

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Tinggi Badan

Tinggi badan menunjukkan panjang vertikal yang diukur dari puncak kepala sampai telapak kaki pada saat posisi berdiri tegak. Ukuran tinggi badan diperoleh dari hasil penjumlahan beberapa tulang yang menyusun kerangka badan. Secara umum, tinggi badan dipandang sebagai ciri fenotif seseorang yang merupakan hasil dari proses pertumbuhan dan kondisi kesehatan sebelumnya (Savage *et al.* 2007).

Sama dengan sifat-sifat fenotipik yang lain, tinggi badan ditentukan oleh kombinasi faktor genetika dan lingkungan (Fuqua *et al.* 2008; Savage *et al.*, 2007; Miclea, 2016). Faktor genetika mempengaruhi tinggi badan sekitar 60% sampai 80% sedangkan faktor lingkungan mempengaruhi tinggi badan sebesar sisanya (Sinha, 2015; Miclea, 2016). Tinggi badan seorang anak dipengaruhi oleh tinggi kedua orangtuanya, oleh karena itu orang tua yang sangat tinggi atau pendek akan memiliki anak-anak yang cenderung mendekati tinggi rerata dari kedua orang tuanya. Potensi genetika disertai dengan gizi yang baik tanpa adanya stress yang bermakna merupakan formula dasar penentu tinggi badan seseorang. Tinggi badan seseorang mengalami pertumbuhan tercepat pada saat bayi dan balita, kemudian akan melambat kira-kira usia 2 tahun, dan kemudian mengalami percepatan pertumbuhan saat pubertas. Kecepatan peningkatan pertumbuhan mencapai ke tinggi badan maksimal, pada anak perempuan terjadi sekitar usia 11-12 tahun, sedangkan pada anak laki-laki pada usia 13-14 tahun. Setelah itu terjadi penurunan yang menetap sampai akhirnya berhenti. Rerata kecepatan pertumbuhan perempuan berhenti pada sekitar usia 15 tahun, sedangkan kurva pada anak laki-laki masih berjalan lambat selama kurang lebih 3 tahun kemudian, dan akan berhenti pada sekitar usia 18 tahun (Miclea, 2016; Savage *et al.*, 2007).

Pertumbuhan tinggi badan ditentukan oleh berbagai faktor yang merupakan hasil dari perpanjangan tulang melalui divisi seluler yang diatur terutama oleh somatotropin atau hormon pertumbuhan yang disebut Growth Hormone (GH) yang diproduksi oleh kelenjar hipofisis anterior. Somatotropin juga merangsang pelepasan hormon pertumbuhan lain dengan merangsang Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) yang dihasilkan terutama oleh hepar. Kedua hormon tersebut berpengaruh terhadap sebagian besar jaringan tubuh, dan memiliki berbagai fungsi lainnya. Hormon GH dan IGF-1 disekresikan sepanjang hidup seseorang dengan puncak produksi bertepatan saat mengalami puncak pertumbuhan, yang selanjutnya secara bertahap mereda pada usia setelah remaja. Lonjakan produksi hormon GH terutama terjadi pada saat tidur (Lanes, 2000).

Laju pertumbuhan tinggi badan

Anak-anak pada anak usia dini biasanya tumbuh dengan kecepatan sekitar 2 – 2,5 inci/ tahun, dan terus mengalami peningkatan sampai saat pubertas. Setelah itu terjadi perlambatan sekitar 1,5 inci/ tahun. Percepatan pertumbuhan tertinggi terjadi pada saat pubertas yang bisa mencapai sekitar 3 – 3,5 inci/ tahun untuk anak perempuan dan 4 inci/ tahun untuk anak laki-laki. Pertumbuhan kemudian melambat lagi pada anak perempuan menjadi sekitar 2,5 – 3 inci/ tahun setelah menarche (haid pertama) sampai mencapai tinggi dewasa. Anak laki-laki dan perempuan biasanya terus tumbuh sampai mereka berusia 14 – 16 tahun, tetapi ini tergantung pada saat mereka mulai pubertas. Anak perempuan mencapai percepatan pertumbuhan pubertas sekitar dua tahun lebih awal dari anak laki-laki, sehingga pada awal masa remaja, banyak anak perempuan lebih tinggi dari laki-laki. (Savage *et al.*, 2007)

2. Anatomi Makroskopis Tulang Panjang

Menurut bentuknya, tulang dibedakan menjadi tulang panjang, tulang pendek, tulang pipih dan tulang yang berbentuk tidak beraturan. Tulang panjang tersusun atas keseluruhan batang atau diafise, epifise

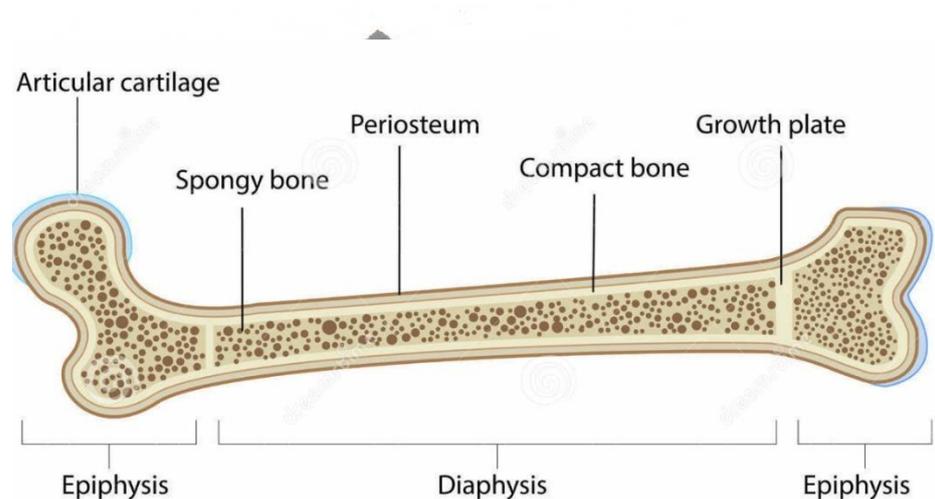
yang terletak di kedua ujung distal dan proksimal tulang serta metafise yang terletak di antara epifise dengan diafise. Cakram epifise merupakan pusat pertumbuhan sekunder tersusun atas tulang rawan yang terletak pada epifise di sebelah distal dari metafise. Diafise terutama tersusun atas bagian kompakta atau tulang kortikal yang padat sedangkan metafise dan epifise tersusun atas tulang trabekular yang tepinya dilapisi oleh tulang kortikal tipis.

Lubang atau foramen nutrisium umumnya ditemukan pada diafise. Lubang ini merupakan tempat lewatnya pembuluh darah yang memberi nutrisi pada permukaan dan bagian dalam tulang. Berbagai struktur di tulang seperti *tuberculum*, *linea* dan lain-lain bisa dijumpai dan struktur tersebut berhubungan dengan fungsi tulang sebagai alat untuk melekatnya otot, tendo atau ligamenta.

Jaringan tulang terdiri dari 2 bagian, yaitu tulang spongiosa (*cancellous bone/trabecular bone*) dan tulang kompakta (*cortical bone*). Masing-masing tulang tersebut memiliki sifat struktur dan material yang unik dan oleh karena itu memiliki respon biomekanis yang berbeda. Perbedaan ini mencerminkan strukturnya dalam mendukung fungsi tulang. Jaringan tulang spongiosa ditandai dengan adanya osteosit di dalam ruang-ruang dan matriks padat. Struktur mikroskopis tulang spongiosa tersusun dalam spikula atau trabecula, sehingga membentuk jaringan berpori yang diisi oleh sumsum tulang. Tulang kompakta terdiri dari unit struktural yang diidentifikasi sebagai sistem Haversian atau osteons. Sistem Haversian mengandung pusat pembuluh darah yang dikelilingi oleh lapisan tulang mineral (lamella) dan ruang kosong yang mengandung sel-sel tulang. Sistem ini terhubung oleh garis semen yang diduga membantu menghilangkan tekanan dari cedera.

Struktur tulang pada anak berbeda dengan tulang pada dewasa karena masih mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Tulang panjang pada anak-anak memiliki rongga sumsum tulang penuh yang bulat pada diafise, dengan dominasi jaringan tulang kompakta. Tulang

trabekular mendominasi daerah metafise dan epifisie tulang panjang, dan mempunyai fungsi sebagai cadangan kalsium untuk memenuhi kebutuhan fisiologis anak. Pada anak yang sedang berkembang, terdapat cakram epifise yang terletak di antara epifise dan metafise. Area ini merupakan tempat penulangan dan memungkinkan tulang mengalami proliferasi, hipertrofi dan transformasi dari tulang rawan menjadi jaringan tulang yang keras.



Gambar 1. Struktur makroskopis tulang panjang (Anatomyorgan.com., 2018)

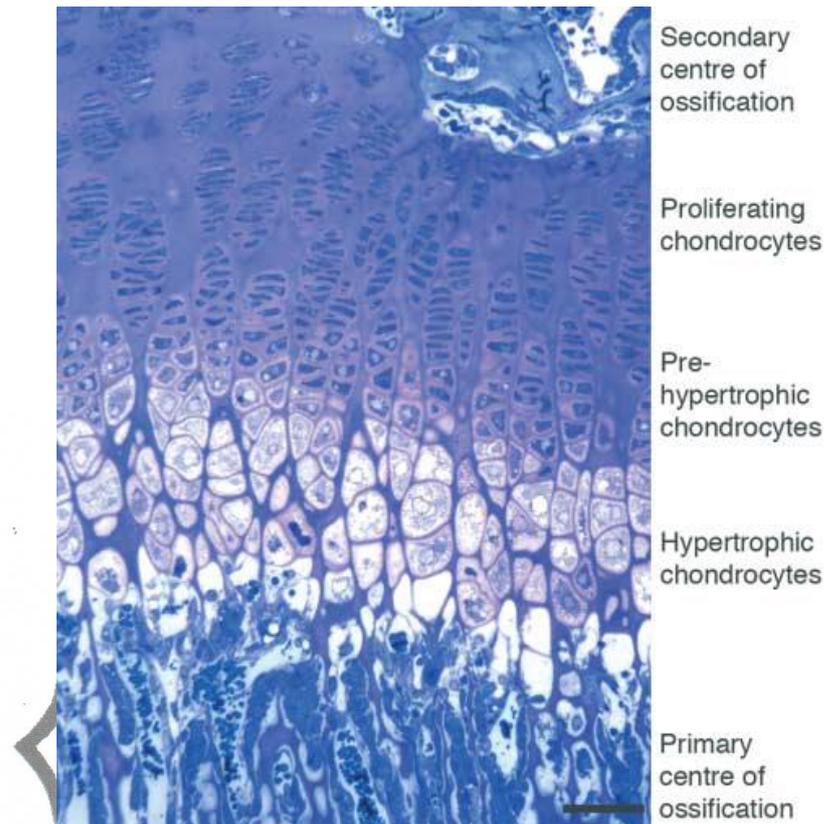
3. Anatomi Mikroskopis Cakram Epifise

Cakram epifise merupakan area pada tulang panjang yang terletak pada metafise di antara epifise dengan diafise. Cakram epifise terdiri dari beberapa lapis zona sel dengan aktivitas yang berbeda, yaitu:

- a. *Resting Zone* (Zona cadangan), merupakan area yang terletak paling dekat dengan bagian akhir cakram epifise, berisi kondrosit-kondrosit kecil yang tertanam di dalam matriks;
- b. *Proliferatif zone* (Zona pematangan dan proliferasi), adalah lapisan berikutnya yang menuju diafise, terdiri dari beberapa lapis kondrosit berbentuk pipih tersusun membentuk kolom dengan aksis sejajar dengan pertumbuhan memanjang tulang. Kondrosit di zona ini secara terus menerus membentuk kondrosit baru melalui mitosis;

- c. *Hypertrophy zone* (Zona hipertrofi) berisi kondrosit yang lebih tua dan lebih besar dibandingkan dengan kondrosit di zona proliferasi. Sel-sel yang lebih matang terletak lebih dekat ke akhir diafise. Pada zona ini, lipid, glikogen, dan alkali fosfatase menumpuk, menyebabkan matriks tulang rawan membentuk kapur. Pertumbuhan memanjang tulang adalah hasil dari divisi seluler di zona proliferasi bersama dengan pematangan sel di zona pematangan dan hipertrofi;
- d. Zona matriks kalsifikasi, zona yang paling dekat dengan diafise, berisi kondrosit yang mati karena matriks sekitar mereka telah mengalami kalsifikasi. Kapiler dan osteoblas dari diafise menembus zona ini. Osteoblas mensekresikan jaringan tulang pada tulang rawan kalsifikasi yang tersisa. Dengan demikian, zona matriks kalsifikasi menghubungkan lempeng epifise dan diafise.

