

**EFEKTIVITAS CALCIUM PYROPHOSPHATE DARI CANGKANG
KERANG MUTIARA (PINCTADA MAXIMA) SEBAGAI BAHAN
REGENERASI TULANG TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN
(OPG)**

(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

TESIS



Oleh:

**DANIEL TETAN-EL
J035201006**

Dosen Pembimbing:

**Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K)
Prof. Dr. drg. Andi Mardiana Adam, M.S.**

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

**MAKASSAR
2022**

**EFEKTIVITAS CALCIUM PYROPHOSPHATE DARI CANGKANG KERANG
MUTIARA (PINCTADA MAXIMA) SEBAGAI BAHAN REGENERASI
TULANG TERHADAP 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:

DANIEL TETAN-EL
J035201006

Pembimbing:

1. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K)
2. Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S.

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

**EFEKTIVITAS CALCIUM PYROPHOSPHATE DARI CANGKANG KERANG
MUTIARA (PINCTADA MAXIMA) SEBAGAI BAHAN REGENERASI TULANG
TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)**

(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

OLEH:

**DANIEL TETAN-EL
J035201006**

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

Makassar, 20 Oktober 2022

Pembimbing 1



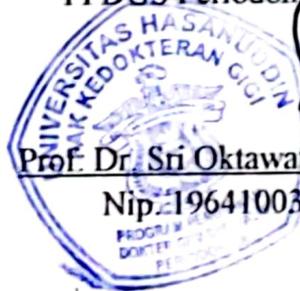
Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K)
Nip. 196410031990022001

Pembimbing 2



Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S.
Nip. 19551021 198503 2 001

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS



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

PENGESAHAN UJIAN TESIS

**EFEKTIVITAS CALCIUM PYROPHOSPHATE DARI CANGKANG KERANG
MUTIARA (PINCTADA MAXIMA) SEBAGAI BAHAN REGENERASI TULANG
TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

OLEH:

**DANIEL TETAN-EL
J035201006**

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

Makassar, 20 Oktober 2022

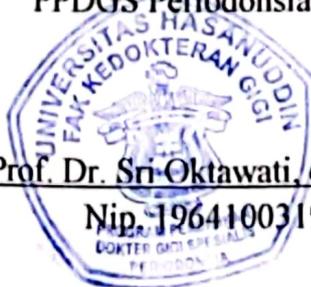
Pembimbing 1

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 196410031990022001

Pembimbing 2

Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S.
Nip. 19551021 198503 2 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia EKG-UNHAS



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 196410031990022001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Edy Machmud, drg. Sp. Pros (K)
Nip. 19631104 199401 1 001

TESIS

EFEKTIVITAS CALCIUM PYROPHOSPHATE DARI CANGKANG KERANG
MUTIARA (PINCTADA MAXIMA) SEBAGAI BAHAN REGENERASI TULANG
TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG)
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

OLEH:

DANIEL TETAN-EL
J035201006

Telah disetujui

Makassar, 20 Oktober 2022

- | | | |
|------------------|---|-------|
| 1. Pembimbing I | : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K) | |
| 2. Pembimbing II | : Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S | |
| 3. Penguji I | : Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp. Perio(K) | |
| 4. Penguji II | : Dian Setiawaty, drg., Sp.Perio (K) | |
| 5. Penguji III | : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio (K) | |

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS



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

Nip. 196410031990022001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Daniel Tetan-El

NIM : J035201006

Program Studi : Program 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 dan pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia memenuhi sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Oktober 2022



Daniel Tetan-El

KATA PENGANTAR

Sepenuh hati saya sebagai penulis mengucapkan Puji dan Syukur kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas izin dan kehendak-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul **“Efektivitas Calcium Pyrophosphate dari Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) sebagai Bahan Regenerasi Tulang terhadap Ekspresi Osteoprotegerin (OPG)”**.

Penulisan tesis ini dimaksudkan 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 tesis ini dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan secara langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh karena, dengan segala kerendahan hati itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.**, sebagai Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. Dr. Edy Machmud, drg. Sp. Pros (K)**, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)** sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia, sekaligus sebagai Pembimbing I yang telah meluangkan sangat banyak waktu berharga beliau untuk memberikan ilmu, bimbingan, dukungan serta arahan selama penulis menempuh pendidikan di PPDGS Periodonsia.
4. **Prof. Dr. Mardiana Andi Adam, drg., MS** sebagai Penasehat Akademik dan pembimbing II yang senantiasa memberi dukungan, ilmu, bimbingan dan

motivasi demi kelancaran penyelesaian karya tulis akhir dan pendidikan di PPDGS Periodonsia.

5. **Surijana Mappangara, drg., M. Kes., Sp. Perio (K), Dian Setiawati, drg., Sp. Perio (K), dan Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio (K)** sebagai tim Penguji I, II, dan III yang telah banyak memberi arahan, masukan serta koreksi yang sangat membantu dalam proses perbaikan tesis ini. pembimbing yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
6. **Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, M.Kes., Sp. Perio (K), Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes., drg. Supiaty, M.Kes, dan Sitti Raodah Juanita Ramadhan, drg., Sp. Perio** sebagai dosen Departemen Periodonsia yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan dan dukungan selama proses pendidikan.
7. Orang tuaku tercinta Almarhum Ayahanda **Drg. Philipus Tetan-El** dan ibunda **Tresy Kiat** atas segala kasih sayang dan doa yang tiada tergantikan dengan apapun dan selalu rela memberikan segala yang terbaik untuk anak-anaknya.
8. Kakak saya **dr. Michael Tetan-El, Sp.B (K) Onk** dan **Elleonora Tetan-El** yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat selama saya menjalani pendidikan.
9. Kepada orang terkasih **drg. Risca Lisal** yang selalu murah senyum, sabar dan menjadi *support system* yang sangat baik sehingga selalu dapat menjadi penyemangat kepada penulis menempuh masa pendidikannya.

10. Kepada Angkatan **SOJU (SO7)**, teman seperjuangan selama masa pendidikan ini melalui segala suka dan duka Mamak Amma yang selalu semakin didepan, Sultan dari tanah Papua kak Joy yang suaranya menggelegar membakar semangat, ummi Adhawanty yang kreasi masakan-masakan nikmatnya selalu ku rindukan, Kakak Rachmi yang selalu menjadi tempat diskusi, Kakak Nur Masyta yang selalu membantu mengingatkan jadwal kuliah dan kakak Firman yang selalu ada untuk menjadi tempat *sharing* berbagai hal. Penulis mengucapkan terimakasih kalian selalu ada sehingga saya tetap kuat melalui jatuh dan bangun bersama selama menempuh pendidikan .
11. Kepada kanda senior X-Warior, Titu, Sigma dan adik junior Nemesix, Dextra, Phenom, Phoenix yang telah memberi dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan
12. Teman seperjuangan dalam menyelesaikan penelitian ini, **drg. Muthmainnah** dan **drg. Firman Salam**, terimakasih atas pengertian, bantuan dan kesabarannya selama penelitian berlangsung
13. **Kepada Oklusal 2011** yang menjadi teman semasa pendidikan S1 dan menjadi teman diskusi selama beberapa tahun terakhir.
14. Kepada tim **YGMR**, kanda Trisantoso, Prajogo, Kevin, Nugi, Jefri, dan Indra yang hampir tiap malam mengajak penulis untuk menyegarkan pikiran dan meraih bintang-bintang agar tetap bisa tercapai pola hidup seimbang.
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.

16. Klinik hewan La Costae, Laboratorium Biokimia Politeknik Pertanian Pangkep, Laboratorium Patologi Anatomi FK UNHAS, dan Laboratorium Biokimia – Biomolekuler FK Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian.

