

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Osteoarthritis

2.1.1. Definisi

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit pada daerah sendi yang melibatkan kartilago sendi, membran sinovial dan tulang subkondral. Penyakit ini merupakan penyakit yang paling sering terjadi pada daerah sendi terutama sendi lutut (Haq, 2005). Osteoarthritis merupakan penyakit muskuloskeletal yang sering terjadi dimana gejala klinis yang muncul adalah nyeri pada sendi yang disertai dengan penurunan fungsi sendi. Penyakit ini lebih sering menyerang hewan tua. Namun dapat juga terjadi pada hewan muda karena adanya trauma atau luka (Dimitroulas, *et al.*, 2014).

Menurut Price dan Wilson (2013), sendi yang paling sering terserang oleh osteoarthritis adalah sendi yang memikul beban tubuh, antara lain lutut, panggul, vertebra lumbal dan servikal dan sendi-sendi pada jari. Osteoarthritis (OA) terdapat 2 kelompok, yaitu osteoarthritis primer (idiopatik) dan osteoarthritis sekunder. Osteoarthritis primer disebabkan faktor genetik, yaitu adanya abnormalitas kolagen, sedangkan osteoarthritis sekunder adalah osteoarthritis yang berdasarkan faktor resiko umur (proses penuaan), adanya kelainan endokrin, inflamasi, metabolik, pertumbuhan, mikro dan makro trauma, imobilitas yang terlalu lama. Gambaran patologi

kedua kelompok osteoarthritis tersebut tidak menunjukkan adanya perbedaan (Maharani, 2007).

2.1.2. Patogenesis Osteoarthritis

Tulang rawan berfungsi untuk melindungi tulang dari gesekan, meredam getar antar tulang. Tulang rawan terdiri atas jaringan lunak kolagen yang berfungsi untuk menguatkan sendi, proteoglikan yang membuat jaringan tersebut elastis, serta air (70% bagian) yang menjadi bantalan, pelumas dan pemberi nutrisi (Creamer, 1997). Mekanisme pertahanan sendi diperankan oleh pelindung sendi, yaitu kapsula dan ligamen sendi, otot-otot, saraf sensori aferen dan tulang dasarnya. Kapsula dan ligamen-ligamen sendi memberikan batasan pada rentang gerak sendi. Cairan sendi (sinovial) mengurangi gesekan antar kartilago pada permukaan sendi sehingga mencegah terjadinya keletihan kartilago akibat gesekan. Protein yang disebut dengan *lubricin* merupakan protein pada cairan sendi yang berfungsi sebagai pelumas. Protein ini akan berhenti disekresikan apabila terjadi cedera dan peradangan pada sendi. Kartilago memiliki metabolisme pergantian matriks yang lambat dan keseimbangan antara sintesis dengan degradasi teratur. Akan tetapi, pada fase awal perkembangan OA, kartilago sendi memiliki metabolisme yang sangat aktif dan terjadi ketidakseimbangan antara sintesis dan degradasi kartilago (Felson, 2009).

Kartilago artikular tersusun dari bahan biomekanik yaitu jaringan serat kolagen dan proteoglikan. Kondrosit mensintesis matriks kartilago termasuk proteoglikan dan kolagen pada tulang rawan sendi. Kondrosit mensintesis *Matrix metalloproteinases* (MMPs) untuk memecah kolagen tipe II dan proteoglikan agregkan. MMPs memiliki tempat kerja di matriks yang dikelilingi oleh kondrosit. Umpan balik yang diberikan enzim tersebut akan merangsang kondrosit untuk melakukan sintesis dan membentuk molekul matriks yang baru. Pembentukan dan pemecahan ini dijaga keseimbangannya oleh sitokin faktor pertumbuhan dan faktor lingkungan. Namun pada fase awal OA, aktivitas serta efek dari MMPs meningkat dan menyebar hingga ke bagian permukaan dari kartilago (Felson, 2009). OA terjadi akibat kondrosit gagal mensintesis matriks yang berkualitas dan gagal memelihara keseimbangan antara degradasi dan sintesis matriks ekstraseluler, termasuk produksi kolagen tipe I, III, VI dan X yang berlebihan dan sintesis proteoglikan yang pendek. Hal tersebut menyebabkan terjadi perubahan pada diameter dan orientasi dari serat kolagen yang mengubah biomekanik dari tulang rawan, sehingga tulang rawan sendi kehilangan sifat kompresibilitasnya yang unik (Klippel *et al.*, 2003).

Sitokin pro-inflamasi akan melekat pada reseptor di permukaan kondrosit dan sinoviosit menyebabkan transkripsi gene MMPs

sehingga produksi enzim tersebut meningkat (Setiyohadi, 2003). Produksi MMPs yang berlebihan dapat memediasi degradasi kolagen tipe II (Sondergaard *et al.*, 2007). Sitokin yang terpenting adalah interleukin 1 (IL-1) dan *tumor necrosis alpha* (TNF- α). TNF- α menginduksi kondrosit untuk mensintesis prostaglandin (PG), *nitric oxide* (NO), dan protein lainnya yang memiliki efek terhadap sintesis dan degradasi matriks. Pada proses awal timbulnya OA TNF- α yang berlebihan mempercepat proses pembentukan NO sehingga menghambat sintesis agregan dan meningkatkan proses pemecahan molekul protein pada jaringan. Kondrosit yang terstimulasi akan melepaskan agregan dan kolagen tipe II yang tidak adekuat ke kartilago dan cairan sendi. Agregan pada kartilago akan sering habis serta jalinan kolagen akan mudah mengendur. Kegagalan dari mekanisme pertahanan oleh komponen pertahanan sendi akan meningkatkan kejadian OA pada daerah sendi (Felson, 2009).

