

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* YANG MENGANDUNG
CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*)
TERHADAP REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS
EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* Pada Defek Femur Marmut Jantan)**

TESIS



**OLEH :
GUSTIVANNY DWIPA A
J035191011**

**PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* YANG MENGANDUNG CANGKANG
KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) TERHADAP
REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS
EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
Memperoleh gelar Profesi Spesialis – 1 dalam bidang ilmu
Periodonsia Pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

OLEH :

**GUSTIVANNY DWIPA A
J035191011**

Pembimbing :

1. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K)
2. Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K)

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* YANG MENGANDUNG CANGKANG
KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) TERHADAP
REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS
EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

OLEH :

**GUSTIVANNY DWIPA A
J035191011**

**Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut
pertimbangan kami, Tesis ini telah memenuhi
persyaratan ilmiah**

Makassar, 01 Maret 2022

Pembimbing I,

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001

Pembimbing II,

Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19730130 200812 2 002

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG UNHAS



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001

PENGESAHAN UJIAN TESIS

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* YANG MENGANDUNG CANGKANG
KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) TERHADAP
REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS
EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

Diajukan Oleh

GUSTIVANNY DWIPA A

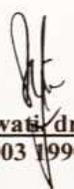
J035191011

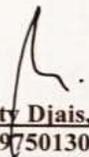
Telah disetujui

Makassar, 01 Maret 2022

Pembimbing I,

Pembimbing II,

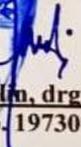

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001


Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19750130 200812 2 002

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG UNHAS


Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin


Prof. Muhammad Rusli, drg., M.Kes, Ph.D., Sp.BM (K)
Nip. 19730702 200112 1 001

TESIS

**EFEKTIVITAS BONE GRAFT YANG MENGANDUNG CANGKANG
KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) TERHADAP
REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS
EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

**OLEH:
GUSTIVANNY DWIPA A
J035191011**

Telah disetujui
Makassar, 1 Maret 2022

1. Penguji I : Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio(K) :
2. Penguji II : Dr. drg. Ami Irawaty Djais, Sp.Perio(K) :
3. Penguji III : Prof. Dr.drg. Hasanuddin Thahir, M.S., Sp.Perio (K) :
4. Penguji IV : Prof. Dr.drg. Andi Mardiana Adam, M.S. :
5. Penguji V : Prof. Dr. drg. Burhanuddin Daeng Pasiga, M.Kes :

Mengetahui
Ketua Program Studi (K.B) PPDGS Periodonsia FKG UNHAS

Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio(K)

Nip. 19641003 199002 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gustivanny Dwipa A

NIM : J035191011

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis ilmiah yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 1 Maret 2022



Gustivanny Dwipa A

KATA PENGANTAR

Assalammu'alaikum Wr. Wb

Segala puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT karena atas berkat dan rahmat yang telah diberikan oleh-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul **“Efektivitas Bone Graft Yang Mengandung Cangkang Kerang Mutiara (Pinctada Maxima) Terhadap Regenerasi Tulang Melalui Analisis Ekspresi Osteoprotegerin (Opg)”**.

Penulisan tesis ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Spesialis Periodonsia di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis (PPDGS) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis menyadari bahwa dalam proses penelitian dan penulisan ini banyak mendapat bimbingan, arahan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Prof. Dr. Dwia Ariestina Pulubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. **Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes, Ph.D, Sp.BM(K)** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio(K)** sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia dan sebagai pembimbing pertama yang selama ini telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini.

4. **Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio(K)** sebagai pembimbing kedua yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
5. **Prof. Dr. drg. Hasanuddin, M.S., Sp.Perio (K), Prof. Dr. drg. A. Mardiana Adam, M.S. dan Prof. Dr. drg. Burhanuddin Daeng Pasiga, M.Kes** sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini .
6. **dr. Isra Wahid, Ph.D**, selaku kepala lab Animal-Entomologi. **Pak Benteng**, kepala laboratorium politeknik kimia universitas hasanuddin. **Heryanto** selaku analis Besar Laboratorium Kesehatan Makassar dan Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains FMIPA UNHAS, yang telah membantu proses penelitian ini. **drh. Andi Fitrah A** sebagai tim dokter hewan yang telah membantu selesainya penelitian ini
7. Seluruh staf pengajar pada program pendidikan dokter gigi spesialis yang telah memberikan ilmunya.
8. Orang tuaku tercinta **Prof. Dr. Yasnur Asri, M.Pd dan Dra. Asmawati, M.Pd** atas segala doa, bimbingan dan dukungan dalam bentuk moril maupun materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun dan selalu memberikan yang terbaik untuk anak-anaknya.
9. Manih terkasih **Harleni Mukhlis, S.Kep** atas segala dukungan doa dan

motivasi selama penulis menempuh pendidikan.

10. Suamiku tercinta **Arif Dharma Rafke, S.Hut** dan anakku tercinta **Raziq Aulian Arif** serta **Razka Raffasya Arif** atas segala doa, semangat dan motivasi, serta selalu sabar dan setia mendampingi dan membimbing penulis selama masa pendidikan ini.
11. Abangku tersayang **Jefry Sunupurwa Asri, S.Kom, M.Kom** beserta istri dan **Vici Destriwulan Asri, S.IP** beserta suami dan anak atas segala dukungan doa dan semangat selama menjalani pendidikan.
12. drg. Sitti Raoda Juanita Ramadhan dan drg. Muhammad Yudin terimakasih atas kerjasamanya selama melakukan penelitian ini.
13. Kepada teman-teman seperjuangan **The Twelve (Titu)**, drg. Sherly Endang, drg. Jennifer Tjokro, drg. Ayu Rahayu Feblina, M.Kes, drg. Afdalia Annisa, drg. Sri Wahyu Putri, drg. Dian Eka Satya, drg. Azizah, drg. Nir Etriyani, dan drg. Nurhadijah Raja atas segala dukungan dan perhatiannya selama menempuh pendidikan bersama.
14. Kepada junior **Sigma, Soju, Nemesix** dan **Dextra** yang telah memberi dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan.
15. Staf pegawai kak **Bia** dan **Mirna**, serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam segala hal kepada penulis dalam menyelesaikan penyusunan tesis ini. Penulis memohon maaf jika tidak dapat menyebutkan satu-persatu. Akhir kata, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan

serta jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga penulisan tesis ini bermanfaat bagi pembaca dan masyarakat luas serta berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran gigi.

Makassar, 1 Maret 2022

drg. Gustivanny Dwipa A

EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* YANG MENGANDUNG CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) TERHADAP REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)

Abstrak

Pendahuluan : Terapi bedah regenerasi periodontal dengan menggunakan *bone graft* di bidang kedokteran gigi telah lama dikembangkan dan digunakan hingga saat ini. Penelitian medis mulai mengalihkan perhatian mereka pada laut karena mereka percaya laut bumi dapat memberikan pengobatan lebih baik daripada bahan kimia. *Pinctada maxima* merupakan salah satu jenis cangkang kerang yang di budidaya di Kepulauan Pangkep Sulawesi Selatan dan memiliki kandungan utama kalsium karbonat sehingga memiliki potensi untuk menjadi bahan *bone graft*, namun belum ada penelitian yang menggunakan spesies ini di Indonesia. Osteoprotegerin (OPG) merupakan salah satu inhibitor alami yang mengontrol proses regenerasi tulang dan peningkatan jumlah OPG dapat menyebabkan proses osteogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kalsium karbonat dari *pinctada maxima* sebagai bahan *bone graft* terhadap proses regenerasi tulang.

Bahan dan Metode : Penelitian ini menggunakan cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) yang diproses menjadi bubuk kalsium karbonat. Pengujian bahan dilakukan pada marmut jantan dengan jumlah sampel 30 ekor yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif tanpa aplikasi *bone graft*, kelompok kontrol positif menggunakan bovine xenograft (BATAN), dan kelompok perlakuan diberikan *bone graft* yang mengandung kalsium karbonat bubuk cangkang kerang mutiara *Pinctada Maxima*. Setiap kelompok perlakuan dibagi berdasarkan waktu pengamatan yaitu hari ke 14 dan 21. Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan SPSS Statistic versi 21 dengan nilai signifikan $p < 0.05$.

Hasil: Hasil analisa data menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$ berdasarkan waktu pengamatan hari ke 14 dan 21 pada kelompok *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$ antara kelompok *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara dibandingkan dengan kelompok bovine xenograft (BATAN) pada hari ke 21.

Kesimpulan : Bahan *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara *Pinctada Maxima* terbukti dapat meningkatkan ekspresi osteoprotegerin (OPG) pada hari ke 14 dan 21 sehingga dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk perawatan regenerasi tulang. Bahan *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara *Pinctada Maxima* pada hari ke 21 mempunyai kemampuan regenerasi tulang yang hampir sama dengan bovine xenograft (BATAN).

Kata Kunci: Bone Graft, Kalsium Karbonat, Nacre, Osteoprotegerin, *Pinctada Maxima*

EFFECTIVENESS OF BONE GRAFT CONTAINING PEARL SHELLS (PINCTADA MAXIMA) ON BONE REGENERATION THROUGH OSTEOPROTEGERIN EXPRESSION ANALYSIS (OPG)

Abstract

Introduction : Surgical therapy for periodontal regeneration using bone graft in dentistry has long been developed and used until now. Medical research began to turn their attention to the oceans because they believed the earth's oceans could provide better treatment than chemicals. *Pinctada maxima* is a type of clam shell that is cultivated in the Pangkep Islands, South Sulawesi and has the main content of calcium carbonate so that it has the potential to be a bone graft material, but there have been no studies using this species in Indonesia. Osteoprotegerin (OPG) is one of the natural inhibitors that control the bone regeneration process and an increase in the amount of OPG can cause the process of osteogenesis. This study aims to determine the effectiveness of calcium carbonate from *pinctada maxima* as a bone graft material for the bone regeneration process.

Materials and Methods: This study used pearl oyster shells (*Pinctada maxima*) which were processed into calcium carbonate powder. Material testing was carried out on male guinea pigs with a total sample of 30 individuals which were grouped into 3 groups. The negative control group without bone graft application, the positive control group using bovine xenograft (BATAN), and the treatment group receiving bone graft containing calcium carbonate powdered pearl oyster shell *Pinctada Maxima*. Each treatment group was divided based on the time of observation, namely days 14 and 21. The research data were then analyzed using SPSS Statistics version 21 with a significant value of $p < 0.05$.

Results: The results of data analysis showed that there was a significant difference with $p < 0.05$ based on observation time on days 14 and 21 in the bone graft group containing pearl oyster shells. There was no significant difference with $p < 0.05$ between the bone graft group containing pearl oyster shells compared to the bovine xenograft (BATAN) group on day 21.

