

DAFTAR PUSTAKA

1. Matuda Y, Okamura T, Tabata H, Yasui K, Tatsumura M, Kobayashi N, et al. Periodontal Regeneration Using Cultured Coral Scaffolds in Class II Furcation Defects in Dogs. *J Hard Tissue Biol.* 2019;329–34.
2. Kane AST, Niang A, Mariko D, Djire H, Diawara O, Ba B, et al. Prevalence of Gingivitis among Malian Children. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr.* 2018;18(1):1–6.
3. Batra M. Bone Grafts In Periodontal Surgery. A Review. *Journal of Dental Herald* [Internet]. 2014;3(1):30–2. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/266899136>
4. Misnova, Sri Oktawati. Application of bone graft and platelet rich fibrin on treatment of aggressive periodontitis. *Makassar Dent Journal* . 2018;7(2):55–60.
5. Jangid DR, Rakhewar D, Singh Nayyar D, Cholepatil D, Chhabra M. Grafts in Periodontal Regeneration: Factors Impacting Treatment Outcome. *Int J Curr Res Med Sci* [Internet]. 2016;2(7):20–4. Available from: <http://s-o-i.org/1.15/ijcrms-2016-2-8-3>
6. Balaji V, Manikandan D, Ramsundar A. Bone grafts in periodontics. *Matrix Science Medica.* 2020;4(3):57.
7. Ardhiyanto HB. Peran Hidroksiapatit Sebagai Material Bone Graft Dalam Menstimulasi Kepadatan Kolagen Tipe L Pada Proses Penyembuhan Tulang. *Stomatonatig.* 2012;9(1):16–8.
8. Green DW, Lai WF, Jung HS. Evolving marine biomimetics for regenerative dentistry. Vol. 12, *Marine Drugs.* MDPI AG; 2014. p. 2877–912.
9. Oktawati S, Hamrun N, Asmawati, Irene, Haryo HM, Syafar IF, et al. Effectiveness of Fucoidan Extract from Brown Algae to Inhibit Bacteria Causes of Oral Cavity Damage. *Systematic Reviews in Pharmacy.* 2020;11(10):686–93.
10. Adam AM, Thahir H, Achmad H. Effect of channastriata extract on the expression of tumor necrosis factor- α (Tnf- α) in rat experience periodontitis.

Vol. 10, Indian Journal of Public Health Research and Development. 2019. p. 1391–3.

11. Thahir H, Oktawati S, Gani A, Mappangara S, Cangara MH, Patimah, et al. The effectiveness bone graft of snakehead fish bones (*Channa striata*) in the gelatin form on the osteocalcin (ocn) expressions. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(2):4365–9.
12. Achmad H, Gani A, Djais AI, Hatta LI, Edith I, Yayang A, et al. White shrimp of (*litopenaeus vannamei*) scalp waste edible chitosan film as inhibitor effect of porphyromonas gingivalis bacteria growth (in vitro). *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2020;12(sp3):746–52.
13. Ramakrishna C, Thenepalli T, Young Nam S, Kim C, Whan Ahn J. Oyster shell waste is alternative sources for calcium carbonate (CaCO_3) instead of natural limestone. *Journal of Energy Engineering*. 2018;27(1):59–64.
14. Liao H, Mutvei H, Sjöström M, Hammarström L, Li J. Tissue responses to natural aragonite (*Margaritifera* shell) implants in vivo. *Biomaterials*. 2000;21(5):457–68.
15. Wang J, Xie L, Wang X, Zheng W, Chen H, Cai L, et al. The effects of oyster shell/alpha-calcium sulfate hemihydrate/platelet-rich plasma/bone mesenchymal stem cells bioengineering scaffold on rat critical-sized calvarial defects. *J Mater Sci Mater Med*. 2020;31(11).
16. Gerhard EM, Wang W, Li C, Guo J, Ozbolat IT, Rahn KM, et al. Design strategies and applications of nacre-based biomaterials. Vol. 54, *Acta Biomaterialia*. Elsevier Ltd; 2017. p. 21–34.
17. Alakpa E v., Burgess KEV, Chung P, Riehle MO, Gadegaard N, Dalby MJ, et al. Nacre Topography Produces Higher Crystallinity in Bone than Chemically Induced Osteogenesis. *ACS Nano*. 2017 Jul 25;11(7):6717–27.
18. Divilia D, Sari RP, Teguh PB. Efektivitas Kombinasi Grafting Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) dan Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Terhadap Penurunan Jumlah Osteoklas Pada Proses Bone Repair (The Effectivity of Grafting Combination Blood Cockle Shell and Sardine F. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 2015;9(1):20–9.

