunan leukosit merupakan respon alami tubuh sebagai proses persembuhan tulang akibat perlukaan saat penanaman implan (Oktafani, 2017).

Jumlah Neutrofil Batang (sel/ μ L)

Rata-rata jumlah neutrofil batang yang didapatkan hasil penelitian berada pada kisaran 313–507 sel/ μ L. Menurut Thrall *et al.* (2001) normal neutrofil batang domba berada pada kisaran 0–100 sel/ μ L. Fluktuasi yang terjadi tidak menunjukkan perbedaan nyata ($p>0.05$). Penurunan jumlah neutrofil dapat disebabkan oleh perlukaan mengalami persembuhan. Neutrofil batang adalah neutrofil muda yang dihasilkan oleh sumsum tulang. Meningkatnya jumlah neutrofil batang dalam peredaran darah (*left shift*) disebabkan oleh inflamasi salah satunya terjadi di awal persembuhan luka dan jumlahnya menurun seiring dengan sembuhnya luka (Honda *et al.*, 2016).

Jumlah Neutrofil Segmen (sel/ μ L)

Normal neutrofil segmen pada domba menurut Thrall *et al.* (2001) berkisar antara 700–6000 sel/ μ L. Rata-rata jumlah neutrofil segmen hasil penelitian yang didapatkan berkisar antara 9650–13913 sel/ μ L. Fluktuasi yang terjadi tidak menunjukkan perbedaan nyata ($p>0.05$) selama pengamatan. Neutrofil segmen sangat dibutuhkan dalam jumlah banyak untuk memulai fungsinya dalam membunuh bakteri dan menyingkirkan benda-benda asing (Guyton dan Hall, 2016).

Jumlah Limfosit (sel/ μ L)

Rata-rata jumlah limfosit hasil penelitian 2600–4099 sel/ μ L. Jumlah limfosit darah domba selama pengamatan berada pada kisaran normal menurut Thrall *et al.* (2001) yaitu 2000–9000 sel/ μ L. Peningkatan maupun penurunan yang terjadi masih berada pada kisaran normal, menunjukkan bahwa material implan dapat memberikan persembuhan tulang yang baik yang dapat diterima oleh tubuh.

Jumlah Monosit (sel/ μ L)

Hasil pemeriksaan monosit berdasarkan literatur berada pada kisaran normal yaitu berkisar antara 0–800 sel/ μ L (Thrall *et al.*, 2001). rata-rata jumlah monosit hasil penelitian berkisar antara 295–487 sel/ μ L. Fluktuasi yang terjadi pada jumlah monosit akibat implan masih berada pada kisaran normal. Diduga implan yang digunakan setelah dilakukan modifikasi tidak mempengaruhi respon tubuh dalam memproduksi monosit (Guyton dan Hall, 2016).

Jumlah Eosinofil (sel/ μ L)

Normal eosinofil dalam sirkulasi pada domba berdasarkan literatur berada pada kisaran 0–1000 sel/ μ L (Thrall *et al.*, 2001). Rata-rata jumlah eosinofil yang didapatkan selama pengamatan berada pada kisaran normal menurut literatur yaitu 0–328 sel/ μ L. Menurut Lobo dan Arinzeh (2010) bahan implan HAP memiliki sifat yang *restorable* dan *bio-inert* dan β -TCP mampu mendegradasi secara biologis dengan kecepatan yang lebih tinggi, *bioresorbable* dan bioaktif.

Jumlah Basofil (sel/ μ L)

Normal basofil pada domba berdasarkan literatur berada pada kisaran 0–300 sel/ μ L (Thrall *et al.*, 2001), sehingga basofil pada hewan model berada pada kisaran normal. Basofil yang tidak ditemukan pada sirkulasi menunjukkan bahwa tidak ada reaksi alergi yang menstimulus peningkatan jumlah basofil

akibat bahan implan (Bouler *et al.*, 2017).