Tulang tumbuh panjang dan tinggi badan bertambah ketika jaringan tulang menyatu dengan diafise. Setelah zona matriks kalsifikasi, ada zona osifikasi, yang sebenarnya adalah bagian dari metafise. Arteria baru cabang dari metafise melalui trabekula mulai terbentuk di zona ini. Jaringan tulang baru disimpan di bagian atas zona osifikasi disebut spongiosa utama. Semakin tua tulang di bagian bawah zona osifikasi disebut spongiosa sekunder (Bennet *and* Pierce, 2009; Burr *et al*, 2011; Boundless, 2015).



Gambar 2. Struktur histologi cakram epifise, irisan melalui proksimal cakram epifise tibia tikus usia 3 minggu (Mackie *et al.*, 2011).

Tulang terus tumbuh memanjang sampai dewasa awal dengan tingkat pertumbuhan yang dikendalikan oleh hormon. Ketika kondrosit di cakram epifise berhenti proliferasi dan jaringan tulang menggantikan tulang rawan, maka pertumbuhan memanjang akan berhenti. Sisa dari cakram epifise berupa garis epifise.

Proses pertumbuhan memanjang diatur oleh suatu kompleksitas dari sinyal endokrin, termasuk hormon pertumbuhan GH, Insulin-like Growth Factor I (IGF-1), glukokortikoid, hormon tiroid, estrogen, androgen, vitamin D, dan leptin. Banyak sinyal ini mengatur pertumbuhan dan fungsi cakram, baik melalui efek lokal dari cakram pertumbuhan kondrosit sendiri dan juga secara tidak langsung melalui modulasi dan sinyal endokrin lainnya. Beberapa efek hormon lokal dimediasi oleh perubahan faktor-faktor parakrin yang mengontrol proliferasi dan diferensiasi kondrosit (Nilsson *et al.*, 2005; Burdan *et al.*, 2009)).

4. Osifikasi Endokondral pada Cakram Epifise

Pada semua tahapan osifikasi endokondral, mulai dari inisiasi pembentukan pusat primer sampai tahap akhir pertumbuhan remaja, kondrosit mempunyai kontribusi yang besar. Hal ini terlihat pada morfologinya yang berbeda dari berbagai zona di cakram epifise. Pada awalnya kondrosit mengalami proliferasi, yang terlihat sebagai sel-sel kondrosit di dalam matriks tulang rawan. Setelah fase ini, sel kondrosit mengalami periode aktivitas sekretori yang tinggi, sementara sisanya dalam kelompok multisel, sering diatur dalam kolom sejajar dengan sumbu panjang tulang. Sel-sel ini secara bertahap mengalami hipertrofi. Sel-sel hipertrofi menghasilkan matriks kolagen tipe X dan beberapa faktor lain. Setelah hipertrofi, kondrosit mengalami kematian fisiologi, dan septa melintang dari matriks kartilago di sekitarnya akan hilang, yang memungkinkan masuknya campuran sel yang bertanggung jawab untuk perluasan pusat osifikasi (Burdan *et al.*, 2009; R, T.B. and O'Keefe., 2003). Dengan demikian, kondrosit cakram epifise memainkan peranan penting dalam proses penulangan.

a. Kontribusi terhadap perpanjangan tulang.

Kondrosit di cakram epifise memberikan kontribusi untuk perpanjangan tulang melalui kombinasi proliferasi, sekresi matriks ekstra seluler dan hipertrofi. Kontribusi relatif dari parameter ini bervariasi dengan tingkat pertumbuhan yang bervariasi sesuai lokasi anatomi, usia dan jenis tulang. Semakin tinggi tingkat pertumbuhan maka semakin besar kontribusi dari sel-sel hipertrofi dan semakin kecil kontribusi dari sintesis matriks (Mackie *et al*, 2011). Fungsi kondrosit tersebut dikontrol ketat oleh molekul yang beredar seperti hormon, dan zat yang diproduksi oleh kondrosit sendiri secara lokal. Adanya mutasi pada gen yang mengkode regulasi molekul mengakibatkan rangka displasia, misalnya pada *dwarfisme*, yaitu pertumbuhan tulang yang tidak memadai akibat gangguan osifikasi endokondral (Burdan *et al.*,2009; .

b. Proliferasi

Stimulator penting proliferasi kondrosit di cakram epifise adalah Growth Hormone (GH), yang diproduksi oleh kelenjar hipofisis anterior melalui stimulasi sekresi Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1), yang diproduksi sel-sel hati dan sel parakrin di jaringan cakram epifise (Nilsson *et al.* 2005). Pentingnya sumbu GH / IGF-1 dapat dilihat dari pertumbuhan berlebihan yang diamati dari anak-anak dengan kadar GH tinggi akibat tumor hipofisis. Kemungkinan besar terjadi penekanan aktivitas sumbu GH/ IGF1 oleh inflamasi sitokin menyebabkan terjadinya cacat pertumbuhan. Hal ini dapat diamati pada anak-anak dengan kondisi peradangan kronis, yang secara umum menunjukkan penurunan kadar IGF-1. Insulin-like growth factor-2 (IGF2), dikatakan tidak tergantung pada keberadaan GH, dan diperlukan pada pertumbuhan embrio yang normal. Aktivitas semua IGF-1 dan IGF-2 dimediasi oleh reseptor IGF-1. Tikus yang tidak memiliki reseptor ini menunjukkan cacat pertumbuhan yang lebih parah dibandingkan tikus yang tidak memiliki salah satu dari IGFs (Mackie, *et al* 2011; Nilsson, *et al.*, 2005).

Indiana Hedgehodge (IHH) disekresikan oleh kondrosit yang mengalami transisi dari proliferasi ke hipertrofi, atau kondrosit prehipertrofi. IHH diperlukan untuk proliferasi kondrosit normal selama masa embrio dan pertumbuhan postnatal. Aktivitas IHH melalui pengikatan reseptor *permukaan sel yang ditambal 1* (Ptch1), dengan menekan sinyal melalui protein *membran dihaluskan* (elective). Respon kondrosit terhadap IHH dimediasi oleh anggota keluarga Gli dari transkripsi regulator (Mackie *et al.*, 2011).

Bone Morphogenic Protein (BMP) adalah anggota dari superfamili Transforming Growth Factor β (TGF- β). Peran BMP pada cakram epifise melalui proliferasi kondrosit. Reseptor BMP merupakan kompleks tipe I dan tipe II serin/ reseptor kinase

treonin, yang ketika diaktifkan memfosforilasi reseptor-Smads dan menyebabkan translokasi ke inti. Reseptor-Smads yang bertanggung jawab terhadap sinyal BMP di kondrosit adalah Smads 1 dan 5, yang memiliki fungsi tumpang tindih. Fosforilasi Smads 1 dan 5 di kondrosit tergantung pada adanya neogenin. Peran neogenin dalam proses ini berperan untuk menengahi asosiasi reseptor BMP dengan membrane microdomains (rakit lipid) (Nilsson *et al.*, 2007).

Fibroblast Growth Factors (FGFs) berperan melalui reseptor FGF3 (FGFR3) dan merupakan regulator penting dari kondrosit proliferasi. *Achondroplasia*, suatu bentuk paling umum dari dwarfisme pada manusia, serta beberapa displasia tulang manusia lainnya, merupakan hasil dari mutasi gen yang mengaktifkan FGFR3. Sejumlah FGFs mampu mengaktifkan FGFR3. Studi pada tikus menyimpulkan bahwa aktivator yang paling penting pada cakram epifise manusia kemungkinan adalah FGF18. Namun, sebagian besar menyatakan FGFs adalah FGFs 1, 2, 15 dan 19.

c. Matriks Ekstraselular (ECM)

Sekresi ECM oleh kondrosit cakram epifise mempunyai kontribusi yang penting untuk pertumbuhan. Matrik ekstraseluler terutama terdiri dari agregat besar agregkan dan glikosaminoglikan Hyaluronan, yang dikemas di antara fibril kolagen tipe II. Tiga komponen tulang rawan ECM pada cakram epifise memberi stabilitas mekanik yang diperlukan dan tidak terpisahkan dengan komponen kerangka yang sedang tumbuh. Fibril kolagen mempermudah kerja jaringan kerangka dan sangat hidrofilik terhadap agregat Hyaluronan-aggrekan yang memungkinkan jaringan untuk menahan kompresi. Kedua kolagen tipe II dan aggrekan hampir secara eksklusif terdapat dalam tulang rawan. Matriks ekstraseluler kartilago juga mengandung sedikit kolagen proteoglikan dan protein non-kolagen lainnya, yang bersama-sama dengan tiga konstituen tulang rawan utama, membentuk jaringan

kompleks yang saling berinteraksi secara molekuler (R, T.B. and O'Keefe., 2003; Mackie *et al*, 2011).

Banyaknya konstituen ECM kartilago bervariasi antara zona di cakram epifise. Kolagen tulang rawan termasuk jenis kolagen VI, IX, X, XI, XII dan XIV. Tulang rawan proteoglikan, selain agregkan, termasuk decorin, biglycan dan fibromodulin, serta perlecan. Protein non-kolagen lain yang ditemukan di ECM adalah matrilins dan anggota keluarga thrombospondin, seperti thrombospondin-5, yang juga dikenal sebagai *Cartilago Oligomer Matrix Protein* (COMP). Banyak tidaknya molekul memberi kontribusi penting bagi perakitan ECM bersama-sama dengan konstituen tulang rawan utama, serta mempengaruhi perilaku kondrosit (Van der Eerden *et al.*, 2003;).

Pentingnya interaksi kompleks antara komponen ECM kartilago untuk pertumbuhan diilustrasikan oleh efek mutasi pada manusia atau tikus pada gen yang mengkode sejumlah protein. Untuk beberapa molekul ini, tidak lengkapnya protein tidak memiliki efek yang merugikan, tapi mutasi menyebabkan kegagalan sekresi dari endoplasma retikulum (ER) yang mengakibatkan retensi protein mutan dan zat yang terikat dalam ER serta cacat pertumbuhan.

Pseudoachondroplasia pada manusia disebabkan oleh mutasi pada COMP, dan beberapa dysplasia epifisis lebih ringan dapat disebabkan oleh mutasi pada gen yang mengkode COMP, kolagen tipe IX atau matrilin-3 (Mackie *et al.*, 2011). Banyak COMP mutasi mengakibatkan *misfolding* dari OMP, dan kondrosit dari pasien ini mempertahankan tidak hanya COMP tetapi juga kolagen tipe IX dan matrilin-3 di ER dan mengakibatkan protein ECM habis semua. Sekresi agregkan dan kolagen tipe II tidak terpengaruh oleh mutasi, tapi kolagen tidak terorganisir membentuk berkas, menunjukkan bahwa kompleks COMP/ kolagen IX/ matrilin- 3 diperlukan untuk organisasi matriks tulang rawan yang

normal dan struktur cakram epifise. Tikus yang kekurangan OMP atau matrilin-3 tidak menunjukkan kelainan dalam perkembangan tulang atau pertumbuhan, tetapi tikus yang kekurangan kolagen tipe IX memperlihatkan cacat pertumbuhan ringan. Ini menunjukkan bahwa protein tersebut mampu menggantikan satu sama lain. Generasi tikus yang tidak mempunyai COMP dan kolagen tipe IX, tidak menunjukkan gangguan yang lebih besar pada cakram epifise dibandingkan dengan tikus yang kurang kolagen tipe IX saja.