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, 20 Oktober 2022

Daniel Tetan-El

**EFEKTIVITAS CALCIUM PYROPHOSPHATE DARI CANGKANG
KERANG MUTIARA (PINCTADA MAXIMA) SEBAGAI BAHAN
REGENERASI TULANG TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN
(OPG)**

(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

ABSTRAK

Latar Belakang : Kalsium Pirofosfat ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) merupakan salah satu bahan alami yang cukup menjanjikan untuk cangkok tulang karena memiliki potensi biodegradibel, biokompatibel dan osteokonduktif. Saat ini limbah dari cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) belum maksimal sehingga dengan penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber Kalsium Pirofosfat karena memiliki kandungan kalsium yang cukup tinggi. *Osteoprotegerin* (OPG) memiliki efek biologis pada sel-sel tulang yang menghambat ikatan RANK dan RANKL sehingga dapat mencegah pembentukan osteoklas. Secara tidak langsung dapat dikatakan bahwa regenerasi tulang dipengaruhi antara keseimbangan OPG dan RANKL

Bahan dan Metode : Kalsium Pirofosfat dibuat dengan metode kalsinasi dengan Furnace dengan suhu 1000°C dan dicampur dengan larutan H_3PO_4 , dan kemudian dicuci dengan aseton dan difurnace lagi dengan suhu 800°C . Sebanyak 30 ekor marmut dilakukan pembuatan defek pada bagian femur dan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu (1) kelompok perlakuan bonegraft Kalsium Pirofosfat, (2) kontrol positif Xenograft BATAN, (3) kontrol negatif diaplikasikan gel plasebo. Pada hari ke-14, dan 21 dilakukan *sacrificed* untuk pengambilan jaringan dan pemeriksaan immunohistokimia untuk melihat ekspresi OPG. Analisis data dilakukan dengan uji *Shapiro wilk*, uji *Levene*, dan ANOVA.

Hasil : Pada hari ke-14 terjadi peningkatan jumlah ekspresi OPG dan pada hari ke-21 terjadi peningkatan jumlah ekspresi OPG yang signifikan ($p < 0.05$) pada kelompok Kalsium Pirofosfat dibandingkan dengan kelompok gel plasebo.

Pembahasan : Bahan cangkok tulang Kalsium Pirofosfat dapat berperan sebagai *scaffold* karena sifatnya yang biokompatibel dan berdegradibel. Penambahan Kalsium Pirofosfat dapat meningkatkan ekspresi OPG yang berperan sebagai inhibitor antara RANK dan RANKL pada proses penyembuhan tulang.

Kesimpulan : Kalsium Pirofosfat yang berasal dari cangkang kerang mutiara dapat meningkatkan ekspresi OPG pada defek femur marmut.

Kata Kunci : Cangkang Kerang, Kalsium Pirofosfat, OPG, Bahan Regenerasi Tulang, Proses Penyembuhan,

**EFFECTIVENESS OF CALCIUM PYROPHOSPHATE FROM SHELL
PEARL (PINCTADA MAXIMA) AS A BONE REGENERATION
MATERIAL ON OSTEOPROTEGERIN (OPG) EXPRESSION**

(In Vivo study on femur defects of male guinea pigs)

ABSTRACT

Background : Calcium Pyrophosphate ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) is a promising natural material for bone grafts because it has the potential to be biodegradable, biocompatible and osteoconductive. Currently, the waste from pearl shells (*Pinctada maxima*) is not maximized, so this research is expected to be used as a source of calcium pyrophosphate because it has a high calcium content. Osteoprotegerin (OPG) has a biological effect on bone cells that inhibits RANK and RANKL binding so as to prevent osteoclast formation. Indirectly it can be said that bone regeneration is affected by the balance of OPG and RANKL.

Materials and Methods : : Calcium Pyrophosphate was prepared by calcination method with Furnace at 1000°C and mixed with H_3PO_4 solution, and then washed with acetone and heated again at 800°C . A total of 30 male guinea pigs made defects in the femur and were divided into three groups: (1) the Calcium Pyrophosphate bone graft treatment group, (2) the positive control using Xenograft BATAN, (3) the negative control applied placebo gel. On days 14 and 21, sacrificed was performed for tissue retrieval and immunohistochemical examination to see OPG expression. Data analysis was performed using the Shapiro Wilk test, Levene test, and ANOVA.

Results : On day 14 there was an increase in the amount of OPG expression and on day 21 there was a significant increase in the amount of OPG expression ($p < 0.05$) in the Calcium Pyrophosphate group compared to the placebo gel group.

Discussion : Bone graft material Calcium Pyrophosphate as a scaffold because biocompatible and degradable. The addition of Calcium Pyrophosphate can increase the expression of OPG which acts as an inhibitor between RANK and RANKL in the bone healing process.

Conclusion : Calcium Pyrophosphate from pearl shells can increase OPG expression in guinea pig femur defects

Keywords : Pearl Shell, Calcium Pyrophosphate, OPG, Bone Regeneration Material, Healing Process

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Penyakit Periodontal	8
2.2 Struktur Tulang	9
2.3 Kerusakan Tulang Periodontal.....	13
2.4 Perawatan Kerusakan Tulang.....	14
2.5 Bone Graft.....	15
2.6 Bovine Xenograft.....	21
2.7 Cangkang Kerang Mutiara	22
2.8 Regenerasi Tulang	24
2.9 Mediator Regenerasi Tulang	31
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA....	37

3.1 Kerangka Teori	37
3.2 Penjelasan Kerangka Teori.....	38
3.3 Kerangka Konsep.....	40
3.4 Hipotesis	41
3.5 Keterbatasan Penelitian	41
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	42
4.1 Rancangan Penelitian	42
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	42
4.2.1 Lokasi Penelitian	42
4.2.2 Waktu Penelitian	42
4.3 Sampel Penelitian	43
4.3.1 Jenis Sampel Penelitian	43
4.3.2 Kriteria Subjek Penelitian	43
4.3.3 Besar Sampel Penelitian	44
4.4 Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional	45
4.4.1 Variabel Penelitian	45
4.4.2 Defenisi Operasional	45
4.5 Persiapan dan Tahapan Penelitian	46
4.5.1 Persiapan Penelitian	46
4.5.2 Prosedur Penelitian	50
4.6 Analisis Data	59
4.7 Alur Data	60
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	61
5.1 Hasil Penelitian	61
5.2 Pembahasan	69
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	76
6.1 Kesimpulan	76
6.2 Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Spektrum FTIR kalsium pyrophosphate	62
Gambar 2	Grafik rata-rata ekspresi OPG pada pengamatan	63
Gambar 3	Gambaran Immunohistokimia ekspresi OPG pada hari ke 14 dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x dan 1000x	64
Gambar 4	Gambaran Immunohistokimia ekspresi OPG pada hari ke 21 dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x dan 1000x	64
Gambar 5	Diagram perbedaan ekspresi OPG pada hari ke 14 dan 21 pada setiap kelompok perlakuan	69

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Sintesis penelitian	35
Tabel 2 Rata-rata jumlah perbandingan ekspresi OPG semua kelompok perlakuan pada pengamatan immunohistokimia	66
Tabel 3 Hasil Uji one way ANOVA perbandingan rerata ekspresi OPG antara kelompok uji, kontrol positif dan kelompok kontrol negatif pada hari ke 14 dan ke 21.....	67
Tabel 4 Hasil uji LSD perbandingan ekspresi <i>Osteoprotegerin</i> (OPG) antar dua kelompok perlakuan pada hari ke- 21.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Etik Penelitian	87
Lampiran 2 Persiapan Pembuatan Bubuk Calcium Pyrophosphate	88
Lampiran 3 Perlakuan Pada Hewan Coba	89
Lampiran 4 Sacrificed dan Pengambilan Jaringan	91
Lampiran 5 Pembuatan Slide	92
Lampiran 6 Analisa Data	94

