

**EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*)
KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL
OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

TESIS



OLEH:

**FIRMAN SALAM
J035201002**

PEMBIMBING:

1. Prof. DR .Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
2. Prof. DR . drg, Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K)

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

**MAKASSAR
2022**

**EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*)
KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL
OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

TESIS



OLEH:

**FIRMAN SALAM
J035201002**

PEMBIMBING:

1. Prof. DR .Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
2. Prof. DR . drg, Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K)

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

**MAKASSAR
2022**

**EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG
(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:

FIRMAN SALAM
J035201002

Pembimbing:

1. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K)
2. Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K)

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

2022

**EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*)
KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL
OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)**

OLEH:


**FIRMAN SALAM
J035201002**


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

Makassar, 20 Oktober 2022

Pembimbing 1

Pembimbing 2



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


Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp.Perio (K)
Nip. 195811101986091002

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)

DDPGS Periodonsia FKG-UNHAS


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



PENGESAHAN UJIAN TESIS

EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*)
KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL
OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

OLEH:

FIRMAN SALAM
J035201002

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

Makassar, 20 Oktober 2022

Pembimbing 1



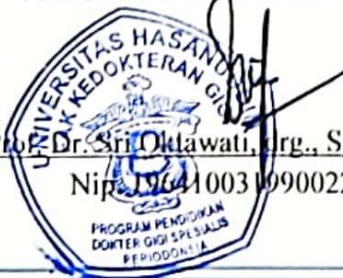
Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 196410031990022001

Pembimbing 2



Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp.Perio (K)
Nip. 19581110 198609 1 002

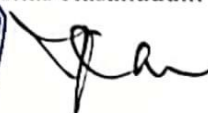
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS



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



Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



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

TESIS

EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG (Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

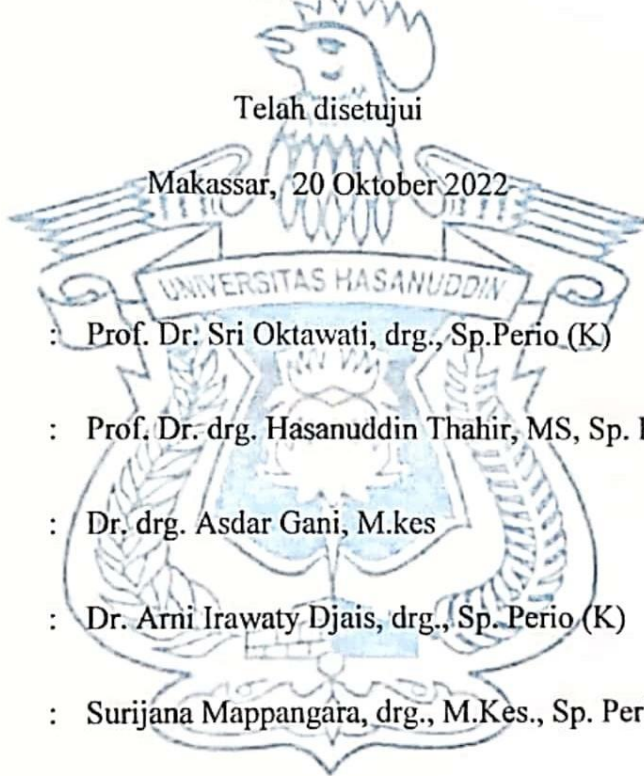
OLEH:

FIRMAN SALAM

J035201002

Telah disetujui

Makassar, 20 Oktober 2022



- | | | |
|------------------|---|---------|
| 1. Pembimbing I | : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K) | : |
| 2. Pembimbing II | : Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K) | : |
| 3. Penguji I | : Dr. drg. Asdar Gani, M.kes | : |
| 4. Penguji II | : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio (K) | : |
| 5. Penguji III | : Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp. Perio(K) | : |

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

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nid: 190410031990022001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Firman Salam

NIM : J035201002

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



Firman Salam

KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT karena limpahan rahmat dan rezeki-Nya lah sehingga penulis dapat menyelesaikan thesis yang berjudul “**Efektivitas Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) Kombinasi Platelet Rich Fibrin Terhadap level Osteocalcin (OCN) Pada Regenerasi Tulang**”.

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 tesis yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, bimbingan, dukungan serta arahan selama penulis menempuh pendidikan di PPDGS Periodonsia.
4. **Drg. Surijana Mappangara, M.Kes.,Sp.Perio (K)** sebagai Penasehat Akademik yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi demi kelancaran penyelesaian pendidikan di PPDGS Periodonsia.

5. **Prof. DR. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)** dan **Prof. DR. drg., Hasanuddin Thahir, MS.,Sp.Perio (K)** sebagai pembimbing yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
6. **Dr.drg. Asdar Gani, M.Kes.** dan **Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)** sebagai penguji I dan II yang telah banyak memberikan arahan, masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini.
7. **drg. Supiaty, M.Kes.** **Dian Setyawati, drg., Sp.Perio (K)** dan **Sitti Raodah Juanita Ramadhan, drg., Sp. Perio** sebagai dosen Departemen Periodonsia yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan dukungan selama proses pendidikan.
8. 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.
9. Orang tuaku tercinta **Abd Salam, S.Sos** dan ibu **Hj. Emmywati** atas segala doa, yang tidak dapat tergantikan dengan apapun dan selalu memberikan yang terbaik untuk anak-anaknya.
10. Anakku tercinta **Aliyah Maisarah Firman** yang menjadi penyemangat
11. Kepada Angkatan **SOJU (SO7)**, teman seperjuangan suka dan duka kak Amma, kak Joy, kak Adha, kak Cici, kak Syta, dan Dante yang selalu membantu, mendukung, dan memberi semangat selama menempuh pendidikan

12. Kepada senior Sigma dan adek adek junior Nemesix, Dextra, Phenom, Phoenix yang telah memberi dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan
13. Staf pegawai kak Bia dan Mirna, serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam segala hal kepada penulis dalam menyelesaikan penyusunan tesis ini. Penulis memohon maaf jika tidak dapat menyebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga tesis ini bermanfaat bagi pembaca dan masyarakat luas serta berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran gigi.

Makassar, 20 Oktober 2022



Firman Salam

EFEKTIVITAS CANGKANG KERANG MUTIARA (*PINCTADA MAXIMA*) KOMBINASI DENGAN *PLATELET RICH FIBRIN* TERHADAP LEVEL OSTEOCALCIN (OCN) PADA REGENERASI TULANG
(Studi *In Vivo* pada defek femur marmut jantan)

ABSTRAK

Latar Belakang : Cangkang kerang mampu memfasilitasi proliferasi osteoblast, mempercepat produksi matriks ekstraseluler dan mineralisasi. Platelet-Rich Fibrin (PRF) dapat menyebabkan proliferasi sel sehingga dapat menstimulasi penyembuhan disekitar area luka. Kombinasi antara bone graft dan PRF dipandang dapat mampu mengatasi kerusakan jaringan periodontal. Salah satu tanda regenerasi tulang adalah adanya peningkatan ekspresi osteocalcin.