Conclusion : Bone graft material containing *Pinctada Maxima* pearl shells was proven to increase the expression of osteoprotegerin (OPG) on days 14 and 21 so that it can be used as an alternative material for bone regeneration treatment. Bone graft material containing *Pinctada Maxima* pearl oyster shell on day 21 has a bone regeneration ability that is almost the same as bovine xenograft (BATAN).

Keywords: Bone Graft, Calcium Carbonate, Nacre, Osteoprotegerin, *Pinctada Maxima*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESEHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang.....	20
1.2 Rumusan Masalah	23
1.3 Tujuan Penelitian	23
1.3.1 Tujuan Umum	23
1.3.2 Tujuan Khusus	24
1.4 Manfaat Penelitian	24
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu	24
1.4.2 Manfaat Penelitian	25
BAB II TINJAUAN PUSAKA	
2.1 Struktur Tulang	26
2.2 Kerusakan Tulang Periodontal dan Perawatan Kerusakan Tulang Periodontal.....	
2.2.1 Pola Kerusakan Tulang Periodontal.....	29
2.2.2 Perawatan Kerusakan Tulang Periodontal	31
2.3 Bone Graft.....	32
2.3.1 Klasifikasi Bone Graft	32

2.3.2 Mekanisme Bone Graft	34
2.3.3 Karakteristik Bone Graft	35
2.4 Bovine Xenograft	36
2.5 Cangkang Kerang Mutiara	36
2.5.1. Klasifikasi Kerang Mutiara (Pinctada maxima)	36
2.5.2 Morfologi dan Anatomi Kerang Mutiara (Pinctada maxima)	37
2.5.3 Kandungan Cangkang Kerang Mutiara	39
2.5.4 Cangkang Kerang Mutiara sebagai xenograft	40
2.6 Regenerasi Tulang	43
2.6.1. Proses Regenerasi Tulang	43
2.6.2. Mediator dari Regenerasi Tulang	47
2.6.3. OPG	48
 BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Teori.....	51
3.2 Penjelasan Kerangka Teori	52
3.3 Kerangka Konsep	54
3.4 Hipotesis.....	54
3.5 Keterbatasan Penelitian	54
 BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	55
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	55
4.2.1 Waktu Penelitian	55
4.2.2 Lokasi Penelitian.....	55
4.3 Sampel Penelitian.....	56
4.3.1 Jenis Sampel.....	56
4.3.2 Kriteria Sampel Penelitian	56
4.3.3 Besar Sampel Penelitian	56
4.4 Identifikasi Variabel Penelitian Dan Definsi Operasional Peneltian	57

4.4.1 Identifikasi Variabel Penelitian.....	57
4.4.2 Definisi Operasional.....	57
4.5 Persiapan dan Tahapan Penelitian.....	58
4.5.1 Persiapan Penelitian	58
4.5.2 Prosedur Penelitian	62
4.6 Analisa Data	67
4.7 Masalah Etika.....	68
4.8 Alur Penelitian	69
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil Penelitian	70
5.1.1. Hasil Uji Kandungan dan Karakteristik Cangkang Kerang.....	70
5.1.2. Pemeriksaan Ekspresi Osteoprotegerin (OPG)dan Uji Statistik.....	72
5.2 Pembahasan.....	78
BAB VI Kesimpulan dan Saran	
6.1 Kesimpulan	85
6.2 Saran.....	85
DAFTAR PUSAKA.....	87
LAMPIRAN.....	95

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi cangkang kerang mutiara	37
Gambar 2. Anatomi Cangkang Kerang Mutiara	38
Gambar 3. Struktur Lapisan Cangkang Kerang Mutiara	39
Gambar 4. Proses Regenerasi Tulang melalui jalur RANKL dan OPG	50
Gambar 5. Spektrum FTIR Kalsium Karbonat	71
Gambar 6. Derajat kristalinitas XRD kalsium karbonat cangkang kerang mutiara Pinctada Maxima dengan sudut difraksi 2θ	72
Gambar 7 Grafik rata-rata ekspresi OPG pada pengamatan hari ke 14 dan 21	73
Gambar 8. Gambaran Imunohistokimia ekspresi OPG pada hari ke 14 dan 21	74
Gambar 9 Diagram perbedaan ekspresi OPG pada hari ke-14, dan 21 pada setiap kelompok pengamatan	78
Gambar 10 Proses pengandangan hewan coba, maksimal 5 hewan coba satu kandang dan pemberian makanan yang cukup.....	95
Gambar 11 Pembuatan Sediaan Bone Graft Yang Mengandung Cangkang Kerang Mutiara	98
Gambar 12. Proses Implantasi Pada Hewan Coba	99
Gambar 13. Sacrificed Hewan Coba.....	100
Gambar 14. Pengambilan Blok Jaringan.....	100
Gambar 15. Penempatan Jaringan Pada Box Formalin.....	100

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Daerah Spektrum Inframerah.....	71
Tabel 2. Rata-rata jumlah perbandingan ekspresi OPG semua kelompok perlakuan pada pengamatan immunohistokimia.....	75
Tabel 3. Hasil uji one way anova perbandingan ekspresi OPG	76
Tabel 4. Perbandingan ekspresi Osteoprotegerin (OPG) antar dua kelompok pada hari ke- 14	76
Tabel 5. Perbandingan ekspresi Osteoprotegerin (OPG) antar dua kelompok pada hari ke- 21	77

DAFTAR SINGKATAN

RANKL	: Receptor activator of NFkB ligand
RANK	: Receptor activator of NFkB
OPG	: Osteoprotegerin
<i>Xenograft</i>	: <i>Bone graft</i> yang berasal dari hewan
Implantasi	: Proses pengisian defek dengan menggunakan bahan tertentu
AAS	: <i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>
XRF	: <i>X-Ray Fluorescence</i>
FTIR	: <i>Fourier-Transform Infrared</i>
XRD	: X-Ray Diffraction
TNF α	: Tumor Necrosis Factor α
NFkB	: Receptor activator kappa B
β _TCP	: <i>Beta- Tri Calcium Phosphate</i>
HBCs	: <i>Human Bone Cell</i>
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
ECM	: Ekstraselular matriks

DAFTAR LAMPIRAN

1. Foto Pelaksanaan Penelitian.....	95
2. Hasil Analisis Uji Bahan dengan <i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i> (AAS)	101
3. Hasil Analisis Uji Bahan dengan <i>X-Ray Fluorescence</i> (XRF)	102
4. Hasil Analisis Uji Bahan dengan <i>Fourier-Transform Infrared</i> (FTIR)	103
5. Hasil Analisis Uji Bahan dengan <i>X-Ray Diffraction</i> (XRD)	104
6. Hasil <i>Print out</i> analisis data SPSS	105
7. Surat Etik Penelitian.....	126

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan *The Global Burden of Disease Study*¹ masalah kesehatan gigi dan mulut yaitu penyakit pada periodontal menjadi urutan ke 11 penyakit yang paling banyak terjadi di dunia. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas)² menyatakan bahwa sebanyak 57,6% penduduk Indonesia bermasalah gigi dan mulut, dimana masalah kesehatan mulut yang dialami penduduk Indonesia adalah gigi hilang karena dicabut/tanggal sendiri 19%, gusi bengkak dan keluar bisul (abses) sebesar 14,7% , gusi mudah berdarah saat menyikat gigi 13,9%, dan gigi goyang 10,4%. Oleh karena itu, dibutuhkan terapi periodontal dalam mengontrol perkembangan penyakit dan mengurangi terjadinya kehilangan gigi.³

Terapi periodontal bertujuan untuk meregenerasi beberapa jaringan periodontal yang rusak, meliputi tulang alveolar, sementum, dan ligamen periodontal.⁴ Terdapat beberapa macam terapi periodontal yaitu terapi periodontal konvensional seperti *scaling* dan *root planning* dan terapi bedah regenerasi periodontal, antara lain penggunaan *guided tissue regeneration*, *bone graft*, dan beberapa bahan biologik lainnya . Namun, terapi periodontal konvensional memiliki keterbatasan dalam menstimulasi regenerasi jaringan periodontal yang hilang, sehingga dibutuhkan suatu material pengganti tulang yang dapat menstimulasi pembentukan tulang dan regenerasi jaringan periodontal yaitu terapi bedah regenerasi periodontal dengan menggunakan *bone graft*.⁵

Terapi bedah regenerasi periodontal dengan menggunakan *bone graft* di bidang kedokteran gigi telah lama dikembangkan dan digunakan hingga saat ini. Terdapat beberapa macam bahan *bone graft* yaitu *autograft*, *allograft*, *xenograft*, dan *alloplastic graft*. Namun, sampai saat ini *autograft* masih menjadi *gold standard* karena sifat osteoinduksi, osteokonduksi dan

osteogenesis yang dimiliki. Namun, terdapat kekurangan dari *bone graft* jenis *autograft* yaitu menimbulkan komplikasi dan rasa sakit pada area donor, resiko perdarahan, waktu tindakan bedah yang lebih lama, infeksi daerah donor dan terbatasnya jumlah bahan yang diperoleh. Bahan *bone graft* yang mudah didapatkan adalah xenograft, dimana merupakan bahan alami yang tersedia dalam jumlah yang besar dan tidak perlu tindakan operasi untuk mengambilnya serta memiliki efek transmisi virus yang minimal.⁶

Beberapa peneliti tertarik untuk membuat bahan *bone graft* yang berasal dari bahan alami, salah satunya yang berasal dari biota laut. Beberapa kandungan biota laut dapat digunakan dalam membangun struktur jaringan lunak dan keras seperti tulang, dentin, maupun ligamentum periodontal yang rusak/hilang akibat penyakit.^{7,8} Sebelumnya telah ada juga penelitian yang dilakukan menggunakan bahan biota laut. Sri Oktawati,dkk⁹ melakukan penelitian menggunakan alga coklat dalam menghambat bakteri penyebab kerusakan rongga mulut. Mardiana Adam, dkk¹⁰ melakukan penelitian menggunakan ekstrak *Channa Striata* yang hasil penelitiannya dapat menurunkan ekspresi TNF- α dalam poket periodontal sehingga dapat digunakan sebagai tambahan dalam perawatan periodontal. Asdar Gani, dkk¹¹ melakukan penelitian menggunakan gel kitosan dari limbah kepala udang putih , hasil penelitiannya gel kitosan dari limbah kulit kepala udang putih dapat menghambat bakteri *Agregatibacter Actinomycetemcomitans* dan mempercepat penyembuhan luka pada tikus. Hasanuddin Thahir, dkk¹² melakukan penelitian menggunakan tulang ikan gabus yang dibentuk gelatin sebagai bahan *bone graft* , hasil penelitiannya dapat meningkatkan ekspresi osteokalsin pada defek tulang marmut jantan.