Selain komponen protein ECM kartilago, Hyaluronan memainkan peran penting dalam kontribusi sekresi ECM. Tikus dengan gen Hyaluronan synthase 2 (Has2) yang tidak aktif masih memiliki anggota badan normal. Cakram epifise dari tikus ini mengandung kadar Hyaluronan yang rendah, dan menunjukkan penurunan deposisi agregat serta penurunan jumlah matriks yang memisahkan kondrosit, dan bermanifestasi pada peningkatan kepadatan sel akibat tidak adanya efek pada proliferasi (Mackie *et al.*, 2011).

d. Hipertrofi

Sebagian kondrosit pasca-proliferasi menjalani hipertrofi. Kondrosit mengalami perubahan dalam ekspresi gen yang memungkinkan untuk merubah struktur dan komposisi ECM. Ekspresi sintesis kolagen tipe II dan non-fibril kolagen tipe X, terlihat pada kondrosit hipertrofik (Van der Eerden *et al.* 2003). Kondrosit hipertrofi juga selektif memperlihatkan matriks metaloproteinase 13 (MMP13), sebuah kolagenase yang mampu menurunkan fibril dari kolagen tipe II. Selain itu, MMP-13 (kolagenase-3) terbukti mempunyai peran penting dalam renovasi matriks di zona transisi dari cakram epifise. MMP-13 menghambat degradasi kolagen II, yang dominan di zona proliferasi dan menekan ekspresi kolagen X, yang merupakan kolagen utama dari zona hipertrofi (Van der Eerden *et al.*, 2003).

Setelah proliferasi, sel kondrosit di cakram epifise akan terlihat sebagai dua populasi yang digambarkan sebagai sel terang dan gelap ketika dilihat dengan mikroskop elektron (Wilsman *et al.* 1981). Keberadaan 2 sel yang hanya bisa diidentifikasi oleh mikroskop elektron menyebabkan kesulitan dalam mempelajari perbedaan fungsinya, tetapi identifikasi periostin sebagai protein kondrosit gelap akan membantu dalam mempelajari fungsinya (Chen *et al.* 2010). Hal ini terlihat wajar bila diasumsikan bahwa kondrosit perlu menurunkan ECM yang mengelilingi untuk meningkatkan volumenya sehingga membesar yang digambarkan sebagai hipertrofi.

Kondrosit hipertrofi merupakan bagian akhir dalam diferensiasi kondrosit cakram epifise, namun sel-sel ini terlibat sebagai faktor penting dalam pertumbuhan tulang. Kondisi abnormal pada kondrosit hipertrofi menyebabkan berbagai kelainan yang bisa terlihat pada berbagai kasus displasia skeletal atau osteoarthritis. Kolagen tipe X merupakan protein yang diproduksi hanya oleh kondrosit hipertrofi. Sebagai penanda spesifik dari kondrosit hipertrofi, kolagen X (col10A1) juga penting untuk pembentukan osifikasi endokondral. Mutasi dan perubahan pada kolagen 10 sering disertai dengan kondrosit hipertrofi yang abnormal seperti terlihat pada banyak penyakit tulang (Zheng *et al.*, 2003; R, T.B. and O'Keefe., 2003; Gu J *et al.*, 2014).

In vitro, hormon tiroid triiodothyronine (T3) merangsang kondrosit hipertrofi serta sebagai penanda molekuler dari kondrosit hipertrofi, tanpa menstimulasi proliferasi (Kim *et al.*, 2013). Hypothyroidism pada manusia memperlihatkan perlambatan pertumbuhan tulang, dengan gambaran cakram epifise normal disertai adanya gangguan pada kondrosit hipertrofi. Studi pada tikus yang dimanipulasi gennya menunjukkan bahwa reseptor yang bertanggung jawab terhadap pertumbuhan adalah reseptor hormon tiroid. Mediator hormone tiroid yang diinduksi kondrosit hipertrofi

mulai diidentifikasi, tetapi mekanisme respon ini belum dijelaskan secara penuh.

In vivo pada tikus menunjukkan bahwa hormon tiroid menekan ekspresi dari kedua PTHrP dan reseptor, sehingga memperlihatkan mekanisme lain yang potensial dimana hormon tiroid menginduksi kondrosit hipertrofi (Kim *et al.* 2013). Baru-baru ini ditunjukkan bahwa dengan tidak adanya PTHrP menyebabkan IHH mempromosikan kondrosit hipertrofi melalui mediasi oleh NTB dan jalur sinyal BMP (Mackie *et al.* 2008). Selanjutnya, interaksi kompleks antara faktor-faktor yang disekresikan secara lokal mengatur aktivitas kondrosit di cakram epifise. Ekspresi IHH akan terlihat pada sel hipertrofi, tetapi tidak dijumpai pada sel di zona proliferasi.

e. Mineralisasi

Kristal hidroksiapatit (terutama terdiri dari kalsium dan fosfat) disimpan dalam ECM pada akhir kondrosit hipertrofik. Vesikel matriks yang dihasilkan oleh sel-sel ini mengandung kombinasi protein termasuk transporter fosfat, fosfatase dan annexins yang berguna untuk mineralisasi.

f. Kematian Kondrosit

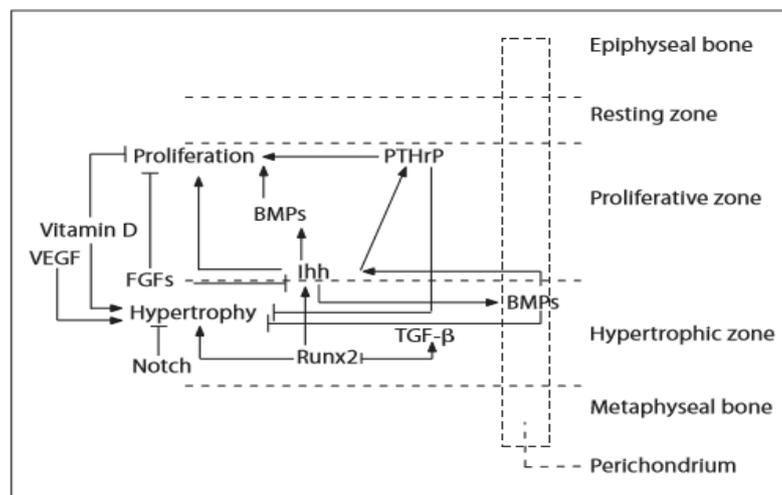
Kebanyakan kondrosit hipertrofi mengalami kematian di baris akhir sebelum mengeras. Sejumlah publikasi menggambarkan sel-sel ini sebagian mengalami apoptosis, namun bukti yang didasarkan pada deteksi fitur molekuler yang diketahui terkait dengan apoptosis, seperti untai DNA dan aktivasi caspase, bukan pada perubahan morfologinya. Sel yang mengalami apoptosis menunjukkan kondensasi kromatin dalam bentuk-bentuk geometris, dan fragmentasi inti dalam sitoplasma (Mackie *et al.*, 2011; Emons *et al.* 2011).

g. Degradasi Matriks

Degradasi matriks sekitar kondrosit cakram epifise tampaknya tidak diperlukan untuk hipertrofi, tetapi diperlukan

untuk invasi cakram epifise oleh sel-sel dari pusat osifikasi. Pada ruang kosong yang terdekat dengan pusat osifikasi, terdapat septa melintang yang memisahkan kondrosit dari sel-sel invasif, meninggalkan banyak septa vertikal utuh untuk deposisi matriks tulang.

Pada keadaan normal, pengerasan osteoklas juga diperlukan untuk degradasi matriks tulang rawan cakram epifise. Hal ini dapat dilihat pada tikus yang diobati dengan inhibitor aktivitas osteoklas (bifosfonat) dan pada tikus mutan tikus yang kekurangan osteoklas. Dengan tidak adanya aktivitas osteoklastik, cakram epifise akan memanjang.



Gambar3. Mekanisme seluler dan molekuler di cakram epifise (Emons *et al.*, 2011).

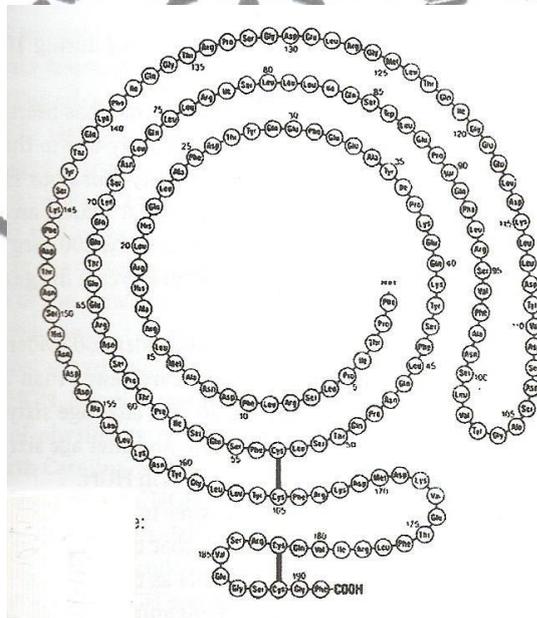
5. Hormon dan Faktor Pertumbuhan yang Terlibat dalam Pertumbuhan Memanjang.

Hormon dan beberapa faktor pertumbuhan, baik yang diproduksi di dalam tulang atau beredar ke tulang, mempunyai peran sangat penting untuk pengembangan dan fungsi tulang. Faktor-faktor ini dapat diserap dalam matriks tulang melalui aliran darah atau dapat diproduksi sendiri oleh jaringan tulang yaitu kondrosit atau osteoblast sebagai faktor parakrin dan autokrin.

a. Growth Hormon

Growth Hormone (GH) atau disebut juga sebagai somatotropin adalah hormon peptida yang diproduksi oleh sel-sel somatotrop hipofise anterior. Sekresi GH berlangsung secara pulsatil, dengan lonjakan sekresi pada saat tidur dan paling sedikit produksinya pada saat beberapa jam setelah makan. Sekresi GH dikendalikan oleh 2 hormon dari hipotalamus yaitu *Growth Hormon Releasing Hormone* (GHRH) yang berperan dalam merangsang produksi GH dan *Somatotropin Release Inhibiting Factor* (SRIF) yang berperan dalam menghambat produksi GH.

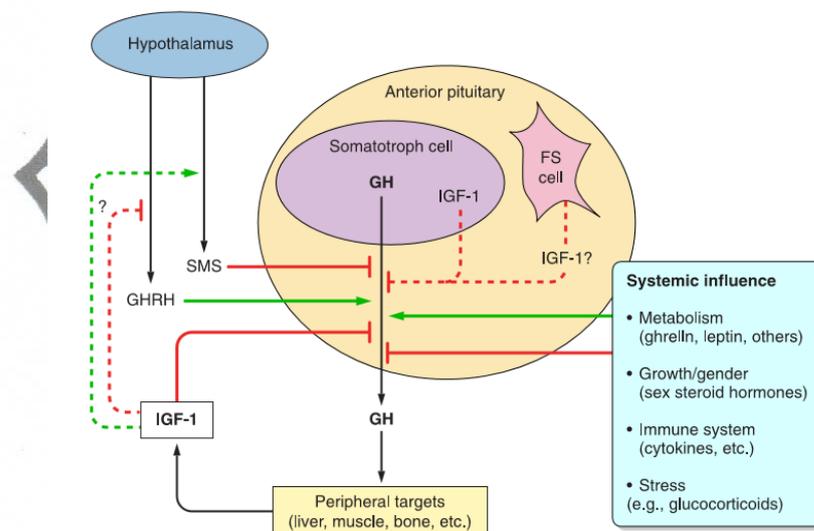
Somatotropin merupakan protein yang terdiri dari ikatan peptide tunggal 191 asam amino dan mempunyai struktur kimia seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia hormon pertumbuhan GH

Selama puasa, produksi GH dilipatkan, sedangkan kelebihan glukosa dan lipid di dalam darah akan menghambat pelepasan GH. Selain itu, perbedaan rangsangan, termasuk jenis kelamin, usia, status lemak, tidur, diet, dan latihan, mempengaruhi frekuensi dan besarnya produksi GH. Sekresi GH maksimal terjadi saat pubertas

disertai dengan kadar IGF1 dalam sirkulasi yang sangat tinggi, dengan penurunan bertahap selama masa dewasa. Pada pria berusia tua, sekresi GH harian lebih rendah 5 – 20 kali dibandingkan pada orang dewasa muda. Perubahan ini terjadi pada tingkat hipotalamus, meskipun penyebab mereka masih belum diketahui. Sebagai konsekuensi dari penurunan GH, maka kadar sintesis dan pelepasan IGF-1 sistemik menurun dengan bertambahnya usia. Perubahan GH dan sekresi IGF-1 yang terjadi pada proses penuaan disejajarkan dengan hilangnya massa otot dan kepadatan mineral tulang secara progresif (Lupu *et al.*, 2001).