Persembuhan Tulang Pasca Implantasi *Scaffold Biphasic Calcium Phosphate/Alginate*

Densitas Defek Implan Pada Tulang Tibia

Nilai densitas menunjukkan perbedaan opasitas pada implan, tulang dan otot (Gambar 1). *Radiolucent* merupakan wujud suatu objek yang sedikit mengabsorpsi radiasi (lebih hitam), sedangkan *radiopaque* digunakan untuk menunjukkan bahan atau organ yang menahan banyak radiasi (lebih putih) (Junaidi, 2017). Defek mempunyai opasitas yang lebih *radiolucent* dibandingkan tulang dan tulang lebih *radiopaque* dibandingkan otot.

Pengolahan gambar menggunakan *ImageJ*[®], memiliki rentang 0–255 setiap pixelnya (Geiger *et al.*, 2016). Nilai nol untuk *radiolucent*. Nilai 255 untuk *radiopaque*. Secara keseluruhan defek tulang tibia kanan dan kiri mengalami pengurangan densitas defek. Densitas defek tulang baik pada defek kanan maupun kiri tidak menunjukkan adanya nilai yang signifikan (Tabel 2). Menurut Junaidi (2017)) permukaan area yang luas meningkatkan interaksi dengan jaringan sehingga memungkinkan proses persembuhan tulang akan lebih cepat. Menurut Rahmiati. (2017), berdasarkan hal ini, kemungkinan terjadi aliran besar kalsium dari bahan implan untuk membentuk lapisan apatit disekitar tulang. Secara tidak langsung hal ini dapat menyebabkan berkurangnya densitas defek.

Densitas Peri-Implan Proksimal Tulang (PiPT) Tibia

Densitas peri-implan proksimal baik pada defek kanan maupun kiri tidak menunjukkan adanya nilai yang signifikan (Tabel 3). Nilai densitas rata-rata proksimal defek peri implan menunjukkan

penurunan baik pada kaki kanan dan kiri, seiring dengan laju persembuhan. Noviana *et al.* (2012) menyebutkan bahwa efek lain dari degradasi implan di dalam tubuh antara lain dapat menyebabkan pertumbuhan jaringan peri-implan terganggu, sehingga hal ini yang menyebabkan densitas peri-implan secara umum mengalami penurunan.

Berdasarkan nilai densitas pada (Tabel 3) nilai densitas peri-implan BCP/*alginate* pada hari ke-60 mengalami kenaikan secara keseluruhan. Menurut Bukley (2004) pula, hari ke-60 termasuk dalam fase konsolidasi persembuhan tulang sehingga pada keadaan ini terjadi kalsifikasi tulang rawan yang sebanding dengan penumpukan kadar kalsium peri-implan. Chrzanowski *et al.* (2008) menjelaskan semakin luas permukaan implan terhadap jaringan maka akan semakin besar tingkat degradasi yang terjadi. Semakin besar proses degradasi terjadi maka pelepasan ion kalsium fosfat terhadap jaringan semakin tinggi yang sebanding dengan terakumulasinya kadar ion kalsium fosfat pada jaringan peri-implan. Peningkatan nilai densitas pada kaki kiri dan kanan adalah seiring dengan laju persembuhan karena adanya proses *remodelling* yaitu terjadi proses pembentukan dan penyerapan tulang yang terus menerus serta penumpukan ion kalsium fosfat pada jaringan peri-implan. Peningkatan nilai densitas pada kaki kiri dan kanan adalah seiring dengan laju

persembuhan karena adanya proses *remodelling* yaitu terjadi proses pembentukan dan penyerapan tulang yang terus menerus serta penumpukan ion kalsium fosfat pada jaringan peri-implan.