Biota laut yang banyak digunakan untuk pembuatan *bone graft* salah satunya adalah cangkang kerang. Cangkang kerang memiliki kandungan kalsium yang tinggi.¹³ Beberapa penelitian yang telah menggunakan cangkang kerang sebagai bahan *bone graft* diantaranya

Haihong Liao, dkk¹⁴ melakukan penelitian dengan cangkang kerang tiram (*P. Margaritifera*) yang diproses menjadi kalsium karbonat dengan bentuk granule, dan diimplantasi pada paha 72 ekor tikus menunjukkan hasil yang signifikan dengan terbentuknya lapisan fosfor pada permukaan tulang. Jinwu wang, dkk¹⁵ juga melakukan penelitian dengan cangkang kerang tiram (*P. Margaritifera*) yang diproses dalam bentuk kalsium fosfat dan dikombinasikan dengan *Platelet Rich Plasma* (PRP) pada defek femur tikus. Hasil penelitiannya menunjukkan terjadinya osteogenesis dan penyembuhan tulang. Diviya, dkk¹⁶ melakukan penelitian menggunakan cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru yang dibuat dalam bentuk pasta dan diaplikasikan pada defek tikus wistar, hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan jumlah osteoklas pada penyembuhan tulang.

Cangkang kerang mempunyai beberapa spesies salah satunya cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*). Budidaya cangkang kerang mutiara sudah berlangsung sejak tahun 2015 di daerah Pangkep Kepulauan. Hasilnya dapat membantu kehidupan masyarakat sekitar. Namun pemanfaatan limbah cangkang kerang ini belum maksimal dan cenderung menjadi limbah yang dapat menyebabkan terjadinya masalah lingkungan. Penemuan implan gigi pada tulang tengkorak suku mayan menjadi awal dilakukannya sejumlah penelitian terhadap cangkang kerang mutiara. “Nacre” biasa disebut “mother of pearl” merupakan bagian dari cangkang kerang mutiara yang memiliki kandungan utama CaCO_3 . Kalsium karbonat mampu meningkatkan osteokonduktifitas, selain itu kalsium di dalam matriks organik cangkang kerang mutiara merupakan molekul biologis yang mampu mengaktifkan sinyal kimiawi osteoblas.¹⁷ Oleh karena itu, cangkang kerang mutiara berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan bone graft yang dapat mempercepat proses regenerasi tulang.

Regenerasi tulang adalah suatu proses seumur hidup, tulang lama di resorpsi dari skeletal, dan tulang baru ditambahkan melalui proses yang disebut osifikasi. Regenerasi mencakup resorpsi tulang yang terus menerus dan diganti dengan sintesis dan mineralisasi matriks untuk membentuk tulang baru. Proses regenerasi tulang dapat dilihat dengan melakukan pemeriksaan *marker* (pertanda regenerasi tulang). Salah satu mediator *marker* yang berperan pada proses regenerasi tulang adalah *Osteoprotegerin* (OPG).¹⁸

Osteoprotegerin (OPG) adalah inhibitor alami untuk menghambat ikatan RANKL dengan RANK sehingga tidak terjadi pembentukan osteoklas. Efek biologis dari OPG pada sel sel tulang meliputi hambatan pada tahap terminal akhir diferensiasi osteoklas, menekan aktivasi osteoklas matur, menginduksi apoptosis, sehingga menurunkan proses resorpsi tulang dan menyebabkan peningkatan jumlah OPG sehingga terjadi proses osteogenesis. Dapat dikatakan bahwa regenerasi tulang terutama dikontrol oleh keseimbangan OPG dan RANKL.¹⁹

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti efektivitas bahan *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara terhadap regenerasi tulang melalui analisis ekspresi OPG, karena OPG merupakan marker (penanda) pembentukan tulang.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah di uraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah setelah pemberian *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (Pinctada Maxima) terjadi regenerasi tulang yang ditandai dengan adanya ekspresi OPG ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara terhadap regenerasi tulang

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui potensi kandungan dan karakteristik dari bahan cangkang kerang mutiara sebagai bone graft.
2. Untuk mengetahui ekspresi Osteoprotegerin (OPG) setelah aplikasi bone graft yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*), bovine xenograft (BATAN), dan tanpa aplikasi bone graft terhadap regenerasi tulang pada hari ke 14 dan 21
3. Untuk mengetahui perbandingan ekspresi Osteoprotegerin (OPG) setelah aplikasi *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara *Pinctada maxima*), *bone graft* hidroksiapatit (BATAN), dan tanpa aplikasi *bone graft* terhadap regenerasi tulang pada hari ke 14.
4. Untuk mengetahui perbandingan ekspresi Osteoprotegerin (OPG) setelah aplikasi *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*), *bone graft* hidroksiapatit (BATAN), dan tanpa aplikasi *bone graft* terhadap regenerasi tulang pada hari ke 21.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

1. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi kandungan cangkang kerang mutiara sebagai bahan bone graft pada regenerasi tulang
2. Menjadi pertimbangan dalam perawatan regenerasi periodontal sebagai bahan alternatif pengganti tulang.

1.4.2 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan dibidang kedokteran gigi bagian periodonsia pada khususnya.
2. Penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan ilmu pengetahuan dan penelitian lebih lanjut.
3. Memberikan informasi terhadap pemanfaatan pengolahan limbah cangkang kerang mutiara, sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan bone graft.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Kerusakan/defek tulang merupakan salah satu manifestasi klinis terjadinya periodontitis. Salah satu perawatan untuk defek tulang adalah melalui terapi regeneratif dengan pendekatan rekayasa jaringan. *Tissue Engineering* atau rekayasa jaringan dikembangkan untuk membantu regenerasi jaringan tubuh yang tidak mungkin diperbaiki sendiri oleh jaringan. Rekayasa jaringan tulang atau *Bone Tissue Engineering* (BTE) didasarkan pemahaman tentang struktur tulang, mekanisme tulang, dan pembentukan jaringan yang bertujuan untuk mendukung terbentuknya jaringan yang baru. Pada tinjauan pustaka ini akan dibahas mengenai struktur tulang, pola kerusakan tulang dan proses regenerasi tulang secara umum serta bahan regeneratif yang digunakan untuk perawatan defek tulang.²⁰

2.1 Struktur Tulang

Tulang adalah jaringan ikat khusus yang terdiri atas matriks tulang dan komponen selular.

- Komponen Matriks tulang terdiri dari protein kolagen dan protein non kolagen. Protein kolagen terdiri dari matriks organik sekitar 80%-90% dalam jaringan tulang termineralisasi yang dihasilkan dari osteoblas dan fibroblas. Sedangkan, protein non kolagen seperti osteokalsin, osteonektin, osteopontin, sialoprotein, dan proteoglikan.²¹
- Komponen selular dari tulang yaitu *osteogenic precursor cell*, osteoblas, osteoklas, osteosit.
 - a. *Osteogenic precursor cell* terdapat pada periosteum dan endosteum. Periosteum merupakan jaringan ikat yang menutupi tulang, yang terdiri atas lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar terdiri dari jaringan ikat padat yang iregular sedangkan lapisan dalam disebut juga osteogenic layer terdiri dari sel-sel

osteogenic. Pada endosteum hanya terdapat selapit sel osteogenic dan tidak mengandung komponen jaringan ikat .²²

- b. Osteoblas merupakan sel tulang yang mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor mesenchymal stem cells (MSC) dan jaringan ikat lainnya, yang berdiferensiasi dan berkembang menjadi osteoblas sebelum membentuk tulang. Beberapa fungsi dari osteoblas adalah mensintesis kolagen dan non-kolagen dari matriks tulang organik, mengarahkan susunan fibril matriks ekstraseluler, mineralisasi osteoid, memediasi resorpsi osteoblas melalui sintesis sitokin spesifik, dan mensintesis *growth factors*. Diferensiasi sel dimediasi oleh sejumlah besar *bone morphogenic proteins* (BMPs), *growth factors* dan sitokin. Osteoblas bertahan selama 1- 10 minggu, memiliki tiga perjalanan perkembangan yaitu osteoblas inaktif menjadi *bone-lining cells*, matriks termineralisasi yang dihasilkan akan mengililingi osteoblas dan menjadi osteosit, menghilang dari tempat pembentukan tulang sebagai hasil dari apoptosis.^{22,23}
- c. Osteosit merupakan osteoblas dewasa yang terjebak dalam matriks tulang. Setiap osteosit melakukan kontak dengan osteosit lain, sum-sum tulang, lapisan osteoblast, dan pembuluh darah melalui tubular kanalikuli. Osteosit berperan dalam regulasi konsentrasi kalsium dan fosfat ekstraseluler serta dalam reaksi adaptasi terhadap lingkungan lokal. Osteosit didefinisikan sebagai sel yang terletak di dalam matriks tulang, diturunkan dari sel punca mesenkim melalui diferensiasi osteoblas, berkomunikasi secara luas dengan populasi sel tulang lainnya untuk mengatur metabolisme tulang. Distribusi osteosit dalam tulang

adalah matriks tiga dimensi yang sangat terorganisir yang dirancang untuk meningkatkan adaptasi.^{22,23}

- d. Osteoklas (sel pemecah tulang) adalah sel terpenting pada resorpsi tulang yang berasal dari sel induk sumsum tulang (penghasil makrofag-monosit). yang diregulasi oleh mekanisme hormonal dan seluler. Pada proses resorpsi tulang tersebut osteoklas melekat pada permukaan tulang dan melepaskan enzim hidrolitik yang menyebabkan hidrolisis dari matriks tulang dan calcified cartilage. Proses tersebut menghasilkan terbentuknya cekungan pada tulang yang disebut lakuna Howship .²³

Osteoklas merupakan sel besar berinti banyak yang berasal dari makrofag hematopoietik dan *monocyte stem-cell line*, Bila distimulasi sel ini berproliferasi dan bergabung membentuk *large multinucleated osteoclast*, biasanya memiliki 3–20 nukleus dan sejumlah besar mitokondria, lisosom, dan memproduksi asam fosfatase yang berfungsi untuk melarutkan mineral dalam tulang . Faktor-faktor yang mempengaruhi diferensiasi sel osteoklas diantaranya *macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)* yang disekresikan oleh osteoprogenitor mesenchymal cells dan osteoblast, RANK ligand yang disekresikan oleh osteoblas, osteosit dan sel stroma. Kedua faktor ini mengaktifasi faktor transkripsi dan ekspresi gen osteoklas. Pembentukan osteoklas terjadi saat RANKL berikatan dengan RANK, dimana proses ini disebut osteoklastogenesis. Di sisi lain osteoprotegerin yang disekresikan oleh osteoblas, sel stroma, gingiva, dan fibroblast periodontal berikatan dengan RANKL, mencegah interaksi RANK/RANKL sehingga

menghambat osteoklastogenesis. Sistem RANKL / RANK / OPG adalah mediator kunci dari osteoklastogenesis.^{22,23}