Kondisi patologis OA terjadi penurunan ketebalan kartilago sendi, penurunan luas matriks kartilago, kerusakan tulang subkondral, serta peningkatan degradasi kartilago tipe II (Nielsen *et al.*, 2011). Remodeling tulang berupa sklerosis lapisan tulang subkondral, perubahan pada struktur trabekular, serta lesi osteofit dan sum-sum tulang (Karsdal, 2008). Perubahan yang terjadi pada tulang subkondral memicu terjadinya degradasi artikular pada OA. Beberapa sitokin yang ditemukan dalam tulang subkondral diketahui berperan

dalam pemberi sinyal utama dalam degradasi kartilago (Martel-Pelletier *et al.*, 2008).

Osteoarthritis terjadi akibat ketidakseimbangan antara proses anabolisme dan katabolisme di dalam jaringan. Proses katabolisme lebih besar daripada anabolisme sehingga terjadi perubahan biokimia, morfologi dan struktur kartilago sendi. Perubahan tersebut berupa penurunan kadar proteoglikan, kerusakan struktur jaringan kolagen, degradasi molekul matriks, permukaan tulang rawan sendi tidak homogen terjadinya keretakan atau fibrilasi, penurunan ketebalan tulang rawan sendi dan kerusakan kondrosit. Hal tersebut akibat kondrosit gagal memelihara keseimbangan antara sintesis dan degradasi matriks (Sutjiati, 2000).

2.1.3 Perubahan Fisiologis

Menurut Dandy dan Edwards (1998), perubahan fisiologi pada sendi yang mengalami osteoarthritis diantaranya adalah:

1. Kerusakan kartilago artikular terjadi pada saat permukaan sendi yang biasanya halus terganggu akibat serabut kolagen rusak, menimbulkan permukaan yang kasar. Adanya pergeseran dari sendi mengakibatkan beberapa kartilago artikular putus dan masuk ke dalam sendi sehingga terjadi respon inflamasi, hal ini menyebabkan pasien mengalami nyeri dan kaku pada sendi.
2. Iritasi sinovium dapat disebabkan oleh pelepasan enzim degradatif seperti IL-1.

3. *Remodeling* kartilago pada saat perbaikan terbatas. Lesi superfisial pada kartilago articular menembus korteks tulang sehingga memudahkan infiltrasi sel sumsum tulang dan pembentukan fibrokartilago. Pada tulang subkondral, terjadi peningkatan densitas jaringan tulang dengan area tulang yang padat, keras dan fleksibel terbentuk dibawah kartilago. Pada tepi permukaan sendi, terbentuk tulang baru saat fibrokartilago menyelubungi osteofit, sebagai reaksi terhadap partikel yang disingkirkan ke tepi sendi akibat pergerakan sendi. Osteofit akan membatasi pergerakan sendi dan perubahan ini yang akan mempengaruhi bentuk dan kesesuaian sendi yang disebut “*remodeling*”
4. *Eburnation* tulang atau pembentukan kista disebabkan karena kartilago kehilangan bentuk aslinya dan terjadi keretakan pada permukaan yang memungkinkan masuknya cairan sinovial dan mengakibatkan terbentuknya kista.
5. Kekakuan dan deformitas sendi akibat adanya penyempitan ruang sendi, osteofit, kista subkondral dan perubahan bentuk tulang.

2.1.4 Tanda dan Gejala Klinis Osteoarthritis

Menurut Soeroso (2006), tanda dan gejala klinis pada penderita osteoarthritis adalah :

1. Hambatan gerakan sendi. Gangguan ini bertambah berat secara perlahan sejalan dengan penambahan rasa nyeri

2. Rasa kaku pada sendi dapat timbul setelah penderita berdiam diri atau tidak melakukan banyak gerakan
3. Krepitasi atau rasa gemertak yang timbul pada sendi yang sakit. Gejala ini umum dijumpai pada penderita osteoarthritis lutut
4. Pembesaran sendi (deformitas). Sendi yang terkena secara perlahan dapat membesar
5. Pembengkakan sendi yang asimetris, timbul karena efusi pada sendi atau karena adanya osteofit, sehingga bentuk permukaan sendi berubah
6. Tanda-tanda peradangan, yaitu nyeri, gangguan gerak, rasa hangat yang merata dan warna kemerahan dapat dijumpai pada osteoarthritis karena adanya sinovitis
7. Perubahan gaya berjalan. Keadaan ini berhubungan dengan nyeri karena menjadi tumpuan berat badan terutama pada osteoarthritis lutut

2.2 Pengobatan Osteoarthritis

Kerugian yang ditimbulkan oleh osteoarthritis antara lain berkurangnya kemampuan gerak, kekakuan sendi, dan rasa nyeri dimana dalam proses peradangan melibatkan berbagai mediator inflamasi, baik prostaglandin maupun sitokin yang memacu proses patologi lebih lanjut (Dimitroulas, *et al.*, 2014).

Terapi osteoarthritis mencakup terapi nonfarmakologi, farmakologi, pengobatan komplementer dan alternatif serta tindakan operasi. Terapi

nonfarmakologi meliputi latihan, penggunaan alat bantu, proteksi sendi dan kebutuhan penurunan berat badan. Terapi farmakologi dengan pemberian *nonsteroid anti-inflammatory drug* (NSAID), opioid dan injeksi kortikosteroid atau hialuronik secara intraartikular pada sendi lutut. Pasien pada terapi NSAID jangka panjang perlu dipantau untuk melihat adanya efek samping terjadinya ulserasi gastrointestinal, disfungsi renal dan peningkatan tekanan darah. Pengobatan komplementer dan alternatif untuk mengatasi peradangan dan nyeri, namun pengobatan ini hanya bermanfaat untuk jangka pendek. Tindakan operasi dilakukan untuk mengurangi rasa sakit dan meningkatkan fungsi sendi pada disabilitas sendi yang bersifat *irreversible* pada OA dan tidak merespon dengan terapi lain (Keith, 2012).