19. Silve C, Lopez E, Vidal B, Smith DC, Camprasse S, Camprasse G, et al. Nacre initiates biomineralization by human osteoblasts maintained In Vitro. *Calcif Tissue Int.* 1992;51(5):363–9.
20. Akbar F, Kusumaningrum R, Jamil MS, Noviyanto A, Widayatno WB, Wismogroho AS, et al. Sintesis Ca₂P₂O₇ dari Limbah Kerang sebagai Bahan Baku Limbah Cangkang Kerang dengan Metode Solvothermal. *Jurnal Fisika dan Aplikasinya.* 2019 Oct 14;15(3):110.
21. Corrêa THA, Holanda JNF. Calcium pyrophosphate powder derived from avian eggshell waste. *Ceramica.* 2016 Jul 1;62(363):278–80.
22. Filippov YY, Murashko AM, Evdokimov P v., Safronova T v., Putlayev VI. Stereolithography 3D printed calcium pyrophosphate macroporous ceramics for bone grafting. *Open Ceramics.* 2021 Dec 1;8.
23. Katsimbri P. The biology of normal bone remodelling. *Eur J Cancer Care (Engl).* 2017;26(6):1–5.
24. Walsh MC, Choi Y. Biology of the RANKL-RANK-OPG system in immunity, bone, and beyond. *Front Immunol.* 2014;5(OCT):1–12.
25. Ismail Abdul Kodir A, Herawati D, Kwartarini M. Perbedaan Efektivitas Antara Pemberian Secara Sistemik Ciprofloksasin dan Amoksisilin Setelah Scaling dan Root Planing pada Periodontitis Kronis Penderita Hipertensi. *J Ked Gi.* 2014;5(4):323–8.
26. Andriani I., Chairunnisa FA. Periodontitis Kronis dan Penatalaksanaan Kasus dengan Kuretase. *Insisiva Dental Journal : Majalah Kedokteran Gigi Insisiva.* 2019;8(1).
27. Yang Y, Yang H, Pan H, Xu J, Hu T, Yang Y; Evaluation and New Classification of Alveolar Bone Dehiscences Using Cone-beam Computed Tomography in vivo. Vol. 33, *Int. J. Morphol.* 2015.
28. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells.* Vol. 2015, BioMed Research International. Hindawi Publishing Corporation; 2015.

29. Marny Mohamed A. An Overview Of Bone Cells And Their Regulating Factors Of Differentiation. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 2008;15(1):4–12.
30. Compton JT, Lee FY. Current concepts review: A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin. Vol. 96, *Journal of Bone and Joint Surgery - American Volume*. Journal of Bone and Joint Surgery Inc.; 2014. p. 1659–68.
31. Samavedi S, Whittington AR, Goldstein AS. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: A review of properties and their influence on cell behavior. Vol. 9, *Acta Biomaterialia*. Elsevier Ltd; 2013. p. 8037–45.
32. Compton JT, Lee FY. A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(19):1659–68.
33. Truesdell SL, Saunders MM. Bone remodeling platforms: Understanding the need for multicellular lab-on-a-chip systems and predictive agent-based models. *Mathematical Biosciences and Engineering*. 2020;17(2):1233–52.
34. Suchetha A, Tanwar E, Sapna N, Bhat D, Spandana A. Alveolar bone in health. *IP International Journal of Periodontology and Implantology*. 2017;2(4):112–6.
35. O’Keefe RJ, Jacobs JJ, Chu CR, Einhorn TA, American Academy of Orthopaedic Surgeons. *Orthopaedic basic science: foundations of clinical practice*. American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2013. 544 p.
36. Ozcan G, Sekerci AE. Classification of alveolar bone destruction patterns on maxillary molars by using cone-beam computed tomography. *Niger J Clin Pract*. 2017 Aug 1;20(8):1010–9.
37. Noble BS, Reeve J. At the Cutting Edge Osteocyte function, osteocyte death and bone fracture resistance [Internet]. Vol. 159, *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2000. Available from: www.elsevier.com/locate/mce
38. Shapiro F. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *Eur Cell Mater*. 2008;15:53–76.
39. Lobprise HB, Stepaniuk K. Oral surgery - periodontal surgery. *Wiggs’s Veterinary Dentistry: Principles and Practice*. 2018;193–228.

40. Anton Sculean. Periodontal regenerative therapy. *Br Dent J.* 2011;211(6):297–8.
41. Zhao R, Yang R, Cooper PR, Khurshid Z, Shavandi A, Ratnayake J. Bone grafts and substitutes in dentistry: A review of current trends and developments. Vol. 26, *Molecules.* MDPI AG; 2021.
42. Mark D M. Bone Grafts and Bone Substitutes. *Equine Fracture Repair.* 2020;163–9.
43. Kim YK, Lee JH, Um IW, Cho WJ. Guided Bone Regeneration Using Demineralized Dentin Matrix: Long-Term Follow-Up. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2016;74(3):515.e1-515.e9.
44. Titsinides S, Agrogiannis G, Karatzas T. Bone grafting materials in dentoalveolar reconstruction: A comprehensive review. *Japanese Dental Science Review.* 2019;55(1):26–32.
45. Aghaloo TL, Tencati E, Hadaya D. Biomimetic Enhancement of Bone Graft Reconstruction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2019;31(2):193–205.
46. Xavier Rosello Labres, Alvar Rosello Camps, Enric Jane Salas. Graft Materials in Oral Surgery: Revision. *J Biomim Biomater Tissue Eng [Internet].* 2014;19(1):1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.4172/1662-100X.1000124>
47. Titsinides S, Agrogiannis G, Karatzas T. Bone grafting materials in dentoalveolar reconstruction: A comprehensive review. Vol. 55, *Japanese Dental Science Review.* Elsevier Ltd; 2019. p. 26–32.
48. Titsinides S, Agrogiannis G, Karatzas T. Bone grafting materials in dentoalveolar reconstruction: A comprehensive review. *Japanese Dental Science Review.* 2019;55(1):26–32.
49. Wardana IK, Sudewi, Muzaki A, Sari Budi Moria. Profile of pearl oyster (*Pinctada maxima*) seeds resulted from controlled spawning. *J Oseanologi Indonesia.* 2014;1(1):6–11.
50. Poernomo H. Teknik Bone Tissue Engineering (Bte) Untuk Regenerasi Jaringan Periodontal Dan Estetik Pada Edentulous Ridge. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi (IJKG).* 2019;15(2):56–9.