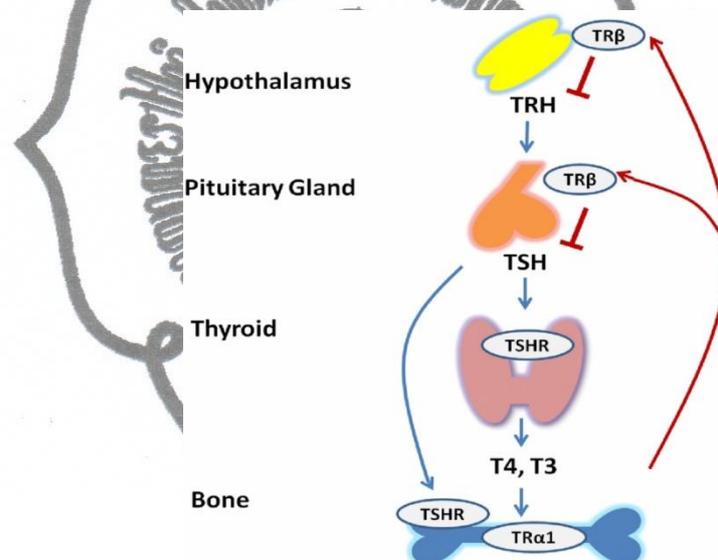
Gambar 5. Regulasi axis somatotrop (Perez-Castro *et al.*, 2012).

GH mempunyai peran utama dalam pertumbuhan tubuh dan homeostasis metabolik. Sumbu somatotroph diatur oleh banyak hormon lainnya, termasuk neuropeptida, faktor pertumbuhan, dan sitokin di hipotalamus, hipofise, dan tingkat perifer. Peran hormon lain seperti GC, hormon steroid, atau DA turut berpengaruh pada sumbu somatotroph, utamanya pada tingkat hipotalamus dengan mengubah GHRH dan/ atau pelepasan SST. Dalam proses ini, hormon metabolik ghrelin, suatu hormon yang secara dominan dihasilkan oleh gaster selama penyerapan makanan, tampaknya memainkan peran penting dalam menaikkan kadar GH karena

ghrelin melalui GHRH merupakan stimulator paling ampuh dari GH melalui reseptor GHS yang diekspresikan pada sel somatotrop. Namun, seperti selama puasa, ketersediaan asupan makanan yang terkait dengan ghrelin yang beredar berkurang; berspekulasi bahwa produksi ghrelin intrapituitary ditingkatkan untuk merangsang produksi GH dalam kondisi puasa (Perez-Castro *et al.*, 2012).

b. Hormon Thyroid (T4 bebas)

Hormone tiroksin/ T4 bersama dengan T3 triyodotironin merupakan hormone tyrosine yang dihasilkan oleh kelenjar thyroid. Hormon thyroid yang dominan beredar dalam darah adalah T4 pro-hormon, yang dapat dikonversi menjadi T3, yang lebih kuat.



Gambar 6. Hypothalamus-pituitary-thyroid axis (Kim *et al.*, 2013)

Hormon tiroid memainkan peran penting dalam osifikasi endokondral normal dan sangat penting untuk pengembangan kerangka, pertumbuhan memanjang, pemeliharaan massa tulang, dan efisiensi dalam penyembuhan fraktur. Hipotiroidisme pada remaja menyebabkan perlambatan pertumbuhan karena pembentukan dan mineralisasi tertunda. Sebaliknya, tirotoksikosis mempercepat pembentukan massa tulang melalui penutupan dini cakram epifise dan sutura cranium, yang menyebabkan tubuh pendek dan *craniosynostosis*. Meskipun ada bukti yang cukup mengenai

pentingnya hormon tiroid dalam pengembangan kerangka, namun mekanisme molekuler aktivitas hormon tiroid di tulang kurang dipahami. Hormon tiroid mengatur proliferasi dan/ atau aktivitas yang berbeda dari beberapa jenis sel di tulang termasuk kondrosit, osteoblas dan osteoklas. Aktivitas hormon tiroid pada sel target dimediasi oleh reseptor nuklir/ faktor transkripsi, reseptor hormon tiroid (TR) α dan β (Kim *et al.*, 2013).

c. Glukokortikoid

Glukokortikoid (GC) merupakan hormone steroid yang diproduksi oleh cortex adrenal dan dilepaskan ke peredaran darah. Kadar GC berfluktuasi mengikuti ritme sirkadian.

Secara fisiologis, ada korelasi positif antara jumlah GC dengan hormon pertumbuhan (GH) yang disekresikan selama 24 jam. Ini menunjukkan bahwa keduanya berkaitan erat. Pada kelenjar hipofisis, GC memodulasi ekspresi gen GH dan respon axis somatotropic beberapa secretagogues GH, dengan berbagai efek merangsang atau penghambatan tergantung pada spesies, panjang pengobatan, dan pengaturan eksperimental (in vitro atau in vivo). GC meningkatkan sintesis GH dan pelepasan in vitro dengan mengaktifasi transkripsi gen GH serta mengatur ekspresi reseptor GH-releasing hormone (GHRH). Sebaliknya, pemberian GC kronis in vivo menghambat sekresi GH.

Terapi GC akan mengurangi aktivitas biologis insulin-like growth factor 1 (IGF-1) tanpa mengurangi kadar serumnya. GC juga diyakini menghambat sintesis dan sekresi autokrin/ parakrin IGF-1, memblokir transkripsi dengan mengurangi IGF-1 mRNA. GC juga menghambat pertumbuhan tulang dengan mengatur ekspresi IGF-1, tapi tidak IGF-2 di cakram epifisis. GC berperan dalam regulasi sumbu GH-IGF, modulasi ekspresi atau sinyal intraseluler dari jenis IGF 1 receptor. Kadar glukokortikoid dan IGF-1 Binding Protein (-IGFBP 1) berosilasi/ bertukar selama periode 24-jam. Variasi ini menyebabkan adanya ritme sirkadian untuk kortisol. Kortisol

meningkatkan sintesis IGFBP-1, dengan meningkatkan transkripsinya.

Ada korelasi negatif antara konsentrasi IGFBP-2 pagi dengan sekresi kortisol nokturnal, dan meskipun kortisol tidak memiliki pengaruh langsung pada sekresi IGFBP-3, tampaknya untuk merangsang proteolisis dari IGFBP-3. Secara keseluruhan, peningkatan kadar IGFBP-1, peningkatan jumlah fragmen karena proteolisis IGFBP-3, dan penurunan kadar IGFBP-2 karena konsentrasi GC lebih tinggi, dapat menurunkan bioavailabilitas atau bahkan mengurangi aktivitas biologis insulin-like growth faktor. Hal ini, pada gilirannya, akan merangsang peningkatan sekresi GH dengan menumpulkan umpan balik negatif pada tingkat hipotalamus/hipofisis, menyebabkan sekresi kortisol dan sekresi GH bervariasi secara sinkron (Van der Velden, 1998).

Glukokortikoid menghambat produksi GH dan sekresinya di hipofise anterior, GH binding protein (GHBP), IGF-1, mRNA IGF-1 di cakram epifise tetapi tidak pada gen IGF-2. GC juga mengurangi aktivitas biologis IGFs. GC juga menurunkan kadar IGF-1 tulang. Jalur IGF-1 sinyal memainkan peran kunci dalam modulasi osifikasi endokondral dan mengatur beberapa proses fisiologis penting dalam kondrosit, seperti proliferasi sel, diferensiasi, dan kelangsungan hidup (Van der Velden, 1998; Donatti *et al.*, 2011).

d. Insuline Like Growth Factors (IGFs)

Faktor pertumbuhan seperti IGF-1 atau yang dikenal sebagai somatomedin C dan IGF-2 (somatomedin A) diproduksi terutama di hati. Selain itu, IGF-1 juga diproduksi di dalam tulang. IGFs terutama beredar dalam ikatan dengan protein sebagai *IGFs binding protein* (IGFBPs) untuk memfasilitasi transportasi ke jaringan. IGFBPs dapat meningkatkan atau menghambat aktivitas IGFs. Aksi IGF-1 dan IGF-2 melalui IGF-1 reseptor (IGFR1 dan IGFR2) akan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel. Tikus dengan *IGF-1 null* mengalami penurunan tulang kortikal dan panjang femur

namun kepadatan tulang trabekular meningkat (R, T.B. and O'Keefe., 2003; Burdan *et al*, 2009).

Penemuan in-vitro menunjukkan bahwa IGF-1 meningkatkan osteoklastogenesis, yang terlihat pada tikus *IGF-1 null* dan tikus yang mempunyai kadar reseptor aktivator nuklir faktor-kB ligan (RANKL) rendah di osteoblast. Oleh karena IGF-1 dapat mengatur osteoklastogenesis melalui tindakan langsung dan tidak langsung. Berlebihnya kadar IGF-1 di osteoblas menyebabkan peningkatan kepadatan mineral tulang dan peningkatan volume trabekular, meskipun jumlah osteoblast tidak meningkat. Aktivitas IGF-1 pada osteoblas untuk meningkatkan fungsi secara langsung. Ketiadaan reseptor spesifik IGF-1 (IGFR1) menyebabkan penurunan jumlah dan volume trabekula serta penurunan dramatis dalam mineralisasi tulang, yang selanjutnya mendukung peran IGFs berkaitan dengan osteoblas. Sedangkan fungsi IGF-2 di dalam tulang kurang dikenal, namun diperkirakan bahwa IGF-2 dapat menjadi regulator lokal metabolisme sel tulang (Burdan *et al.*, 2009).

e. **Bone Morphogenetic Protein (BMP)**

Protein morfogenetik tulang (BMP) merupakan anggota dari superfamili *Transformer Growth Factor Beta* (TGF- β). Saat ini terdapat lebih dari 20 protein terkait BMP yang diklasifikasikan menjadi subkelompok berdasarkan struktur dan fungsi. Faktor-faktor ini memainkan peran penting dalam pengembangan kerangka dengan mempengaruhi sel mesenchymal, melalui diferensiasi sel prekursor menjadi sel-sel osteoblastik, dan dengan menghambat diferensiasi menjadi sel-sel garis myoblastic (R, T.B. and O'Keefe., 2003; Burdan *et al*, 2009).

BMP juga meningkatkan osteoklastogenesis, yang dikoordinasikan dengan osteoblastogenesis. BMP mengaktifkan reseptor spesifik dan menginduksi sel sinyal oleh fosforilasi *Smads receptor-regulated sitoplasma*, yang masuk inti untuk merekrut faktor transkripsi dan meningkatkan ekspresi gen. Gangguan

ossificans progressiva fibrodysplasia adalah penyakit pembentukan tulang akibat adanya mutasi berulang di reseptor aktivin IA/ aktivin-like kinase 2, sebuah reseptor BMP tipe I yang dilaporkan sebagai penyebab *fibrodysplasia ossificans progressiva*. Temuan ini menggarisbawahi efek penting BMP pada pembentukan tulang.

f. Ghrelin

Ghrelin adalah hormon peptida yang tersusun atas 28 asam amino dan merupakan peptida alami yang memiliki 1 ester n-octanoyl pada residu serine 3. Kelompok n-octanoyl pada gugus serin-3 bersifat esensial bagi aktivasi reseptor ghrelin. Kadar ghrelin plasma saat puasa yaitu 140 ± 14 fmol/ml.