Bahan dan Metode : pembuatan bubuk cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) melalui metode presipitasi. Pengujian bahan dilakukan pada marmot jantan sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negative tanpa aplikasi bone graft, kelompok kontrol positif menggunakan bovine xenograft (BATAN), dan kelompok perlakuan diberikan bonegraft yang mengandung hidroksiapatit bubuk cangkang kerang mutiara dan dikombinasikan dengan PRF. Setiap kelompok perlakuan dibagi berdasarkan waktu pengamatan yaitu hari ke 14 dan 21. Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan SPSS Statistic dengan nilai signifikan $p < 0.05$.

Hasil : Hasil analisa data menunjukkan adanya ekspresi OCN sangat bermakna pada hari 14. Tetapi pada hari ke 21 perbedaan ini sudah tidak bermakna. Kontrol negative baru mengalami peningkatan pada hari 21. Walaupun tidak terlalu bermakna tetapi kita dapat membedakan kelompok negative dan perlakuan OCN terlihat naik pada hari 14 dan 21.

Pembahasan : bone graft yang mengandung cangkang kerang Mutiara dan dikombinasikan dengan PRF telah terbukti bermanfaat dalam proses regenerasi tulang. Hal ini terlihat pada level OCN hari 14 pada kelompok perlakuan yang terlihat lebih tinggi dibanding kelompok negative dan positif.

Kesimpulan : Kombinasi hidroksiapatit cangkang kerang Mutiara dengan PRF dapat meningkatkan level OCN pada regenerasi tulang

Kata Kunci : Hidroksiapatit, Osteocalcin, Platelet-Rich Fibrin, Cangkang kerang, bone graft.

**EFFECTIVENESS OF PEARL Shells (PINCTADA MAXIMA)
COMBINATION WITH PLATELET RICH FIBRIN ON OSTEOCALCIN
(OCN) LEVELS IN BONE REGENERATION**

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

ABSTRACT

Background: Shellfish can facilitate osteoblast proliferation, accelerate the production of extracellular matrix and mineralization. Platelet-Rich Fibrin (PRF) can cause cell proliferation so that it can stimulate healing around the wound area. The combination of bone graft and PRF is seen to be able to overcome the damage to the periodontal tissue. One sign of bone regeneration is an increase in osteocalcin expression.

Materials and Methods: manufacture of pearl shell powder (Pinctada Maxima) through the precipitation method. Material testing was carried out on 30 male guinea pigs which were divided into 3 groups. The negative control group did not apply bone grafts, the positive control group used bovine xenograft (BATAN), and the treatment group was given bonegraft containing pearl oyster shell powder hydroxyapatite and combined with PRF. Each treatment group was divided based on the time of observation, namely the 14th and 21st days. The research data were then analyzed using SPSS Statistics with a significant value of $p < 0.05$.

Results: The results of data analysis showed that there was very significant OCN expression on day 14. However, on day 21 this difference was no longer significant. The new negative control increased on day 21. Although it was not very significant, we could distinguish the negative group and the OCN treatment seemed to increase on days 14 and 21.

Discussion: bone graft containing pearl shells and combined with PRF has been proven to be beneficial in the process of bone regeneration. This can be seen in the OCN level on day 14 in the treatment group which looks higher than the negative and positive groups.

Conclusion: The combination of pearl oyster shell hydroxyapatite with PRF can increase OCN levels in bone regeneration

Keywords: Hydroxyapatite, Osteocalcin, Platelet-Rich Fibrin, Shellfish, bone graft.

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	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Penyakit periodontal	9
2.2 Tulang	10
2.3 Osteocalcin	16
2.4 Bone Graft	17
2.5 Cangkang Kerang Mutiara	20
2.6 Platelet Rich Fibrin	24
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA	29
3.1 Kerangka Teori	29
3.2 Kerangka Konsep	32
3.3 Hipotesa	33

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	34
4.1 Rancangan Penelitian	34
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	34
4.2.1 Waktu Penelitian	34
4.2.2 Lokasi Penelitian	34
4.3 Identifikasi variable penelitian dan defenisi operasional penelitian.....	35
4.3.1 Identifikasi variable penelitian.....	35
4.3.2 Defenisi operasional.....	35
4.4 Populasi dan Teknik Sampel.....	35
4.4.1 Populasi Penelitian	35
4.4.2 Sampel Penelitian... ..	36
4.4.3 Besar sampel penelitian.....	36
4.5 Persiapan dan Tahapan Penelitian	37
4.5.1 Persiapan Penelitian	37
4.5.2 Prosedur Penelitian	41
4.6 Analisa Data	48
4.7 Etika Penelitian	48
4.8 Alur Penelitian	49
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	50
5.1 Hasil Penelitian	50
5.2 Pembahasan	56
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	60
6.1 Kesimpulan	60
6.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Defek osseus.....	10
Gambar 2	Pemeriksaan dengan mikrograf cahaya.....	12
Gambar 3	Remodelling tulang fisiologis.....	13
Gambar 4	Karakteristik cangkang kerang <i>Pinctada margaritifera</i>	21
Gambar 5	Spektrum FTIR Hidroksiapatit.....	51
Gambar 6	Grafik rata-rata level OCN pada pengamatan Elisa hari 14 dan 21.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Sintesis Penelitian.....	22
Tabel 2 Rata-rata jumlah perbandingan level OCN senua kelompok perlakuan pada pengamatan Elisa.....	54
Tabel 3 Hasil uji one way Anova dan uji Kruskal Wallis perbandingan rerata level OCN antara kelompok kontrol negative, kelompok uji dan kontrol positif pada hari 14 dan 21	55

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan penyakit pada rongga mulut yang paling sering terjadi pada manusia. Data *The Global Burden of Disease Study* menyebutkan bahwa penyakit periodontal menjadi urutan ke-11 dari penyakit yang paling banyak terjadi di dunia. Sedangkan menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 bahwa keluhan gusi bengkak dan/atau keluar bisul (abses) dialami oleh sekitar 14% penduduk Indonesia. Masalah kesehatan gigi dan mulut khususnya penyakit periodontal dapat menimbulkan dampak yang serius dalam kehidupan sehari-hari seperti kesulitan mengunyah, berbicara, dan bahkan menyebabkan hilangnya gigi. Pasarelli dkk menyatakan bahwa 52,2% kehilangan gigi disebabkan oleh karena karies, dimana 35,7% karena penyakit periodontal, hanya 6,9% oleh karena masalah endodontik, 2,9% pencabutan karena indikasi prostetik, dan 2,3% oleh karena kegagalan perawatan sebelumnya.^{1,2}

Infeksi jaringan periodontal yang ditandai dengan terjadinya resorpsi jaringan baik tulang alveolar hingga sementum sehingga mengakibatkan hilangnya gigi disebut periodontitis. Infeksi ini dapat menyebabkan kerusakan (defek) pada tulang, yang tidak merata dan kompleks. Tinggi tulang ataupun kepadatan tulang berkurang ketika resorpsi melampaui formasi. Untuk itu, dibutuhkan suatu terapi

regeneratif yang dapat mempercepat penyembuhan dan pembentukan tulang karena regenerasi spontan tidak selalu terjadi.³