2.2 Kerusakan Tulang Periodontal dan Perawatan Kerusakan Tulang Periodontal

2.2.1 Pola Kerusakan Tulang Periodontal^{24,25,26}

a. Hilangnya tulang secara horizontal

Hilangnya tulang secara horizontal yang paling banyak dijumpai. Tulang alveolar berkurang tingginya, margin tulang berbentuk horizontal atau agak miring. Resorpsi tulang pada pola ini terjadi karena adanya aktivitas yang sama besar pada semua bagian tulang. Sehingga kerusakan sama rata, dan cacat yang terbentuk adalah puncak alveolar yang datar.

b. Defek vertikal atau angular

Defek ini membentuk celah pada tulang di sepanjang akar. Bagian dasar defek tulang berada pada apikal dari tulang sekitar. Pada setiap defek tulang vertikal sering terjadi poket infraboni. Defek tulang diklasifikasikan berdasarkan jumlah tulang yang ada yaitu : defek tulang satu dinding atau hemiseptal, defek tulang dua dinding, defek tulang tiga dinding atau infraboni, defek tulang kombinasi (jumlah tulang pada bagian apical lebih besar daripada bagian oklusal).

c. Kawah Tulang

Kawah tulang adalah puncak tulang interdental yang menjadi cekung yang terjepit oleh dinding fasial dan lingual. Kawah tulang terjadi pada dua per tiga cacat tulang mandibular, dan dapat didiagnosa dengan probing transgingival. Hal yang menyebabkan terbentuknya defek ini, antara lain daerah interdental lebih mudah terjadi akumulasi plak dan lebih sulit dibersihkan, bentuk fasiolingual yang

normalnya rata atau cekung pada septum interdental molar bawah mempermudah terjadinya kawah, vaskularisasi pada gingiva di tengah puncak tulang dapat menyebabkan terjadinya jalur inflamasi.

d. Bentuk/arsitektur terbalik

Defek tulang yang terbalik terjadi karena kehilangan tulang interdental, termasuk bagian fasial dan lingual tanpa kehilangan tulang radikular, sehingga terjadi kebalikan dari anatomi normal (lebih sering pada maksila).

e. *Ledges*

Ledges adalah tepi tulang berbentuk plate yang terjadi karena resorpsi tulang yang menebal.

f. Keterlibatan furkasi

Keterlibatan furkasi adalah keterlibatan daerah bifurkasi atau trifurkasi pada gigi berakar jamak karena penyakit periodontal. Keterlibatan furkasi juga dapat dikelompokkan menurut derajat kerusakan tulang di daerah furkasi yang diukur pada bidang horizontal. Keterlibatan furkasi ini diklasifikasikan menjadi 3 kelas, yaitu:

- Kelas 1, disebut juga cacat tahap awal. Merupakan cacat yang berpenetrasi kurang dari 2 mm ke arah furkasi.
- Kelas 2, merupakan cacat dimana kerusakan tulang lebih dari 2 mm ke arah interradikular, tetapi tidak semua daerah furkasi sehingga ada sebuah aspek tulang yang tetap utuh.
- Kelas 3, merupakan cacat yang sedemikian rupa sehingga sebagian besar tulang interradikular sudah rusak, dan sonde dapat dimasukkan melewati daerah antara akar-akar gigi dari salah satu sisi ke sisi lainnya.

2.2.2 Perawatan Kerusakan Tulang Periodontal

a. Perawatan Konvensional

Tujuan dari perawatan periodontal konvensional yaitu untuk menghentikan perkembangan kerusakan jaringan dan kehilangan tulang alveolar. Perawatan periodontal konvensional meliputi terapi mekanis yaitu scaling dan root planing, yang berarti menghilangkan bakteri, kalkulus, dan biofilm. Perawatan scaling dan root planing efektif pada kasus poket yang dangkal. Namun, pada kasus poket yang lebih dalam, akses dan visibilitas seringkali bermasalah dan membatasi efektivitas scaling dan root planing. Dalam situasi ini, *open flap debridement* menjadi pilihan perawatan yang lebih efisien untuk menghilangkan bakteri dan kalkulus, serta pengambilan beberapa jaringan granulasi.²⁷

b. Perawatan Regeneratif

Berdasarkan penelitian, perawatan defek intrabony dan furkasi dengan menggunakan perawatan regeneratif menunjukkan perbaikan klinis yang lebih baik dibandingkan dengan perawatan konvensional seperti *open flap debridement* (OFD), yaitu tidak hanya pengurangan kedalaman probing, penguatan perlekatan klinis, dan pengisian tulang, tetapi juga pada penutupan defek melalui regenerasi periodontal.²⁷

Perawatan Regeneratif menawarkan hasil estetika yang unggul jika dibandingkan dengan perawatan konvensional. Berikut adalah beberapa perawatan regeneratif yang telah terbukti digunakan untuk meningkatkan regenerasi periodontal dalam mengatasi kerusakan tulang :²⁸

- Penggunaan berbagai teknik bedah bersamaan dengan implantasi bahan bone graft / pengganti tulang;

- Demineralisasi permukaan akar;
- Regenerasi jaringan terpandu (GTR);
- Faktor pertumbuhan dan diferensiasi;
- Derivatif matriks enamel (EMD).

2.3 Bone Graft

Graft adalah suatu bagian jaringan yang diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama maupun yang berlainan. Tujuannya adalah untuk memperbaiki suatu cacat yang disebabkan oleh penyakit, kecelakaan atau anomali pertumbuhan dan perkembangan. *Bone graft* adalah pilihan yang banyak digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang periodontal, hal ini lebih baik bila dibandingkan dengan cara bedah pembersihan biasa tanpa penambahan bahan *graft*. Pada kasus-kasus yang regenerasinya kurang diharapkan, misalkan karena tulang alveolar sudah banyak yang hilang maka dapat dilakukan *bone grafting*. Tujuan dari *bone grafting* adalah mengurangi kedalaman poket periodontal, peningkatan perlekatan klinis, pengisian tulang di daerah defek dan regenerasi tulang baru, sementum dan ligamentum periodontal sehingga diharapkan akar gigi dapat terdukung dengan baik.²⁹

2.3.1 Klasifikasi Bone Graft

Bone graft merupakan tindakan yang tepat untuk menambah tinggi linggir alveolar, remodeling tulang rahang, transfer jaringan yang bebas dari mikrovaskular, dan pembentukan kembali crest alveolar. Umumnya, bone graft diklasifikasikan menjadi 4 kategori yaitu :^{30,31,32}

- **Autograft**

Pencangkokan tulang autologous atau autogenous atau autograft diperoleh dari individu yang sama dengan individu yang menerima cangkok, dimana dapat diambil dari bagian tulang lain seperti *iliac crest*, simpisis mandibular, ramus mandibular anterior (prosesus coronoid). Jenis cangkok ini memiliki risiko penolakan cangkok lebih sedikit, namun memiliki kerugian antara lain diperlukan lokasi pembedahan tambahan, dan adanya rasa nyeri dan komplikasi pasca operasi

- **Allograft**

Allograft merupakan graft yang didapat dari individu lain tetapi dari spesies yang sama. Terdapat tiga jenis tulang allograft yang tersedia yaitu *fresh-frozen bone*, FDBA, DFDBA. Penggunaan allografts untuk perbaikan tulang seringkali membutuhkan sterilisasi dan menon-aktifkan protein yang biasanya ditemukan pada tulang yang sehat

- **Xenograft**

Xenograft merupakan jenis bone graft yang berasal dari spesies lain selain manusia seperti sapi dan digunakan sebagai matriks terkalsifikasi.

- **Alloplastic grafts**

Jenis graft ini dibuat dari hidroksiapatit, mineral alami (komponen mineral utama tulang). Hidroksiapatit adalah *bone graft* sintesis yang paling banyak digunakan karena sifat osteokonduksi, kekerasan dan penerimaannya oleh tubuh.

2.3.2 Mekanisme Bone Graft

Bone graft memperlihatkan gambaran biologis dan mekanik serta memberikan suatu scaffold sehingga tulang baru dapat dibentuk melalui osteogenesis, osteoinduksi, dan osteokonduksi. Material bone graft minimal memiliki 2 sifat biologis ini.^{33,34}

1. Osteokonduktif

Osteokonduksi terjadi ketika bahan bone graft berperan sebagai scaffold untuk pertumbuhan tulang baru yang di dukung oleh tulang asli. Osteoblas dari defek margin yang digraft menggunakan bone graft sebagai kerangka kerja untuk menyebar dan menghasilkan tulang baru.

Osteokonduksi dalam fungsinya berperan sebagai media bagi sel sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik didalam defek tulang atau sebagai satu dari bentuk dari bone graft yang memberikan dimensi scaffold atau rangka untuk osteoblas, memfasilitasi vaskularisasi dan menyiapkan migrasi dari sel host baru dengan aktivitas osteogenik.

2. Osteoinduktif

Osteoinduksi didefenisikan sebagai peningkatan pembentukan tulang dimana Mesenchymal Stem Cell (MSC) dikumpulkan dari host tissue dan dideferensiasi ke dalam sel sel tulang oleh stimulasi dari produksi tulang baru seperti bone protein, growth factor, dan osteoinduksi melibatkan perangsangan sel sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas yang kemudian mulai pembentukan tulang baru. Mediator sel osteoinduktif yang paling penting adalah bone morphogenetic proteins (BMPs). Suatu bone graft dengan osteokonduktif dan osteoinduktif tidak

hanya berperan sebagai scaffold untuk osteoblas yang sudah ada tetapi juga memicu pembentukan osteoblas baru.

3. Osteogenesis

Osteogenesis adalah proses pembentukan tulang baru yang dihasilkan dari transplantasi sel sel osteoprogenitor bersama growth factor dari bone graft atau daerah host. Hanya bahan autograft yang memiliki sel sel osteoblas dan prekursornya.