Rumus kimia ghrelin

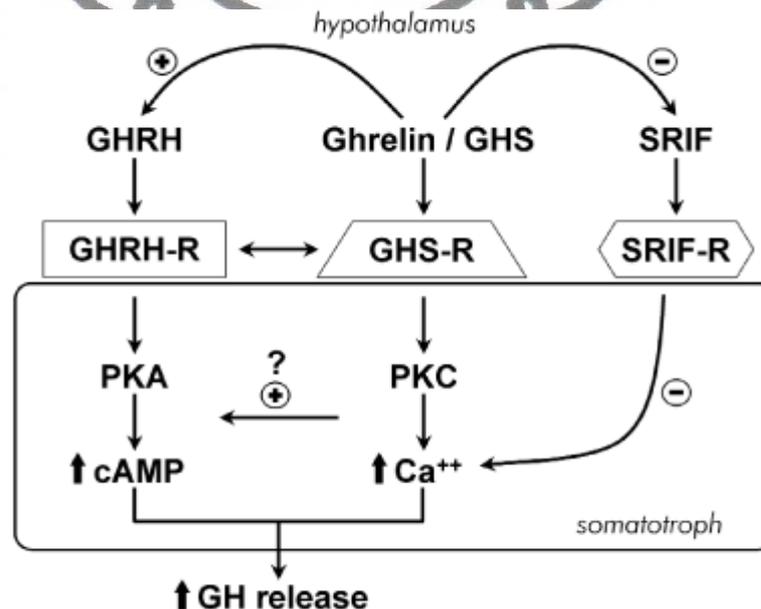


Ghrelin dipublikasikan pertama kali oleh Kojima dkk dalam jurnal Nature bulan Desember 1999 sebagai ligan endogen untuk growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). Istilah ghrelin berasal dari kata gabungan GH dan relin yang berarti zat pelepas growth hormone GH. Produksi ghrelin terutama di gaster, disekresikan oleh X/A-like cells di dalam kelenjar oxyntic mukosa gaster. Selain gaster, rangkaian neuron yang terletak di antara nukleus-nukleus sekitar ventrikel III di otak juga menghasilkan ghrelin. Testis, plasenta, ginjal, hipofise, usus halus, pankreas, limfosit dan bagian otak lain juga menghasilkan ghrelin dalam jumlah yang sedikit. Ghrelin yang beredar di plasma, hampir sepertiganya berasal dari gaster, dan sekurang kurangnya sepertiga berasal dari usus halus (Kojima and Kangawa., 2005).

Ghrelin berperan dalam meningkatkan sekresi GH, masukan makanan dan penambah berat badan ketika diberikan di perifer

maupun sentral. Ghrelin memberikan efek stimulasi makan yang lebih kuat dari peptida oreksigenik lainnya kecuali NPY. Ghrelin merangsang nafsu makan pada tikus dan manusia melalui pusat makan di hipotalamus. Ghrelin yang berasal dari gaster mencapai hipotalamus melalui sirkulasi darah dan mencapai bagian ventral nukleus arcuatus, tetapi jalur utamanya melalui serabut aferen n.vagus yang memberi innervasi mukosa gaster.

Growth Hormone Secretagogue (GHS) dan ghrelin berperan baik di tingkat hipotalamus dan hipofisis untuk memodulasi sekresi GH. Peptida ini merangsang GHS-R dalam sel hipofisis in vitro untuk menginduksi pelepasan GH. Ketika GHRH dikaitkan GHS atau ghrelin in vitro, respon aditif diamati di kebanyakan studi. Namun, ketika peptida ini diberikan bersama-sama dengan GHRH in vivo, efek sinergis pada pelepasan GH diamati. Hal ini menunjukkan bahwa GHS dan GHRH berperan melalui mekanisme yang berbeda dan menunjukkan aksi GHS terutama di hipotalamus (Lengyel, 2006).



Gambar 7. Mekanisme GHS dan Ghrelin dalam merangsang pelepasan GH (Lengyel, 2006).

6. Akupunktur

Akupunktur merupakan suatu tindakan menusukkan jarum pada area tertentu di permukaan tubuh untuk mencapai efek terapi khusus yang dikehendaki. Penusukan ini akan menstimulasi reseptor di area penusukan sehingga menyebabkan pelepasan mediator kimiawi di berbagai tempat, yaitu di lokal tempat penusukan, di medulla spinalis dan di otak.

a. Titik akupunktur

Area tertentu di permukaan tubuh tempat jarum akupunktur ditusukkan dikenal sebagai titik akupunktur. Secara makro-anatomi titik akupunktur tidak ada bedanya dengan area yang lain, namun demikian secara histologis, pada titik akupunktur terdapat gambaran Serabut otot yang lebih padat, ujung serabut saraf lebih banyak dan pembuluh darah besar/ kecil lebih banyak. Juga ditemukan perbedaan sifat kelistrikan pada area titik akupunktur yaitu tahanan listrik pada titik akupunktur lebih rendah dibandingkan dengan daerah sekitarnya, yang mana titik akupunktur mempunyai tahanan 100 – 200 ribu Ohm, sedangkan daerah lain sebesar 1 juta Ohm.

b. Mekanisme kerja akupunktur

Penelitian bidang akupunktur modern menemukan bahwa tindakan akupunktur akan menstimulasi pelepasan endorphin. Apabila stimulasi akupunktur menimbulkan signal saraf menuju ke otak untuk mensekresi endorphin, mungkin juga akan mengaktivasi jalur saraf lain dan mensekresikan neurotransmitter lainnya.

Telah banyak dilakukan penelitian untuk mengetahui mekanisme kerja akupunktur, tetapi teori yang sering dikemukakan adalah mekanisme akupunktur berdasarkan efek lokal, somato-otonom refleks, dan efek sistemik melalui neurotransmitter (Chen *et al.*, 2014).

1) lokal

Saat dilakukan stimulasi pada titik akupunktur, akan menyebabkan mikrotrauma pada area tersebut, meningkatkan

aliran darah, memfasilitasi penyembuhan dan analgesia. Penjaruman merangsang serabut-serabut saraf di area lokal. Hal tersebut menyebabkan pelepasan neuropeptida sebagai hasil dari vasodilatasi dan peningkatan aliran darah. Fenomena ini disebut refleks axon, yang secara alami terjadi sebagai respon terhadap injuri jaringan perifer.

2) Refleks somato-otonom

Efek akupunktur terhadap homeostasis kemungkinan disebabkan adanya refleks somato-otonom. Jalur ini telah diteliti pada studi yang melibatkan hewan coba.

3) Refleks somato-otonom melalui jalur segmental

Jalur ini terletak di jalur spinalis yang se segmen, yaitu innervasi dari otot yang mendapatkan stimulasi akupunktur. Serabut aferent dari area ini akan menuju cornu dorsalis nervus spinalis yang se segmen, sementara itu serabut simpatis akan berjalan menuju visceral yang se segmen. Stimulasi akupunktur pada abdomen menyebabkan motilitas gaster menurun (Chen, 2014).

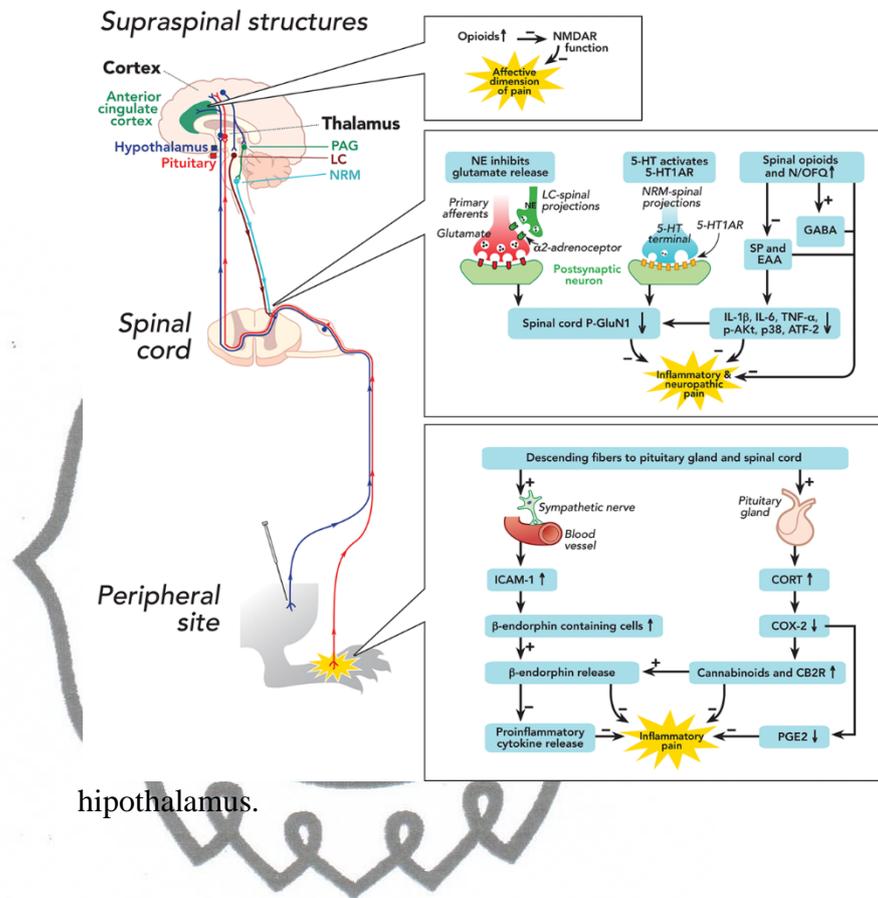
4) Refleks somato-otonom melalui jalur otak/ pusat

Awalnya, sinyal yang menuju ke otak melalui saraf somatik, dan kemudian menuju serabut eferen otonom. Chen (2014) menunjukkan bahwa stimulasi akupunktur pada ekstremitas mempengaruhi motilitas gaster melalui refleks somato-parasimpatetik yang melibatkan nervus vagus. Pada studinya, respon tidak ada baik setelah transeksi spinal setinggi cervical atau nervus vagus bilateral. Hal ini konsisten dengan mekanisme di otak yang melibatkan reflek somatik-parasimpatetik melalui nervus vagus.

5) Efek sistemik karena adanya pelepasan neurotransmitter di otak

Telah terbukti bahwa akupunktur merangsang produksi endorfin di otak. Akupunktur juga mempengaruhi kadar

neurotransmitter lain seperti serotonin dan dopamin di sistem limbik, yang merupakan kelompok dari beberapa struktur seperti hipocampus, amigdala dan beberapa yang berhubungan dengan



hipothalamus.

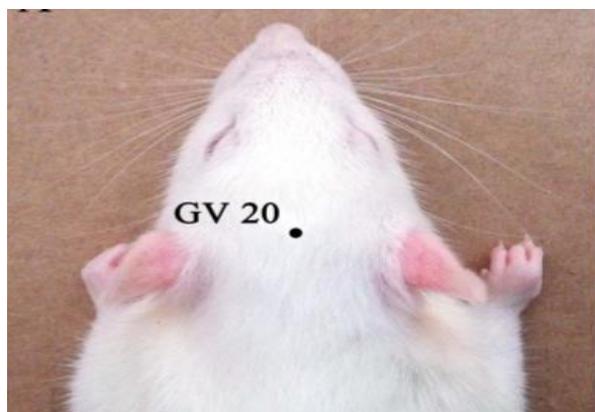
Gambar 8: Jarak pada mekanisme kerja akupunktur (Zhang, 2014)

Dengan demikian, cara kerja akupunktur melalui mekanisme yang kompleks, pada awalnya menstimulasi di area dengan menghasilkan efek lokal, selanjutnya melibatkan sistem saraf mempengaruhi otak secara sistemik. Setelah terjadi pelepasan mediator kimia dari berbagai jaringan dan otak, akan terjadi efek yang melibatkan sistem imun dan hormon untuk selanjutnya mempengaruhi target organ (Yu *et al.*, 2013; Zhang, 2014).

c. Titik akupunktur GV20

Titik akupunktur GV20 berada di persimpangan garis yang menghubungkan ke dua puncak auricula dengan garis tengah kepala, atau 7 cun di atas garis rambut posterior dan 5 cun di belakang garis rambut anterior. Dipercaya bahwa titik GV20 bertanggung jawab untuk meningkatkan oksida nitrat (NO) serta meningkatkan sirkulasi lokal dan memiliki efek stimulasi pada sistem saraf perifer dan pusat. Selanjutnya, sistem saraf pusat (otak dan sumsum tulang belakang) akan melepaskan neurotransmitter atau neuromodulator ke otak dan sumsum tulang belakang seperti hormon, yang mempengaruhi sistem regulasi tubuh. Perubahan biokimia dapat merangsang kemampuan penyembuhan alami tubuh dan mempromosikan fisik dan kesejahteraan emosional. Ada tiga mekanisme utama perubahan biokimia, yaitu konduksi sinyal elektromagnetik, aktivasi sistem opioid, dan perubahan kimia otak.