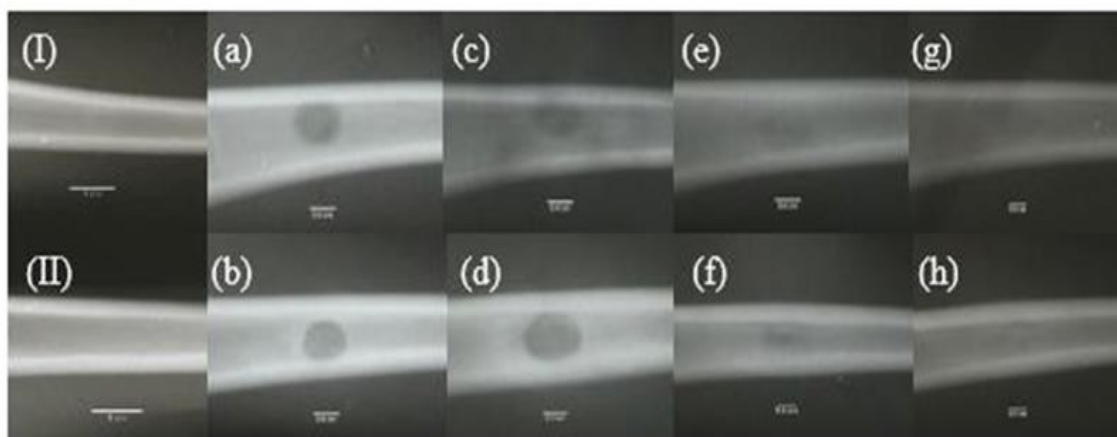
Ukuran Rata-Rata Defek Implan pada Tulang Tibia

Hasil ukuran defek tulang tibia dapat dilihat pada Tabel 4. Pengukuran luas defek adalah salah satu cara dilakukan untuk melihat laju biodegradasi dan penyerapan bahan implan. Rata-rata ukuran defek pada tulang tibia kiri dan kanan domba mengalami pengecilan selama pengamatan dari hari ke-7 hingga hari ke-90 kecuali pada hari ke-60, ukuran defek pada tulang tibia kanan lebih kecil dibanding pada tulang tibia kiri yang merupakan kontrol positif. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh fase persembuhan tulang sedang berlangsung. Gambar 4 menunjukkan berkurangnya ukuran defek tulang tibia kanan lebih curam dibandingkan tulang tibia kiri. Walaupun secara keseluruhan gambaran radiografi mengindikasikan terjadi persembuhan tulang lebih cepat pada tulang tibia kiri (kontrol positif) tetapi menurut Rahmiati (2017), gambaran histopatologi defek kanan lebih besar luas area *new bone* jika dibandingkan dengan defek kiri pada area atas defek. Hal ini menunjukkan bahwa implan *scaffold* BCP/*alginate* berpengaruh signifikan terhadap osteoinduksi pada area atas defek.

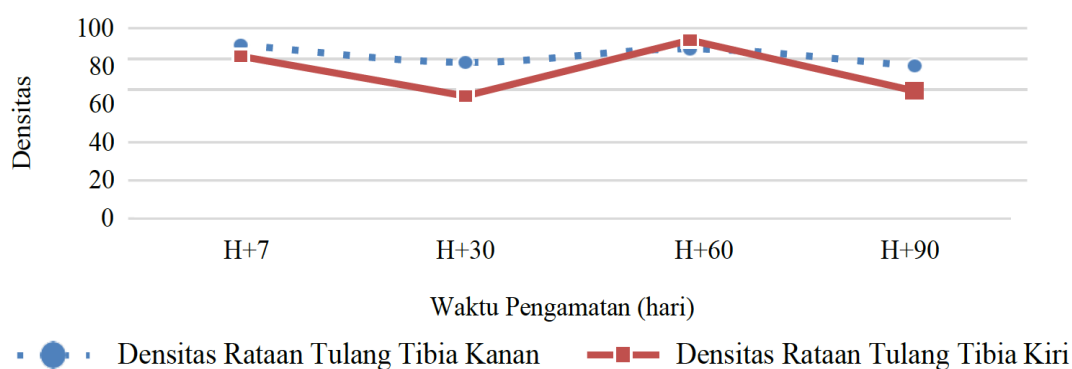
Tabel 1. Jumlah leukosit dan diferensial leukosit domba yang diimplan *scaffold* BCP/*alginate*