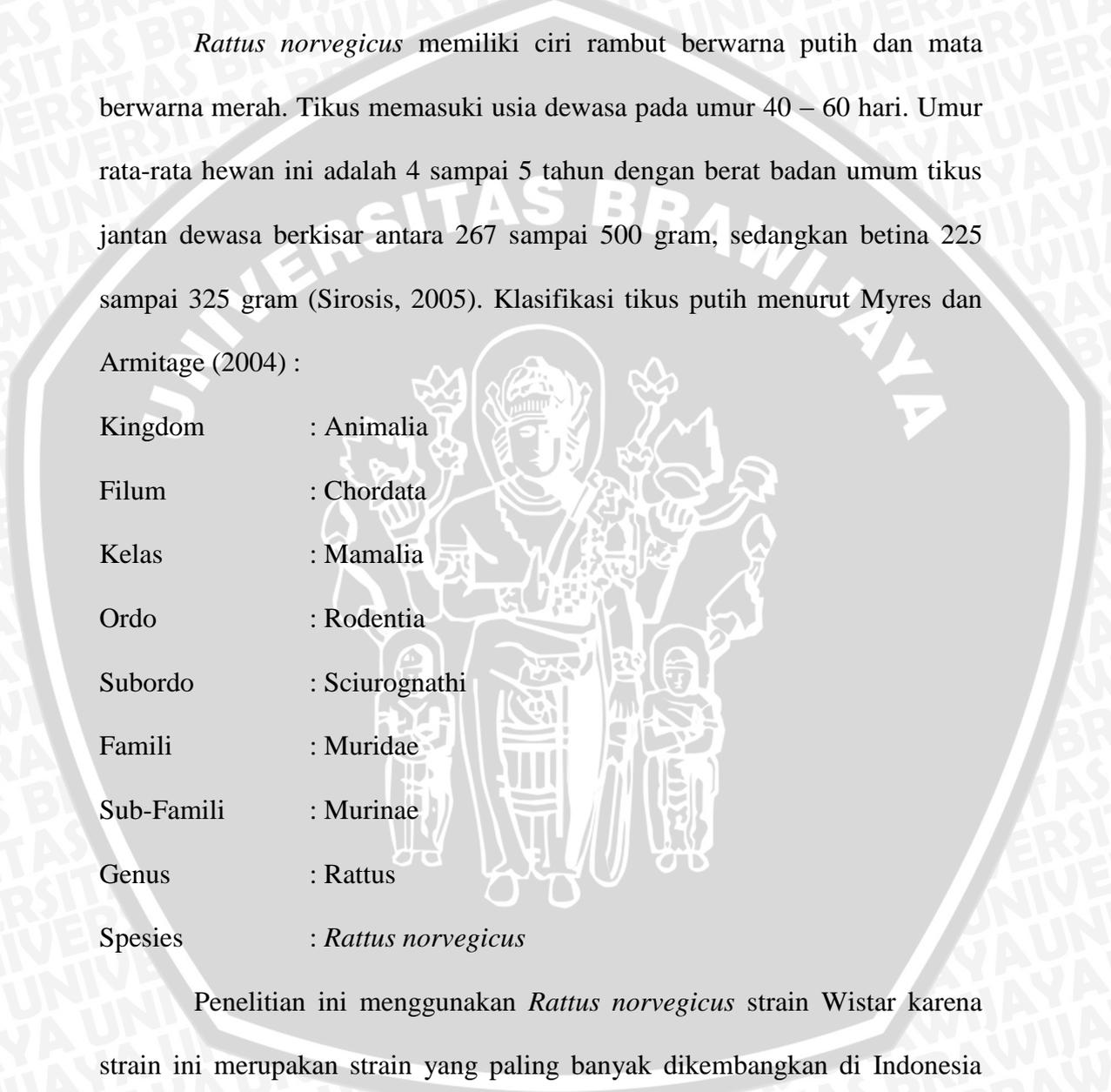
Salah satu terapi yang sedang menjadi perhatian bagi para peneliti adalah penggunaan *mesenchymal stem cells* (MSCs) karena kemampuannya untuk berdiferensiasi menjadi berbagai macam sel dan dipercaya mampu untuk meregenerasi kartilago sendi yang telah rusak pada osteoarthritis. Selain itu MSCs juga mempunyai kemampuan sebagai imunomodulator sehingga berpotensi untuk mencegah proses inflamasi berlebih dan mengurangi nyeri yang terjadi pada osteoarthritis (Korbling, 2003; P. Semedo, 2009).

2.3 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Osteoarthritis

Hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model di dalam berbagai bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik. Salah satu hewan percobaan yang memiliki sifat fisiologis mirip dengan manusia adalah tikus. Tikus memiliki

dua spesies, yaitu tikus hitam (*Rattus rattus*) dan tikus putih (*Rattus norvegicus*). Spesies yang paling sering digunakan sebagai hewan model pada penelitian ilmiah adalah *Rattus norvegicus* (Sirosis, 2005).

Rattus norvegicus memiliki ciri rambut berwarna putih dan mata berwarna merah. Tikus memasuki usia dewasa pada umur 40 – 60 hari. Umur rata-rata hewan ini adalah 4 sampai 5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan dewasa berkisar antara 267 sampai 500 gram, sedangkan betina 225 sampai 325 gram (Sirosis, 2005). Klasifikasi tikus putih menurut Myres dan Armitage (2004) :



Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub-Famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Penelitian ini menggunakan *Rattus norvegicus* strain Wistar karena strain ini merupakan strain yang paling banyak dikembangkan di Indonesia dan juga didasarkan oleh morfologi tubuh yang lebih besar dibandingkan dengan *Rattus norvegicus* strain lainnya (Hedrich, 2006). Tikus albino ini lebih banyak dipilih karena tikus yang dilahirkan dari perkawinan antara tikus

albino jantan dan betina mempunyai tingkat kemiripan genetik yang besar yaitu 98%, meskipun sudah lebih dari 20 generasi. Bahkan setelah terjadi perkawinan tertutup diantara tikus albino ini, mereka masih mempunyai kemiripan genetik yang sangat besar yaitu 99,5%. Hal inilah yang menyebabkan mereka dikatakan hampir menyerupai hewan hasil klon (Rukmanasari, 2010).