Teknologi biomedis yang dikembangkan untuk membantu regenerasi anggota tubuh dan tidak dapat diperbaiki sendiri oleh jaringan biasa disebut dengan rekayasa jaringan.³ Perkembangan pesat penelitian dalam bidang biomolekuler saat ini mendorong pemanfaatan sumber daya laut sebagai bahan dasar pengobatan dari bahan kimia, diyakini dapat memberikan hasil perawatan yang lebih baik.^{4,5}

Bone graft merupakan salah satu bahan rekayasa jaringan yang berfungsi untuk meregenerasi jaringan periodontal. *Bone graft* digunakan untuk merekonstruksi defek *intraosseous* yang terbentuk akibat adanya penyakit periodontal. *Bone graft* dapat membantu regenerasi tulang melalui tiga metode yaitu osteoinduktif, osteokonduktif, dan osteogenesis. Secara garis besar terdapat empat macam *bone graft* yaitu *autograft*, *allograft*, *xenograft* dan material sintesis *alloplastic*. Autograft masih menjadi pilihan utama dalam merestorasi defek tulang, namun bahan ini masih sangat terbatas sehingga dibutuhkan bahan *bone graft* pengganti yang dapat membantu regenerasi tulang.^{6,7,8} Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai bahan *bone graft* adalah hidroksiapatit.

Hidroksiapatit telah secara luas digunakan untuk implant biomedis, operasi jaringan keras, regenerasi tulang, memperbaiki, mengisi, memperluas dan merekonstruksi jaringan tulang rusak. Bahan yang dapat digunakan untuk membuat hidroksiapatit banyak ditemukan di alam, misalnya batu kapur, cangkang

telur, batu karang, dan cangkang kerang.⁹ Penelitian awal terhadap cangkang kerang dilakukan sejak adanya penemuan implan gigi pada tulang tengkorak suku Mayan. Cangkang kerang mutiara termasuk dalam filum moluska.¹⁰ “Nacre” biasa disebut “mother of pearl” merupakan bagian dari cangkang kerang yang memiliki kandungan utama kalsium karbonat dalam bentuk kristal *aragonite*.⁴ Struktur khusus dari *nacre pinctada* tersusun dari dinding berbentuk seperti bata yang mengandung tablet *aragonite pseudoheksagonal* dengan ketebalan sekitar 0,5 mm dan diameter 5-15 mm. Tablet tersebut diatur dalam lamina paralel dan dipisahkan oleh lembaran *interlamellar* matriks organik. Partikuler mikro dan komponen organik berlapis menyebabkan *nacre* cangkang kerang dapat memberikan tegangan tekanan yang sangat baik dan lebih baik dibandingkan tulang.¹¹ Cangkang kerang mampu memfasilitasi proliferasi osteoblas, mempercepat produksi matriks ekstraseluler, dan mineralisasi. Selain itu, cangkang kerang juga terdiri dari bahan inorganik dan organik sehingga memiliki struktur dasar mirip tulang⁴. Oleh karena itu cangkang kerang menjadi bahan pengganti tulang yang cukup menjanjikan.¹²

Penelitian *in vivo* yang dilakukan Lamghari dkk¹³ menunjukkan aktivitas osteogenik dari cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) dengan terbentuknya tulang baru pada defek tulang belakang kelinci dan domba. Sementara, pada penelitian *in vivo* oleh Lio H dkk¹⁴ yang menggunakan cangkang kerang *Margaritifera*, cangkang kerang diproses dalam bentuk *granule* dan diimplantasi pada otot belakang dan paha 72 ekor tikus. Pada penelitian ini diperoleh hasil

signifikan yang menunjukkan sifat biokompatibel dan osteokonduktif dari cangkang kerang. Asvanund¹⁵ membandingkan efek osteogenik cangkang kerang dan β -TCP pada sel tulang babi dan menemukan pembentukan sel tulang baru yang dilihat dari meningkatnya ekspresi *Alkaline Phosphatase* (ALP), *Bone Sialoprotein* (BSP), dan *Osteocalcin* (OC) tanpa adanya jaringan fibrous pada penelitian dengan menggunakan cangkang kerang *Pinctada Maxima*.

Miller¹³ menempatkan *nacre* cangkang kerang kedalam epifisis paha domba, menunjukkan kemampuan *nacre* dalam mendukung regenerasi jaringan tulang dengan membentuk lapisan kaya sel osteoprogenitor dan dalam 10 bulan, dimana terjadi pembentukan tulang baru tanpa adanya reaksi negatif pada tubuh. Penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Green¹² dengan melakukan pengamatan pada *chip nacre* kerang mutiara *Pinctada Maxima* yang di kultur pada sel sumsum tulang manusia, diperoleh peningkatan ekspresi ALP yang menunjukkan *nacre* mempengaruhi tahap awal differensiasi sel tulang manusia.

Penyembuhan jaringan keras dan jaringan lunak dimediasi oleh sel intraseluler dan ekstraseluler yang diatur oleh kode protein. Platelet yang berperan dalam penyembuhan luka melalui pembentukan bekuan darah dan pelepasan *growth factor* yang mengatur penyembuhan luka. Platelet rich fibrin (PRF) merupakan generasi kedua dari konsentrasi platelet yang melepaskan membran kaya fibrin, platelet, dan *growth factor*. Platelet rich fibrin mirip dengan jaringan fibrin yang menyebabkan migrasi dan proliferasi sel. Banyak *growth factor* dan *transforming growth factor* yang dilepaskan dari PRF. Penelitian terbaru

menunjukkan bahwa PRF memiliki pelepasan *growth factor* yang sangat signifikan, yang artinya PRF menstimulasi penyembuhan disekitar area luka agar mempercepat proses penyembuhan.^{16,17}

Platelet rich fibrin dapat meregulasi inflamasi dan menstimulasi proses imun kemotaksis. Platelet tersebut merupakan suatu bahan autologus yang mengeliminasi risiko penularan penyakit; selain itu konsistensinya yang seperti jelly lebih stabil sebagai bahan graft. Bahan alami ini nampaknya selaras dengan penyembuhan luka secara fisiologis, karena selain dapat menyatu dengan tulang, juga dapat meningkatkan pembentukan tulang baru. Beberapa keuntungan PRF adalah sederhana dan protokolnya mudah, terdiri dari sejumlah besar fibrin, platelet dan leukosit, serta meningkatkan angiogenesis, penggandaan fibroblas dan osteoblas serta sikatrik.¹⁸ Kombinasi antara bone graft dan PRF dipandang dapat mampu mengatasi kerusakan jaringan periodontal.