Parameter (sel/ μ L)	Waktu pengamatan (harike-)				
	0	7	30	60	90
Leukosit	16733 $\pm$ 9669 ^a	14733 $\pm$ 1789 ^a	16800 $\pm$ 1400 ^a	13933 $\pm$ 3066 ^a	18667 $\pm$ 6337 ^a
N. Batang	462 $\pm$ 266 ^a	334 $\pm$ 192 ^a	364 $\pm$ 210 ^a	313 $\pm$ 181 ^a	507 $\pm$ 292 ^a
N. Segmen	13318 $\pm$ 9413 ^a	11671 $\pm$ 859 ^a	12745 $\pm$ 784 ^a	9650 $\pm$ 1839 ^a	13913 $\pm$ 5226 ^a
Limfosit	2900 $\pm$ 222 ^a	2600 $\pm$ 1106 ^a	3542 $\pm$ 675 ^a	3478 $\pm$ 1959 ^a	4099 $\pm$ 1128 ^a
Monosit	361 $\pm$ 159 ^a	295 $\pm$ 35 ^a	392 $\pm$ 100 ^a	487 $\pm$ 242 ^a	430 $\pm$ 140 ^a
Eosinofil	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	167 $\pm$ 96 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	328 $\pm$ 189 ^a	169 $\pm$ 97 ^a
Basofil	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^a

Keterangan: huruf *superskrip* yang sama pada baris yang sama dan kolom yang berbeda menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata ($p>0.05$).



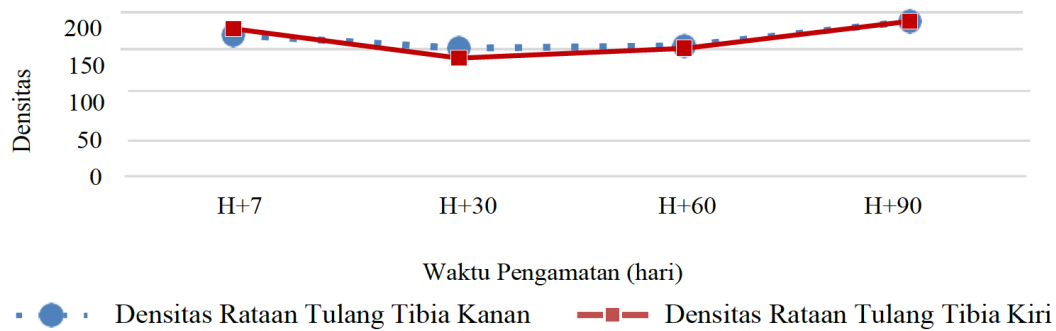
Gambar 1 Hasil radiografi (I) praoperasi tibia kiri dan (II) praoperasi tibia kanan sebelum dilakukan defek serta hasil radiografi (a) tibia kiri H+7, (b) tibia kanan H+7, (c) tibia kiri H+30, (d) tibia kanan H+30, (e) tibia kiri H+60, (f) tibia kanan H+60, (g) tibia kiri H+90 dan (h) tibia kanan H+90 pasca operasi yang menunjukkan penurunan densitas pada defek seiring dengan laju persembuhan.



Gambar 2 Rata-rata densitas defek implan pada tulang tibia domba.

Tabel 2 Nilai densitas defek pada tulang tibia domba berdasarkan waktu pengamatan.