51. Pereira Mouriès L, Almeida MJ, Milet C, Berland S, Lopez E. Bioactivity of nacre water-soluble organic matrix from the bivalve mollusk *Pinctada maxima* in three mammalian cell types: Fibroblasts, bone marrow stromal cells and osteoblasts. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*. 2002;132(1):217–29.
52. Xiao W, Wang Y, Pacios S, Li S, Graves DT. Cellular and Molecular Aspects of Bone Remodeling. *Front Oral Biol*. 2015;18:9–16.
53. MI A. Bone healing in femoral fracture of white rat with intramedullary wire fixation and additional medullary bone marrow. *Journal of Indonesian Orthopaedic*. 2012;40(2):13–6.
54. Zhang G, Brion A, Willemin AS, Piet MH, Moby V, Bianchi A, et al. Nacre, a natural, multi-use, and timely biomaterial for bone graft substitution. *J Biomed Mater Res A*. 2017;105(2):662–71.
55. Oshiro T, Shiotani A, Shibasaki Y, Sasaki T. Osteoclast induction in periodontal tissue during experimental movement of incisors in osteoprotegerin-deficient mice. *Anatomical Record*. 2002 Apr 1;266(4):218–25.
56. Meikle MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 Years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod*. 2006 Jun;28(3):221–40.
57. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol*. 2008 May;61(5):577–87.
58. Nagy V, Penninger JM. The RANKL-RANK Story. *Gerontology*. 2015;61(6):534–42.
59. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008 May 15;473(2):139–46.
60. Sivarajan S, Girija Vallabhan C, Aboobacker S, Vijayan V, Samuel A, Mathew Cherian N. An Overview On Osteoclast Regulation During Orthodontic Tooth Movement.

61. Sharma R, Preethi N, Sidana A. Neurological mechanisms involved in orthodontic tooth movement: A contemporary review. *International Journal of Contemporary Dental and Medical Reviews*. 2015;2015:250115.
62. Fili S, Karalaki M, Schaller B. Therapeutic implications of osteoprotegerin. *Cancer Cell Int* [Internet]. 2009 Sep 12 [cited 2022 Mar 5];9(1):26. Available from: <https://cancer-ci.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2867-9-26>
63. Niroshani Surangika Soysa, Neil Alles, Kazuhiro Aoki, Keiichi Ohya. Osteoclast formation and differentiation: An overview. *J Med Dent Sci*. 2012;59:65–74.
64. Bowo H, Ardhiyanto. Peran Hidroksiapatit Sebagai Bone Graft dalam Proses Penyembuhan Tulang. *Stomatognathic*. 2011;8(2):118–21.
65. Khrunyk Y, Lach S, Petrenko I, Ehrlich H. Progress in Modern Marine Biomaterials Research. Vol. 18, *Marine Drugs*. MDPI; 2020. p. 1–47.
66. Suprianto K, Nilam C, Khairiyah N, Amelia R, Siti Rahmadita dan, Periodontologi D, et al. Hidroksiapatit dari cangkang telur sebagai bone graft yang potensial dalam terapi periodontal. *Clinical Dental Journal* UGM. 2019;5(3).
67. Parodi JA, Hickok RL, Segelken WG, Cooper JR. Electronic Paramagnetic Resonance Study of the Thermal Decomposition of Dibasic Calcium Orthophosphate. *J Electrochem Soc* [Internet]. 1965;112(7):688. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1149/1.2423665>
68. Ropp RC. Encyclopedia of the Alkaline Earth Compounds. *Encyclopedia of the Alkaline Earth Compounds*. 2013 Jan 1;199–350.
69. Kashyap A, Singh NK, Soni M, Soni A. Deposition of thin films by chemical solution-assisted techniques. *Chemical Solution Synthesis for Materials Design and Thin Film Device Applications*. 2021 Jan 1;79–117.
70. Corrêa THA, Holanda JNF. Calcium pyrophosphate powder derived from avian eggshell waste. *Ceramica*. 2016 Jul 1;62(363):278–80.
71. Huda I, Kusumaningrum R, Jamil MS, Widayatno WB, Wismogroho AS, Rochman NT, et al. Sintesis kalsium pirofosfat ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) dari limbah