Salah satu tanda regenerasi tulang adalah adanya peningkatan ekspresi osteocalcin. Osteocalcin (OCN), komponen penting dari matriks ekstraseluler tulang adalah protein non-kolagen yang paling banyak ditemukan pada tulang. Komponen ini pertama kali diekstraksi dari tulang ayam dan sapi, berikatan dengan Ca^{2+} , dan mengandung 3 residu -Gla oleh Hauschka dan Price pada 1970-an. Pada modifikasi pascatranslasi, tiga residu glutamil (Glu) dikarboksilasi oleh -glutamil karboksilase (GGCX) yang bergantung pada vitamin K, yang menyebabkan perubahan konformasi, menstabilkan bagian -heliks protein, dan memberikan afinitas yang lebih besar untuk Ca^{2+} dan hidroksiapatit (HA).¹⁹

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti efektifitas bahan cangkang tulang dari cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) terhadap level Osteocalcin pada *cavia porcellus* melalui pemeriksaan ELISA karena belum pernah dilakukan sebelumnya, dimana hal tersebut akan meningkatkan dan mempercepat proses osteogenesis pada regenerasi tulang.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) kombinasi platelet rich fibrin dapat meningkatkan level osteocalcin pada regenerasi tulang?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) kombinasi Platelet Rich Fibrin terhadap proses regenerasi tulang *cavia porcellus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui level osteocalcin setelah aplikasi *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) dan kombinasi platelet rich fibrin pada defek tulang *cavia porcellus*.
2. Untuk mengetahui perbandingan efektivitas aplikasi *bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) dan

kombinasi platelet rich fibrin terhadap placebo gel dan *bovine xenograft* pada defek tulang *cavia porcellus*.

1.3. Manfaat Penelitian

- a. Memberikan kontribusi pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan PRF pada bidang periodontal.
- b. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi cangkang kerang Mutiara (*pinctad maxima*) dengan PRF terhadap ekspresi osteocalcin.
- c. Memberikan informasi tentang pemanfaatan cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*), sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang.
- d. Melalui penelitian ini, cangkang kerang mutiara dapat menjadi alternatif dalam pemilihan bahan graft yang murah, mudah diperoleh, dan efektif untuk regenerasi jaringan tulang.
- e. Dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya mengenai penggunaan cangkang kerang mutiara dalam meregenerasi tulang.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit Periodontal

Jaringan periodontal terdiri dari jaringan lunak dan keras dan memiliki gambaran unik karena jaringan lunak tersebut berada dalam kontak dekat dengan jaringan yang terkalsifikasi dan selalu terdapat biofilm di sekitarnya.²⁰ Penyakit periodontal atau biasa disebut periodontitis merupakan kelainan yang sering dijumpai dan terjadi pada manusia dengan faktor resiko yang berperan terhadap gangguan fungsi pengunyahan dan hilangnya gigi geligi. Berdasarkan data epidemiologi sekitar 10% orang dewasa di Negara maju menderita penyakit periodontitis lanjut, sedangkan sekitar 44-57% mengalami periodontitis ringan. Hal tersebut menunjukkan bahwa angka kesakitan akibat penyakit periodontal terjadi hampir di seluruh dunia.²¹

Ketinggian dan kepadatan tulang alveolar secara normal diatur oleh keseimbangan regulasi oleh efek lokal dan sistemik antara pembentukan tulang dan resorpsi tulang. Ketika resorpsi melampaui formasi maka baik tinggi tulang atau kepadatan tulang berkurang. Penyebab terbesar kerusakan tulang pada penyakit periodontal adalah perluasan inflamasi dari margin gingiva sampai ke jaringan periodontal. Resorpsi tulang alveolar berhubungan dengan penyakit periodontal yang terjadi pada keseluruhan permukaan gigi, serta dapat dilihat pada pemeriksaan radiografis.²²

Kehilangan tulang yang disebabkan oleh periodontitis berupa defek osseus dapat berbentuk tunggal atau kombinasi yang berbeda. Defek osseus didefinisikan sebagai perubahan morfologi tulang alveolar. Defek ini dapat terbentuk secara normal (variasi anatomis) atau disebabkan oleh penyakit (Gambar 1). Normalnya puncak tulang alveolar terletak antara 0,4 hingga 1,97 mm terhadap cementoenamel junction (CEJ), sehingga apabila jarak ini lebih besar maka telah terjadi kehilangan tulang alveolar.²³



Gambar 1. Defek Osseus²³

2.2. Tulang

2.2.1. Komponen Matriks Tulang

Pembentukan tulang dimulai dengan migrasi sel mesenkim yang berasal dari garis keturunan embrionik ke lokasi tulang masa depan. Pada lokasi tersebut, sel mesenkim membentuk kondensasi kepadatan seluler tinggi yang menguraikan bentuk dan ukuran tulang masa depan, yaitu identitas anatomi elemen kerangka

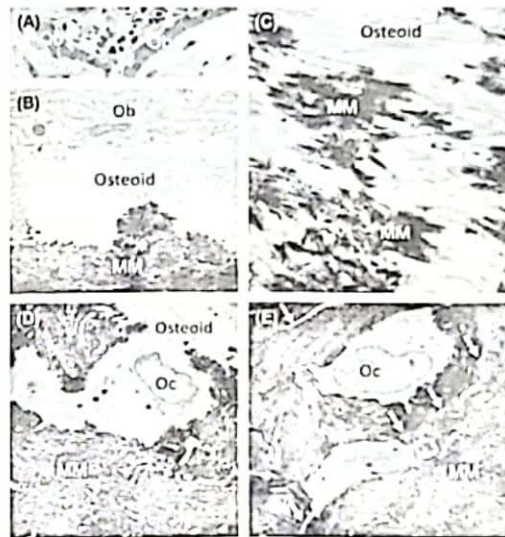
telah ditentukan sebelumnya. Dalam kondensasi, sel-sel mesenkim berdiferensiasi menjadi kondrosit dan membentuk model tulang rawan (Anlagen) dari tulang masa depan (pembentukan tulang endokondral) atau berdiferensiasi menjadi osteoblas untuk langsung membentuk tulang (pembentukan tulang intramembran).²⁴

Matriks tulang terdiri dari serat kolagen tipe I (terdiri dari dua rantai $\alpha 1$ dan satu rantai $\alpha 2$) dan protein nonkolagen dan mewakili sekitar 90% dari komposisi organik seluruh jaringan tulang. Kristal hidroksiapatit $[3Ca_3(PO_4)_2 \cdot (OH)_2]$ ditemukan pada serat kolagen dan dalam matriks, serta cenderung berorientasi pada arah yang sama dengan serat kolagen. Peran komponen protein nonkolagen yang ada dalam matriks tulang belum sepenuhnya dapat dijelaskan. Protein nonkolagen utama yang dihasilkan adalah osteocalcin (Gla protein), yang berperan dalam pengikatan kalsium, stabilisasi hidroksiapatit dalam matriks, dan regulasi pembentukan tulang. Protein gla adalah pengatur negatif pembentukan tulang, yang tampaknya menghambat mineralisasi prematur atau tidak tepat. Sebaliknya, biglycan, suatu proteoglikan, diekspresikan dalam matriks tulang dan secara positif mengatur pembentukan tulang.²⁵