Teknik pembuatan hewan model osteoarthritis yang selama ini dilakukan ada beberapa diantaranya *spontaneous* osteoarthritis, *surgical induction* dan injeksi zat kimia. Pada *spontaneous* osteoarthritis, terdapat beberapa spesies hewan yang secara alami dapat mengalami osteoarthritis. Strain dari beberapa spesies tersebut secara alami akan mengalami osteoarthritis. Contohnya anjing labrador dan beagles, *Macaca mullata*, *Macaca fascicularis*, marmut, dan tikus dengan strain STR/ort, BALB/c, DBA/1 and C57BL/6. Pada induksi operasi, yang biasa dilakukan adalah *anterior cruciate ligament transaction* dan *meniscectomy*. Setelah hewan diinduksi maka akan dilakukan evaluasi pengobatan yang dapat memodifikasi struktur tulang (Hyun and Eun, 2012).

Pendekatan dapat pula dilakukan dengan injeksi zat kimia untuk membuat hewan model osteoarthritis. Membuat hewan model osteoarthritis dengan menggunakan metode injeksi kimia yang biasa digunakan diantaranya dengan injeksi kolagenase, injeksi monoiodoacetat (MIA) dan injeksi enzim papain. Pada hewan model injeksi kolagenase, injeksi intra-artikular kolagenase akan memicu ketidakstabilan sendi dengan menurunkan kapsul

dan ligamen di sekitarnya tanpa terjadi degradasi langsung pada tulang tulang rawan. Pada hewan model injeksi monoiodoacetat (MIA), MIA merupakan inhibitor NADPH *irreversible* yang akan menghambat glikolisis seluler, senyawa ini telah digunakan untuk menginduksi komponen yang memicu rasa sakit dan perubahan struktural OA (Khan *et al.*, 2013; Hyun dan Eun, 2012).



Gambar 2.1 : Struktur Enzim Papain (Sumber : Amri, 2012)

Pada hewan model injeksi enzim papain, akan menyebabkan terjadinya degradasi pada matriks ekstraseluler dan mengakibatkan kerusakan tulang rawan. Enzim papain atau khemopapain merupakan enzim proteolitik atau protease. Protease dapat diperoleh dari jaringan tumbuhan, salah satu jenis tumbuhan yang mengandung enzim protease adalah pepaya (*Carica papaya L.*). Pepaya adalah tumbuhan penghasil enzim papain yang merupakan golongan enzim protease sulfhidril (Dongoran, 2004).

Enzim papain mempunyai berat molekul 21.000 kd, tersusun atas 212 asam amino dengan 3 ikatan disulfide dan satu rantai sisi cysteine terdiri dari dua domain. Segmen terakhir dari struktur enzim papain (1-10 dan 209-212) melakukan segala kontak (ikatan hidrogen, elektrostatis dan hidrofobik)

dengan sisi domain tertentu. Enzim papain merupakan salah satu enzim yang bekerja sebagai proteolitik dengan menghidrolisis protein pada kolagen dan proteoglikan, dimana aktivitasnya tergantung pada adanya satu atau lebih residu sulfhidril pada sisi aktifnya. Mekanisme enzim papain analog dengan kelas enzim proteinase lainnya seperti serine, aspartic dan metalloproteinase yaitu pemecahan ikatan amide. Enzim papain juga termasuk dalam enzim sistein proteinase, mengaktifkan metalloproteinase melalui sistem “jalur alternatif” yaitu melalui aktivasi plasminogen. Injeksi papain secara intraartikular dapat menyebabkan penurunan komposisi biokimia baik proteoglikan maupun kolagen, gangguan metabolisme kondrosit dan perubahan histologis yang menuju osteoarthritis (Sutjiati, 2000).

Dosis yang dapat digunakan adalah sebesar 10 mg dalam 0.05 M sodium asetat 0.5 ml secara intra-artikular pada sendi femorotibial yaitu antara os femur dengan os tibia-fibula hewan coba. Hewan coba diinjeksi enzim papain sebanyak tiga kali, yaitu pada hari ke- 8, 11 dan 14 setelah aklimatisasi selama 7 hari (Khan, *et al.*, 2013).

Indikator standart hewan model OA diantaranya adalah pengukuran rasa nyeri dan analisis gaya berjalan. Metode untuk pengukuran rasa nyeri dapat dilakukan dengan penilaian nyeri pada saat palpasi atau pada saat sendi ditekan, sedangkan untuk analisis gaya berjalan dilakukan dengan penilaian terhadap kepincangan kaki hewan model OA. Analisis gaya berjalan berkorelasi terhadap perubahan makroskopis dan mikroskopis hewan model OA (Teeple *et al.*, 2012).

2.4 Komposisi Kimia Cangkang Siput Air (*Pila ampullacea*)

Taksonomi dari siput air yaitu (Ting, *et al.*, 2014):

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Mollusca
Class	: Gastropoda
Subclass	: Caenogastropoda
Order	: Architaenioglossa
Subfamily	: Ampullarioidea
Family	: Ampullariidae
Genus	: <i>Pila</i>
Species	: <i>Pila ampullacea</i>

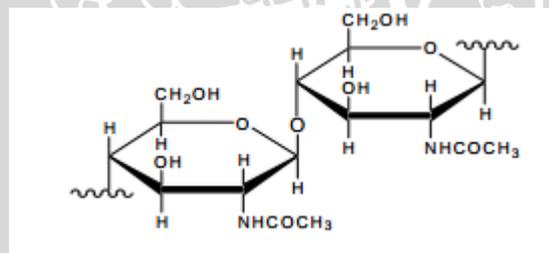


Gambar 2.2. Siput Air (*Pila ampullacea*) (Sumber: Ting, *et al.*, 2014)

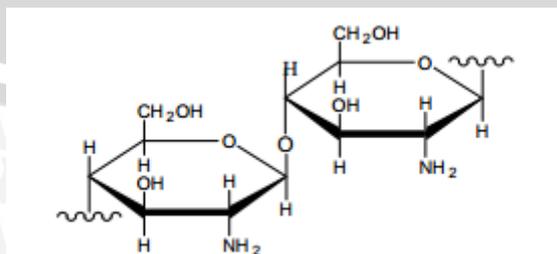
Wilayah perairan Indonesia merupakan sumber cangkang hewan invertebrata laut berkulit keras (Crustacea) yang mengandung kitin secara berlimpah. Saat ini di Indonesia menghasilkan limbah yang mengandung kitin sekitar 56.200 ton pertahun (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2000). Kitin merupakan bahan organik utama terdapat pada kelompok hewan crustaceae, insekta, mollusca dan arthropoda. Kitin juga diketahui terdapat

pada kulit siput, kepiting, kerang dan bekicot. Cangkang kering dari arthropoda memiliki kitin antara 20-50% (Kusumaningsih, 2004).