- cangkang telur dengan metode solvothermal. *Chempublish Journal*. 2020 May 31;5(1):68–76.
72. Hikmah N, Dewi A, Shita P, Biomedik B, Kedokteran F, Universitas Jember G. Peran Rankl pada Proses Resorpsi Tulang Alveolar Kondisi Diabetes. *Stomatognatic*. 2013;10(3):105109.
 73. Kapasa E, Giannoudis P, Jia X, Hatton P, Yang X. The Effect of RANKL/OPG Balance on Reducing Implant Complications. *J Funct Biomater*. 2017 Sep 22;8(4):42.
 74. Oktawati S, Mappangara S, Chandra H, Achmad H, Raoda S, Ramadhan J, et al. Effectiveness Nacre Pearl Shell (*Pinctada Maxima*) as Bone Graft for Periodontal Bone Remodeling [Internet]. Vol. 25. 2021. Available from: <http://annalsofrscb.ro>
 75. Green DW, Lai WF, Jung HS. marine drugs Evolving Marine Biomimetics for Regenerative Dentistry. *Mar Drugs* [Internet]. 2014;12:2877–912. Available from: www.mdpi.com/journal/marinedrugs
 76. Koo S, König B, Allegrini S, Yoshimoto M, Carbonari MJ, Mitri-Luiz FF. Titanium implant osseointegration with calcium pyrophosphate in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 Feb;76(2):373–80.
 77. Lamghari M, Berland S, Laurent A, Huet H, Lopez E. Bone reactions to nacre injected percutaneously into the vertebrae of sheep. Vol. 22, *Biomaterials*. 2001.
 78. Oliveira D v, Silva TS, Cordeiro OD, Cavaco SI, Simes DC. Identification of Proteins with Potential Osteogenic Activity Present in the Water-Soluble Matrix Proteins from *Crassostrea gigas* Nacre Using a Proteomic Approach. *The Scientific World Journal* [Internet]. 2012;2012. Available from: <http://elm.eu.org/>
 79. Chandha MH, Mappangara S, Achmad H, Oktawati S, Ramadhan SRJ, Yudin M, et al. *Pinctada Maxima* Pearl Shells as a Promising Bone Graft Material in the World of Dentistry. *Open Access Maced J Med Sci*. 2022 Feb 16;10(D):109–15.

80. Buntoro Kamadjaja D, Satriyo H, Setyawan A, Dian Lesmaya Y, Wahyudi Safril J, Putu Mira Sumarta N, et al. Analyses of Bone Regeneration Capacity of Freeze-Dried Bovine Bone and Combined Deproteinized-Demineralized Bovine Bone Particles in Mandibular Defects: The Potential Application of Biological Forms of Bovine-Bone Filler. *Eur J Dent* [Internet]. 2022;16:403–13. Available from: <https://doi.org/>
81. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. Vol. 285, *Journal of Biological Chemistry*. 2010. p. 25103–8.
82. Niedźwiedzki T, Filipowska J. Bone remodeling in the context of cellular and systemic regulation: The role of osteocytes and the nervous system. Vol. 55, *Journal of Molecular Endocrinology*. BioScientifica Ltd.; 2015. p. R23–36.

LAMPIRAN

1. Surat Etik Penelitian

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
RUMAH SAKIT GIGI DAN MULUT
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Sekretariat : Lantai 2, Gedung Lama RSGM Unhas
Jl. Kanda No. 5 Makassar
Contact Person: drg. Muhammad Ikbali, Sp. Pros/Nur Aedah AR, TLP. 08134297101/08114919191

REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK
Nomor: 0065/PL.09/KEPK-FKG-RSGM UNHAS/2022
Tanggal: 13 Mei 2022

Dengan ini menyatakan bahwa protokol dan dokumen yang berhubungan dengan protokol berikut ini telah mendapatkan persetujuan etik:

No. Protokol	UH 17120649	No Protokol Sponsor	
Peneliti Utama	drg. Daniel Telan-El	Sponsor	Pribadi
Judul Penelitian	Efektivitas Calcium Pyrophosphate dari Cangkang Kerang Mutiara (<i>Pinctada Maxima</i>) sebagai Bahan Regenerasi Tulang terhadap Ekspresi Osteoprotegerin (Opg)		
No. Versi Protokol	1	Tanggal Versi	28 April 2022
No. Versi Protokol		Tanggal Versi	
Tempat Penelitian	1. Laboratorium Politeknik Kimia UNHAS 2. Laboratorium Hewan Eutomologi FK UNHAS 3. BBLK Makassar 4. Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Science FMIPA UNHAS 5. Klinik Hewan La Costae 6. Laboratorium Mikrobiologi RSPTN UNHAS 7. Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya		
Dokumen Lain			
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard	Masa Berlaku 13 Mei 2022 - 13 Mei 2023	Frekuensi Review Lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama: Dr. drg. Marhamah, M.Kes	Tanda Tangan	Tanggal
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama: drg. Muhammad Ikbali, Sp.Prof	Tanda Tangan	Tanggal

Kewajiban peneliti utama:

- Menyerahkan Amendemen Protokol untuk persetujuan sebelum diimplementasikan
- Menyerahkan laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 Jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan lapor SUSAR dalam 72 jam setelah peneliti utama menerima laporan.
- Menyerahkan laporan kemajuan (*progress report*) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah.
- Menyerahkan laporan akhir setelah penelitian berakhir.
- Melaporkan penyimpangan dari protokol yang disetujui (*protocol deviation/violation*)
- Mematuhi semua aturan yang berlaku.

2. Persiapan Pembuatan Bubuk Calcium Pyrophosphate



Pengambilan Bahan Baku limbah Cangkang Mutiara di Pulau Bontosua kab.pangkep, Preparasi awal cangkang kerang mutiara dilakukan dengan membersihkan cangkang. Cangkang kerang disikat hingga bersih. Cangkang kerang dikeringkan dengan memanfaatkan panas matahari.