2.2.2 Remodeling Tulang

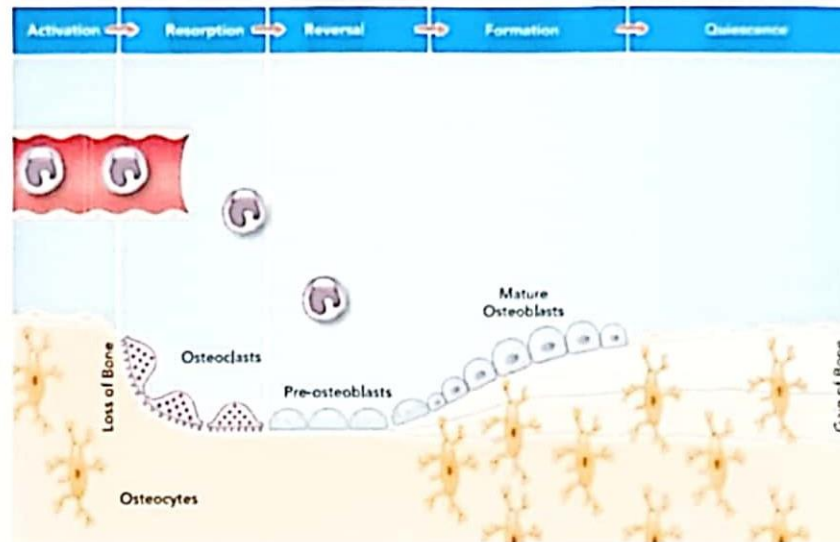
Remodeling tulang adalah proses kompleks dimana tulang tua terus menerus digantikan oleh jaringan baru, membutuhkan interaksi antara fenotipe sel yang berbeda dan diatur oleh berbagai faktor biokimia dan mekanik. Remodeling memungkinkan pemeliharaan bentuk, kualitas, dan ukuran tulang. Hal ini dicapai

melalui perbaikan mikro dan modifikasi struktur dalam menanggapi stres dan kekuatan biomekanik lainnya. Proses ini dicirikan oleh aksi terkoordinasi dari osteoid, osteoklas dan osteoblas, yang diatur dalam unit multiseluler tulang (BMU) yang mengikuti urutan kejadian aktivasi-resorpsi-pembentukan (gambar 2).^{25,26} BMU bertahan lebih lama dari umur osteoblas dan osteoklas di dalamnya dan karenanya membutuhkan pengisian terus-menerus dari sel-sel ini yang dikontrol secara kritis oleh osteosit.²⁷



Gambar 2. Pemeriksaan dengan mikrograf cahaya (A) dan elektron transmisi (BeE) menunjukkan sel-sel tulang garis turunan osteoblas (osteoblas, Ob; osteosit, Oc), matriks ekstraseluler tulang yang tidak termineralisasi (Osteoid), dan matriks termineralisasi (MM) tulang. (A) Osteoblas berbentuk kubus berjajar pada pembentukan permukaan tulang, dengan beberapa menjadi tergabung ke dalam tulang sebagai osteosit. (B, C) Osteoblas mensekresikan lapisan matriks ekstraseluler yang kaya serat kolagen yang dikenal sebagai osteoid yang di daerah yang lebih dalam menunjukkan tambalan matriks termineralisasi. (D, E) Beberapa osteoblas menjadi terperangkap di dalam matriks ekstraseluler yang akhirnya menjadi tertanam di dalam tulang yang termineralisasi sebagai osteosit. Proses sel osteosit meluas ke matriks tulang termineralisasi dalam saluran kecil yang disebut kanalikuli (panah).²⁶

Siklus remodeling terjadi dengan cara yang sangat teratur dan stereotipik dengan lima langkah yang tumpang tindih yaitu aktivasi, resorpsi, pembalikan (reversal), pembentukan (formasi), dan terminasi yang terjadi selama 120-200 hari di tulang kortikal dan trabekula (gambar 3).²⁷



Gambar 3. Remodeling tulang fisiologis. Remodeling tulang mengikuti koordinasi fase-fase proses yang berbeda dan berurutan. Siklus remodeling terdiri dari lima fase berurutan, yaitu aktivasi, resorpsi, pembalikan, pembentukan, dan terminasi.²⁸

1. Fase Aktivasi

Fenomena pertama yang terjadi adalah aktivasi permukaan tulang sebelum resorpsi, melalui retraksi sel-sel lapisan tulang (osteoblas matur memanjang yang ada pada permukaan endosteal) dan digestivasi membran endosteal oleh aksi kolagenase. Tahap “aktivasi” awal melibatkan perekrutan dan aktivasi prekursor osteoklas mononuklear monosit-makrofag dari sirkulasi yang menghasilkan

interaksi sel-sel prekursor osteoklas dan osteoblas. Ini mengarah pada diferensiasi, migrasi, dan fusi dari osteoklas berinti banyak. Sel-sel ini menempel pada permukaan tulang yang termineralisasi dan memulai resorpsi oleh sekresi ion hidrogen dan enzim lisosom, khususnya cathepsin K, yang dapat mendegradasi semua komponen matriks tulang, termasuk kolagen, pada pH rendah.²⁹

2. Fase Resorpsi

Osteoklas kemudian mulai melarutkan matriks mineral dan menguraikan matriks osteoid. Proses ini diselesaikan oleh makrofag dan memungkinkan pelepasan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam matriks, yang secara fundamental mengubah faktor pertumbuhan- β (TGF- β), faktor pertumbuhan yang diturunkan dari trombosit (PDGF), dan faktor pertumbuhan seperti insulin I dan II. (IGF-I dan II). Resorpsi osteoklastik menghasilkan rongga bergigi tidak teratur pada permukaan tulang trabekula, yang disebut lakuna Howship, atau kanal Haversian silindris di tulang kortikal. Resorpsi tulang yang dimediasi osteoklas hanya membutuhkan waktu sekitar 2-4 minggu selama setiap siklus remodeling.²⁹

3. Fase Reversal

Selama fase reversal, resorpsi tulang bertransisi ke pembentukan tulang. Pada penyelesaian resorpsi tulang, sehingga rongga resorpsi mengandung berbagai sel mononuklear, termasuk monosit, osteosit yang dilepaskan dari matriks tulang, dan preosteoblas, yang direkrut untuk memulai pembentukan tulang baru. Sinyal

kopling yang menghubungkan akhir resorpsi tulang ke awal pembentukan tulang masih belum diketahui, tetapi kandidat sinyal kopling yang diusulkan termasuk faktor yang diturunkan dari matriks tulang seperti TGF- β , IGF-1, IGF-2, Bone Morphogenetic Protein, PDGF, atau faktor pertumbuhan fibroblast.²⁹

4. Fase Formasi

Setelah osteoklas menyerap rongga tulang, mereka melepaskan diri dari permukaan tulang dan digantikan oleh sel-sel garis keturunan osteoblas yang pada memulai pembentukan tulang. Fenomena pengelompokan preosteoblas diproduksi dan ditarik oleh faktor pertumbuhan yang dibebaskan dari matriks yang bertindak sebagai kemotaktik dan selain itu merangsang proliferasi osteoblas. Preosteoblas mensintesis zat *cementing* di mana jaringan baru melekat dan mengekspresikan protein morfogenik tulang (BMP) yang bertanggung jawab untuk diferensiasi. Beberapa hari kemudian, osteoblas yang sudah berdiferensiasi mensintesis matriks osteoid yang mengisi area perforasi (rongga resorpsi). Osteoblas yang tersisa terus mensintesis tulang sampai akhirnya berhenti dan berubah menjadi sel-sel pelapis diam yang sepenuhnya menutupi permukaan tulang yang baru terbentuk dan terhubung dengan osteosit dalam matriks tulang melalui jaringan kanalikuli.²⁹