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gingivitis dianggap sebagai penyakit mulut yang paling sering terjadi setelah karies gigi, yang mempengaruhi lebih dari 75% populasi dunia. Gingivitis adalah jenis penyakit periodontal yang dapat disembuhkan tetapi bila tidak ditangani maka akan berlanjut pada jaringan pendukung gigi dan terjadi periodontitis. Periodontitis menyebabkan terjadinya kerusakan pada tulang dan merupakan infeksi jaringan periodontal yang baik tulang alveolar hingga sementum yang dapat mengakibatkan kehilangan gigi.^{1,2}

Terdapat berbagai perawatan dalam bidang periodontal, salah satu jenis perawatan yang sangat berkembang pesat saat ini adalah terapi regeneratif pada jaringan periodontal. Terapi regeneratif ini dikembangkan pada jaringan tubuh yang tidak dapat memperbaiki dirinya sendiri seperti tulang, sehingga dibutuhkan bahan yang dapat menstimulasi pembentukan dan regenerasi jaringan periodontal menggunakan bahan *bone graft*.^{3,4}

Bone graft merupakan bahan yang digunakan untuk merekonstruksi defek intraosseous yang terbentuk akibat adanya penyakit periodontal. Bone graft memiliki tiga metode kerja sehingga dapat membantu regenerasi tulang yaitu osteoinduktif, osteokonduktif, dan osteogenesis. Secara umum terdapat empat tipe bone graft yaitu autograft, allograft, xenograft dan material sintesis alloplastic. Autograft hingga saat ini masih menjadi pilihan utama dalam

merestorasi kerusakan tulang namun masih sangat terbatas sehingga dibutuhkan bahan bone graft pengganti yang dapat membantu proses regenerasi tulang.⁵⁻⁷

Penelitian terbaru mengembangkan bahan bone graft xenograft yang merupakan bahan yang berasal dari spesies lain dengan mempertimbangkan mudah didapat dan transmisi virus yang minimal.⁵ Beberapa peneliti tertarik membuat bahan bone graft yang berasal dari alam salah satunya yang berasal dari biota laut. Beberapa kandungan dari biota laut tersebut sudah sering digunakan untuk membangun struktur mulai dari dentin, jaringan lunak maupun tulang.⁸ Penelitian yang dilakukan oleh Sri Oktawati,^{dkk⁹} menggunakan alga coklat yang mampu memberikan efek daya hambat kepada bakteri penyebab kerusakan dalam rongga mulut. Penelitian dari Mardiana Adam, ^{dkk¹⁰} yang menggunakan ekstrak *Channa Striata* mendapatkan hasil dapat menurunkan ekspresi TNF- α dalam poket periodontal sehingga dapat digunakan sebagai tambahan alternatif dalam perawatan periodontal. Penelitian dari Hasanuddin Thahir, ^{dkk¹¹} yang menggunakan tulang ikan gabus untuk membentuk gelatin dan digunakan sebagai bahan bone graft, mendapatkan hasil yang baik dalam meningkatkan ekspresi osteokalsin pada defek tulang marmut jantan. Penelitian dari Asdar Gani, ^{dkk¹²} yang menggunakan gel kitosan yang

berasal dari limbah kepala udang putih, hasil dari penelitiannya gel kitosan yang berasal dari limbah kulit kepala udang putih dapat menghambat bakteri *Agregatibacter Actinomycetemcomitans* dan mampu mempercepat penyembuhan luka pada tikus.

Dari berbagai biota laut yang banyak digunakan dalam perawatan periodontal salah satu pilihan untuk pembuatan bone graft adalah cangkang kerang. Cangkang kerang memiliki struktur dasar seperti tulang dan memiliki kandungan kalsium yang tinggi.¹³ Seperti penelitian dari Haihong Liao, dkk¹⁴ yang menggunakan cangkang kerang tiram (*P. Margaritifera*) yang diproses menjadi kalsium karbonat dengan bentuk granule, dan diaplikasikan pada paha 72 ekor tikus mendapatkan hasil yang signifikan pada pembentukan lapisan fosfor pada permukaan tulang. Penelitian oleh Jinwu Wang, dkk¹⁵ juga melakukan penelitian terhadap cangkang kerang tiram (*P. Margaritifera*) yang diproses dalam bentuk kalsium fosfat dan dikombinasikan dengan *Platelet Rich Plasma* (PRP) pada tulang paha tikus dan kemudian mengamati osteogenesis dan mendapatkan hasil terdapat proses penyembuhan tulang. Penelitian oleh Lamghari dkk^{16,17} mengamati aktivitas osteogenik dari cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) ditandai dengan terbentuknya tulang baru pada defek tulang belakang kelinci dan domba. Penelitian oleh Diviya, dkk¹⁸

menggunakan cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru yang diolah dan dibuat dalam bentuk pasta dan kemudian diaplikasikan pada defek tikus wistar, hasilnya menunjukkan terjadinya penurunan jumlah osteoklas pada proses penyembuhan tulang.

Salah satu spesies dari cangkang kerang adalah cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*). Budidaya cangkang kerang mutiara sudah berlangsung sejak tahun 2015 di daerah Provinsi Sulawesi Selatan di Kabupaten Pangkajene dan 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. Cangkang kerang memiliki kandungan kalsium karbonat yang mampu meningkatkan osteokonduktifitas, selain itu kalsium di dalam matriks organik cangkang kerang mutiara merupakan molekul biologis yang mampu mengaktifkan sinyal kimiawi osteoblas.¹⁹ Sehingga, cangkang kerang mutiara memiliki potensi untuk dijadikan bahan bone graft yang dapat mempercepat proses regenerasi tulang.

Selain kalsium karbonat, cangkang kerang juga memiliki kalsium pirofosfat ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) yang merupakan bahan yang menjanjikan untuk pencangkokan tulang, karena memiliki potensi biodegradable yang baik.²⁰

Kalsium pirofosfat juga lebih biokompatibel dari Hidroksi apatit dan Trikalsium fosfat sehingga memiliki potensi yang sangat baik sebagai bahan bone graft.^{21,22}

Proses regenerasi tulang mencakup proses resorpsi tulang dan diganti dengan sintesis dan mineralisasi matriks untuk membentuk tulang baru. Proses regenerasi tulang dapat diamati dengan melakukan pemeriksaan *marker* (penanda regenerasi tulang). Salah satu mediator *marker* yang berperan pada proses regenerasi tulang adalah *Osteoprotegerin* (OPG)²³. *Osteoprotegerin* (OPG) memiliki efek biologis pada sel-sel tulang yang menghambat ikatan RANK dan RANKL sehingga dapat mencegah pembentukan osteoklas. Efek biologis ini bekerja pada terminal tahap terakhir dan mengatur diferensiasi osteoklas, menekan aktivasi osteoklas matur, menginduksi apoptosis, sehingga menurunkan proses resorpsi tulang dan menyebabkan peningkatan jumlah OPG sehingga terjadi proses osteogenesis. Sehingga secara tidak langsung dapat dikatakan bahwa regenerasi tulang dikontrol oleh keseimbangan OPG dan RANKL.²⁴

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik untuk meneliti efektifitas bahan bone graft yang mengandung cangkang kerang mutira terhadap proses regenerasi tulang melalui analisis ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, 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 proses regenerasi tulang

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui potensi kandungan dan karakteristik dari bahan *bone graft* yang berasal dari cangkang kerang mutiara.
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 OPG pada kelompok *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) terhadap bahan *bone graft* bovine xenograft (BATAN) pada hari ke 14 dan 21

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

1. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi kandungan cangkang kerang mutiara sebagai bahan bone graft pada proses 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 menambah ilmu pengetahuan pada umumnya dan dibidang kedokteran gigi khususnya pada bidang periodonsia.
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