Waktu pengamatan	Perlakuan implan pada	
	Tulang tibia kanan	Tulang tibia kiri (kontrol)
Hari ke -7	88.99±15.20 ^a	81.38±3.17 ^a
Hari ke - 30	77.83±10.95 ^a	55.98±6.36 ^a
Hari ke - 60	86.58±15.63 ^a	92.27±30.24 ^a
Hari ke - 90	75.61±11.34 ^a	59.25±9.51 ^a



Gambar 3 Rata-rata densitas proksimal defek peri-implan pada tulang tibia domba.

Tabel 3 Nilai densitas defek peri-implan proksimal pada tulang tibia domba berdasarkan waktu pengamatan.

Waktu pengamatan	Perlakuan implan pada	
	Tulang tibia kanan	Tulang tibia kiri (kontrol)
Hari ke -7	163.89±10.87 ^a	177.59±29.27 ^a
Hari ke - 30	151.18±42.05 ^a	138.00±40.74 ^a
Hari ke - 60	154.04±55.21 ^a	151.27±42.98 ^a
Hari ke - 90	187.44±15.85 ^a	187.70±16.60 ^a

Keterangan : Data disajikan dalam bentuk rata-rata dengan standar deviasi ($x \pm SD$). Huruf *superscript* menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P>0.05$).

Tabel 4 Rata-rata ukuran defek tulang tibia domba pascaoperasi selama waktu pengamatan.

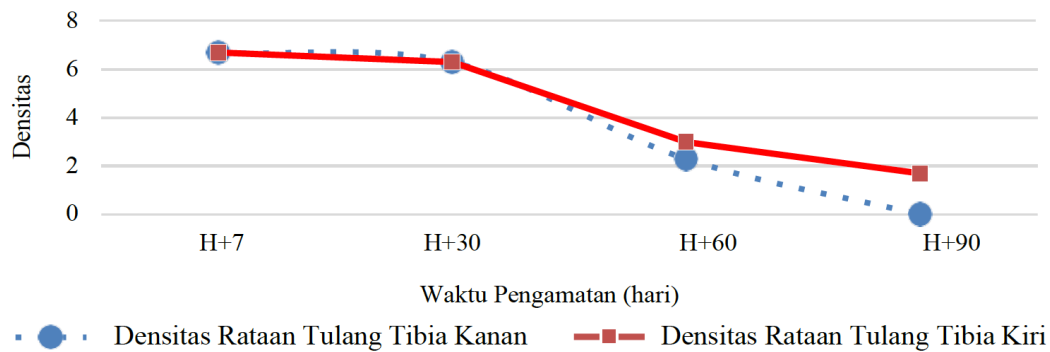
Lokasi Defek	Rata-rata ukuran defek (mm)			
	Hari ke - 7	Hari ke - 30	Hari ke - 60	Hari ke - 90
Tibia kanan	6.7	6.3	2.3	0.0
Tibia kiri (kontrol)	6.7	6.3	3.0	1.7

Keterangan : Nilai 0.0 mm adalah tidak terlihat karena marginasi dan opasitas defek kelihatan menyamai tulang.

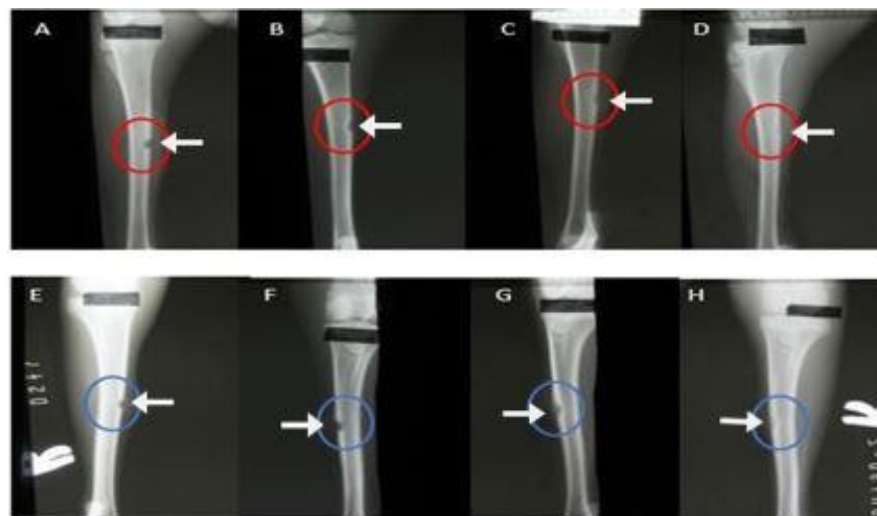
Perubahan Opasitas dan Marginasi Area Defek Tulang Tibia