Berdasarkan penelitian dengan menggunakan MRI, titik GV20 ini terletak dan berhubungan dengan area di bawah cortex cerebri. Dihipotesiskan bahwa titik GV20 terletak di area lobus frontalis. Telah diketahui bahwa lobus frontalis berkaitan dengan fungsi motorik, bahasa, memori, problem solving, impuls kontrol, membuat keputusan, dan sexual behavior (Shen *et al.*, 2011).



Gambar 9: Lokasi titik GV 20 (Shen *et al.*, 2011)

Beberapa penelitian yang menggunakan titik akupunktur GV20 adalah:

- 1) Zhang *et al.*(2012). Akupunktur kepala pada titik GV20 melalui titik GB7 berperan dalam remodelling hemoragi intra cerebral akut melalui pembentukan *glial cell lined derived neurotropic factor* (GDNF) dan *vasculer endothelial growth factor* (VEGF)
- 2) Cai *et al.* (2015). Intervensi Elektroakupunktur pada titik GV20 mampu meningkatkan VEGV di hipocampus sehingga meningkatkan memory kerja dengan menstimulasi neurovaskularisasinya.
- 3) Liu Yang *et al.* (2015). Elektroakupunktur pada titik GV20 dan titik ST36 kemungkinan mengintervensi *mikroenvironment* dan meningkatkan aktivasi dari ERK signaling yang kemudian memediasi terjadinya efek positif pada proliferasi *Neural Stem Cel* (NSC).

d. Titik Akupunktur ST 36

Titik ST36 merupakan akupoin yang terletak di 1 cm sebelah lateral tuberkulum tibia. Stimulasi titik ST36 mempengaruhi sistem digestif, sistem kardiovaskular, sistem imun dan sistem saraf. Beberapa penelitian terakhir mengutarakan model pemikiran bahwa akupunktur menstimulasi neurogenesis. Stimulasi pada titik ST 36 akan menginduksi proliferasi neuron melalui beberapa jalur. Penelitian pada tikus menunjukkan (Nam, *et al.*, 2011) bahwa elektroakupunktur pada titik ST36 mengaktivasi cAMP yang berespon terhadap *element-binding protein* dan target di hilir dari *cAMP signaling*. Faktor transkripsi tersebut berperan dalam proliferasi, diferensiasi dan pertahanan sel prekursor neuron dan secara langsung meregulasi ekspresi faktor neurotropik yang mendukung pertumbuhan, diferensiasi dan kelangsungan hidup neuron.



Gambar 10: Lokasi titik ST36 (Shen *et al.*, 2011)

Elektroakupunktur ST36 mempunyai peran dalam regulasi dari fungsi kandung kemih dengan cara merubah volume dan tekanan dari kandung kemih tersebut serta mengontrol saraf parasimpatik. Stimulasi akupunktur mempengaruhi aktivitas kandung kemih dan sistem tidur manusia. Elektroakupunktur ST36 juga mempunyai peran dalam meningkatkan metabolisme hati dan transpor membran. Juga disebutkan bahwa elektroakupunktur ST36 meningkatkan pengeluaran glukosa hati dengan cara mengaktifasi jalur aferen somatik dan eferen simpatik serta melibatkan medula adrenal.

7. Laserpunktur

Laser (*Light amplification by stimulated emission of radiation*) merupakan suatu alat yang dapat menghasilkan radiasi elektromagnetik yang relatif sama dalam panjang gelombang, fase, dan polarisasinya. Laser pada awalnya dijelaskan oleh Theodore Maiman pada tahun 1960 berupa laser ruby (Lin *et al.*, 2010).

Laser pertama kali digunakan dalam bidang medis sebagai sinar terfokus dengan daya yang tinggi dimana efek fototermal timbul terhadap jaringan yang dikenainya. Jaringan tersebut dapat menguap akibat panas yang ditimbulkan oleh laser. Selama fase awal penggunaan laser sebagai alat bedah, tercatat bahwa rasa sakit dan peradangan yang ditimbulkan setelah operasi dengan laser lebih kecil daripada operasi konvensional. Laser bedah yang digunakan pada awalnya menggunakan mode Gauss, dimana kekuatan tertinggi terletak pada fokus sinar, dan

kekuatan terlemah pada bagian perifer yang sinarnya tersebar pada jaringan yang tidak rusak. Hal ini disebut dengan fenomena α . Dengan demikian, terdapat postulat bahwa daya rendah pada sinar laser bertanggung jawab dalam berkurangnya rasa sakit dan peradangan disekitar jaringan yang luka (Zang *et al.*, 2008).

Pada akhirnya perangkat laser diproduksi dengan kerapatan daya dan kepadatan energi laser diturunkan sampai tidak ada efek fototremal, namun efek fotoosmotik, fotoionik, dan fotoenzimatik masih dapat beroperasi. Oleh karena itu, *soft laser* atau *cold laser* mulai digunakan dalam bidang medis. Penggunaan laser terbaru dirancang pada panjang gelombang inframerah dan dikombinasikan dengan dorongan frekuensi tinggi yang memungkinkan foton dapat menembus jauh ke dalam jaringan tanpa efek panas (Zang *et al.*, 2008).

Laserpunktur atau terkadang disebut laser akupunktur, *photopuncture*, atau *laser acu-therapy* merupakan sebuah aplikasi terapi laser yang ditujukan kearah titik-titik akupunktur pada tubuh, telinga maupun tangan. Terapi ini merupakan terapi yang sederhana, efektif dan non invasif yang telah digunakan untuk mengatasi nyeri dengan menggunakan sebuah alat berupa sinar laser (Kneeboon, 2008). Akupunktur radiasi sinar laser (*Lasseropuncture*) merupakan gelombang sinar laser yang padat dan terpusatkan dapat menimbulkan panas lokal yang terarah dan merangsang aktivitas sel-sel jaringan tubuh, sehingga dapat digunakan untuk merangsang titik akupunktur yang dikehendaki. Pada intensitas gelombang yang sangat rendah maka jaringan yang terkena tidak akan menderita kerusakan sama sekali (Sutanto, 1987).

Laser akupunktur telah digunakan sejak tahun 1970. Percobaan pertama dilakukan oleh Friedrich Plog dengan menggunakan laser yang diarahkan pada titik-titik akupunktur. Percobaan tersebut dilaporkan berhasil menangani hipertensi dan asma. Selanjutnya mulailah diproduksi sistem akupunktur laser bernama Akuplas oleh Messerschmidt-Bolkoew-Blohm (Whittaker, 2004).

a. Mekanisme kerja laser

Asumsi pada penelitian laser akupunktur adalah bahwa manfaat yang dirasakan berasal dari mekanisme yang sama seperti pada akupunktur jarum. Namun pada kenyataannya, perbedaan fisik diantara kedua metode akupunktur ini menunjukkan kesan bahwa mekanisme keduanya tidaklah sama (Whittaker, 2004).

Pada akupunktur jarum, mekanisme terpenting yang berperan adalah aktivasi mekanis dari jalur transduksi sinyal oleh reorganisasi serat kolagen yang dimediasi oleh jarum. Sementara itu, pada laser akupunktur, iradiasi laser berintensitas rendah tidak menghasilkan efek mekanis yang serupa, tetapi komunikasi bersilang antar jalur transduksi. Hasil komunikasi silang dapat menimbulkan efek yang dimediasi oleh foton pada titik yang berbeda dengan jalur yang sama. Seperti contoh, kalsium, yang merupakan komponen penting pada berbagai jalur transduksi sinyal dapat dipengaruhi oleh iradiasi. Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya peningkatan transpor kalsium mitokondria yang diberi iradiasi 632.8 nm pada paparan radian yang rendah dan penurunan transport kalsium pada paparan radian yang tinggi (Whittaker, 2004).

Selain itu, dalam tubuh, sitokrom C oksidase pada mitokondria sel dapat menyerap cahaya infrared dengan panjang gelombang antara 600 sampai 1000 nm dengan daya 5 sampai 500 mW dan mengaktifkan kaskade biokimia sehingga dimungkinkan memiliki efek fotobiostimulasi (Hu *et al.*, 2013). Efek fotobiostimulasi kemudian memodulasi aktivitas sel-sel tubuh, seperti peningkatan produksi ATP, modulasi ROS (*Reactive Oxygen Species*), dan induksi faktor transkripsi sehingga meningkatkan proliferasi dan migrasi sel, memodulasi kadar sitokin, faktor pertumbuhan, dan mediator inflamasi, serta meningkatkan oksigenasi jaringan. Perubahan pada sel ini menghasilkan beberapa manfaat seperti peningkatan penyembuhan luka kronis, penurunan nyeri pada arthritis dan neuropati, perbaikan kerusakan setelah serangan

jantung, stroke, kerusakan saraf, toksisitas retina, dan lain sebagainya (Hamblin *et al.*, 2006).

Beberapa pendapat lain mengenai mekanisme laserpunktur antara lain sebagai berikut:

Physical mechanism

Berdasarkan teori kuantum mekanik, energi cahaya terdiri dari foton atau jumlah diskrit dari energi elektromagnetik. Energi foton individu hanya tergantung pada panjang gelombang. Oleh karena itu, energi atau kekuatan cahaya bergantung pada jumlah foton dan panjang gelombang atau warna (foton biru memiliki energi lebih banyak dari foton hijau, yang memiliki lebih banyak energi daripada merah, yang memiliki lebih banyak energi daripada NIR, dll). Ketika foton dimasukkan ke jaringan hidup dapat diserap atau tersebar. Foton yang tersebar pada akhirnya akan diserap atau akan lepas dari jaringan dalam bentuk refleksi difus. Foton yang diserap berinteraksi dengan molekul organik atau kromofor yang terletak di dalam jaringan. Menurut hukum pertama termodinamika, energi yang masuk ke jaringan harus dilestarikan, ada tiga jalur terjadi ketika energi cahaya dimasukkan ke dalam jaringan (Karu, 2002; Kho *et al.*, 2014).

Jalur yang paling umum yang terjadi ketika cahaya diserap oleh jaringan hidup disebut konversi dalam. Hal ini terjadi ketika keadaan singlet kromofor pertama tereksitasi mengalami transisi elektronik dari tinggi ke keadaan yang lebih rendah. Hal ini kadang-kadang disebut "radiationless de excitation", karena tidak ada foton yang dipancarkan. Energi dari elektronik dilepaskan ke mode getaran molekul, dengan kata lain, energi eksitasi diubah menjadi panas.

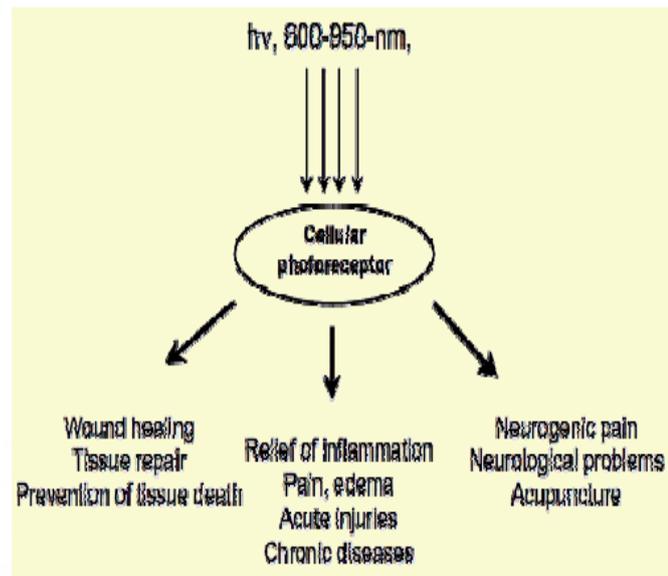
Jalur kedua yang dapat terjadi adalah fluoresensi. Fluoresensi adalah pendaran atau *re-emission light*, di mana penyerapan molekul foton memicu emisi foton lain dengan gelombang yang lebih panjang. Perbedaan energi antara foton diserap dan dipancarkan berakhir sebagai getaran molekul atau panas. Panjang gelombang

yang digunakan tergantung pada kurva serapan dan *stokes shift* dari fluorophore tertentu.