Proses pembuatan bubuk *bone graft* cangkang kerang Mutiara

- Cangkang kerang dikeringkan selama 24jam dalam oven dengan temperatur 80° C
- Cangkang yang sudah steril dihancurkan menjadi serbuk, kemudian ayak dengan saringan 200 mesh, kemudian kalsinasi selama 2 jam, furnace dengan suhu 1000° C, maka di dapat Kalsium Oksida (CaO)
- Serbuk CaO dicampur dengan larutan asam H₃PO₄ (kemurnian 85%) dengan perbandingan Ca dan P adalah 1 banding 1
- 15 gram CaO dicampur dengan asam fosfat (H₃PO₄) sebanyak 18,5 ml yang ditambah aquades hingga massa larutan menjadi 80 ml.
- Kemudian larutan di strirrer selama 15 menit pada kecepatan 600 rpm dan dimasukkan ke dalam vessel dan dipanaskan pada temperatur 130°C selama 16 jam.
- Setelah proses solvothermal selesai, larutan suspensi disaring dan dicuci dengan aseton kemudian dikeringkan pada temperatur 150°C selama 30 menit
- Pada tahap terakhir dilakukan proses furnace selama 2jam pada temperatur 800° C

3. Perlakuan pada Hewan Coba



Pemeliharaan hewan Coba *Cavia Porcellus jantan*



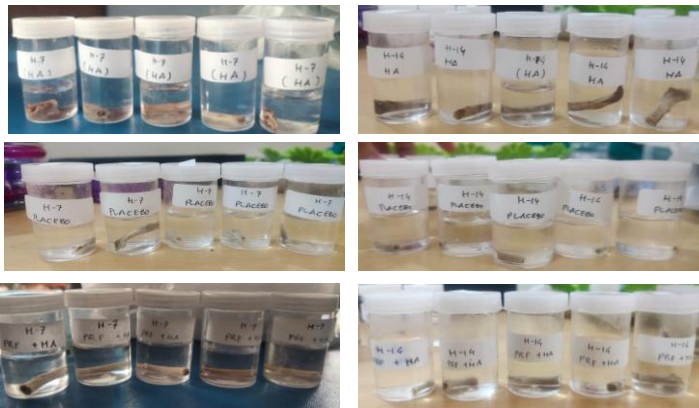
Proses implantasi

- a. Penelitian dilakukan di klinik hewan (La Costae Pet Clinic) oleh dokter hewan dan asisten.
- b. Marmut di anestesi menggunakan obat ketamin 50mg/kg dan Xylazine 5 mg/kg yang di campur dan diinjeksikan pada femur sebelah kanan marmot dengan dosis 1 mg/kg BB.
- c. Marmut dicukur bulunya pada bagian femur untuk mensterilkan daerah operasi, kemudian didesinfeksi dengan povidone iodine 10%
- d. Selanjutnya dilanjutkan insisi sepanjang 2 cm dengan scalpel pada femur marmut (kulit dan otot) yang dibuka dengan menggunakan periosteal elevator sehingga daerah yang akan dibuat defek terlihat dengan jelas. Kemudian jaringan tulang di bur dengan round bur 3 mm.
- e. Secara acak mamut dibagi menjadi 3 kelompok. kelompok A yaitu kontrol negatif tanpa pemberian bone graft , Kelompok B yaitu kelompok perlakuan diisi dengan *bone graft* cangkang kerang mutiara dan kelompok C yaitu kontrol positif diisi bovine xenograft/BATAN
- f. 30 ekor marmut jantan dilakukan implantasi bonegraft cangkang kerang mutiara, bovine *bone graft* dan tanpa pemberian bone graft pada salah satu femur dan diberi label A1-A10, B1-B10, C1-C10.
- g. Dilakukan penjahitan. dengan benang absorbable (vicryl 5.0) pada kulit dan otot dengan teknik *interrupted suture*. Kemudian diberikan antibiotik profilaksis (Penstrep-400) pada permukaan luar bekas jahitan.
- h. Medikasi setelah pembedahan diberikan obat dexamethasone 0,6mg/kg, dan ampicillin 10 mg/kg.

4. Sacrificed dan Pengambilan Jaringan



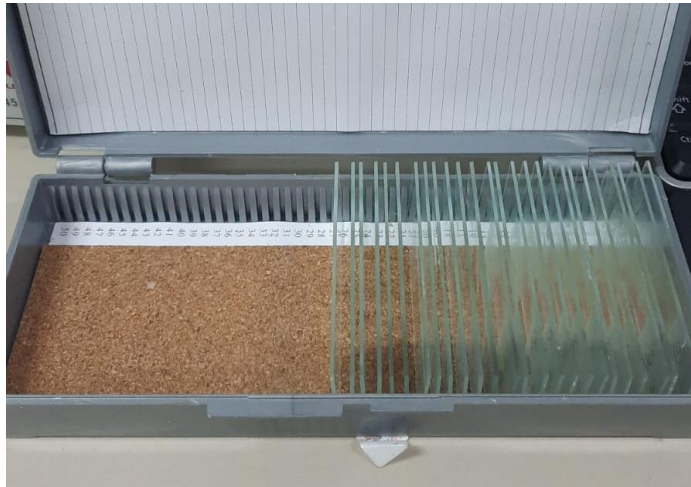
Sacrificed dengan menggunakan eter yang ditetesi dalam kapas



Proses pengambilan blok tulang adalah sebagai berikut:

- a. 15 ekor marmut jantan akan di sacrificedd pada hari ke-14 dan 21 setelah implantasi untuk pengambilan jaringan tulang femur serta pembuatan dan pengamatan preparat untuk pemeriksaan ekspresi OPG.
- b. Marmut jantan A1-A5 , B1-B5, C1-C5 di sacrificed pada hari ke 14.
- c. Marmut jantan A6-A10 , B6-B10, C6-C10 di sacrificed pada hari ke 21
- d. Marmut jantan dilakukan euthanasia menggunakan ether yang dimasukkan pada toples
- e. Pengambilan spesimen dilakukan dengan menggunakan alat bedah minor steril.
- f. Jaringan tulang ditempatkan dalam pot steril yang berisi formalin 10 % dan diberi label, kemudian spesimen tulang dibawa ke Laboratorium PA RSPTN Universitas Hasanuddin untuk pembuatan slide

5. Pembuatan Slide



Analisis Ekspresi OPG

1. Blok paraffin berisi jaringan tulang dipotong dengan ketebalan 4 μm menggunakan mikrotom
2. kemudian dilakukan deparafin-nisasi dengan xilol.
3. Selanjutnya dilakukan rehidrasi dengan etanol konsentrasi menurun, diikuti pembilasan dengan Phosphate Buffer Saline (PBS) selama 3x5 menit.
4. Sediaan jaringan kemudian diinkubasi pada DAKO® Buffer Antigen Retrieval pada microwave dengan suhu 94C selama 20 menit dan dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu ruang selama 20 menit.
5. Langkah selanjutnya, sediaan dicuci dengan PBS selama 3x5 menit, dan diinkubasi pada Blok Peroksidase (Novocastra®) selama 20 menit.
6. Selanjutnya sediaan dicuci kembali dengan PBS selama 3 \times 5 menit dan diinkubasi pada Blok Protein selama 20 menit.
7. Setelah itu dicuci kembali dengan PBS selama 3 \times 5 menit dan diinkubasi overnight (12-18 jam) dengan antibodi primer protein OPG pada suhu 4°C.
8. Langkah selanjutnya adalah pembilasan dengan PBS selama 3 \times 5 menit dan diinkubasi dengan larutan post primary dan post protein selama 45 menit dan dilanjutkan dengan inkubasi antibodi sekunder (Novolink® Horse Radish Peroxidase (HRP)) selama 60 menit pada suhu ruang.
9. Setelah inkubasi, sediaan dicuci dengan PBS selama 3 \times 5 menit dan dilakukan counterstain dengan hematoksilin (Novocastra).
10. Selanjutnya, dilakukan dehidrasi menggunakan etanol konsentrasi meningkat. Proses selanjutnya adalah dilakukan penjernihan dengan xilol, kemudian dilakukan mounting.
11. Keringkan slide lalu tetesi dengan entelan dan tutup dengan deck glass.
12. Amati di Mikroskop

6. Analisis Data

Homogeneous Subsets

OPG

Tukey HSD^a

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K+ (14)	5	7,40	
K- (21)	5	7,80	
K- (21)	5	8,60	
P (14)	5	10,00	10,00
K+ (21)	5	10,40	10,40
P (21)	5		12,00
Sig.		,062	,375

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

* Chart Builder.

GGRAPH

```
/GRAPHDATASET NAME="graphdataset" VARIABLES=KELOMPOK MEANSE(OPG,
1) [name="MEAN_OPG" LOW="MEAN_OPG_LOW" HIGH="MEAN_OPG_HIGH"]
```

```
MISSING=LISTWISE REPORTMISSING=NO
```

```
/GRAPHSPEC SOURCE=INLINE.
```

```
BEGIN GPL
```

```
SOURCE: s=userSource(id("graphdataset"))
```

```
DATA: KELOMPOK=col(source(s), name("KELOMPOK"), unit.category())
```

```
DATA: MEAN_OPG=col(source(s), name("MEAN_OPG"))
```

```
DATA: LOW=col(source(s), name("MEAN_OPG_LOW"))
```

```
DATA: HIGH=col(source(s), name("MEAN_OPG_HIGH"))
```

```

GUIDE: axis(dim(1), label("KELOMPOK"))
GUIDE: axis(dim(2), label("Mean OPG"))
GUIDE: text.footnote(label("Error Bars: +/- 1 SE"))
SCALE: cat(dim(1), include("1", "2", "3", "4", "5", "6"))
SCALE: linear(dim(2), include(0))
ELEMENT: interval(position(KELOMPOK*MEAN_OPG),
shape.interior(shape.square))
ELEMENT:
interval(position(region.spread.range(KELOMPOK*(LOW+HIGH))),
shape.interior(shape.ibeam))
END GPL.