Berdasarkan gambaran radiografi tulang tibia dengan standar pandang *craniocaudal* (Gambar 5) secara keseluruhan, area yang berada dalam lingkaran menunjukkan terjadinya perubahan opasitas defek tulang tibia kiri. Semakin lama, opasitas semakin bertambah menjadi *radiopaque* dan *radiolucency* berkurang pada hari ke-60.

Terjadi pula perubahan marginasi. Legok tulang yang terbentuk akibat defek buatan semakin lama semakin mengecil. Semakin lama, opasitas semakin bertambah menjadi *radiopaque* menandakan adanya peningkatan intensitas kepadatan masa tulang atau terjadi persembuhan, terjadi pula perubahan marginasi. Legok tulang yang terbentuk akibat defek buatan, semakin lama semakin mengecil, dan membentuk tonjolan pada tulang.



Gambar 4 Perubahan ukuran defek pada tulang tibia domba pascaoperasi.



Gambar 5 Hasil radiografi daerah defek pada tulang tibia domba dengan standar pandang *craniocaudal* tibia kiri (lingkaran merah) dan kanan (lingkaran biru) (A) tibia kiri domba H+7; (B) tibia kiri domba H+30; (C) tibia kiri domba H+60; (D) tibia kiri domba H+90; (E) tibia kanan H+7; (F) tibia kanan domba H+30; (G) tibia kanan domba H+60; (H) tibia kanan domba.

Pada hari ke-7 dan ke-30 pascaoperasi, opasitas defek tulang masih terlihat sama, namun hari ke-60 perubahan opasitas defek tibia kanan (kaki perlakuan) terlihat lebih *radiopaque* dibandingkan dengan defek tibia kiri (kaki kontrol). Terjadi pula perubahan marginasi pada defek tibia kanan yang lebih jelas terlihat pada hari ke-60 dan legok tulang akibat defek buatan masih sedikit kelihatan. Penilaian hari ke-90 ini berada pada skala 3 kategori persembuhan sebagian sempurna dengan karakterisasi defek terlihat sedikit *radiopaque* mendekati tulang normal, jarak

defek berkurang 75%, berkurangnya marginasi tulang yang tidak rata dan terjadi perubahan aspek jaringan sekitar.

KESIMPULAN

Penanaman bahan implan *scaffold biphasic calcium phosphate/alginate* tidak mempengaruhi fungsi fisiologis tubuh yang ditandai dengan adanya perubahan profil leukosit secara signifikan. Hasil penelitian ini menunjukkan proses regenerasi tulang dan persembuhan tulang pada kelompok kontrol terjadi lebih cepat dibandingkan