2.1 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan suatu penyakit inflamasi destruktif pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik, yang mengarah kepada kerusakan lebih lanjut pada ligamen periodontal dan tulang alveolar biasanya ditandai dengan terbentuknya poket, resesi gingiva, maupun keduanya.²⁵ Periodontitis biasanya berkembang dari gingivitis yang sudah terjadi walaupun tidak semua gingivitis berkembang menjadi periodontitis. Perubahan komposisi dan potensi patogenik dari mikroorganisme terhadap faktor pertahanan host dan jaringan sekitarnya sangat mempengaruhi tingkat keparahan kerusakan jaringan periodontal.²⁶

Penyakit periodontal yang terus berlanjut menjadi periodontitis memiliki karakteristik berupa pembentukan poket dan kerusakan tulang alveolar. Dari gambaran radiografi dapat dibandingkan ketinggian tulang alveolar terhadap cemento enamel junction (CEJ). Ketinggian tulang alveolar terhadap CEJ 2-3 mm belum menunjukkan kehilangan tulang yang nyata. Sedangkan ketinggian tulang alveolar terhadap CEJ lebih dari 3 mm biasanya menunjukkan kehilangan tulang yang nyata.²⁷

2.2 Struktur Tulang

Unsur yang membentuk tulang terdiri dari mineral anorganik sebanyak 65%, matrik organik sebanyak 35%, sel osteoblast, osteoklas, osteosit dan air. Komponen anorganik bertanggung jawab pada kekakuan dan kekuatan terhadap tekanan, sedangkan komponen organik menyediakan memberikan kemampuan pada tulang untuk menahan regangan.^{28,29}

Secara umum fungsi utama tulang selain menjadi kerangka tubuh dan melindungi organ dalam, tulang juga berperan dalam membantu pergerakan, tempat penyimpanan kalsium dan juga tempat produksi sel-sel darah. Kekuatan dan kekerasan tulang tulang berasal dari keberadaan dari garam mineral pada matriks osteoid, yang merupakan kristalin kompleks dari kalsium dan fosfat. Komponen seluler tulang berasal dari dari stem sel tulang yang berkembang menjadi mesoderm progenitor kemudian membentuk jalur mesenkim (preosteoblas, osteoblas, osteosit, dan *bone-lining cells*) dan jalur hemopoetik (preosteoklas dan osteoklas). Sel-sel yang membantu menyusun matriks tulang dan berperan dalam regenerasi tulang adalah osteoblas, osteosit, *bone lining cel*, dan osteoklas.²⁸

a. Osteoblas

Osteoblas merupakan sel kuboid yang berada sepanjang permukaan tulang, memiliki ukuran 20-30 μm atau sekitar 4-6 % dari seluruh sel tulang. Osteoblas berasal dari sel punca mesenkim yang belum berdiferensiasi (*undifferentiated mesenchymal stem cell*). Sebelum mencapai osteoblas yang matur maka ia terlebih dahulu melalui tahap pre-osteoblas dan 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, karena alakali fosfat, memediasi resopsi 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: osteoblas inaktif menjadi *bone-lining cells*, matriks termineralisasi yang dihasilkan akan mengelilingi osteoblas dan menjadi osteosit, menghilang dari tempat pembentukan tulang sebagai hasil dari apoptosis.^{30,31}

b. Osteosit

Osteoblas merupakan sel terbanyak dari tulang yaitu sekitar 90-95% dari total sel tulang dan mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteosit merupakan osteoblas yang telah mensintesa matrik dan menempatkan diri di lakuna, adapun lakuna berfungsi untuk melindungi sel osteosit dan memisahkannya dari matriks ekstraseluler. Walaupun osteosit tidak memiliki kontribusi secara nyata dalam hal reabsorpsi dinding lakuna, osteosit selanjutnya akan berfungsi sebagai penerima sinyal berupa meningkat atau menurunnya stress mekanik yang terjadi pada tulang, yang selanjutnya mengirim suatu pesan kimia kepada osteoblast yang akan mengeluarkan faktor pertumbuhan atau sitokin yang mempunyai efek meningkatkan atau menurunkan massa tulang melalui proses pembentukan dan penyerapan tulang.^{32,33}

c. *Bone-lining cell*

Sel tulang berbentuk pipih yang terletak pada permukaan tulang dan memiliki ekstensi sitoplasma yang menembus hingga ke matriks tulang dan berkomunikasi dengan osteosit. Sel-sel ini merupakan osteoblas tidak aktif yang dapat diaktivasi menjadi osteoblas selama periode pembentukan tulang baru. Sel-sel ini juga berfungsi sebagai “penjaga pintu” bila di

stimulasi oleh PTH, mereka dipengaruhi oleh cyclic adenosine monophosphate (cAMP) untuk memediasi perubahan morfologi yang akan mengekspos permukaan tulang dan memungkinkan osteoklas meresorpsi tulang.²⁸

d. *Osteogenic Precursor cell*

Sel ini 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 selapis sel osteogenic dan tidak mengandung komponen jaringan ikat.³⁴

e. Osteoklas

Osteoklas merupakan sel-sel prekursor mononuklear osteoklas (preosteoklas) yang berasal dari makrofag hematopoietik dan monocyte stem-cell line. Sel ini mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteoklas memiliki gambaran struktur yang unik berupa adanya *ruffled border* dan *clear zone*. Resorpsi tulang terjadi pada daerah *ruffled border* ini. Osteoklas mensekresi kolagenase dan enzim proteolitik lain yang menyerang matriks tulang dan melepas zat dasar yang mengalami

kalsifikasi. Sel-sel tersebut aktif terlibat dalam masa resorpsi tulang.³⁵ Faktor-faktor yang mempengaruhi differensiasi sel osteoklas diantaranya *macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)* yang disekresikan oleh osteoprogenitor mesenchymal cells dan osteoblast, RANK ligand yang disekresikan oleh osteoblast, osteosit dan sel stroma. Kedua faktor ini mengaktivasi faktor transkripsi dan ekspresi gen osteoklas. Pembentukan osteoklas terjadi saat RANKL berikatan dengan RANK, proses ini disebut osteoklastogenesis. Osteoprotegerin yang disekresikan oleh osteoblast, 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.^{31,36,37}

2.3 Kerusakan Tulang Periodontal

Faktor utama dalam kerusakan tulang pada penyakit periodontal adalah interaksi bakteri dengan host. Produk bakteri plak menyebabkan differensiasi sel progenitor tulang menjadi osteoklas dan menstimulasi sel gingiva untuk mengeluarkan mediator yang mempunyai efek yang sama. Lipopolisakarida dan toksin bakteri lainnya berperan pada sel imun dan osteoblast yang terdapat di dalam jaringan gingiva yang akan mengeluarkan IL-1 α , IL-1 β , IL-6,

prostaglandin E2 dan Tumor Necrosis Factor (TNF)- α . Faktor-faktor ini mengatur pembentukan dan aktivitas osteoklas.³⁸

2.4 Perawatan Kerusakan Tulang

Perawatan untuk kerusakan tulang periodontal bertujuan untuk menghentikan kerusakan jaringan dan kehilangan tulang alveolar. Perawatan periodontal yang pertama kali dilakukan adalah dengan scaling dan root planning, untuk menghilangkan faktor penyebab seperti bakteri, kalkulus, dan biofilm pada jaringan periodontal. Pada kasus dengan kedalaman poket yang cukup dalam dapat dilakukan *open flap debridement* (OFD) agar mendapatkan akses yang lebih baik dalam pengambilan jaringan granulasi dan lebih efektif dalam menghilangkan bakteri dan kalkulus pada bagian yang tidak dapat dijangkau dengan scaling dan root planning.³⁹