Kitin adalah biopolimer tersusun oleh unit-unit N-asetil-D-glukosamin berikatan β (1-4) glikosidik. Kitin dengan derajat deasetilasi lebih dari 75% dikenal sebagai kitosan terdiri dari unit N asetil glukosamin. Kitosan merupakan suatu senyawa polimer dari glukosamina pada ikatan β (1-4) atau polimer dari 2-amino-2deoksi-D-glukosa. Derajat deasetilasi menentukan jumlah muatan gugus amina bebas dalam polisakarida. Semakin banyak gugus amina bebas maka kitosan makin murni (Khan, *et al.*, 2002). Kitin dapat dihidrolisis dengan asam untuk memecah ikatan β (1-4) glikosidik dan menghilangkan gugus asetil untuk menghasilkan glukosamin (Xiaolan, *et al.*, 2005).



Gambar 2.3. Struktur kimia kitin (Sakkayawong *et al*, 2005)

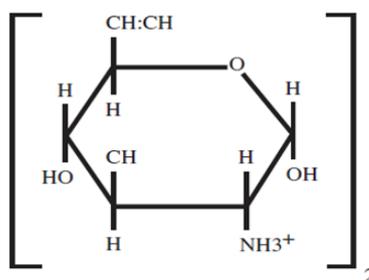


Gambar 2.4. Struktur kimia kitosan (Sakkayawong *et al*, 2005)

Siput air adalah sejenis gastropoda air tawar yang mudah dijumpai di perairan Asia seperti sawah, aliran parit, serta danau. Hewan bercangkang ini dikenal pula sebagai keong gondang, siput sawah, siput air, atau tutut. Bentuknya agak menyerupai siput murbai, masih berkerabat, tetapi siput sawah memiliki warna cangkang hijau pekat sampai hitam (Thaewnon, *et al.*, 2003). Disisi lain hewan ini juga merupakan salah satu sumber protein bagi sebagian masyarakat pedesaan (Suartin,2007). Kondisi ideal untuk hidup siput air seperti halnya keong mas, siput air hidup pada air pH air berkisar antara 5 - 8 (Riyanto, 2003).

2.5 Glukosamin sebagai Terapi Osteoarthritis

Glukosamin (2-amino-2-deoxyalpha-D-glukosa) merupakan salah satu senyawa gula amino yang ditemukan secara luas pada tulang rawan dan memiliki peranan yang sangat penting untuk kesehatan dan kelenturan sendi. Glukosamin merupakan prekursor utama untuk biosintesis berbagai makromolekul seperti asam hialuronat, proteoglikan, glikosaminoglikan (GAGs), glikolipid dan glikoprotein (EFSA, 2009). Secara umum, glukosamin terbagi menjadi tiga bentuk yaitu, glukosamin hidroklorida, glukosamin sulfat, dan N-asetil glukosamin (Institute of Medicine,2003).



Gambar 2.5. Struktur kimia glukosamin (Thakral *et al*, 2007)

Glukosamin adalah monosakarida amino yang ditemukan dalam kitin (Thakral *et al.*, 2007). Glukosamin merupakan senyawa alami yang terdapat dalam tubuh yang terdiri dari glukosa dan asam amino glutamin, selain itu glukosamin adalah unsur pokok pada tulang rawan kartilago dan cairan sinovial. Fungsi glukosamin dalam tubuh adalah untuk memproduksi cairan sinovial yang berfungsi sebagai pelumas pada tulang rawan, sehingga pergerakan tulang menjadi baik. Kekurangan cairan sinovial dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya gangguan sendi, seperti gerakan sendi yang kaku sehingga akan berakibat terkena penyakit osteoarthritis (Williams 2004). Efek farmakologi dari glukosamin adalah sebagai berikut : (Sutjiati, 2000)

1. Menginduksi kondrosit untuk mensintesa proteoglikan dan kolagen lebih banyak dalam upaya memperbaiki komponen yang rusak maupun mempertahankan kondisi homeostasis
2. Menghambat enzim yang terlibat dalam hidrolisis. Protein matrik dapat berikatan dengan polipeptida dan protein lain. Adanya ikatan ini dapat melindungi komponen matrik dari aktivitas enzim proteolitik.
3. Mengurangi inflamasi. Memiliki aktivitas imunomodulator melalui penghambatan IL-1. Pemberian glukosamin terbukti menyebabkan penurunan aktifitas inflamasi yang ditunjukkan oleh penurunan jumlah leukosit.

Glukosamin memiliki aktivitas kondroprotektif untuk meningkatkan kondrogenesis dari sel mesenkimal, glukosamin menghasilkan kondrosit yang mengekspresikan proteoglikan aggrekan dan kolagen tipe II, memblok IL-1

dan MMP 13. Glukosamin sebagai progenitor diferensiasi dari *human mesenchymal stem cells* (hMSCs). Sel – sel ini dapat berdiferensiasi menjadi fenotik kondrogenik, dalam kultur dengan medium ditambahkan deksametason dan TGF- β (Derfour *et al*, 2007).