Osteogenesis terjadi ketika osteoblas vital yang berasal dari bahan bone graft berkontribusi terhadap pembentukan tulang begitu juga sel sel yang terkandung dalam graft. Proses terbentuknya tergantung pada sel tulang yang ada dalam bone graft. Allografts dapat menggabungkan faktor pertumbuhan, MSC, sel osteoprogenitor dan substitusi osteogenik untuk menyediakan perkembangan tulang langsung .

Bone graft osteogenik mengandung sel-sel dengan kemampuan untuk membentuk tulang (sel sel osteoprogenitor) dan berpotensi diferensiasi menjadi sel-sel pembentuk tulang yang diinduksi sel-sel prekursor osteogenik.

2.3.3 Karakteristik Bone Graft

Bahan yang ideal untuk remodeling tulang harus memiliki karakteristik berikut: ³³

- Sifat osteogenik, osteoinduktif dan osteokonduktif;
- Stimulasi neo-angiogenesis;
- Kurangnya reaksi antigenik, teratogenik atau karsinogenik;
- Supply dalam jumlah yang cukup;
- Dukungan dan stabilitas yang memuaskan;

- Minimum hingga nol morbiditas - komplikasi;
- Sifat hidrofilik;
- Penanganan yang mudah;
- Biaya murah

2.4 Bovine Xenograft

Bovine xenograft adalah *xenografts* pertama yang diterapkan pada pasien, yang tersedia secara komersial dalam berbagai produk dan dianggap sebagai bahan yang paling terdokumentasi dari kategori ini. Mereka dicirikan oleh sifat-sifat osteokonduktif, yang dideproteinisasi dan diliofilisasi, tidak menyebabkan respon imun. Namun, butiran dari bahan ini dianggap mengalami penyerapan yang buruk atau lambat, dikelilingi oleh jaringan tulang neoplastik daripada memasuki proses remodeling tulang normal. Pembuatan pada suhu tinggi untuk menghindari reaksi kekebalan, alergi dan penyakit menular seperti spongiform encephalopathy dianggap bertanggung jawab untuk memodifikasi struktur hidroksiapatit yang selanjutnya mengarah pada pengurangan potensi penyerapan.³⁴

2.5 Cangkang Kerang Mutiara

2.5.1 Klasifikasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*)

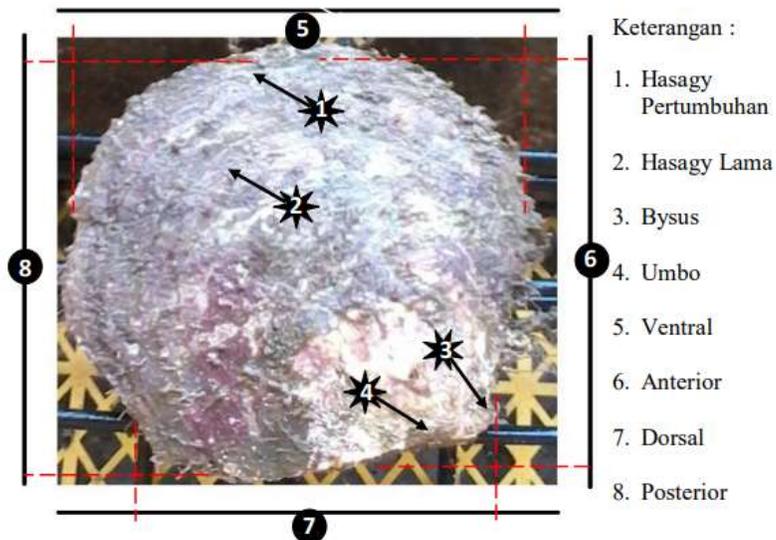
Kerang mutiara merupakan hewan bertubuh lunak (mollusca) yang hidup dilaut, tubuhnya dilindungi oleh sepasang cangkang yang tipis dan keras (bivalvia). Kerang mutiara memiliki cangkang yang tidak simetris dan sangat keras, tetapi seluruh organ tubuhnya sama sekali tidak bertulang dan sangat lunak .³⁵ Klasifikasi kerang mutiara (*Pinctada maxima*) adalah sebagai berikut:³⁵

Kingdom : Invetebrata

Filum : Mollusca
 Kelas : Pellecypoda
 Ordo : Anysomyaria
 Famili : Pteridae
 Genus : Pinctada
 Spesies : Pinctada maxima

2.5.2 Morfologi dan Anatomi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*)

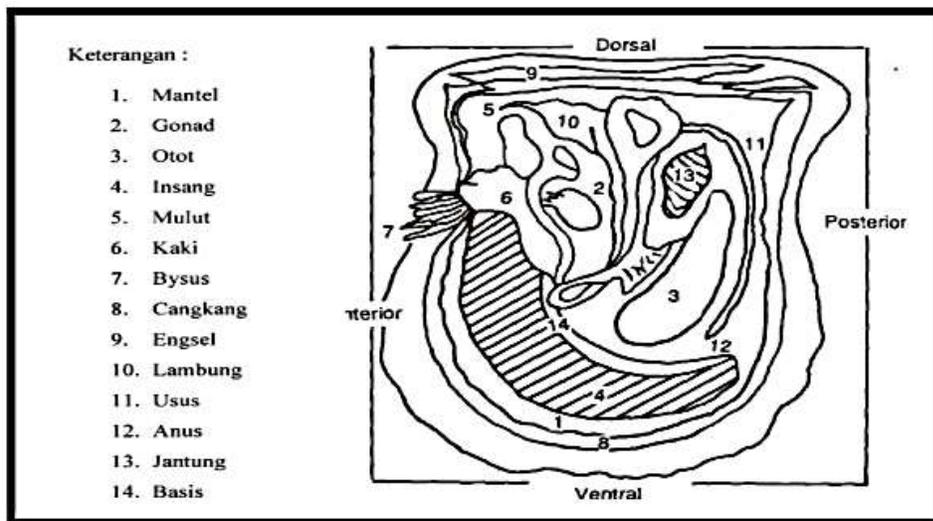
Tubuh tiram mutiara ditutupi oleh sepasang cangkang yang tidak sama bentuknya, kulit sebelah kanan agak pipih, sedang sebelah kiri lebih cembung. Cangkang tersebut bersatu pada punggung (dorsal) yang dihubungkan oleh engsel (hinge) untuk membuka dan menutup cangkang. Dorsal berbentuk datar, permukaan dorsal cangkang terdapat bagian yang berbentuk seperti tombol yang disebut umbo yang selalu mengarah ke interior. Disamping itu, dalam cangkang terdapat mother of pearl atau lapisan induk mutiara serta nacre yang dapat membentuk lapisan mutiara.³⁵



Gambar 1. Morfologi cangkang kerang mutiara³²

Anatomi tiram mutiara terdiri dari tiga bagian yaitu kaki/byssus, mantel dan organ dalam (visceral mass).³⁶

1. Kaki merupakan salah satu bagian tubuh yang bersifat elastik, terdiri dari susunan jaringan otot, dapat merenggang atau memanjang sampai tiga kali dari keadaan normal, kaki berfungsi sebagai alat gerak sewaktu muda sampai saat menemukan tempat yang cocok untuk menempel dan juga sebagai alat pembersih.
2. Mantel terdiri dari selaput (intigument) yang membungkus visceral mass, mantel tergantung seperti tirai pada kedua sisi organ tubuh , terletak antara tubuh dan cangkang. Mantel mengeluarkan zat yang membentuk cangkang.
3. Organ dalam adalah bagian yang tersembunyi setelah bagian mantel dan merupakan aktivitas kehidupan tiram mutiara tersebut. Organ dalam ini terdiri dari otot, insang, mulut, lambung, usus, jantung, susunan syaraf, dan alat kelamin.

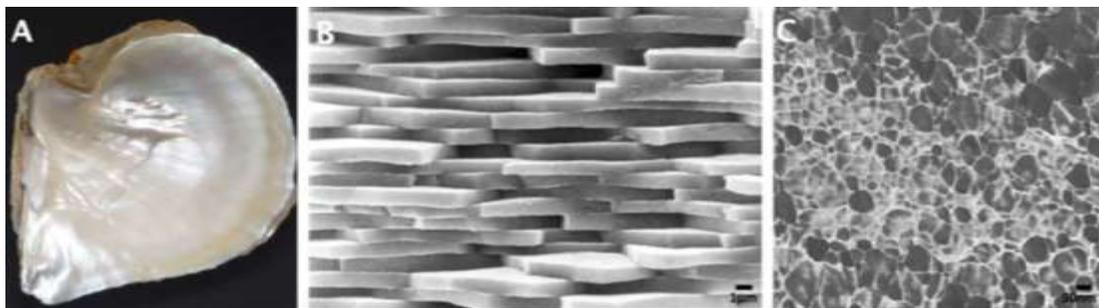


Gambar 2. Anatomi Cangkang Kerang Mutiara³⁶

2.5.3 Kandungan Cangkang Kerang Mutiara

Nacre atau cangkang kerang, merupakan bagian dalam kerang, tersusun atas calcium carbonat aselular yang banyak diproduksi oleh *bivalves*, *gastropods*, dan *cephalopods*. Nacre terdiri dari tablet cristal aragonite yang dilapisi matriks organic. Aragonit dan kalsit adalah dua kalsium karbonat polimorf yang merupakan penyusun cangkang moluska dan memberi kekuatan dan ketahanan terhadap keseluruhan arsitektur cangkang. Sebagian kecil cangkang invertebrate terdiri dari matriks organic yang bertanggung jawab terhadap proses nukleasi, pertumbuhan dan inhibisi kalsium karbonat.^{37,38}

Struktur khusus dari cangkang kerang mutiara tersusun dari dinding berbentuk seperti bata yang mengandung tablet aragonite pseudoheksagonal dengan ketebalan sekitar 0,5 mm dan diameter 5-15 mm. Tablet tersebut diatur dalam lamina parallel dan dipisahkan oleh lembaran interlamellar matriks organic. *P.margaritifera* dan *P.Maxima* merupakan spesies cangkang kerang paling besar, dengan ukuran maksimal dapat mencapai 30 cm pada spesies *P.margaritifera* dan 20-25 cm pada spesies *p.maxima*. Partikel mikro dan komponen berlapis pada cangkang kerang dapat memberikan tegangan tekanan yang sangat baik dan lebih baik dari tulang.^{39,40}



Gambar 3. Struktur Lapisan Cangkang Kerang Mutiara. (A) Lapisan Cangkang Internal, (B) Pemeriksaan SEM menunjukkan struktur bata, (C) Gambaran mikroskopi cangkang kerang mutiara³⁶