5. Fase Terminasi

Setelah mineralisasi selesai, osteoblas mengalami apoptosis, berubah menjadi sel-sel pelapis tulang atau menjadi terkubur dalam matriks tulang dan akhirnya berdiferensiasi menjadi osteosit.²⁷

2.3 Osteocalcin

Osteocalcin adalah protein matriks kecil yang disintesis oleh osteoblas dan trombosit. Osteocalcin mewakili 15% dari protein matriks non-kolagen dan mengandung 3 molekul asam -karboksiglutamat dan bergantung pada vitamin D dan K. Kadar plasma telah dianggap sebagai salah satu penanda biokimia osteogenesis, yang terkait dengan jumlah dan aktivitas osteoblas.³⁰

Osteocalcin merupakan protein non-kolagen yang terdapat paling banyak dalam tulang dan diproduksi sel osteoblast. Osteocalcin berperan penting dalam proses mineralisasi dan proses homeostasis ion kalsium. Pemeriksaan osteocalcin sering dipakai sebagai biomarker awal pada pengobatan obat pembentuk tulang dan untuk menilai efektivitas hasil pengobatan. Hasil pemeriksaan osteocalcin cukup akurat dan stabil dalam menilai proses pembentukan tulang.³¹

Osteocalcin disebut juga Gla-protein tulang merupakan protein pengikat kalsium yang kecil dari tulang, dan protein nonkolagen yang paling melimpah dari jaringan termineralisasi. Osteocalcin Sebagian besar disintesis oleh osteoblast, odontoblast, dan kondrosit hipertrofik dan memiliki peran penting dalam resorpsi tulang dan mineralisasi. Serum osteocalcin saat ini dianggap sebagai penanda yang valid dari pergantian tulang ketika resorpsi dan pembentukan digabungkan.³²

2.4 Bone Graft

Bone graft atau cangkok tulang dikenal sebagai teknik operasi untuk mengganti tulang yang hilang atau rusak menggunakan material bahan cangkok tulang. Material bahan cangkok tulang yang ideal harus memiliki potensi untuk mempertahankan sel tetap hidup, tidak menimbulkan reaksi imunologik, mudah didapat, memberi kekuatan sekeliling tulang, dan tidak menyebarkan penyakit. Bahan cangkok tulang yang ideal adalah bahan yang bersifat biokompatibel, *bioabsorbable*, osteokonduktif, osteoinduktif, strukturnya sama dengan tulang, mudah digunakan, dan murah. Bahan cangkok tulang terbagi atas autograft, allograft, dan xenograft. Penggunaan bahan cangkok didasarkan pada asumsi sebagai bahan regeneratif yang memiliki potensi osteogenik (mengandung sel pembentuk tulang), bersifat osteoinduksi (mengandung substansi induksi tulang), atau osteokonduksi (membentuk scaffold pada formasi tulang). Bahan cangkok tulang merupakan jaringan yang diharapkan dapat hidup pada inang setelah ditanam dan ikut dalam proses regenerasi. Bahan cangkok harus mampu menyatu dalam proses penyembuhan sehingga dapat berfungsi alami.³³⁻³⁵

1. Osteokonduktif

Osteokonduktif berhubungan dengan kemampuan bahan bone graft untuk mendukung perlekatan dan pembentukan serta deposisi matriks tulang. Osteoinduktif dimaksudkan untuk template sel prekursor osteogenik untuk berdiferensiasi menjadi sel yang akan membentuk tulang. Dengan demikian model scaffold harus mampu merekrut sel progenitor ataupun stem untuk

penyembuhan daerah tulang di mana mereka akhirnya akan berdiferensiasi menjadi matriks ekstraseluler yang disekresi oleh osteoblas. Scaffold harus mempunyai integritas mekanis, biodegradabilitas, biocompatibilitas dan porositas yang akan menyebabkan pertumbuhan jaringan dalam tulang.³⁶ Sifat osteokonduksi akan berperan sebagai media bagi sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dalam tulang atau sebagai penyedia dan membantu vaskularisasi serta menyiapkan migrasi dari sel host baru dengan aktivitas osteogenik.³⁷

2. Osteogenik

Bone graft memiliki kemampuan osteogenik yang akan mendukung proses osteogenesis. Osteogenesis merupakan proses sintesis tulang baru oleh sel-sel donor yang berasal dari host maupun dari donor. Sel-sel yang terlibat dalam proses ini termasuk MSC, osteoblas dan osteosit. Hanya cangkok autologus segar dan cangkok sumsum tulang, auto atau allo-graft, yang biasanya terlibat dalam proses ini. Sel yang direkrut untuk osteogenesis dapat ditransplantasikan dari tempat lain dalam tubuh. Osteogenesis terjadi ketika osteoblas yang berasal dari bahan bone graft berkontribusi pada pertumbuhan tulang baru bersama dengan pertumbuhan tulang yang dihasilkan melalui mekanisme lainnya.^{38,39}

3. Osteoinduktif

Osteoinduktif berarti proses bone grafting berasal dari dalam dengan menyediakan protein dalam prosesnya dan dapat membantu menginduksi

proses penyembuhan tulang. Osteoinduksi melibatkan stimulasi sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas yang kemudian memulai pembentukan tulang baru. Jenis mediator sel osteoinduktif yang paling banyak dipelajari adalah protein morfogenetik tulang (BMP). Bahan cangkok tulang yang osteokonduktif dan osteoinduktif tidak hanya akan berfungsi sebagai perancah untuk osteoblas yang ada saat ini tetapi juga akan memicu pembentukan osteoblas baru, yang secara teoritis mendorong integrasi cangkok yang lebih cepat.⁴⁰

2.4.1 Allograft

Tulang allograft adalah pengganti tulang yang paling sering dipilih pengganti tulang dan pilihan terbaik berikutnya untuk autograft bone. Selama dekade ini, penggunaan allografts pada manusia telah meningkat 15 kali lipat dan menyumbang sekitar sepertiga dari tulang cangkok dilakukan di Amerika Serikat. Tulang allograft bisa digunakan sebagai keripik tulang cancellous, sebagai tulang kortikal, dan sebagai cangkok osteokondral. Tulang kanselus allografts berfungsi buruk dibandingkan dengan cancellous autograft. Allografts cancellous merangsang respon imun dalam dua minggu pertama setelah operasi, yang menunda dan akhirnya menghancurkan osteoinduktif kemampuan cangkok. Osteokonduksi juga tertunda, karena pembuluh darah di allografts segar cepat tersumbat oleh sel-sel inflamasi. Tulang cancellous graft yang telah diawetkan, baik dengan pembekuan maupun pengeringan beku, tampaknya menggabungkan jauh lebih baik daripada allograft.⁴¹

2.4.2 Xenograft

Xenograft berasal dari spesies lain dan dianggap biokompatibel dan osteokonduktif. Preparat partikulat turunan sapi yang memiliki komponen organik dihapus menunjukkan regenerasi tulang yang sukses dalam berbagai studi augmentasi tulang manusia.³³

2.4.3 Autograft

Bone graft autogenous adalah transplantasi tulang yang diambil dari satu situs anatomi ke situs lain di tempat yang sama individu. graft mengandung sifat osteogenik (berasal dari sumsum tulang) sel osteoblastik serta sel prekursor preosteoblastik), sifat osteoinduktif (tulang nonkolagen) protein matriks, termasuk pertumbuhan faktor), dan sifat osteokonduktif (mineral tulang dan kolagen).³⁸