Pada kasus kerusakan periodontal yang lebih parah seperti keterlibatan furkasi dan defek infrabony perawatan periodontal regeneratif terbukti memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan perawatan OFD. Perawatan regeneratif yang dapat dilakukan untuk menangani kerusakan tulang antarlain seperti demineralisasi permukaan akar, *Guided Tissue Regeneration* (GTR), dan bedah periodontal yang dikombinasikan dengan bahan pengganti tulang / *bone graft*.⁴⁰

2.5 Bone Graft

Bahan cangkok tulang atau yang dikenal dengan istilah *bone graft* merupakan suatu bagian jaringan yang diambil dari suatu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama maupun yang berbeda. Tujuannya untuk restorasi tulang anatomikal akibat kerusakan yang disebabkan oleh penyakit, kecelakaan, atau anomali pertumbuhan dan perkembangan. Pada kerusakan tulang yang disebabkan oleh penyakit periodontal, penambahan bahan *graft* terbukti lebih baik dibandingkan dengan metode *open flap debridement* saja. Tujuan dari *bone grafting* pada jaringan periodontal adalah mengurangi kedalaman poket, peningkatan perlekatan klinis, pengisian tulang pada daerah defek dan regenerasi tulang baru, semnetum dan ligamentum periodontal sehingga dapat mendukung gigi dengan baik.^{41,42}

Beberapa kriteria suatu bahan dikatakan ideal untuk menjadi bone graft harus memiliki karakteristik atau sifat osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenesis; kurangnya reaksi antigenik, teratogenik atau karsinogenik; Stimulasi neo-angiogenesis; Supply dalam jumlah yang cukup; Dukungan dan stabilitas yang memuaskan; Minimum hingga nol morbiditas dan komplikasi; memiliki sifat hidrofilik; biaya yang murah dan penggunaan yang mudah.⁴³

Suatu *bone graft* dapat berperan sebagai *scaffold* untuk memfasilitasi pembentukan tulang dan mempercepat penyembuhan luka, serta dapat diserap secara biologis dan tidak memiliki reaksi antigen-antibodi. Mekanisme biologis yang dimiliki bahan bone graft antara lain yaitu osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenesis. Bahan graft minimal memiliki 2 sifat biologis tersebut.⁴⁴

1. Osteokonduktif

Sifat osteokonduktif merupakan proses pasif yang menunjukkan kemampuan sel-sel osteoblas dari resipien dapat masuk ke dalam bone graft dan dengan perlahan-lahan akan menggantinya dengan tulang baru. Osteokonduktif material bertindak sebagai scaffold untuk sel tulang osteoblas dan osteoklas melekat, migrasi, tumbuh, dan membelah. Sifat ini tergantung pada struktur tiga dimensi dari graf tulang dan menentukan kecepatan osteointegrasi graf. Bahan bone graft akan berperan sebagai rangka 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.⁴³

2. Osteoinduktif

Sifat osteoinduktif merupakan proses aktif, yaitu graft tulang akan merekrut sel-sel pembentuk tulang untuk pembentukan tulang baru. Osteoinduktif menunjukkan kemampuan graft tulang untuk mengirim sinyal-sinyal untuk merekrut, proliferasi, dan diferensiasi sel punca mesenkim atau sel progenitor menjadi sel pembentuk tulang (osteoblas) yang menghasilkan formasi tulang dengan mineralisasi yang normal. Sifat osteoinduksi meningkatkan 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. Sifat osteoinduktif sangat bergantung pada keberadaan factor-faktor pertumbuhan (*growth factor*). Mediator sel osteoinduktif yang paling penting adalah bone morphogenetic proteins (BMPs).⁴⁴

3. Osteogenesis

Osteokonduksi merupakan sifat yang diinduksi oleh keberadaan sel punca mesenkim, sel-sel prekursor osteogenik dan osteoblas di dalam bone graft autologus. Sel-sel ini akan membantu pembentukan tulang baru pada daerah resipien, tempat bone graft diaplikasikan. Sifat osteogenesis merupakan 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 osteo-progenitor 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.^{42,43}

Umumnya, bone graft diklasifikasikan menjadi 4 kategori yaitu: ⁴⁵⁻⁴⁷

a. Autogenous

Merupakan bahan cangkok tulang yang berasal dari bagian tubuh individu yang sama yang dipindahkan ke tempat lain sehingga masalah biokompatibilitas dan penularan penyakit dapat dieliminasi. Bahan cangkok autogenous adalah bahan cangkok yang paling ideal karena memiliki efek osteokonduktif, osteoinduktif dan mengandung sel osteoprogenitor sehingga menjadi *gold standar* untuk pencangkokan tulang. Namun terdapat beberapa kekurangan, seperti pembedahan kedua di daerah donor sehingga menimbulkan ketidaknyamanan pasien, jumlah yang terbatas dan proses pengambilannya membutuhkan waktu tambahan untuk pembedahan hingga resiko morbiditas pada daerah donor.

b. Allograft

Merupakan bahan cangkok tulang yang ditransplantasikan kepada orang lain yang secara genetik berbeda dari spesies yang sama, dipilih, diproses dan disimpan dalam bank tulang di mana penyaringan donor yang luas, termasuk sejarah sosial dan medis yang rinci serta pemeriksaan serologis dilakukan. Mereka berasal dari donor yang masih hidup (biasanya kepala femoralis pengganti-ment) atau bahan tulang kadaver, diproses lebih lanjut untuk

menetralisir respons imun dan penularan penyakit menular. Bahan ini tersedia sebagai cangkok kortikal, kanselus atau kortiko-kanselus, dalam berbagai bentuk dan ukuran.

Jenis utama bahan ini terdiri dari: *Fresh frozen bone* (FFB): dibekukan pada suhu -800 C untuk menghindari degradasi enzim, tanpa proses iradiasi, liofilisasi, atau demineralisasi lebih lanjut. Tidak digunakan lagi karena penularan penyakit dan respon imun yang tinggi, *Freeze Dried Bone Allograft* (FDBA): mengalami dehidrasi dan pembekuan tanpa demineralisasi, yang mengarah ke penurunan antigenisitas. Ia hanya memiliki potensi osteokonduktif. *Demineralized freeze-dried bone allograft* (DFDBA) DFDBA selain bersifat osteokonduktif juga osteoinduktif. DFDBA terbukti mengekspos *bone morphogenetic protein* (BMP) dalam matriks tulang. BMP akan menginduksi diferensiasi sel dan menginduksi sel induk pleuripotential untuk berdiferensiasi menjadi osteoblast.

c. *Xenograft*

Merupakan bahan cangkok tulang yang diambil dari spesies yang berbeda, misalnya tulang sapi dan karang alami. Salah satu *xenograft* yang sering digunakan adalah *deproteinized bovine bone mineral* yang berasal dari sapi. Keuntungan menggunakan DBBM adalah aman, kandungan mineralnya

menyerupai struktur tulang manusia, dan tidak mudah diresorpsi. *Xenograft* dapat mempertahankan volumenya hingga bertahun-tahun, tidak seperti allograft yang rentan mengalami resorpsi dimensional

d. Aoplastik

Merupakan bahan cangkok tulang sintetis, inorganik, biokompatibel dan mempunyai bahan bioaktif yang digunakan sebagai pengganti cangkok tulang sehingga dapat merangsang pembentukan tulang baru.