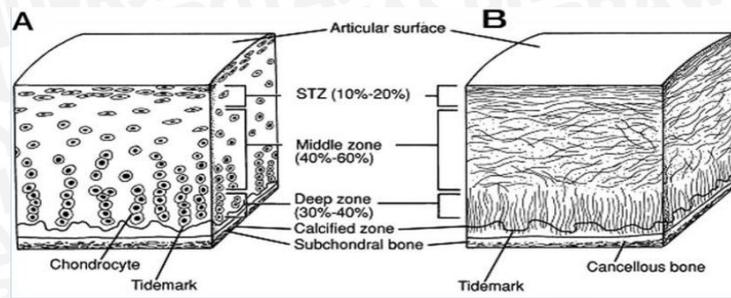
2.6 Gambaran Histologi Normal Kartilago Artikular

Kartilago artikular merupakan tulang rawan hialin yang memiliki tebal 2-4 mm. Kartilago artikular memiliki ciri *avascular*, *aneural* dan *alymphatic* sehingga nutrisi yang didapatkan kondrosit berasal dari difusi molekul dari cairan sinovial. Jaringan kartilago tersusun atas matriks ekstraseluler yang diproduksi oleh kondrosit. Matriks ekstraseluler terdiri dari 70-80% air, *protein collagen fibers*, proteoglikan, glikosaminoglikan dan beberapa *non-collagen protein*. Pada kartilago artikular yang normal permukaan tulang rawan halus, matriks dan kondrosit tersusun dalam zona superfisial, *middle*, *deep* dan kalsifikasi. (Aigner and Schmitz, 2010).



Gambar 2.6. Histologi kartilago sendi tikus normal dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin, perbesaran total 200x (Aigner and Schmitz, 2010)

Secara histologi, kartilago artikular dibagi menjadi beberapa zona sesuai dengan kedalaman jaringan (Alice *et al.*, 2009 ; Torfve, 2014) :



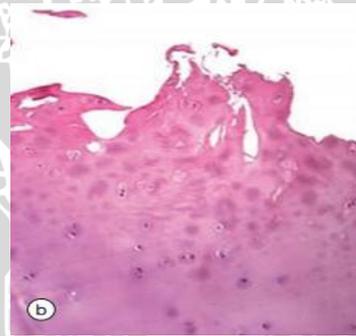
Gambar 2.7. Komposisi dan struktur dari kartilago hialin artikular dan tulang subkondral. Keterangan: : A. Organisasi seluler di zona kartilago artikular ; B. Orientasi serat kolagen (Sumber: Alice *et al*, 2009).

1. Superfisial, merupakan zona tertipis dengan ketebalan 10% sampai 20% dari total volume kartilago artikular. Terdiri dari sel –sel berbentuk pipih yang tersusun mengikuti bentuk permukaan artikular dengan kadar tinggi. Sel ini mengaktifkan gen lubricin (Prg4) yaitu protein yang berfungsi mengatur pergerakan dan gesekan sendi serta terdiri atas kolagen (terutama kolagen tipe I) dengan diameter 20 nm, memiliki konsentrasi aggrekan yang sedikit namun memiliki konsentrasi air yang tinggi. Lapisan ini sangat penting dalam perlindungan lapisan yang lebih dalam. Lapisan superfisial kontak dengan cairan synovial.
2. *Middle* atau *intermediat*, terdiri 40% sampai 60% dari total volume kartilago artikular, mengandung banyak proteoglikan aggrekan dan serat kolagen tipe II dengan diameter 70-120 nm yang tersusun secara berselang-seling dan memiliki kondrosit berbentuk bulat dengan kepadatan rendah. Lapisan ini merupakan baris pertama pertahanan dari adanya tekanan.
3. *Deep* atau radial, terdiri 30% dari volume kartilago artikular mengandung aggrekan dan serat kolagen terbesar namun mengandung kadar air yang

rendah. Kondrosit mengalami densitas sel kearah minimal, kondrosit dengan serat kolagen tegak lurus dengan garis sendi. Lapisan ini merupakan ketahanan terbesar dari adanya tekanan.

4. Kalsifikasi, *Tidemark* membatasi antara zona *deep* dan kalsifikasi. Tidak terlalu banyak mengandung kondrosit dan kondrosit yang terkandung mengalami hipertropi, terdapat kolagen X yang menyebabkan kalsifikasi matriks sekitarnya. Lapisan kalsifikasi merupakan integrasi struktural antara tulang subkondral dan kartilago artikular.

2.7 Histopatologi Kartilago Artikular Osteoarthritis



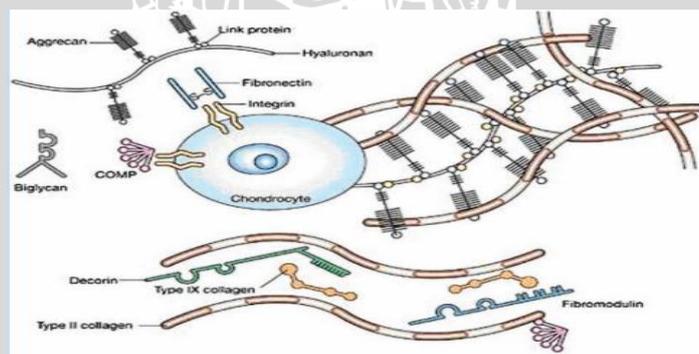
Gambar 2.8. Histopatologi kartilago sendi tikus model osteoarthritis dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin, perbesaran total 200x (Aigner and Schmitz, 2010).

Menurut Conaghan, *et al* (2012), degradasi kartilago menyebabkan kehilangan struktur kartilago normal dan fungsi secara progresif yang mengarah pada osteoarthritis. Hasil dari mikroskopis pasien penderita OA menunjukkan terjadi denaturasi kolagen khususnya kolagen tipe II, penurunan jumlah proteoglikan, kerusakan kondrosit dan adanya fibrilasi atau retakan

pada zona superfisial hingga zona transisional kartilago artikular dan remodeling dari tulang subkondral.