2.4.4 Alloplastic

Allografts diambil dari individu lain dari spesies yang sama dengan genotipe yang berbeda, seperti kadaver, kerabat, atau bank tulang. Persiapannya sering beku, beku-kering, iradiasi, atau demineralisasi. Pembekuan dan pengeringan beku tulang donor mengurangi antigenisitas cangkok.⁴²

2. 5 Cangkang Kerang Mutiara

Indonesia merupakan suatu negara yang terdiri atas banyak pulau yang memiliki sumberdaya perairan yang sangat berpotensi di dalamnya. Indonesia dengan negara kepulauannya memiliki keanekaragaman hayati yang tersebar hampir di seluruh bagian Indonesia. Luasnya wilayah perairan Indonesia tidak luput dari beragamnya spesies yang tersebar. Kerang mutiara (*Pinctada maxima*)

merupakan salah satu sumberdaya laut yang mampu menghasilkan mutiara dengan harga mahal dan digemari banyak orang untuk dijadikan perhiasan.⁴³

Karakteristik cangkang kerrang Mutiara *Pinctada margaritifera* berukuran besar, bulat secara garis besar, dengan katup kiri lebih cembung daripada katub kanan. Bagian luar berwarna hijau keabu-abuan dengan deretan sisik, dan bagian dalam pada permukaan nacre berwarna-warni keperakan, merah muda, merah atau hijau, sedangkan berwarna khas hitam pada margin prismatic.⁴⁴



Gambar 4: Karakteristik cangkang kerang *Pinctada margaritifera* ⁴³

Kadar kalsium tinggi yang terkandung pada kulit kerang, mendorong limbah kulit kerang dapat dimanfaatkan sebagai sumber kalsium alami. Cangkang kerang *Pinctada maxima* yang telah dikalsinasi menghasilkan senyawa kimia CaO dengan intensitas puncak difraktogram yang sangat tinggi. Limbah kulit kerang mengandung kalsium >50%.¹⁰

Hidroksiapatit (HAp) merupakan senyawa yang mengandung ion kalsium (Ca^{2+}) yang mengubah ion logam beracun dan menyerap unsur kimia organik

dalam tubuh. Senyawa ini banyak dimanfaatkan sebagai tempat tumbuh kembangnya jaringan apabila ada jaringan yang rusak. Setiap tahun, kebutuhan senyawa ini semakin meningkat terutama dalam bidang kedokteran seperti tulang, gigi, kosmetik, dan kultur jaringan. Sehingga untuk memperoleh senyawa HAp pada penelitian ini dilakukan sintesis HAp dari limbah cangkang kerang Mutiara.⁴⁵ Beberapa penelitian yang menggunakan cangkang kerang dapat dilihat pada tabel sintesis berikut ini.

Tabel 1. Sintesis Penelitian

No	Penulis	Tahun	Judul	Kesimpulan
1	Gerhard dkk ¹³	2017	Design Strategies and Applications of Nacre Based Biomaterials	Sebagai bahan komposit organik-anorganik yang sangat terorganisir, nacre tidak hanya menunjukkan sifat mekanik yang sangat baik karena arsitekturnya yang kompleks, tetapi juga menampilkan biokompatibilitas serta bioaktivitas yang tidak ada dalam HA dan bahan keramik lainnya yang biasa digunakan dalam rekayasa jaringan ortopedi. Nacre sebagai bahan <i>bulk</i> , pelapis, atau bagian dari komposit dengan bahan polimer dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan berbagai biomaterial yang mampu mendorong regenerasi jaringan tulang sambil tetap dapat terurai.

2	Liao dkk ¹⁴	2000	Tissue responses to natural aragonite (Margaritifera shell) implants in vivo	Lapisan prismatic dan nacreous dari cangkang Margaritifera dapat terurai secara hayati melalui kombinasi proses dimediasi sel (makrofag dan sel raksasa berinti banyak) dan proses disolusi fisikokimia. Selanjutnya, kedua lapisan bahan ini bersifat osteokonduktif dan membentuk ikatan yang erat dengan tulang yang baru terbentuk, analog dengan hidroksiapatit bioaktif.
3	Atlan G.dkk ⁴⁶	1999	Interface Between Bone and Nacre Implants in Sheep	Implan nacre terbukti bioacceptable dan dapat merangsang osteogenesis pada host. Terdapat ikatan langsung antara nacre dan tulang yang baru terbentuk, sehingga memberikan penahan fisiologis antara tulang target dan nacre.
4	Hendra Chanda dkk ⁴⁷	2022	Pinctada Maxima Pearl Shells as a Promising Bone Graft Material in the World of Dentistry	Serbuk HAP Pinctada maxima mengandung kalsium dan kristalinitas tinggi yang memenuhi nilai fase mineral tulang manusia sehingga memiliki potensi yang baik sebagai bahan cangkok tulang yang menjanjikan.
5	Asvanund dkk ⁴⁸	2011	Potential Induction of Bone Regeneration by Nacre: An In Vitro Study	Nacre dapat meningkatkan ekspresi gen <i>Alkaline Phosphatase</i> (ALP), <i>Bone Sialoprotein</i> (BSP), dan <i>Osteoclastin</i> (OC).
6	Atlan dkk ⁴⁹	1997	Reconstruction of Human Maxillary	Implan Nacre dapat merangsang pembentukan

			Defect s with Nacre Powder: Histological Evidence for Bone Regeneration	tulang baru dan bertindak sebagai <i>scaffold</i> untuk peletakan berbagai elemen yang terlibat dalam rekonstruksi tulang baru.
7	Rohaya dkk ⁵⁰	2020	Effects of the Sintering Process on Nacre-Derived Hydroxyapatite Scaffolds for Bone Engineering	Scaffold hidroksiapatit turunan Nacre yang menjalani proses sintering sebelumnya akan menjadi bahan keramik yang menjanjikan dalam kedokteran gigi. Karena defek tulang merupakan salah satu penyakit yang signifikan dalam kedokteran gigi, regenerasi tulang berpotensi menjadi pilihan alternatif di kalangan ahli bedah.