Jalur ketiga terjadi setelah penyerapan cahaya oleh kromofor jaringan. Karena energi dari foton, ikatan kovalen tidak dapat rusak. Namun, energi cukup untuk keadaan singlet dapat terbentuk, dan ini dapat mengalami *crossing intersystem* dari kromofor ke triplet. Kehidupan panjang spesies memungkinkan terjadi reaksi, seperti transfer energi ke ground molekul triplet untuk membentuk spesies reaktif, singlet oksigen. Triplet kromofor dapat mengalami transfer elektron untuk membentuk anion radikal yang kemudian dapat mentransfer elektron ke oksigen untuk membentuk superoksida. Reaksi transfer elektron sangat penting dalam rantai pernapasan mitokondria, di mana kromofor utama yang terlibat dalam terapi laser dianggap berada. Fotokimia ketiga jalur yang dapat terjadi setelah penyerapan foton merah atau NIR adalah disosiasi non kovalen terikat ligan dari situs mengikat logam yang mengandung kofaktor dalam enzim. Kandidat yang paling mungkin untuk jalur ini adalah pengikatan oksida nitrat ke pusat-pusat redoks yang mengandung besi dan tembaga yang mengandung di unit IV dari rantai pernapasan mitokondria, yang dikenal sebagai sitokrom C oksidase (Karu, 2002; Hamblin, 2006).

Biochemical Mechanism

Peran penting dari laser adalah 1) penyembuhan luka, perbaikan dan pencegahan kematian jaringan jaringan; 2) bantuan dari peradangan pada penyakit kronis dan cedera dengan rasa sakit yang terkait dan edema; 3) menghilangkan rasa sakit neurogenik dan beberapa masalah neurologis.



Gambar 11: Skema yang memperlihatkan efek LLLT (Karu, 2002)

b. Aksi spectrum

Mekanisme *Low Level light therapy* pada tingkat sel didasarkan pada penyerapan monokromatik dan *NIR* radiasi oleh komponen dari rantai pernapasan seluler. Membran dalam mitokondria berisi 5 kompleks protein membran integral: dehidrogenase NADH (Complex I), suksinat dehidrogenase (Complex II), sitokrom c reduktase (Complex III), sitokrom c oksidase (Kompleks IV), ATP sintase (Complex V), dan dua molekul berdifusi secara bebas, ubiquinone dan sitokrom c. Rantai pernapasan menyelesaikan transfer elektron secara bertahap dari NADH dan FADH₂ (diproduksi dalam asam sitrat atau siklus Krebs) membentuk (dengan bantuan proton) molekul air dengan memanfaatkan energi yang dilepaskan melalui transfer proton (H⁺) dari matriks ke ruang antar. Gradien proton yang terbentuk melintasi membran dalam proses ini membentuk transpor aktif. Proton dapat mengalir kembali ke gradien, dan memasuki matriks.

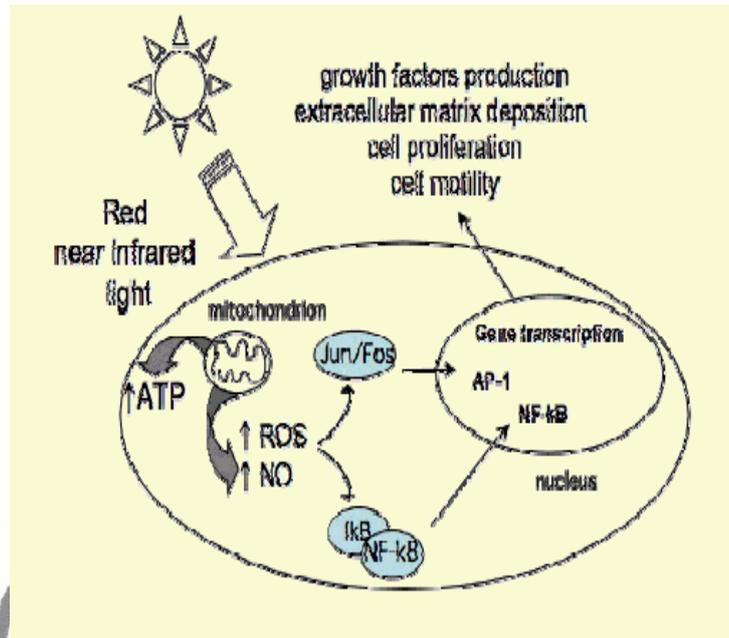
Spektrum serapan yang diperoleh pada sitokrom c oksidase sangat mirip dengan spektrum aksi dalam respon biologis terhadap cahaya. Oleh karena itu, diusulkan bahwa sitokrom c oksidase (Cox) adalah photoacceptor utama bagi radiasi Infra merah pada sel

mamalia. Sitokrom C oksidase mengandung dua pusat besi, heme dan hem 3 (juga disebut sebagai sitokrom a dan 3), dan dua pusat tembaga, Cua dan CUB (Karu, 2002; Khoo, *et al.*, 2014).

Penyerapan foton oleh molekul menyebabkan elektron bereaksi, dan akibatnya dapat menyebabkan percepatan reaksi transfer elektron. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan produksi ATP. Selanjutnya, sintesis ATP akan meningkatkan proton gradien dan terjadi peningkatan Na^+ / H^+ dan Ca^{2+} / antiporters Na^+ . ATP merupakan substrat untuk adenyl cyclase, oleh karenanya akan mengontrol tingkat cAMP. Kedua Ca^{2+} dan cAMP sangat penting sebagai *second messenger*. Ca^{2+} mengatur hampir setiap proses dalam tubuh manusia (kontraksi otot, pembekuan darah, transfer sinyal saraf, ekspresi gen, dan lain lain).

c. Sel sinyal

Pasangan redoks yang ditemukan dalam sel meliputi: nikotinamida adenin dinukleotida (teroksidasi/ mengurangi bentuk) NAD/ NADH, nikotinamida adenin dinukleotida fosfat NADP/ NADPH, glutathione / glutathione disulfida pasangan GSH/ GSSG, dan thioredoxin/ thioredoxin disulfida couple Trx (SH) 2/ TrxSS. Beberapa jalur regulasi penting dimediasi melalui redoks selular. Perubahan keadaan redoks mengaktifasi berbagai jalur sinyal intraselular, mengatur sintesis asam nukleat, sintesis protein, aktivasi enzim dan progresi siklus sel. Respon-respon sitosol pada gilirannya menyebabkan perubahan transkripsi. Beberapa faktor transkripsi diatur oleh perubahan kondisi redoks selular. Diantaranya redoks faktor-1 (Ref-1), aktivator protein-1 (AP-1) (Jun/Fos), nuclear factor-B (NF-B), p53, *activated transcripton factors/ cAMP-respon element-binding protein* (ATF/ CREB), *hypoxia-induced factors* (HIF) -1, faktor HIF-like (Karu,2002).



Gambar 12. *Cell signaling pathways* efek dari LLLT (Karu, 2002).

d. Alat dan Prosedur Kerja Laserpunktur

Prosedur penggunaan laserpunktur diawali dengan pembersihan titik akupunktur dengan menggunakan alkohol. Berbeda dengan akupunktur tradisional, penggunaan dengan laserpunktur cukup pada ujung laserpuncture diletakkan di permukaan kulit dan secara stabil terfiksasi, tidak ditusukkan (Litscher dan Schikora, 2011). Tata cara penggunaan laserpunktur haruslah fleksibel. Lama terapi akan bervariasi sesuai panjang gelombang dan daya keluaran laser serta bagian tubuh yang sedang menjalani terapi. Secara umum, semakin rendah panjang gelombang laser, semakin lama waktu terapi pada tiap titiknya (Kneebone, 2008).

e. Parameter penggunaan laserpunktur

Banyak penelitian tentang laserpunktur masih belum menjelaskan bagaimana parameter teknisnya. Parameter yang perlu diperhatikan dalam pemakaian laserpunktur (Litscher *and* Opitz, 2012) adalah:

- 1) Panjang gelombang

Panjang gelombang berkaitan dengan seberapa dalam penetrasinya ke jaringan. Laser merah diketahui mempunyai penetrasi yang lebih dalam dibandingkan sinar violet, biru, hijau atau kuning. Sinar infra merah merupakan sinar yang tidak terlihat tetapi mempunyai penetrasi sama dalamnya dengan sinar merah.

2) Daya keluaran (power).

Penghitungan dosis yang akan diberikan pada acupoint penting untuk mengetahui daya output dari instrumen laser yang akupunktur. Hasil output daya yang lebih tinggi dalam densitas daya yang lebih tinggi, dan juga penting sehubungan dengan penetrasi cahaya dalam jaringan. Jika laser akupunktur tidak hanya memiliki mode gelombang terus menerus, tetapi juga modus berdenyut, daya keluaran rata-rata laser juga penting. Dengan daya keluaran rata-rata juga memungkinkan untuk menghitung dosis untuk mengelola dengan laser berdenyut.

3) Densitas.

Bila menggunakan pengobatan titik akupunktur, kita harus memastikan bahwa waktu perawatan tidak terlalu lama. Satuannya adalah watt atau milliwatts per cm².

4) Energi.

Energi laser diukur dalam watt seconds per cm² (Joule/ cm²). Energi sama dengan dosis atau dosis pengobatan. Dosis mengacu pada jumlah energi per satuan luas kultur jaringan atau sel yang dikenai laser.

5) Rentang Dosis.

Rentang dosis yang digunakan untuk stimulasi laser akupunktur dari 0.001J/ cm² sampai 10J/ cm² atau lebih. Tun'er dan Hode menyatakan bahwa "dosis adalah masalah yang sangat rumit. Hal ini melibatkan panjang gelombang, kerapatan daya, jenis jaringan, kondisi jaringan, masalah kronis atau akut, pigmentasi, teknik pengobatan, dan sebagainya.

6) Kontinu atau Pulsatif.