```

GGraph

Notes

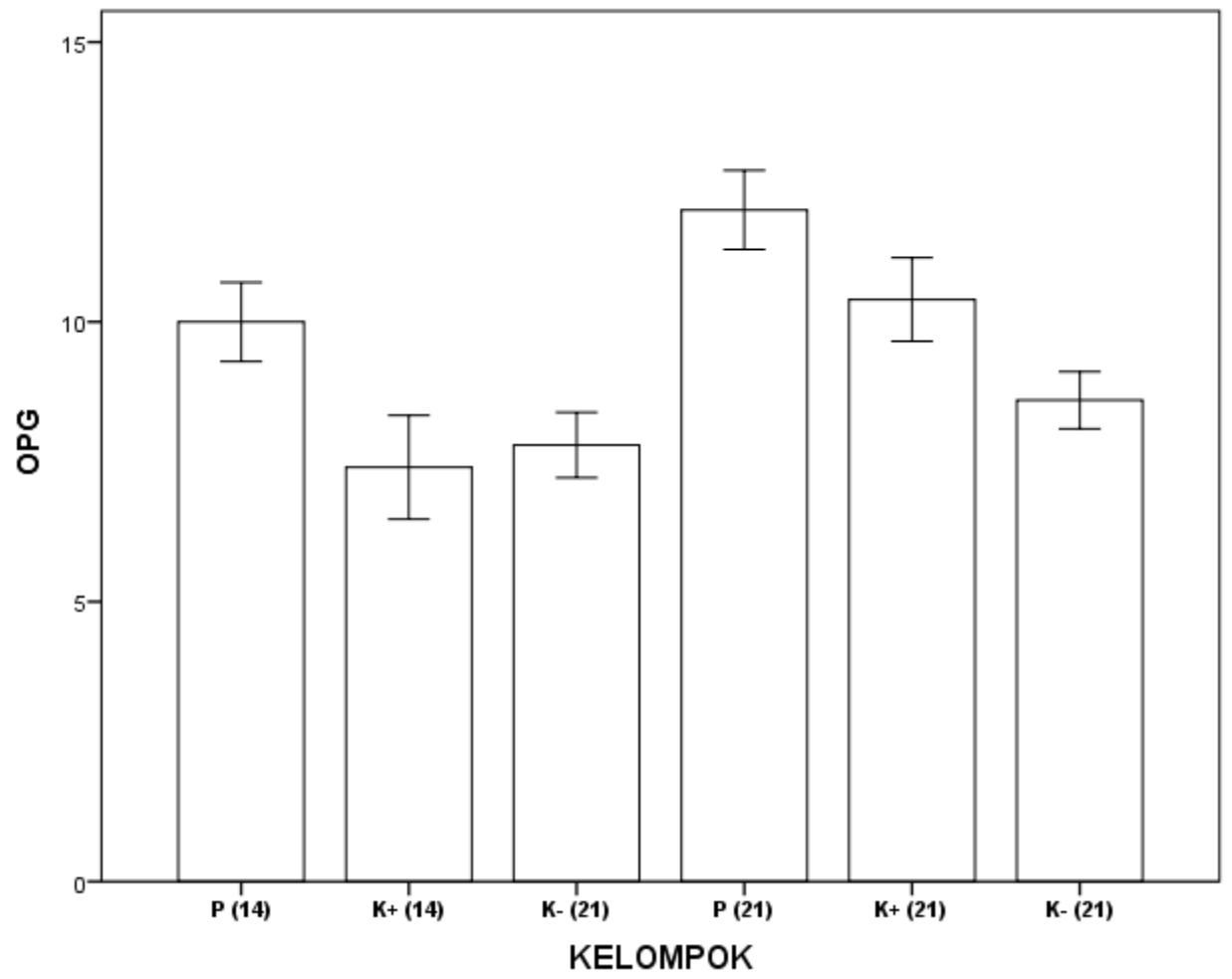
Output Created	19-SEP-2022 13:34:48
Comments	
Input	Data
	C:\Users\Panasonic\Documents\TNF a mUTH.sav
	Active Dataset
	DataSet0
	Filter
	<none>
	Weight
	<none>
	Split File
	<none>
	N of Rows in Working Data File
	30

Syntax

```
GGRAPH
  /GRAPHDATASET
NAME="graphdataset"
VARIABLES=KELOMPOK
MEANSE(OPG,
1)[name="MEAN_OPG"
LOW="MEAN_OPG_LOW"
HIGH="MEAN_OPG_HIGH"]
MISSING=LISTWISE
REPORTMISSING=NO
  /GRAPHSPEC
SOURCE=INLINE.
BEGIN GPL
  SOURCE:
s=userSource(id("graphdatase
t"))
  DATA:
KELOMPOK=col(source(s),
name("KELOMPOK"),
unit.category())
  DATA:
MEAN_OPG=col(source(s),
name("MEAN_OPG"))
  DATA: LOW=col(source(s),
name("MEAN_OPG_LOW"))
  DATA: HIGH=col(source(s),
name("MEAN_OPG_HIGH"))
  GUIDE: axis(dim(1),
label("KELOMPOK"))
  GUIDE: axis(dim(2),
label("Mean OPG"))
```

		GUIDE: text.footnote(label("Error Bars: +/- 1 SE")) SCALE: cat(dim(1), include("1", "2", "3", "4", "5", "6")) SCALE: linear(dim(2), include(0)) ELEMENT: interval(position(KELOMPOK* MEAN_OPG), shape.interior(shape.square)) ELEMENT: interval(position(region.spread .range(KELOMPOK*(LOW+HI GH))), shape.interior(shape.ibeam)) END GPL.
Resources	Processor Time	00:00:00,30
	Elapsed Time	00:00:00,33

[DataSet0] C:\Users\Panasonic\Documents\TNF a mUTH.sav



```
DESCRIPTIVES VARIABLES=UJI14 KP14 KN14 UJI21 KP21 KN21
  /STATISTICS=MEAN STDDEV MIN MAX.
```

Descriptives

Notes		
Output Created		27-SEP-2022 15:41:51
Comments		
Input	Data	D:\folder UMMI\TESIS\tesis k ija\TESIS AFRI\Olahdatakujil\ DANTE\osteo klas0,14,21ANOVDANTE .sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	30
	Missing Value Handling	Definition of Missing
Cases Used		All non-missing data are used.
Syntax		DESCRIPTIVES VARIABLES=UJI14 KP14 KN14 UJI21 KP21 KN21 /STATISTICS=MEAN STDDEV MIN MAX.