Hidroksiapatit

Hidroksiapatit merupakan bahan alloplastic yang digunakan sebagai pengganti bone graft karena memiliki sifat bioaktif yaitu osteokonduksi. Hidroksiapatit sangat biocompatible dan tidak menimbulkan respon inflamasi. HA memiliki kemiripan dengan komponen anorganik tulang dan gigi. Lapisan carbonat apatit terbentuk ketika HA di tempatkan dalam tubuh yang berfungsi meningkatkan fiksasi implant pada jaringan sekitarnya.³⁵

2.6 Platelet-Rich Fibrin

Platelet-rich Fibrin (PRF) termasuk dalam generasi trombosit baru yang ditujukan untuk preparasi yang disederhanakan tanpa penanganan darah secara biokimia.⁵¹ Autologous PRF merupakan imun generasi kedua dan konsentrat platelet sering digunakan pada penyembuhan jaringan keras dan lunak, dimana

telah digunakan untuk augmentasi tulang, angiogenesis, penyembuhan luka dan penyembuhan jaringan periodontal.⁵² PRF merupakan matriks fibrin dimana sitokin trombosit, factor pertumbuhan, dan sel terperangkap dan dapat dilepaskan setelah waktu tertentu dan dapat berfungsi sebagai membran yang dapat diresorpsi.⁵³

Kelebihan PRF yaitu preparasi yang mudah, biaya minimal, dan kurangnya modifikasi biokimia (tidak diperlukan thrombin sapi atau antikoagulan). Keuntungan utama PRF adalah memiliki persiapan yang sederhana. Perbedaan antara bekuan darah alami dan PRF adalah PRF lebih homogen dan stabil serta mudah ditangani dan di aplikasikan.⁵⁴ Keuntungan PRF dibandingkan PRP termasuk tidak ada biokimia penanganan darah, proses yang disederhanakan dan hemat biaya, penggunaan trombin sapi dan antikoagulan tidak diperlukan, penyembuhan yang menguntungkan karena polimerisasi yang lambat, dan migrasi dan proliferasi sel yang lebih efisien. PRF juga memiliki efek suportif pada sistem kekebalan tubuh, dan membantu dalam hemostasis.⁵⁵ Selain kelebihan, PRF juga memiliki kekurangan diantaranya jumlah yang tersedia terbatas dikarenakan autologous darah, serta penanganan yang cepat terhadap darah diperlukan, segera setelah di kumpulkan.⁵¹

PRF bukan hanya merupakan konsentrat platelet, tetapi juga nodus imun yang mampu merangsang mekanisme pertahanan. Ada kemungkinan bahwa regulasi inflamasi signifikan pada daerah pembedahan yang dirawat dengan PRF adalah

hasil dari efek kontrol dari sitokin yang terperangkap dalam jaringan fibrin dan dilepaskan selama remodelling dari matriks awal.⁵⁵

Protokol PRF untuk mengakumulasi trombosit dan sitokin yang dilepaskan dalam bekuan fibrin. Untuk persiapan PRF, hanya darah yang disentrifugasi tanpa penambahan antikoagulan dan trombin sapi yang diperlukan. Sampel darah diambil tanpa antikoagulan dalam tabung 10 mL dalam gelas atau tabung plastik berlapis kaca dan segera disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Resultannya Produk terdiri dari tiga lapisan berikut: lapisan paling atas yang terdiri dari plasma aselular, gumpalan PRF di tengah, dan dasar sel darah merah di bagian bawah.⁵⁴

Dalam prosedur pembedahan, PRF dapat berfungsi sebagai membran yang dapat diserap untuk *guided bone regeneration* (GBR), mencegah migrasi sel yang tidak diinginkan ke dalam defek tulang dan menyediakan ruang yang memungkinkan imigrasi sel osteogenik dan angiogenik, dan memungkinkan bekuan darah yang mendasari untuk termineralisasi. Namun, membran PRF yang normal memiliki daya degradasi yang cepat (1-2 minggu), tetapi jika serat saling terkait, dapat memberikan ketahanan terhadap degradasi enzimatik dan bisa lebih stabil selama waktu penyembuhan. Kawase dkk, dalam penelitian *in vitro* menggunakan tikus, menyarankan kompresi panas membran PRF dalam kasus-kasus dengan indikasi regenerasi tulang terpandu karena prosedur ini merupakan teknik yang kurang sitotoksik, yang mengurangi luas permukaan dan porositas, menunda degradasinya sampai 4 minggu.⁵⁶

2.6.1 Peran PRF pada penyembuhan luka

PRF sebagai pendekatan penutupan akar baru yang potensial telah dilaporkan oleh Anilkumar dkk pada perawatan resesi gingiva lokal pada gigi anterior mandibula menggunakan teknik flap posisi lateral gabungan dan membran PRF. Penggunaan bersama PRF dan bone graft juga telah dilaporkan pada kasus defek furkasi periodontik-endodontik. Dalam uji klinis acak 6 bulan oleh Aroca dkk yang mengevaluasi flap koronal yang dimodifikasi sendiri atau dalam kombinasi dengan PRF untuk pengobatan resesi gingiva multiple Kelas I dan II Miller yang berdekatan, menemukan penutupan akar yang lebih rendah sekitar 80,7% dibandingkan dengan sekitar 91,5% yang dicapai di lokasi kontrol, tetapi keuntungan tambahan dalam ketebalan gingiva/mukosa dibandingkan dengan terapi konvensional.⁵⁷

Dalam hal manajemen dan maturasi jaringan lunak, PRF mampu mendukung perkembangan angiogenesis, imunitas, dan cakupan epithelial. Fibrin telah terbukti bertindak sebagai scaffold alami yang memandu angiogenesis melalui pembentukan pembuluh darah baru di dalam luka.⁵⁸

Dalam literatur tentang PRF dan penyembuhan tulang, disebutkan bahwa bekuan PRF merangsang proliferasi dan differensiasi dari osteoblast secara *in vitro*. Stimulasi ini tergantung dosis, dan peran leukosit yang ditunjukkan dalam profil proliferasi/differensiasi. Stimulasi homogen ini terkait dengan pelepasan yang lambat dari *growth factor* dan molekul darah lainnya selama lebih dari 7 hari. Stimulasi serupa diamati pada model sel lain yang hanya menguji eksudat bekuan

(tanpa kontak dengan matriks fibrin dan isi selnya). Jumlah penelitian pada hewan dengan PRF tetap terbatas karena tidak mungkin menghasilkan bekuan PRF yang besar pada hewan kecil (tikus, kelinci). Namun demikian dua rangkaian uji klinis pada manusia menunjukkan efek PRF pada regenerasi tulang. Pertama selama pengangkatan sinus, terlihat bahwa pengisian rongga subsinus hanya dengan bekuan PRF memungkinkan regenerasi rongga tulang secara baik. Meskipun, perawatan serupa menggunakan bekuan darah alami sebagai bahan pengisi tunggal juga dapat mendorong regenerasi tulang parsial, hasil dengan PRF jauh lebih kuat dan aman. Kedua, kombinasi PRF dengan allograft selama pengangkatan sinus dan pencangkakan lateral ridge alveolar juga mendorong regenerasi tulang yang lebih aman, cepat dan berkualitas tinggi dan ⁵⁹rehabilitasi yang didukung implant, dibanding dengan perawatan yang sama tanpa PRF.⁶⁰

PRF dapat memicu penyembuhan defek tulang dengan mekanisme berikut, menurut Chang dkk. PRF memicu ekspresi protein kinase yang diatur sinyal ekstraseluler terfosforilasi (p-ERK) dan merangsang produksi osteoprotegerin (OPG) yang pada gilirannya menyebabkan proliferasi osteoblas. Studi lain oleh Huang dkk melaporkan bahwa PRF merangsang diferensiasi osteogenik dari sel-sel pulpa gigi manusia dengan mengatur ekspresi osteoprotegerin dan alkaline phosphatase. PRF juga melepaskan faktor pertumbuhan seperti faktor pertumbuhan yang diturunkan dari trombosit dan faktor pertumbuhan transformasi yang mendorong regenerasi periodontal.⁵³