2.8 Matriks Kartilago Artikular

Matriks ekstraseluler terdiri dari air, kolagen, proteoglikan dan glikosaminoglikan, non-kolagen protein dengan kadar yang lebih rendah. Matriks ekstraseluler terdiri atas 80% air, air berfungsi untuk mengalirkan nutrisi sehingga kondrosit menerima nutrisi dari adanya difusi molekul dari cairan sinovial pada kavitas sendi menuju ekstraseluler matriks. Kolagen merupakan struktur makromolekul yang paling banyak pada matriks ekstraseluler. Kolagen tipe II terdiri hingga 90% dan kolagen tipe I,IV,V,VI,IX dan XI juga berkontribusi dalam kadar yang lebih rendah. Selain itu, terdapat kolagen tipe X yang hanya disintesis oleh kondrosit hipertrofi pada kartilago klasifikasi pada kondisi normal (Mohan G, 2012).



Gambar 2.9. Matriks ekstraseluler tulang rawan artikular. Makromolekul terdiri dari kolagen (kolagen tipe II) dan proteoglikan (aggrekan). Molekul yang lebih kecil terdiri dari non-kolagen protein. Interaksi antara proteoglikan kartilago dan kolagen tipe II memberikan kekuatan tekan dan tarik dari jaringan (Sumber : Chen *et al.*, 2006)

Proteoglikan terdiri dari dua protein dasar molekul inti dan glikosaminoglikan. Proteoglikan merupakan komponen utama dari matriks ekstraselular bertindak sebagai pengisi antara ruang yang terjadi antara sel-sel. Aggrekan merupakan proteoglikan yang terdapat paling banyak memiliki lebih dari seratus kondroitin sulfan dan keratin sulfat yang berinteraksi dengan molekul hyaluronan membantu untuk membentuk matriks yang stabil dan mampu menahan kekuatan tekan tinggi tanpa mengubah bentuknya (Alice *et al.*, 2009). Aggrekan memiliki muatan negatif dan memberikan sifat osmotik yang dibutuhkan kartilago artikular dalam menahan kompresi sendi yang terjadi. Proteoglikan lain seperti *syndecan*, *glypican*, *decorin*, *biglycan*, *fibromodulin*, *lumican*, *epiphygan* dan *perlecan* juga dapat ditemukan pada matriks kartilago (Umlauf *et al.*, 2010).

2.9 Morfologi Kondrosit

Menurut Poole, *et al.* (2001), kartilago artikular merupakan bentuk khusus dari kartilago hialin. Kartilago hialin merupakan kartilago yang berada pada akhir dari setiap tulang yang memiliki sendi. Kondrosit memiliki peranan yang sangat penting dalam menjaga kestabilan kondisi kartilago artikular. Kondrosit bertanggung jawab untuk memproduksi matriks ekstraseluller (Malero, *et al.*, 2007). Bentuk kondrosit bervariasi dalam bentuk, jumlah dan ukurannya tergantung pada anatomi daerah kartilago artikular. Kondrogenesis adalah fase awal dari pengembangan kerangka yang melibatkan sel mesenkimal baik itu selama embriogenesis maupun pada saat perbaikan jaringan yang mengalami kerusakan yang berdiferensiasi menjadi

prekondrosit, kondrosit matang dan memproduksi matriks ekstraseluler (Alice *et al.*, 2009; Michael *et al.*, 2008).

Proliferasi kondrogenik dari diferensiasi MSC terutama dipengaruhi oleh faktor anabolik seperti faktor pertumbuhan, faktor transkripsi dan faktor hormonal. Faktor pertumbuhan diantaranya TGF (*Tissue Growth Factor*), IGF (*Insulin Growth Factor*), BMP (*Bone Morphogenetic Protein*), FGF (*Fibroblast growth factor*), Wnt (*Wingless family*) dan HH (*Hedgehog*). TGF merupakan faktor pertumbuhan kondrosit yang paling optimal, akan membantu dalam proliferasi kondrosit, sintesis matriks, memodulasi efek dari IL-1 dan meningkatkan inhibitor proteinase. TGF- β menginduksi produksi TIMP (*Tissue Inhibitors Of Matrik Metalloproteinase*) merupakan penghambat MMPs (*Matrik Metalloproteinase*) (Shen, 2014; Hasanali, 2011). IGF akan menengahi kondrogenesis dengan meningkatkan proteoglikan dan produksi kolagen tipe II. BMP akan meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler. FGF sebagai faktor pertumbuhan proliferasi kondrosit, mengaktifkan beberapa jalur sinyal pada siklus sel. Wnt berperan dalam pengendalian kondrogenesis dan hipertrofi. Sinyal Hedgehog dapat berinteraksi dengan beberapa jalur sinyal lain, termasuk FGF, Wnt, dan BMP. Kebutuhan sinyal Hh bervariasi dalam proses perkembangan yang berbeda dalam diferensiasi kondrosit (Widiastana, 2011; Kraan, 2010).

Beberapa faktor transkripsi diketahui mempengaruhi pembentukan tulang rawan artikular, di antaranya: *Sox9*, *L-Sox5*, *Sox6*. Faktor transkripsi *Sox9* diketahui berperan dalam diferensiasi kondrosit dan diperlukan untuk

kondensasi mesenkimal. Faktor transkripsi *L-Sox5* dan *Sox6* tidak digunakan saat tahap kondensasi mesenkimal, tetapi diekspresikan dengan *Sox9* pada tahap kondrogenesis berikutnya. *Sox9*, *L-Sox5* dan *Sox6* ketiganya yang dihasilkan oleh kondrosit bekerjasama menghasilkan *enhancer* spesifik tulang rawan seperti *Col2a1* (kolagen tipe II, IX, XI dan AgC1 (Aggrecan), namun pada kondrosit hipertrofi yang hanya terjadi di zona kalsifikasi dibantu oleh faktor transkripsi *Runx2* yang mengekspresikan *Col10a1* (kolagen tipe X) (Lefebvre and Smits, 2005).