2.5.4 Cangkang Kerang Mutiara sebagai Bone Graft

Penemuan implan gigi pada tulang tengkorak suku mayan menjadi awal dilakukannya sejumlah penelitian terhadap cangkang kerang. “*Nacre*”, lapisan dalam kerang dari tiram *Pinctada Maxima* yang sering disebut “mother of pearl” telah menunjukkan hasil menjajikan sebagai bahan graft biomimetic resorbable. *Nacre* sering menunjukkan pergantian osteokonduktif yang alami dengan efek kuat dalam osteoprogenitor, osteoblas, dan osteoklas selama pembentukan jaringan tulang dan morfogenesis. Selain itu, *nacre* juga menunjukkan sifat yang biocompatible dan biodegradable pada jaringan tulang.⁴¹

Cangkang kerang merupakan bahan yang memiliki beberapa kelebihan yaitu murah, desain modern, struktur dan arsitektur hirerarki, fungsi biologis intrinsik, imogenitas rendah, toksisitas rendah, penyimpanan aman dan mudah. Cangkang kerang dan tulang memiliki beberapa kesamaan, struktur aselular *nacre* dibentuk oleh skeleton luar moluska, sedangkan struktur aselular dari tulang dibentuk oleh skeleton internal invertebrate. Kedua struktur ini berbagi matriks organik yang terdeposit oleh sel khusus (sel tulang pada vertebrata dan sel *matle epithelial* pada moluska), bentuk organiknya membentuk *scaffold* untuk kristalisasi dan mineralisasi langsung.²⁰ Komposisi kimia *nacre* 97% inorganic dan 3 % organic, yang terdiri dari protein, peptide, glukoprotein, kitin, lipid, dan pigmen. Komposisi *Pinctada maxima* Ca, Mg, Na, P, Fe, Cu, Ni, B, Zn, dan Si. Kandungan utama dari *nacre* ini adalah kalsium karbonat (CaCO_3). Kalsium karbonat mampu meningkatkan osteokonduktifitas bila dibandingkan bahan sintesis pengganti tulang lainnya, meliputi nano- β -tricalcium phosphate dan nano-hydroxyapatite, dan dapat mempercepat ekspresi marker osteogenik spesifik. Selain itu, di dalam matriks

organic cangkang kerang mutiara ditemukan molekul biologis yang mampu mengaktifkan sinyal kimiawi osteoblas.⁴²

Berikut adalah beberapa penelitian mengenai perkembangan penggunaan cangkang kerang sebagai *bone graft* :

No	Penulis/ Tahun	Judul	Metode	Hasil
1.	Green DW et al (2015) ⁴³	Osteogenic potency of nacre on human mesenchymal stem cell	Penelitian ini menggunakan cangkang kerang mutiara yang dibuat dalam bentuk chip dan dilakukan pada sel stromal tulang marrow manusia dan dilakukan selama 21 hari	Hasil penelitian menemukan bahwa cangkang kerang mutiara mempengaruhi tahap awal differensiasi sel tulang manusia.
2.	Divilia et.al (2015) ¹⁶	Efektivitas Kombinasi Grafting Cangkang Kerang Darah (Anadara granosa) dan Minyak Ikan Lemuru (Sardinella longiceps) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses bone repair	Penelitian ini menggunakan cangkang kerang darah (Anadara granosa) dan minyak ikan lemuru yang dibuat dalam bentuk pasta	kombinasi cangkang kerang darah dan minyak lemuru berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah osteoklas pada proses bone repair hari ke-7
3.	Brundavanam et al (2017) ⁴⁴	Synthesis of bone like composite material derived from waste pearl oyster shells for potential bone tissue bioengineering application	Penelitian ini mensintesis kandungan cangkang kerang mutiara menjadi material komposit seperti tulang pada regenerasi jaringan	Dari hasil penelitian diperoleh bahwa kandungan cangkang kerang mutiara mampu memfasilitasi proliferasi osteoblas, mempercepat

No	Penulis/ Tahun	Judul	Metode	Hasil
				produksi matriks ekstraseluler, dan mineralisasi.
4.	Alakpa E V (2017) ³⁷	Nacre topography Produces Higher Crystallinity in Bone than Chemically Induced Osteogenesis	Penelitian ini dilakukan secara in vitro dimana peneliti mengisolasi topografi nacre dari sifat kimiawi yang melekat	Dari hasil penelitian ini ditemukan bahwa nacre memiliki sifat osteokonduktif terhadap tulang
5.	Coringa R et al (2018) ⁴⁵	Bone substitute made from a Brazilian oyster shell functions as a fast stimulator for bone forming cells in an animal model	Penelitian ini menggunakan bahan pengganti tulang yang diperoleh dari cangkang kerang (Crassostrea Rhizophora). 72 ekor tikus dibagi menjadi tiga bagian dan diberikan perlakuan secara acak pada defek submandibular. Bagian pertama sebagai control negative (-C), bagian kedua sebagai control positif (+C; Bio-Oss) dan EBS	Dari hasil penelitian ini diperoleh bahwa EBS (experimental Bone Substitute) memberikan biokompatibilitas yang baik dan menstimulasi pembentukan sel tulang pada hewan coba
6.	Rahayu S et.al (2018) ³⁸	Pemanfaatan limbah cangkang kerang mutiara (Pinctada maxima) sebagai sumber hidroksiapatit	Penelitian ini dilakukan di mataram Indonesia. Dengan	Hasil penelitian ini memperoleh HAp dan TCp pada serbuk cangkang

No	Penulis/ Tahun	Judul	Metode	Hasil
			menggunakan cangkang kerang mutiara (<i>Pinctada maxima</i>). Pada penelitian ini peneliti memilih untuk menggunakan teknik presipitasi yang didasarkan dari penelitian-penelitian sebelumnya	Mutiara. Penelitian ini dapat menjadi dasar metoda sintesis cangkang kerang Mutiara untuk dijadikan bahan bone graft yang osteoinduktif, osteokonduktif dan osteogenesis.

2.6 Regenerasi Tulang

4.6.1 Proses Regenerasi Tulang

Proses regenerasi tulang merupakan proses yang kompleks, umumnya membutuhkan waktu 6 sampai 8 minggu untuk menyembuhkan ke tingkat yang signifikan. Keberhasilan dan kecepatan suatu penyembuhan berbeda antar individu. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk jenis fraktur, usia pasien, kondisi medis yang mendasari dan status gizi. Proses regenerasi sendiri dibagi menjadi 3 tahapan, yaitu fase inflamasi, fase reparasi dan fase remodeling. Kumpulan osteosit dan osteoblast yang terlibat pada resorpsi dan pembentukan tulang, pada setiap daerah tulang yang mengalami regenerasi, tersusun di dalam struktur anatomi sementara yang dikenal sebagai “*Basic Multinucleated Units*” (BMU). Setiap BMU terbungkus oleh *bone-lining cells* yang menciptakan lingkungan untuk resorpsi dan pembentukan tulang. Selama regenerasi tulang secara fisiologis, volume tulang tidak berubah. BMU aktif terdiri dari osteoklas yang meresorpsi tulang yang menutupi permukaan tulang yang baru terbuka,

mempersiapkan tulang untuk deposisi tulang pengganti. Osteoblast mengikuti osteoklas, mensekresikan dan mendeposisi osteoid tulang yang tidak termineralisasi. Susunan teratur sel-sel di dalam BMU penting untuk memastikan urutan tepat fase proses regenerasi tulang .^{18,46,47}

1. Fase Inflamasi (Inflammatory Phase)

Pada fase ini, akibat dari kerusakan jaringan berakibat terjadinya nekrose dan kemungkinan terjadi apoptosis pada daerah luka. Kondisi ini memicu pergerakan PMN leukosit (neutrofil) menembus dinding pembuluh darah menuju bagian yang luka dan mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna jaringan nekrotik dan debris. Elemen imun seluler yang berikutnya adalah makrofag. Sel ini terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi. Muncul pertama 48-96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncaknya pada hari ketujuh . Makrofag seperti halnya neutrofil, melakukan fagositosis dan mencerna organisme patologis dan sisa-sisa jaringan. Makrofag juga melepas zat biologis aktif yang membantu makrofag dalam dekontaminasi dan membersihkan sisa jaringan. Zat yang berfungsi sebagai transmitter interseluler ini secara keseluruhan disebut sitokin . Sitokin-sitokin tersebut berpotensi sebagai stimulator diferensiasi osteoklas, yakni mempengaruhi ekspresi RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) dan OPG (Osteoprotegerin) . Makrofag juga melepas faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan formasi jaringan granulasi. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi, yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronectin, dan asam hialuronik. Faktor – faktor yang berperan dalam angiogenesis adalah VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast

growth factor), TNF- α , TNF- β , PDGF (Platelet Derived Growth Factor) dan angiopentin-1.⁴⁰

2. Reparative / Proliferasi

Pada fase ini terjadi respon proliferasi dari jaringan mesenkim pluripoten di periosteum, endosteum dan jaringan granulasi sekitar daerah luka. Pada daerah periosteum terdapat sel-sel osteoprogenitor yang diperlukan dalam pembentukan tulang baru, contohnya osteoblas. Pada jaringan granulasi yang merupakan kombinasi elemen seluler termasuk fibroblas, sel inflamasi dan pembuluh darah perlahan jumlahnya mulai meningkat. Pada kondisi ini keberadaan BMP-2 ditunjukkan pada pembentukan tulang yang diinduksi oleh stem sel mesenkim menuju kondroblas dan berdiferensiasi menjadi osteoblas.⁴⁰

3. Remodeling/Maturasi

Fase ini biasa disebut dengan fase maturasi, terjadi pada hari ke-14 hingga 1 tahun. Sel utama yang berperan penting pada fase ini adalah osteoblas dan osteoklas. Remodeling tulang merupakan proses yang sangat kompleks dimana tulang tua diganti dengan tulang baru, dengan siklus yang terdiri dari tiga fase yaitu inisiasi resorpsi tulang oleh osteoklas, transisi (periode reversal) dari resorpsi ke pembentukan tulang baru, dan pembentukan tulang oleh osteoblas. Proses ini terjadi karena tindakan terkoordinasi dari osteoklas, osteoblas, osteosit, dan sel lapisan tulang yang bersama-sama membentuk struktur anatomi sementara yang disebut basic multicellular unit (BMU). Adapun faktor-faktor yang memodulasi aktivitas osteoblas dan osteoklas antara lain seperti macrophage colony stimulating factor (M-CSF), eceptor activator of nuclear factor kappa B (RANK), receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) dan osteoprotegerin (OPG).