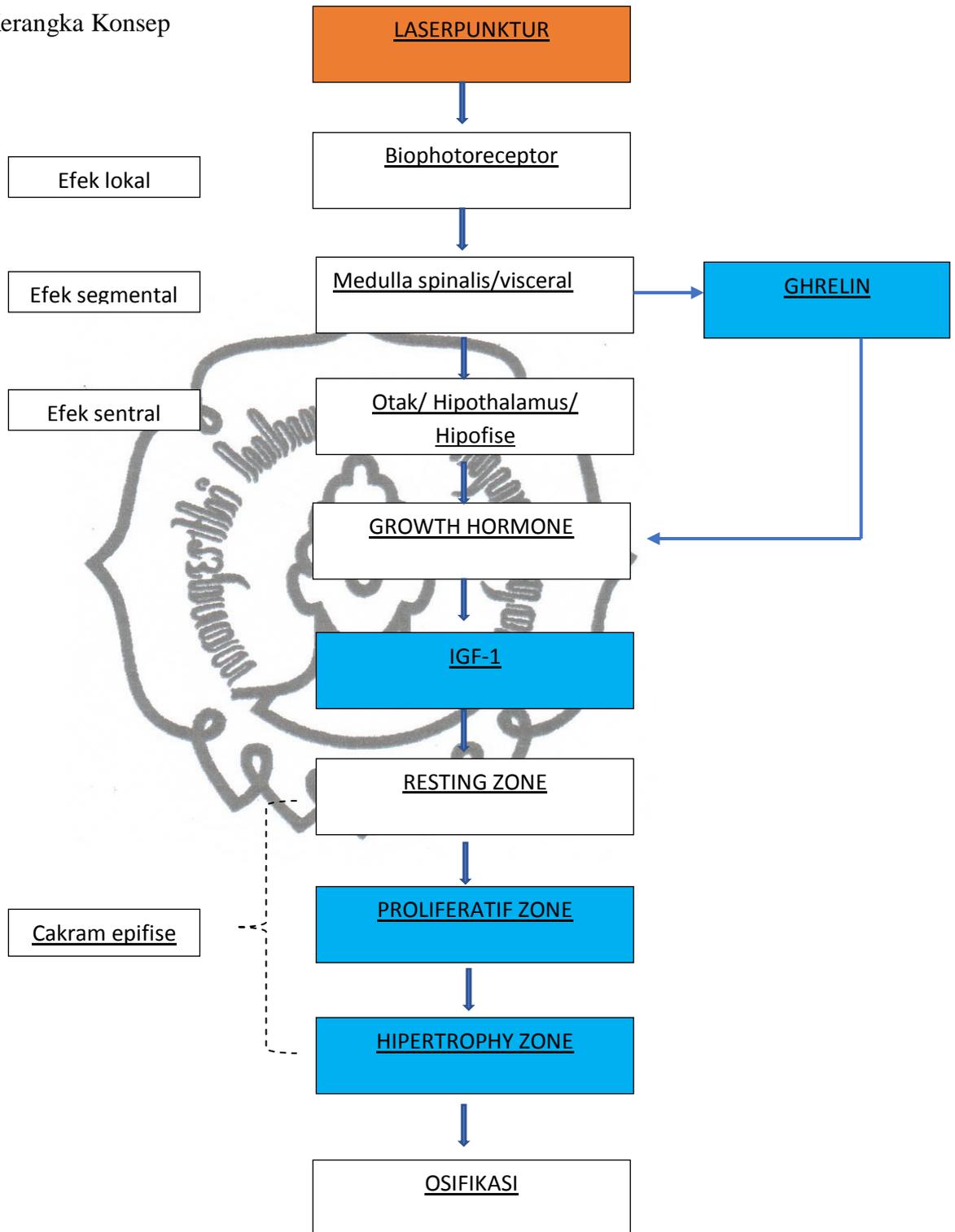
Sinar laser dapat diperlihatkan secara terus menerus (kontinu) atau pulsatif. Laser yang pulsatif dapat mengganggu fenomena biologis lainnya, tapi sangat sedikit yang diketahui tentang hal itu (Litscher *and* Opitz, 2012).

8. Stereologi

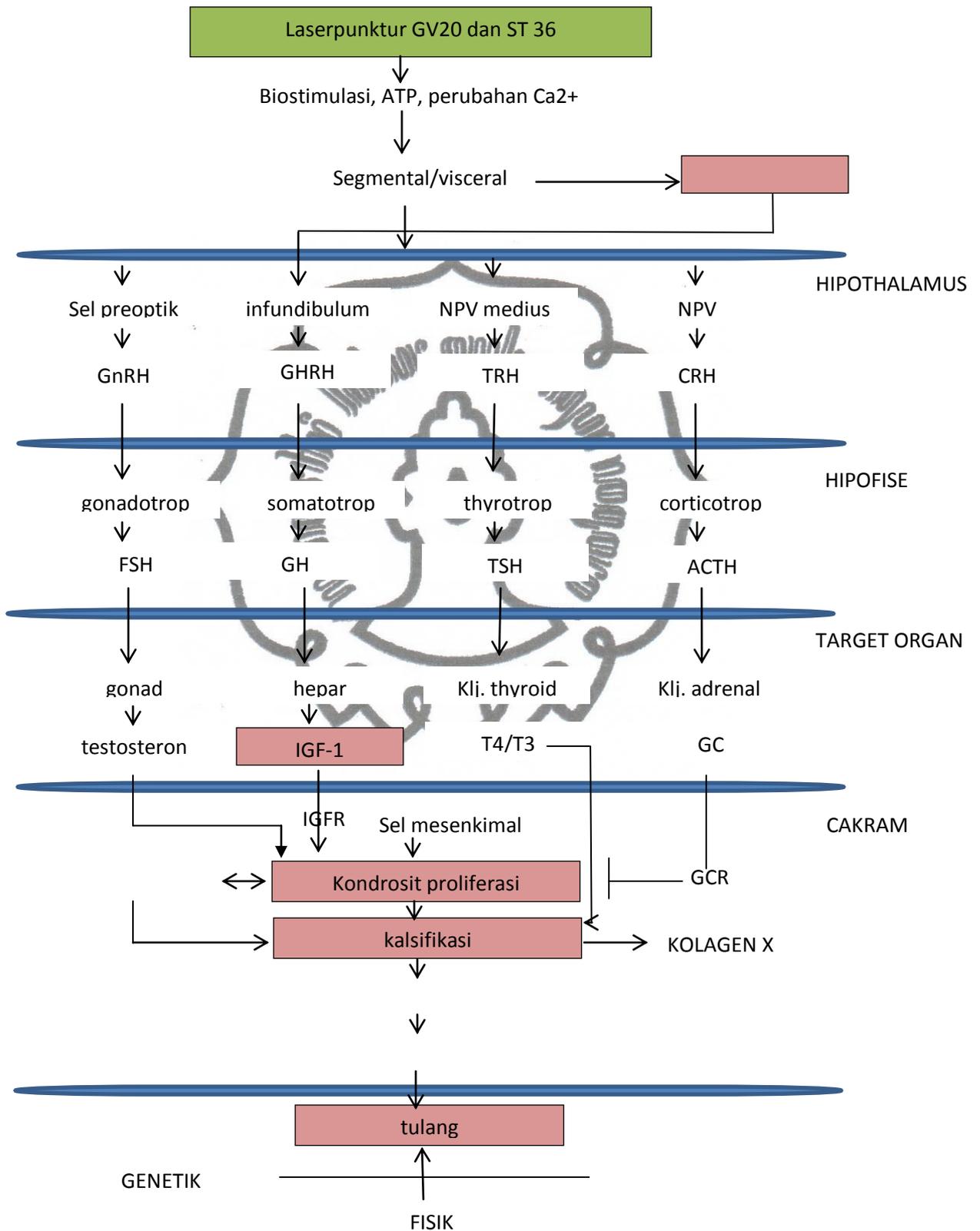
Stereologi adalah suatu metode yang sederhana dan efisien menggabungkan ilmu matematika yang berbasis statistik dengan geometri stokastik. Stereologi menyediakan alat yang efisien untuk memperkirakan jumlah geometris seperti volume, luas permukaan, panjang, atau jumlah benda untuk struktur jaringan 3-D yang terdapat dalam organ dari pengukuran yang dilakukan pada satu set bagian 2-D. Analisis stereologis melibatkan proses dua langkah, yaitu teknik sampling untuk memperoleh bagian histologis yang valid secara statistik dari suatu organ dan probe geometrik yang sesuai (misalnya titik, garis dan lainnya). Teknik ini memiliki hubungan matematis yang diketahui dengan jumlah struktural di ruang jaringan 3-D. Prinsip sampling statistik yang digunakan dalam stereologi menjamin bahwa tidak ada bias yang diperkenalkan dalam memilih bagian atau bidang mikroskopik untuk analisis. Dasar matematika dari probe geometris memastikan tiga dimensi pengukuran. Prinsip kolektif ini menjadi dasar untuk kepekaan metode ini. Dalam konteks *Good Laboratory Practices*, penting dicatat bahwa prinsip stereologi tidak diverifikasi atau divalidasi oleh data eksperimen melainkan oleh bukti matematis, serupa dengan prinsip statistik lainnya. Kekuatan ilmiah *design-based stereology* adalah bahwa, jika dilakukan dengan benar, ini menjamin perkiraan struktur kuasi yang akurat (tidak bias) dan tepat secara efisien (Boyce *et al.*, 2010).

Dengan teknologi komputer, pengaplikasian metode stereologi semakin mudah dan cepat. Meskipun demikian, metode ini masih tetap bisa digunakan secara manual asalkan dilakukan dengan penuh keuletan dan ketelatenan.

B. Kerangka Konsep



C. Kerangka Teori



Keterangan gambar:

↓	: Merangsang
↘	: Menghambat
■	: Diperiksa
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
GHRH	: Growth Hormone Releasing Hormone
TRH	: Thyroid Releasing Hormone
CRH	: Corticotropin Releasing Hormone
GH	: Growth Hormone
IGF-1	: Insulin like Growth Factor-1
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
BMP	: Bone Morphogenic Protein
TSH	: Thyroid Stimulating Hormone
ACTH	: Adenocorticotropin Hormone

Stimulasi laserpunktur di titik GV20 dan ST36 akan menyebabkan interaksi cahaya dengan biophotoreceptor di mitokondria, selanjutnya mempengaruhi permeabilitas membran sel dan terjadi perubahan pada Ca channel, terjadi produksi ATP, ROS dan lain lain (di lokal area titik). Reaksi ini diterima sebagai rangsang, dibawa oleh serabut aferen menuju cornu dorsalis medulla spinalis. Pada level ini, sebagian rangsang ditransmisikan ke segmen visceral dan mempengaruhi gaster memproduksi ghrelin. Sebagai zat secretagogue, ghrelin merangsang pelepasan GH dari hipofise anterior. Sementara itu rangsang yang lain ditransmisikan melalui tractus spinothalamicus menuju ke otak dan merangsang hipotalamus dan selanjutnya hipofise anterior mengeluarkan GH.

GH mengaktifkan beberapa jalur sinyal melalui JAK2, termasuk jalur JAK/ STAT. Di hepar terdapat GH reseptor, setelah terjadi ikatan GH-GHR akan mengaktifkan JAK2, yang kemudian memfosforilasi diri dan diikuti fosforilasi dari GHR dan, kemudian, STAT 1a, STAT 3, STAT 5a, dan STAT 5b, dan keluarga yang lebih besar dari faktor transkripsi sitoplasma. STAT terfosforilasi membentuk dimer yang masuk inti, di mana mereka mengikat urutan DNA spesifik dan memproduksi IGF-1.

IGF-1 beredar mempengaruhi proses ossifikasi endokondral di cakram epifise melalui perangsangan terhadap sel-sel mesenchimal di resting zone untuk berdeferensiasi sebagai kondrosit proliferasi.

Terdapat reseptor IGF-1 (IGF-1R) di *resting zone*. Ikatan antara IGF-1 dengan IGF-1R mengaktifasi sel mesenchimal untuk berdeferensiasi sebagai kondrosit proliferasi. Sementara kondrosit proliferasi juga menghasilkan IGF-1 sendiri yang bersifat parakrin dan otokrin dengan merangsang terjadinya deferensiasi kondrosit sebagai kondrosit hipertrofi. Pada saat yang sama, kondrosit proliferasi memproduksi BMPs sebagai hormon parakrin dan otokrin, hormon ini ikut merangsang terjadinya deferensiasi sel proliferasi menjadi kondrosit hipertrofi.

Hormon tiroid mempengaruhi cakram epifise dengan mengaktifkan kondrosit hipertrofi. Reseptor hormon tiroid (TR) yang terdapat pada cakram epifise berikatan dengan TH untuk kemudian merangsang hipertrofi kondrosit. Sementara itu GC yang berinteraksi dengan GCR menyebabkan penghambatan proliferasi dan meningkatkan apoptosis sehingga mempercepat fusi cakram epifise.

Testosteron juga mempengaruhi cakram epifise dengan meningkatkan proliferasi pada kondrosit cakram epifise melalui interaksinya dengan reseptor testosteron yang ada di dalam cakram.

Sel hipertrofi memproduksi matriks kolagen tipe X dan diikuti peningkatan jumlah alkali phosphatase. Bersamaan dengan ini, sel-sel hipertrofi mengalami vakuolasi sebelum akhirnya apoptosis, sedangkan area tersebut diinvasi oleh pembuluh darah dan sel-sel osteoblas dari perikondrium.

D. Hipotesis.

Pada studi ini hipotesis yang diajukan adalah:

1. Mayor

Laserpunktur pada titik GV20 dan ST36 meningkatkan pertumbuhan tulang panjang tikus adolesen

2. Minor

- a. Laserpunktur pada titik GV20 dan ST36 meningkatkan panjang tungkai tikus.
- b. Laserpunktur pada titik GV20 dan ST36 meningkatkan jumlah kondrosit dan volume cakram epifise .
- c. Laserpunktur pada titik GV20 dan ST36 meningkatkan kadar IGF-1 serum.
- d. Laserpunktur pada titik GV20 dan ST36 meningkatkan kadar Ghrelin serum.