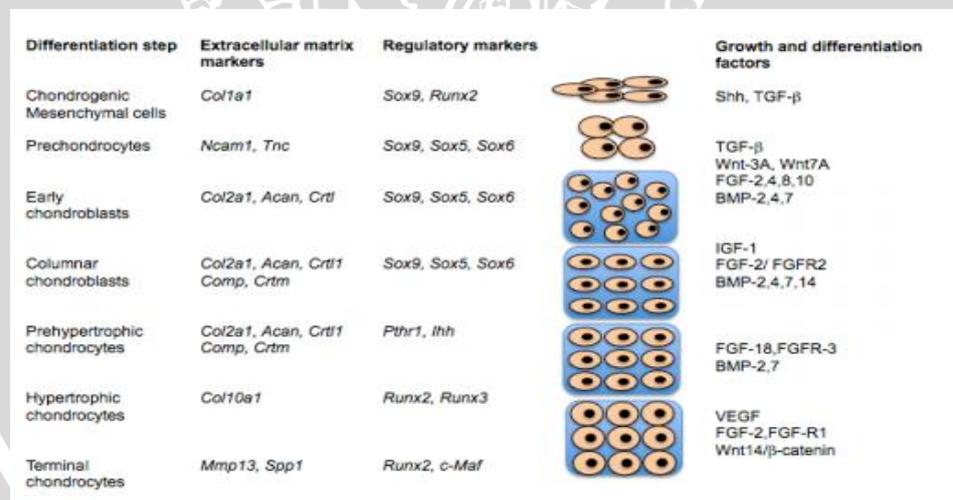
Kondrosit dapat dipertahankan dengan keberadaan faktor hormonal PTHrP (*Parathyroid Hormone related Peptide*). Protein PTHrP diekspresikan di kondrosit periartikuler dan ekspresinya dipengaruhi oleh polipeptida HH (*Hedgehog*). Fungsi PTHrP yaitu meningkatkan aktivitas transkripsi *Sox9*, sehingga memelihara fenotip kondrosit pada zona prehipertrofik dan mencegah transisi menjadi kondrosit hipertrofi (Remelia, 2014).

Kondrosit artikular yang matur tertanam dalam matriks ekstraseluler memiliki aktifitas mitosis dan aktifitas sintesis yang sangat rendah. Kondrosit berbentuk bulat atau polygonal, kecuali pada bagian yang permukaan artikular sendi, kondrosit berbentuk agak rata (diskoid). Bagian intraselulernya banyak terdapat retikulum endoplasma kasar, apparatus golgi juxt nuklear dan deposisi glikogen, yang menunjukkan karakteristik dari sel aktif (Goldbring, 2000).

Kondrosit menghasilkan enzim pemecah matriks, sitokin {(Interleukin-1 β (IL- 1 β), Tumor Necrosis Factor (TNF)}, dan faktor

pertumbuhan. Umpan balik yang diberikan enzim tersebut akan merangsang kondrosit untuk melakukan sintesis dan membentuk molekul-molekul matriks yang baru. Pembentukan dan pemecahan ini dijaga keseimbangannya oleh sitokin faktor pertumbuhan, dan faktor lingkungan (Felson, 2008).

Kondrosit OA mengalami perubahan fenotip menjadi kondrosit hipertropi. Beberapa faktor yang berperan dalam perkembangan penyakit OA, termasuk diantaranya adalah faktor biokimia, genetik dan stress mekanik. Faktor katabolik seperti IL-1 β dan TNF- α akan meningkatkan MMPs, mensupresi sintesis kolagen tipe II, proteoglikan dan menghambat TGF- β yang berfungsi untuk menstimulasi proliferasi kondrosit (Handono, *et al.*, 2014; Alejandro, 2011).



Gambar 2.10. Fase diferensiasi kondrogenik. Tahapan kondrogenesis dengan diikuti marker matriks ekstraseluler, marker regulator dan faktor pertumbuhan dan diferensiasi (Lefebvre and Smits, 2005).

IL-1 β merupakan salah satu jenis sitokin yang berperan penting pada respon inflamasi terkait dengan proses infeksi dan penyakit yang berkaitan dengan system imun. IL-1 β merupakan molekul glycoprotein yang diproduksi

dan disekresi dalam bentuk tidak aktif yang disebut pro-IL-1 β . IL-1 β menstimulasi sintesis dan aktivitas matriks metalloproteinase dan enzim-enzim lain yang menyebabkan degradasi kartilago. IL-1 β merupakan sitokin pro-inflamasi, memiliki kemampuan menginduksi kondrosit dan sinovium untuk mensintesis MMPs, IL-1 β memiliki kemampuan mensupresi sintesis kolagen tipe II, proteoglikan dan menghambat TGF- β yang berfungsi untuk menstimulasi proliferasi kondrosit. IL-1 β yang tinggi pada kondrosit memproduksi protein yang tidak terdapat pada tulang rawan yaitu memproduksi kolagen tipe I dan III, memproduksi alkali phosphatase, osteonectin, MMP-13 dan kolagen tipe X yang menunjukkan dedifferensiasi kearah fenotip hipertropi sehingga dapat digunakan sebagai marker kondrosit OA (Alejandro, 2011).

Tabel 2.1. Karakteristik Kondrosit Osteoarthritis

Fungsi Peningkatan	Fungsi Penurunan
Produksi Sitokin	Kolagen tipe II dan agregkan
Proteinase (MMPs, Agregkanase)	IL-1 reseptor antagonis
NOS, Apoptosis	
Ekspresi kolagen tipe X	

Keterangan : MMP = matriks metalloproteinase, IL-1= Interleukin-1, iNOS = nitric oxide synthase

Secara morfologi, kondrosit yang mengalami hipertropi memiliki karakteristik yaitu volume sel meningkat drastis, kromatin inti tersebar, sejumlah partikel glikogen terlihat ada pada sitoplasma. Pada sitoplasma retikulum endoplasma kasar menjadi sangat banyak, apparatus golgi dan lisosom bentuknya menjadi sangat besar (Peter,*et al.*, 2005).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