Siklus remodeling tulang melibatkan beberapa tahap yaitu quiescent, aktivasi, resorpsi, reversal, formasi dan terminasi.⁴⁸

1. Tahap quiescent merupakan fase istirahat yang menggambarkan tulang dalam keadaan tidak aktif sebelum proses remodeling.
2. Tahap aktivasi: pada tahap ini terjadi aktivasi permukaan tulang sebelum resorpsi, melalui retraksi sel-sel lapisan tulang (osteoblas matang memanjang di permukaan endosteal). Permukaan termineralisasi akan menarik sirkulasi osteoklas yang berasal dari pembuluh di sekitarnya.
3. Tahap resorpsi: berlangsung pada hari ke 7 dimana osteoklas melarutkan matriks mineral dan menguraikan matriks osteoid. Proses ini diselesaikan oleh makrofag dan melepaskan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam matriks, seperti transforming growth factor beta (TGF- β), platelet derived growth factor (PDGF), dan insulin-like growth factor I and II (IGF-I dan II).
4. Tahap reversal: berlangsung dimulai minggu ke 2. Pada tahap ini resorpsi tulang beralih ke formasi, terjadi dua peristiwa penting yaitu permukaan tulang yang baru diserap disiapkan untuk deposisi matriks tulang baru dan terjadi pensinyalan lebih lanjut resorpsi ke formasi untuk memastikan tidak ada kehilangan tulang. Persiapan permukaan tulang dilakukan oleh sel-sel turunan osteoblas yang menghilangkan matriks kolagen yang tidak termineralisasi, dan matriks mineralisasi non-kolagen.
5. Tahap formasi: berlangsung dimulai minggu ke 3 (hari ke 21). Pembentukan tulang membutuhkan waktu 4 sampai 6 bulan. Osteoblas mensintesis matriks protein baru untuk mengisi rongga yang ditinggalkan oleh osteoklas. Osteoid

adalah matriks tulang baru yang terdiri dari protein seperti kolagen tipe I. Sebagai matriks tulang baru secara bertahap termineralisasi membentuk tulang baru. Osteoblas terus berlanjut membentuk tulang baru sampai berubah menjadi sel lapisan istirahat yang benar-benar menutupi permukaan tulang yang baru terbentuk.

6. Mineralisasi: fase terakhir yang dimulai sekitar 30 hari setelah pembentukan osteoid. Pada tulang trabekuler proses ini berakhir 90 hari setelah deposisi osteoid, sedangkan pada tulang kortikal berakhir pada 130 hari. Kemudian mineralisasi tulang akan memasuki fase istirahat dan jumlah tulang yang terbentuk kembali sama dengan jumlah yang diserap.

4.6.2 Mediator dari Regenerasi tulang

Osteoklas adalah satu satunya sel yang diketahui mampu untuk meresorpsi tulang. Osteoklas umumnya mempunyai banyak nukelus. Osteoklas berasal dari sel prekursor mononuclear dari turunan monocytemacrophage (hematopoietic stem cells yang memberikan turunan terhadap monosit dan macrofag). Prekursor mononuclear monocytemacrophage telah diidentifikasi pada berbagai jenis jaringan, akan tetapi sel precursor monocytemacrophage yang berasal dari sumsum tulang yang diperkirakan menghasilkan paling banyak osteoklas. Osteoblas dapat menstimulasi untuk meningkatkan massa tulang melalui peningkatan sekresi dari osteoid dan menghambat kemampuan dari osteoklas untuk memecah jaringan osseous. Pembentukan tulang melalui peningkatan formasi osteoid, distimulasi oleh sekresi growth hormone oleh pituitary, hormone tiroid dan hormone sex (estrogen dan androgen). Mediator yang

berperan adalah Osteoprotegerin (OPG) dan receptor activator NF- κ B ligand (RANKL).¹⁸

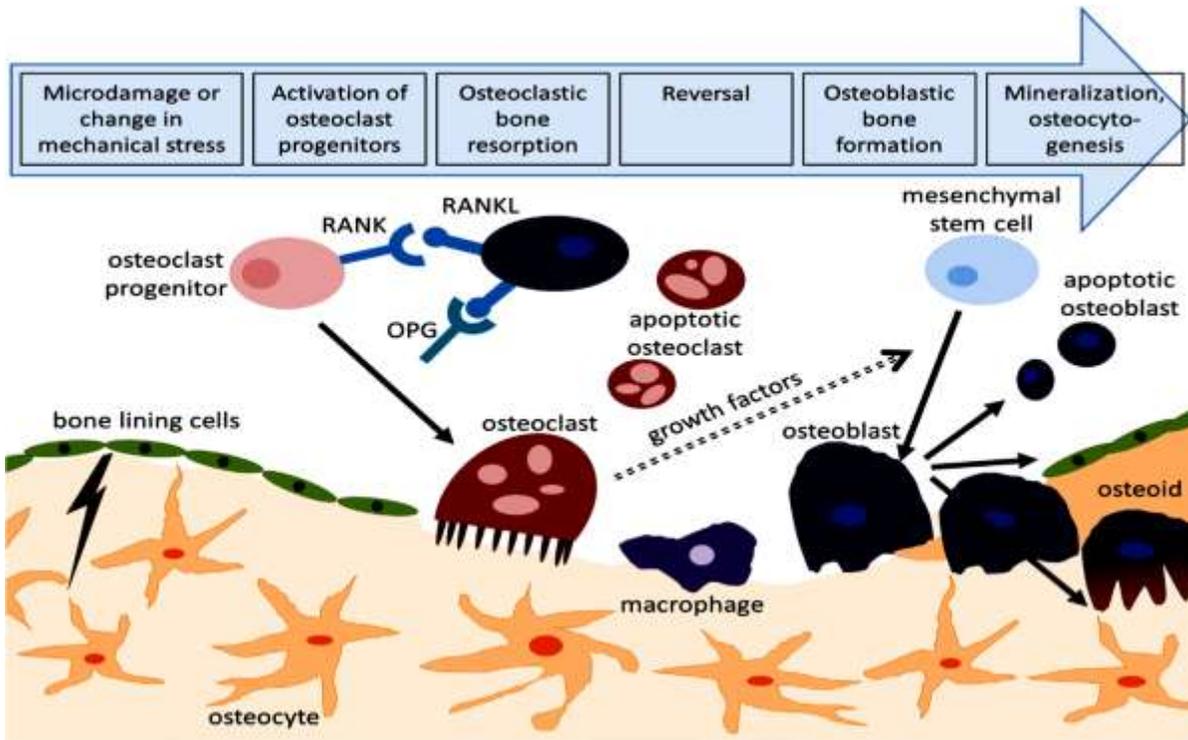
4.6.3 Osteoprotegerin (OPG)

Sistem RANKL/RANK/OPG dikenal untuk perannya dalam maturasi osteoklas, modelling tulang, dan remodeling tulang. Receptor aktivator NF- κ B (RANK), receptor activator NF- κ B ligand (RANKL), dan osteoprotegerin (OPG) merupakan komponen utama pada sistem persinyalan ini.^{19,49}

RANKL dikenal juga sebagai sebuah protein homotrimeric, dihasilkan oleh osteoblast dan beberapa sel-sel lain seperti sel T yang teraktivasi. Tipe RANKL yang tersekresi merupakan hasil dari pembagian proteolitik atau penyambungan alternatif pada bentuk membran. Matrix metalloproteinase (MMP3 atau 7) dan ADAM (a disintegrin and metalloproteinase domain) bertanggung jawab untuk pembelahan proteolitik RANKL. RANKL, yang merupakan sekresi dari proteoblasts, osteoblast, osteocytes, dan sel-sel periosteal, membuat RANK teraktivasi, yang diekspresikan oleh osteoklas dan prekusornya. RANKL ini dapat berfungsi sebagai ligan yang penting untuk proses *osteoclastogenesis*. Ekspresi RANKL distimulasi pada osteoblas/sel stromal melalui beberapa faktor yang diketahui untuk menstimulasi pembentukan dan aktivitas osteoklas.⁵⁰

Resorpsi tulang alveolar diperankan oleh sel osteoklas. Differensiasi dan aktivasi osteoklas salah satunya di perankan oleh RANKL. RANKL akan berikatan dengan *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B* (RANK) untuk menstimulasi differensiasi dan aktivasi osteoklas.⁵¹

Osteoprotegerin (OPG) merupakan protein yang melindungi tulang dari penyerapan. Nama lainnya adalah OCIF (Osteoclastogenesis Inhibiting Factor). OPG merupakan anggota superfamili *Tumor Necrosis Factor* yang berfungsi sebagai reseptor umpan (*decoy receptor*) terhadap RANKL. OPG ditemukan dalam organ paru-paru, jantung, hati, ginjal, timus, kelenjar getah bening, dan sintesis oleh beberapa sel termasuk sel-sel stroma, osteoblas, sel otot polos pembuluh darah, limfosit B, limfosit T, serta kondrosit artikular. OPG merupakan glikoprotein yang dibentuk oleh osteoblas dan dihasilkan oleh berbagai macam sel dan menghambat diferensiasi osteoklas dan prekusornya. *Osteoprotegerin* merupakan membran yang mengelilingi dan mensekresi protein yang melekat pada RANKL untuk menghambat perannya terhadap reseptor RANK. Reseptor RANK diekspresikan pada progenitor osteoklas hematopoietik. *Osteoprotegerin* dan RANK merupakan reseptor yang menunjukkan daya tarik menarik yang sama terhadap RANKL. *Osteoprotegerin* yang dihasilkan oleh osteoblas berperan sebagai reseptor RANKL, dan mencegah RANKL berikatan dengan RANK dan mengaktifkan RANK. *Osteoprotegerin* juga menghambat perkembangan osteoklas. Efek biologis dari *osteoprotegerin* pada sel sel tulang meliputi hambatan pada tahap terminal akhir diferensiasi osteoklas, menekan aktivasi osteoklas matur, dan menginduksi apoptosis. Sehingga dapat dikatakan bahwa remodeling tulang terutama dikontrol oleh keseimbangan RANKL dan OPG.^{19,50}