dengan persembuhan tulang pada kelompok perlakuan. Proses degradasi pada implan tulang sudah terjadi pada kelompok perlakuan hari ke-30 pascaoperasi dan defek pada tulang tibia hari ke-60 telah mencapai skala 2 yaitu kategori persembuhan sebagian.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, D.M., R. Irsarina, Y.A. Utari, K. Nia, N.F.B. Syara, M.Y. Sifa, R.A. Hanifa, S. Maura, P. Kiara, K.S. Rano, P.D. Dika, dan A. W. Imam. 2019. Hubungan kualitas tidur dengan kadar leukosit, limfosit, monosit dan granulosit pada mahasiswa farmasi unpad shift B 2016. *Farmaka*. 17 (2): 8-14.
- Bouler, J.M., P. Pilet, O. Gauthier, and E. Verron. 2016. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response. *Acta Biomaterialia*. 53: 1–12.
- Cheung, W.H., M. Theodore, K.H.C Simon, F.Y. Frank, and A. Volker. 2016. Fracture healing in osteoporotic bone. *Injury, Int. J. Care Injured*. 47 (2): S21–S26.
- Chrzanowski, W., D.A. Armitage, J.C. Knowles, J. Szade, W. Korlacki, and J. Marciniak. 2008. Chemical, corrosion and topographical analysis of stainless steel implants after different implantation periods. *J Biomater Appl*. 5(8): 728.
- Geiger, M., G. Blem, and A. Ludwig. 2016. Evaluation of image for relative bone density measurement and clinical application. *J Oral Health Craniofac Sci*. 1: 12–21.
- Gerbhard, F., G.B. Enrique, R. Philippe, L. Daniel, S. Julien, and E. Christian. 2015. Bone fracture healing: Cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*. 70: 93–101.
- Guyton, A.C. and J.E. Hall. 2016. **Fisiologi Kedokteran**. Ed ke-12. Ernita I, Ilyas I, Widjajakusumah, Tanzil A, penerjemah. Jakarta (ID): EGC. Terjemahan dari: Elsevier.
- Honda, T., U. Takeshi, M. Go, A. Shinpei, and S. Mitsutoshi. 2016. Neutrophil left shift and white blood cell counts markers of bacterial infection. *Clinica Chimica Acta*. doi: 10.1016/j.cca.2016.03.01
- Junaidi. 2017. Densitas radiografi implan besi (Fe) berpori dan reaksi jaringan pada proses persembuhan tulang femur tikus pascaimplantasi. **Thesis**. Veterinary Medicine Faculty of IPB University, Bogor.
- Latif, A.B.A. 2017. Gambaran radiografi tulang tibia hasil implan *scaffold biphasic calcium phosphate/alginate* pada domba (*Ovis aries*). **Thesis**. Veterinary Medicine Faculty of IPB University, Bogor.
- Lobo, S.E. and T.L. Arinzeh. 2010. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications. *Materials*. 3: 815–826.
- Nazarian, A., S.G. Mohammad, C. Jason, V. Ashkan, K.R. Edward, and N. Ara. 2017. Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. *Bone Reports*. 6 :87–100.
- Noviana, D., S. Estuningsih, M.F. Ulum, D. Paramitha, N.F. Utami, N.D. Utami, and H. Hermawan. 2012. In vivo study of iron based material foreign bodies in mice (*Mus musculus albinus*).

- Proceeding ICBEMA* 7th: 91-94.
- Oktafani, L. 2017. Gambaran leukosit pada domba (*Ovis aries*) yang diimplan *scaffold biphasic calcium phosphate/alginate*. **Thesis**. Veterinary Medicine Faculty of IPB University, Bogor.
- Rahmiati. 2017. Hemogram, Radiografi dan Histopatologi Hasil Implan Scaffold 3D Bifasik Kalsium Fosfat Alginat pada Domba Lokal (*Ovis aries*). **Thesis**. Veterinary Medicine Faculty of IPB University, Bogor.
- Thrall, M.A., D.C. Baker, T.W. Campbell, D. Denicola, E.D. Lassen, A. Rebar, and G. Weiser. 2001. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia (USA): Lippincott Williams & Wilkins.
- Widick, P. and E.S. Winer. 2016. Leukocytosis and Leukemia. *Prim Care Clin Office Pract.* 1-13.
- Winkler, T., F.A. Sass, G.N. Duda, and B.K. Schmidt. 2018. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res.* 7: 232–24.