2.6 Bovine Xenograft

Bovine xenograft merupakan salah satu *xenografts* pertama yang diaplikasikan pada pasien dan tersedia secara komersial dalam berbagai produk dan dianggap sebagai bahan yang paling terdokumentasi dalam kategori ini. Bahan ini memiliki sifat-sifat osteokonduktif, yang dideproteinisasi dan diliofilisasi, tidak menyebabkan respon imun. Beberapa peneliti menganggap butiran dari bahan ini dianggap mengalami penyerapan yang buruk atau lambat, dikelilingi oleh jaringan tulang neoplastik daripada memasuki proses remodeling tulang normal. Pemrosesan pada suhu tinggi untuk menghindari reaksi kekebalan, alergi dan penyakit menular seperti spongiform encephalopathy

dianggap merupakan penyebab dari memodifikasi struktur hidroksiapatit yang selanjutnya mengarah pada pengurangan potensi penyerapan.⁴⁸

Bovine hydroxiapatite (BHA) didapatkan melalui proses pengeringan beku. Bahan berasal dari tulang sapi, kemudian semua komponen organik diekstraksi (deproteinisasi). *Bovine hydroxiapatite* (BHA) telah melalui serangkaian uji biokompatibilitas, mikrostruktur, dan uji komposisi. Penelitian lebih lanjut oleh Kotobuki dkk menjelaskan bahwa lingkungan mikro HA dapat menyediakan ion kalsium dan ion alkalin bagi osteoblas, menyebabkan mineralisasi mesenkim ekstraseluler dan mensekresi ATPase. Proses ini juga dapat mengaktivasi osteoblas dan membentuk jaringan tulang. Permukaan HA mendukung adhesi, pertumbuhan, serta diferensiasi sel osteoblas, dan tulang baru oleh substitusi dari tulang vital yang berdekatan.⁴⁷

2.7 Cangkang Kerang Mutiara

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.⁴⁹

Klasifikasi kerang mutiara (*Pinctada maxima*) adalah sebagai berikut: ⁴⁹

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

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 cangkang kerang 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.⁵⁰ Komposisi kimia cangkang kerang *Pinctada maxima* 97% inorganik dan 3 % organik, 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 (Ca_2CO_3). Hidroksiapatit merupakan senyawa yang mengandung ion kalsium (Ca^{2+}) yang mengubah ion logam beracun dan menyerap unsur kimia organik dalam tubuh. Struktur ini mirip dengan tulang manusia, struktur anorganik memiliki kekuatan yang luar biasa, sedangkan matriks organik mampu meningkatkan osteokonduktivitas bila dibandingkan bahan sintesis lain. Di dalam matriks organik cangkang kerang ditemukan molekul biologis yang identik dengan yang ditemukan pada manusia, BMPs (*bone morphogenetic protein*) dan molekul lain mampu mengaktifkan osteoblas melalui sinyal kimiawi osteoblast.⁵¹

Selain kalsium karbonat, cangkang kerang juga memiliki kalsium pirofosfat ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) yang merupakan bahan yang menjanjikan untuk pencangkokan tulang, karena memiliki potensi biodegradable yang baik.²⁰ Kalsium pirofosfat juga lebih biokompatibel dari Hidroksi apatit dan Trikalsium fosfat sehingga memiliki potensi yang sangat baik sebagai bahan bone graft.^{21,22}

2.8 Regenerasi Tulang

Proses regenerasi tulang merupakan serangkaian proses fisiologis yang kompleks dan unik. Proses ini membutuhkan waktu selama 6 sampai 8 minggu

untuk menyembuhkan ke tingkat yang signifikan. Penyembuhan tulang berbeda dengan jaringan lunak yang akan sembuh dengan jaringan sikatrik, hasil akhir penyembuhan tulang normal berupa regenerasi anatomi tulang dan pengembalian fungsi seperti semula dengan sempurna. Keberhasilan 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 sel osteosit dan osteoblast yang terlibat pada proses 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.^{23 52 53}

1. Fase Inflamasi (Inflammatory Phase) ⁵⁴

Pada fase ini biasanya dapat ditandai dengan rasa nyeri akibat dari kerusakan jaringan berakibat terjadinya nekrose dan kemungkinan terjadi apoptosis pada daerah luka. Kondisi ini memicu pergerakan PMN leukosit (neutrofil), limfosit, monosit darah, dan makrofag jaringan akan menuju ke daerah defek dan diaktivasi untuk melepas sitokin yang merangsang angiogenesis. Faktor – faktor yang berperan dalam angiogenesis adalah VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast growth factor), TNF- α , TNF- β , PDGF (Platelet Derivied Growth Factor) dan angiotensin-1. Sekresi enzim hidrolitik akan membantu mencerna jaringan nekrotik dan debris. Makrofag yang terbentuk karena proses kemotaksis dan migrasi pertama kali muncul pada 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-kB 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, fibronektin, dan asam hialuronik.

2. Reparative / Proliferasi ⁵⁴

Fase reparatif muncul dalam beberapa hari sebelum fase inflamasi berakhir dan akan bertahan hingga beberapa minggu. Hasil dari fase ini akan terbentuk jaringan kalus reparatif di dalam maupun di sekitar defek yang akhirnya akan diganti oleh tulang. Fungsi kalus untuk meningkatkan stabilitas mekanis dengan cara mendukung dari luar. Pada fase ini osteosit pada ujung defek akan mengalami gangguan nutrisi dan mati, setelah itu 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. Pada akhirnya kalus hanya akan terisi oleh tulang woven dan proses remodelling dimulai

3. Remodeling/Maturasi^{38, 54}

Fase ini merupakan fase terakhir dari regenerasi tulang 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.

1. Tahap quiescent merupakan fase istirahat yang menggambarkan tulang dalam keadaan tidak aktif sebelum proses remodeling.
2. Tahap aktivasi merupakan peristiwa awal yang melibatkan precursor osteoklas mononuclear ke permukaan tulang dan kemudian berdiferensiasi dan menyatu menjadi osteoklas fungsional. Osteoid non-mineral yang menutupi matrix tulang mineral larut sebelum osteoklas dapat menempel pada matrix mineral dan memulai resorpsi. Protease osteoblast bertanggung jawab untuk melarutkan osteoid ini. Kemudian sel-sel osteoklas yang teraktivasi melekat pada matriks tulang dan sitoskeletonnya akan mengalami reorganisasi, daerah yang mengalami resorpsi akan terisolasi dan enzim protease akan dilepaskan.
3. Tahap resorpsi: Pada tahap ini osteoklas akan mensekresi ion hydrogen dan enzim lisosom terutama cathepsin K dan akan mendegradasi seluruh komponen matriks tulang termasuk kolagen. Tahap ini dimulai pada hari ke 7 dimana osteoklas melarutkan matriks mineral dan menguraikan matriks osteoid. Selama resorpsi tulang, osteoklas melepaskan faktor lokal yang memiliki dua efek yaitu menghambat fungsi osteoklas dan menstimulasi aktivitas osteoblas. Osteoklas akan mensekresikan protein yang nantinya akan menjadi substrat untuk

perlekatan osteoblas. Resorpsi tulang mengarah pada pembuangan baik mineral dan konstituen organik dari matriks tulang oleh osteoklas yang dibantu oleh osteoblas. Proses ini berakhir ketika makrofag melepaskan berbagai 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: merupakan tahap transisi antara penghancuran ke perbaikan dan fase ini berlangsung dimulai pada minggu ke-2 (hari ke 14). 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. Selama perbaikan, terjadi diferensiasi termasuk kemotaksis, perlekatan sel, mitosis, dan diferensiasi prekursor osteoblas yang mengarah ke deposisi tulang baru
5. Tahap formasi: Pembentukan tulang baru dimulai dengan pengendapan osteosid yang merupakan matriks tulang baru yang terdiri dari protein

seperti kolagen tipe I. Tahap ini dimulai pada minggu ke 3 (hari ke 21). Pembentukan tulang membutuhkan waktu 4 hingga 6 bulan. Osteoblas mensintesis matriks protein baru yang akan mengisi ruang yang ditinggalkan oleh osteoklas. Sebagai matriks tulang baru secara bertahap termineralisasi membentuk tulang baru. Osteoblas terus berlanjut membentuk tulang baru sampai berubah menjadi sel lapisan 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.