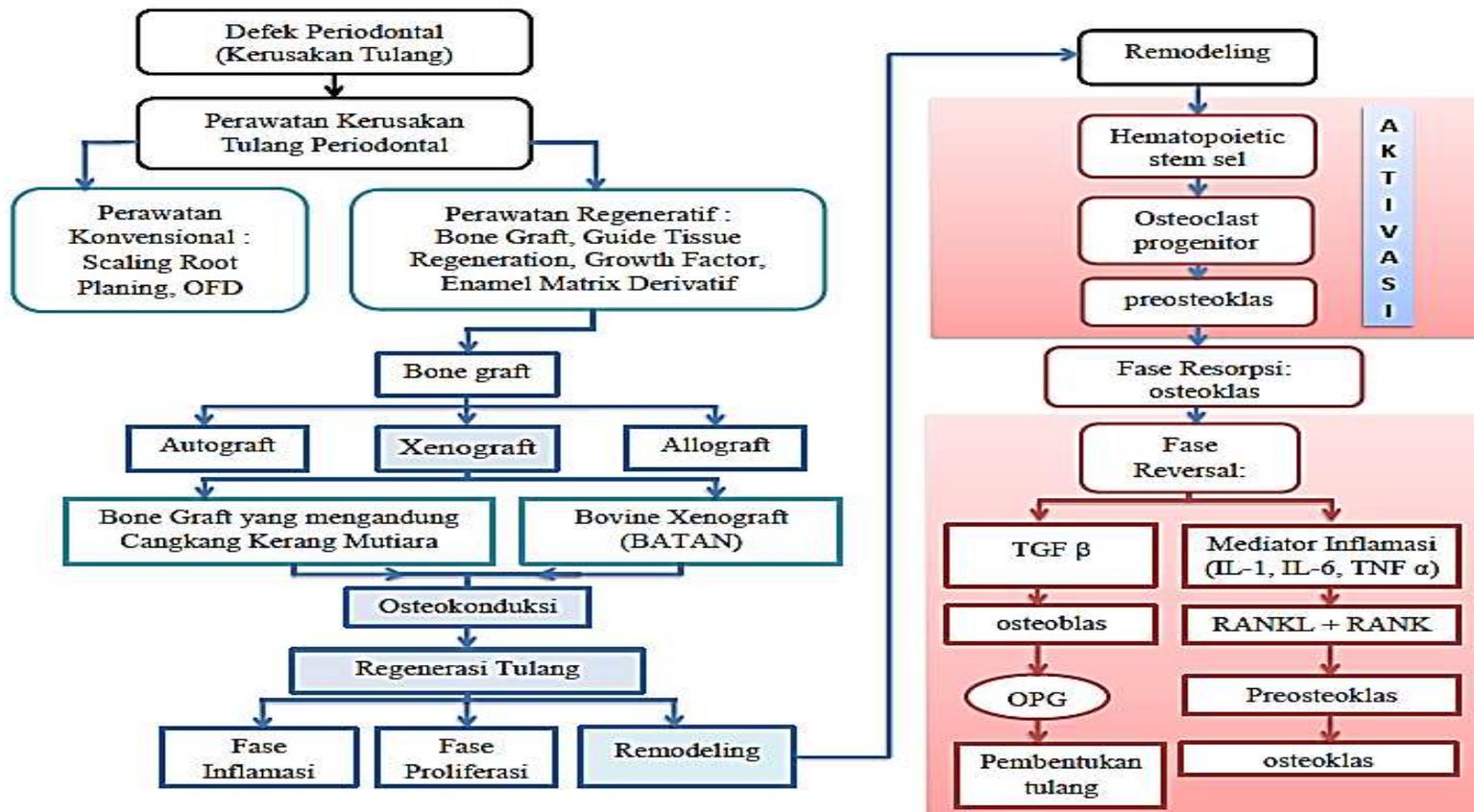


Gambar 4. Proses Regenerasi Tulang melalui jalur RANKL dan OPG⁵⁰

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



3.2 Penjelasan Kerangka Teori

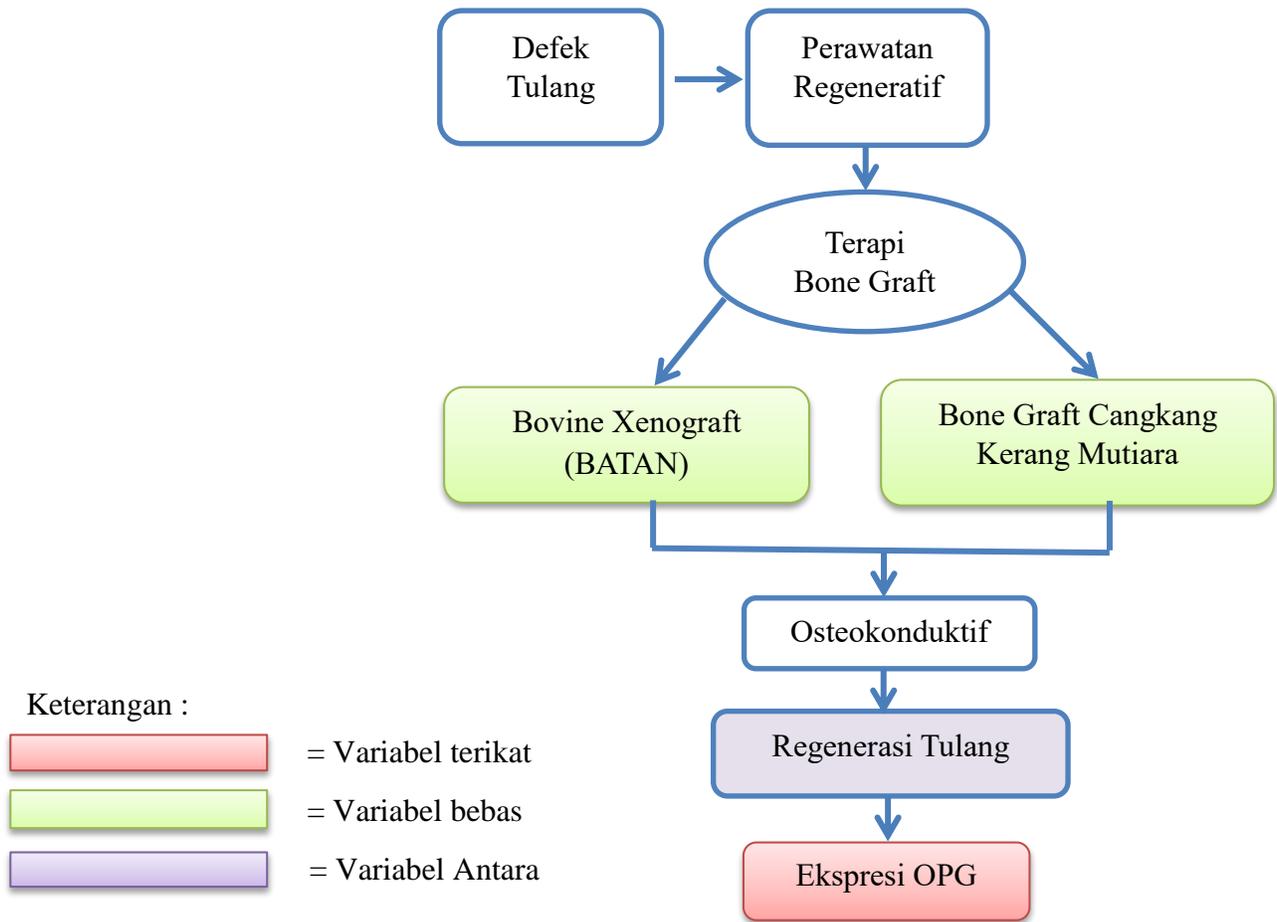
Berdasarkan penelitian, perawatan defek tulang/ kerusakan tulang dengan menggunakan perawatan regeneratif menunjukkan perbaikan klinis yang lebih baik dibandingkan dengan perawatan konvensional seperti *open flap debridement* (OFD). Salah satu perawatan regeneratif yang telah terbukti digunakan untuk meningkatkan regenerasi periodontal dalam mengatasi kerusakan tulang adalah dengan menggunakan teknik bedah bersamaan dengan implantasi bahan bone graft / pengganti tulang. Terdapat beberapa macam bahan *bone graft* yang biasanya digunakan pada defek tulang alveolar pendukung gigi. Berdasarkan sumbernya, bahan bone graft terbagi dalam 4 kelompok: 1) *autograft*, 2) *allograft*, 3) *xenograft*, dan 4) *alloplastic graft*. Salah satu bahan graft yang mudah didapatkan adalah xenograft, dimana merupakan bahan alami yang tersedia dalam jumlah yang besar dan tidak perlu tindakan operasi untuk mengambilnya serta memiliki efek transmisi virus yang minimal.

Cangkang kerang mutiara mampu memfasilitasi proliferasi osteoblas, mempercepat produksi matriks ekstraseluler, dan mineralisasi. Kandungan utama dari cangkang kerang mutiara ini adalah kalsium karbonat (CaCO_3). Kalsium karbonat mampu meningkatkan osteokonduktifitas, selain itu kalsium di dalam matriks organik cangkang kerang mutiara merupakan molekul biologis yang mampu mengaktifkan sinyal kimiawi osteoblas. Oleh karena itu, cangkang kerang mutiara berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan bone graft yang dapat mempercepat proses regenerasi tulang.

Regenerasi tulang adalah suatu proses mencakup resorpsi tulang yang terus menerus dan diganti dengan sintesis dan mineralisasi matriks untuk membentuk tulang baru. Proses regenerasi tulang dapat dilihat dengan melakukan pemeriksaan pertanda pembentukan. Salah

satu mediator yang berperan pada proses regenerasi tulang adalah *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand* (RANKL) dan *Osteoprotegerin* (OPG). Resorpsi tulang alveolar terjadi melalui aktivasi RANK oleh sel osteoklas, kemudian osteoklas menstimulasi makrofag untuk mengeluarkan mediator inflamasi dan menginduksi pembentukan RANKL. Ikatan RANK dan RANKL mengaktifkan osteoklas dan mensekresi enzim lisosom dalam resorpsi tulang. Selain mengeluarkan faktor inflamasi, makrofag juga mengeluarkan TGF β yang menstimulasi osteoblast untuk menginduksi pembentukan osteoprotegerin (OPG). *Osteoprotegerin* (OPG) adalah inhibitor alami untuk menghambat ikatan RANKL dengan RANK sehingga tidak terjadi pembentukan osteoklas. Efek biologis dari OPG pada sel sel tulang meliputi hambatan pada tahap terminal akhir diferensiasi osteoklas, menekan aktivasi osteoklas, menginduksi apoptosis, sehingga menurunkan proses resorpsi tulang dan menyebabkan peningkatan jumlah OPG sehingga terjadi proses osteogenesis.

3.3 Kerangka Konsep



Variabel Kendali : Jenis kelamin dan berat badan, defek tulang femur *Cavia Porcellus* jantan, ukuran dan letak defek tulang.

3.4 Hipotesis

Terjadi peningkatan ekspresi osteoprotegerin (OPG) pada penggunaan bahan bone graft yang mengandung cangkang kerang mutiara.

3.5 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini kami tidak melihat baseline, kontrol negatif merupakan defek artificial yang dibuat pada hewan coba.