Resources	Processor Time	00:00:00,02
	Elapsed Time	00:00:00,01

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
UJI14	5	8	12	10,00	1,581
KP14	5	5	10	7,40	2,074
KN14	5	6	9	7,80	1,304
UJI21	5	10	14	12,00	1,581
KP21	5	9	13	10,40	1,673
KN21	5	7	10	8,60	1,140
Valid N (listwise)	5				

```

ONEWAY Nilai BY KLPperlakuan
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=TUKEY LSD ALPHA(0.05) .

```

ANOVA

Nilai

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76,567	5	15,313	6,085	,001
Within Groups	60,400	24	2,517		
Total	136,967	29			

ONEWAY OPG BY KELOMPOK
 /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
 /MISSING ANALYSIS
 /POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05) .

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nilai

	(I)	(J)	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Uji14	KP14	2,600	1,003	,138	-,50	5,70
		KN14	2,200	1,003	,277	-,90	5,30
		Uji21	-2,000	1,003	,375	-5,10	1,10
		KP21	-,400	1,003	,999	-3,50	2,70
		KN21	1,400	1,003	,729	-1,70	4,50
	KP14	Uji14	-2,600	1,003	,138	-5,70	,50
		KN14	-,400	1,003	,999	-3,50	2,70
		Uji21	-4,600*	1,003	,001	-7,70	-1,50
		KP21	-3,000	1,003	,062	-6,10	,10
		KN21	-1,200	1,003	,834	-4,30	1,90
	KN14	Uji14	-2,200	1,003	,277	-5,30	,90
		KP14	,400	1,003	,999	-2,70	3,50
		Uji21	-4,200*	1,003	,004	-7,30	-1,10
		KP21	-2,600	1,003	,138	-5,70	,50
		KN21	-,800	1,003	,965	-3,90	2,30

	Uji21	Uji14	2,000	1,003	,375	-1,10	5,10
		KP14	4,600*	1,003	,001	1,50	7,70
		KN14	4,200*	1,003	,004	1,10	7,30
		KP21	1,600	1,003	,610	-1,50	4,70
		KN21	3,400*	1,003	,026	,30	6,50
	KP21	Uji14	,400	1,003	,999	-2,70	3,50
		KP14	3,000	1,003	,062	-,10	6,10
		KN14	2,600	1,003	,138	-,50	5,70
		Uji21	-1,600	1,003	,610	-4,70	1,50
		KN21	1,800	1,003	,488	-1,30	4,90
	KN21	Uji14	-1,400	1,003	,729	-4,50	1,70
		KP14	1,200	1,003	,834	-1,90	4,30
		KN14	,800	1,003	,965	-2,30	3,90
		Uji21	-3,400*	1,003	,026	-6,50	-,30
		KP21	-1,800	1,003	,488	-4,90	1,30
LSD	Uji14	KP14	2,600*	1,003	,016	,53	4,67
		KN14	2,200*	1,003	,038	,13	4,27
		Uji21	-2,000	1,003	,058	-4,07	,07
		KP21	-,400	1,003	,694	-2,47	1,67
		KN21	1,400	1,003	,176	-,67	3,47
	KP14	Uji14	-2,600*	1,003	,016	-4,67	-,53
		KN14	-,400	1,003	,694	-2,47	1,67
		Uji21	-4,600*	1,003	,000	-6,67	-2,53
		KP21	-3,000*	1,003	,006	-5,07	-,93
		KN21	-1,200	1,003	,243	-3,27	,87
	KN14	Uji14	-2,200*	1,003	,038	-4,27	-,13
		KP14	,400	1,003	,694	-1,67	2,47
		Uji21	-4,200*	1,003	,000	-6,27	-2,13
		KP21	-2,600*	1,003	,016	-4,67	-,53
		KN21	-,800	1,003	,433	-2,87	1,27

Uji21	Uji14	2,000	1,003	,058	-,07	4,07
	KP14	4,600*	1,003	,000	2,53	6,67
	KN14	4,200*	1,003	,000	2,13	6,27
	KP21	1,600	1,003	,124	-,47	3,67
	KN21	3,400*	1,003	,002	1,33	5,47
KP21	Uji14	,400	1,003	,694	-1,67	2,47
	KP14	3,000*	1,003	,006	,93	5,07
	KN14	2,600*	1,003	,016	,53	4,67
	Uji21	-1,600	1,003	,124	-3,67	,47
	KN21	1,800	1,003	,085	-,27	3,87
KN21	Uji14	-1,400	1,003	,176	-3,47	,67
	KP14	1,200	1,003	,243	-,87	3,27
	KN14	,800	1,003	,433	-1,27	2,87
	Uji21	-3,400*	1,003	,002	-5,47	-1,33
	KP21	-1,800	1,003	,085	-3,87	,27

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.