2.9 Mediator Regenerasi Tulang

Osteoklas merupakan sel-sel prekursor mononuklear osteoklas (preosteoklas) yang berasal dari makrofag hematopoietik dan monocyte stem-cell line. Sel ini mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteoklas memiliki gambaran struktur yang unik berupa adanya *ruffled border* dan *clear zone*. Resorpsi tulang terjadi pada daerah *ruffled border* ini. Resorpsi

tulang oleh osteoklas dimulai sel prekursor mononuclear yang berasal dari turunan monocytemacrophage (hematopoietic stem cells yang memberikan turunan terhadap monosit dan makrofag). 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).^{23,35}

a. RANKL

RANKL merupakan regulator pada remodeling tulang. RANKL dikenal juga sebagai TRANCE (TNF- related activation-induced cytokine), ODF (Osteoclast differentiation factor) dan OPGL (Osteoprotegerin Ligand). RANKL merupakan mediator kunci pada proses pembentukan osteoklas. Protein yang terkait pada membran ini merupakan bagian dari TNF dan diekspresikan pada berbagai tipe sel yang meliputi osteoblas, 15 fibroblas dan sel T. Selama

metabolisme tulang normal, RANKL diekspresikan oleh osteoblas, namun pada saat terjadi inflamasi RANKL juga diekspresikan oleh limfosit T. Ekspresi RANKL juga diatur oleh modulator lain dalam metabolisme tulang meliputi hormon paratiroid, Vitamin D3 dan IL-1^{55,56}. Peran domain RANKL dalam fisiologi tulang adalah menstimulasi diferensiasi osteoklas (RANKL+RANK) dan aktivasi dari inhibisi osteoklas (RANKL+OPG). RANKL langsung mengontrol proses diferensiasi dengan mengaktifkan RANK (receptor activator of nuclear factor κ B). Interaksi RANK-RANKL akan mengaktifkan NFATc1 melalui jalur alternatif yang melibatkan TRAF-6, c-Jun, cFos dan p38. NFATc1 merupakan faktor penting bagi osteoklastogenesis karena ekspresinya yang berlebih dapat meniadakan RANKL untuk osteoklastogenesis dan monosit NFATc1 gagal membentuk osteoklas.⁵⁷

b. Osteoprotegerin (OPG)

Osteoprotegerin (OPG) merupakan inhibitor alami dari RANKL. OPG dihasilkan oleh berbagai macam sel dan menghambat diferensiasi osteoklas dan prekursorinya. OPG bertindak sebagai reseptor RANKL yang bersaing dengan RANK untuk mengikat dan menghindari interaksi dengan RANK sehingga mencegah terjadinya osteoklastogenesis.⁵⁸ Ekspresi OPG diatur dalam osteoblas

oleh berbagai sitokin, hormon dan faktor pertumbuhan dan oleh Wnt/ β -catenin. Jalur ini juga mengatur pembentukan tulang.⁵⁹

Remodeling tulang bergantung pada interaksi RANK-RANKL. Pada kondisi normal tanpa adanya gaya tekan, osteoklastogenesis dihambat oleh OPG (Osteoprotegrin) yang diproduksi oleh osteoblas, yang berfungsi untuk menghambat interaksi RANK-RANKL.⁶⁰ Efek biologis OPG pada sel tulang yaitu penghambatan tahap akhir diferensiasi osteoklas, penekanan aktivasi matriks osteoklas, dan induksi apoptosis⁶¹

Rasio RANKL dan OPG penting dalam inflamasi yang menginduksi resorpsi tulang. Apabila ekspresi RANKL lebih tinggi daripada OPG maka akan terjadi resorpsi tulang. Sebaliknya, apabila ekspresi OPG lebih tinggi dari RANKL, maka akan terjadi pembentukan tulang.⁶² Dengan demikian, remodeling tulang berhubungan langsung dengan keseimbangan antara pengikatan RANK-RANKL dan produksi OPG. Efek biologis dari OPG 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 OPG⁵⁸ Penelitian membuktikan bahwa ekspresi berlebihan dari

OPG dapat menghambat pembentukan osteoklas sehingga menyebabkan terjadinya 17 osteopetrosis pada tikus, sedangkan ketiadaan OPG menyebabkan terjadinya osteoporosis⁶³

Tabel 1. Sintesis penelitian

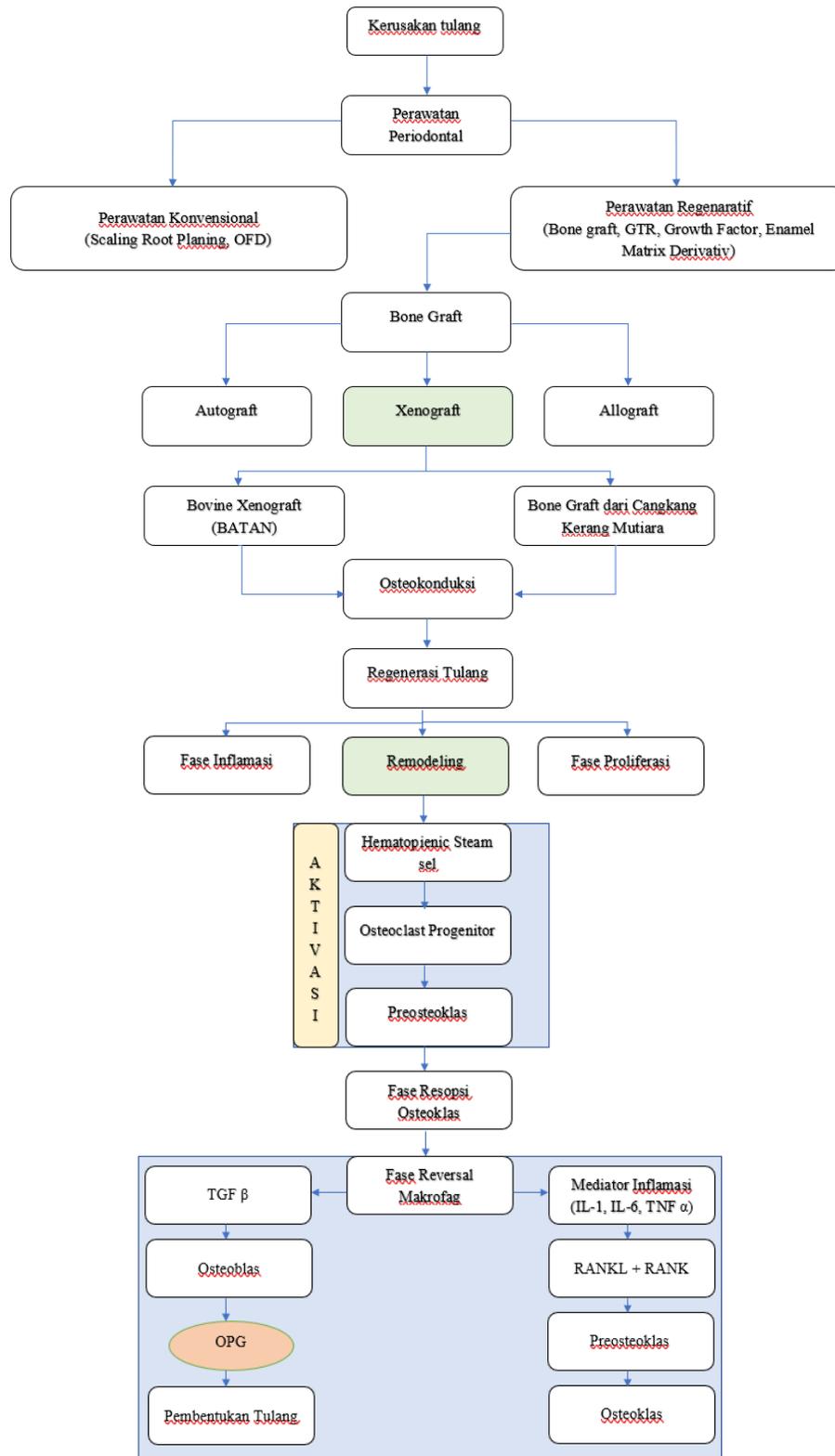
No	Penulis	Tahun	Judul	Kesimpulan
1	Alakpa dkk ¹⁷	2017	Nacre Topography Produces Higher Crystallinity in Bone than Chemically Induced Osteogenesis	Narce yang berasal dari cangkang kerang mutiara memiliki sifat osteoinduktif dan osteointegrasi yang efektif. Pembentukan tulang yang terbentuk memiliki perkembangan osteogenic yang baik sehingga mendapatkan terbentuknya tulang dengan kualitas yang baik sehingga sangat direkomendasikan digunakan untuk rekayasa jaringan pada tulang.
2	Akbar dkk ²⁰	2019	Sintesis Ca ₂ P ₂ O ₇ dari Limbah Kerang sebagai Bahan Baku Limbah Cangkang Kerang dengan Metode Solvothermal	Kalsium pirofosfat (Ca ₂ P ₂ O ₇) telah berhasil disintesis menggunakan metoda solvothermal. Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah kerang hijau dan darah. Hasil penelitian menunjukkan fasa tunggal kalsium pirofosfat didapatkan dari limbah kerang darah.
3	Correa dkk ²¹	2016	Calcium pyrophosphate powder derived	Kalsium Pirofosfat berhasil didapatkan dari cangkang telur unggas dengan nilai

			from avian eggshell waste	XRD dan SEM dengan ukuran kristal rata-rata 62,3nm. Kalsium pirofosfat yang berasal dari cangkang telur memiliki potensi yang menjanjikan sebagai bahan cangkok tulang
4	Mouries dkk ⁵¹	2002	Bioactivity of nacre water-soluble organic matrix from the bivalve mollusk <i>Pinctada maxima</i> in three mammalian cell types: Fibroblasts, bone marrow stromal cells and osteoblasts	Narce yang berasal dari <i>Pinctada Maxima</i> memiliki berbagai matriks organik yang memiliki sifat saling mengikat sehingga dapat dikatakan dapat bersifat sebagai scaffold bila digunakan sebagai bahan cangkok tulang.
5	Oktawati dkk ⁷⁴	2021	Effectiveness Nacre Pearl Shell (<i>Pinctada Maxima</i>) as Bone Graft for Periodontal Bone Remodeling	Narce yang berasal dari cangkang kerang mutiara memiliki struktur yang sangat mirip dengan tulang. Cangkang kerang Mutiara memiliki potensi yang tinggi sebagai bahan dalam remodeling tulang periodontal.
6	Samuel dkk ⁷⁶	2006	Titanium implant osseointegration with calcium pyrophosphate in rabbits	Penggunaan Calcium Pyrophosphate pada implant pada tulang kelinci menunjukkan tidak ada efek cytotoksik. Pada minggu ke4 terlihat formasi tulang pada bagian aplikasi kalsium pyrophosphate.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



3.2 Penejelasan Kerangka Teori

Berdasarkan penelitian, perawatan kerusakan tulang dengan menggunakan metode perawatan regeneratif menunjukkan perbaikan klinis yang lebih baik dibandingkan dengan perawatan konvensional seperti *open flap debridement* (OFD). Salah satu perawatan regeneratif yang sudah terbukti untuk meningkatkan regenerasi periodontal dalam mengatasi kerusakan tulang adalah dengan menggunakan teknik bedah periodontal dan diaplikasikan bahan bone graft / pengganti tulang. Terdapat beberapa jenis bahan *bone graft* yang biasanya digunakan pada kerusakan 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.

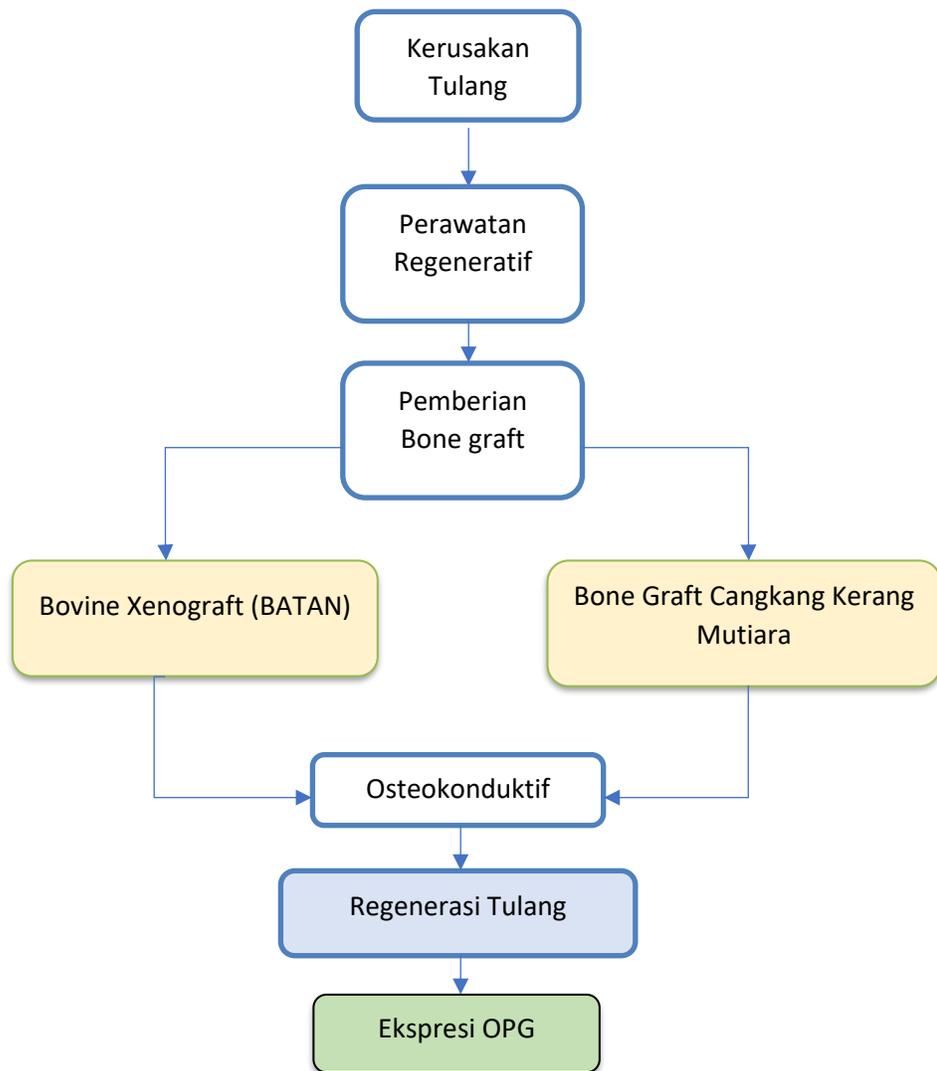
Cangkang kerang mutiara mampu memfasilitasi proliferasi osteoblas, mempercepat produksi matriks ekstraseluler, dan mineralisasi. Salah satu kandungan dari cangkang kerang mutiara ini adalah kalsium pirofosfat ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$). Kalsium pirofosfat mampu meningkatkan osteokonduktivitas, 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 merupakan suatu proses yang mencakup proses 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



Keterangan:

-  = Variabel Bebas
-  = Variabel Antara
-  = Variabel Terikat

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

Penelitian ini tidak melihat base line, kontrol negatif merupakan defek artifisial yang dibuat pada hewan coba.