

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* CANGKANG KERANG MUTIARA  
(*PINCTADA MAXIMA*) YANG MENGANDUNG HIDROKSIAPATIT DAN  
PLATELET RICH FIBRIN (PRF) TERHADAP LEVEL TUMOR NECROSIS  
FACTOR-ALPHA (TNF- $\alpha$ )**

*(Studi in vivo pada Cavia porcellus)*

**TESIS**



Oleh:

**Muthmainnah**

**NIM J035192006**

**Pembimbing 1: Prof.Dr.drg.Sri Oktawati, Sp. Perio(K)**

**Pembimbing 2: Dr.drg. Nurlindah Hamrun, M. Kes**

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

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* CANGKANG KERANG MUTIARA  
(*PINCTADA MAXIMA*) YANG MENGANDUNG HIDROKSIAPATIT  
DAN *PLATELET RICH FIBRIN* (PRF) TERHADAP LEVEL  
*TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA* (TNF- $\alpha$ )  
(Studi *in vivo* pada *Cavia porcellus*)**

**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:

**MUTHMAINNAH**

**J035192006**

**Pembimbing 1: Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K)**

**Pembimbing 2: Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes**

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

**2022**

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* CANGKANG KERANG MUTIARA  
(*PINCTADA MAXIMA*) YANG MENGANDUNG HIDROKSIAPATIT DAN  
*PLATELET RICH FIBRIN* (PRF) TERHADAP LEVEL  
*TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA* (TNF- $\alpha$ )  
(Studi *in vivo* pada *Cavia porcellus*)**

OLEH:  
**MUTHMAINNAH**  
**J035192006**

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

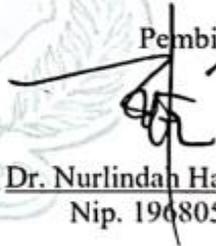
Makassar, 24 Oktober 2022

Pembimbing 1



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

Pembimbing 2



Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes  
Nip. 19680505 199903 2 001

Ketua Program Studi (KPS)  
PEJABAT KEMENTERIAN KESEHATAN RI  
FAK KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
  
Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K)  
Nip. 19641003 199002 2 001

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* CANGKANG KERANG MUTIARA  
(*PINCTADA MAXIMA*) YANG MENGANDUNG HIDROKSIAPATIT DAN  
*PLATELET RICH FIBRIN* (PRF) TERHADAP LEVEL  
*TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA* (TNF- $\alpha$ )  
(Studi *in vivo* pada *Cavia porcellus*)**

OLEH:

**MUTHMAINNAH**

**J035192006**

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

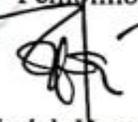
Makassar, 24 Oktober 2022

Pembimbing 1



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

Pembimbing 2



Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes  
Nip. 19680505 199903 2 001

Ketua Program Studi (KPS)  
PPEKIP-IPKIFKIP-FKG-UNHAS



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

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin



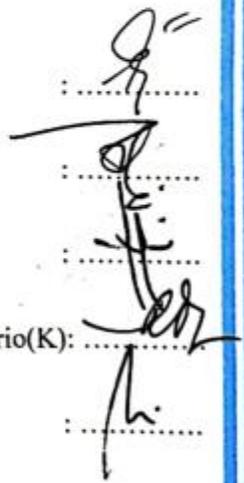
Prof. Dr. Edy Maehmud, drg., Sp.Pros(K)  
Nip. 19631104 199401 1 001

**TESIS**  
**EFEKTIVITAS *BONE GRAFT* CANGKANG KERANG MUTIARA  
(*PINCTADA MAXIMA*) YANG MENGANDUNG HIDROKSIAPATIT DAN  
*PLATELET RICH FIBRIN* (PRF) TERHADAP LEVEL  
*TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA* (TNF- $\alpha$ )  
(Studi *in vivo* pada *Cavia porcellus*)**

OLEH:  
**MUTHMAINNAH**  
**J035192006**

Telah disetujui  
Makassar, 24 Oktober 2022

1. Pembimbing I : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K) : .....
2. Pembimbing II : Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes : .....
3. Penguji I : Surijana Mappangara, drg.,M.Kes.,Sp.Perio(K) : .....
4. Penguji II : Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio(K): .....
5. Penguji III : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio(K) : .....



Mengetahui  
Ketua Program Studi (KPS)  
PPF Universitas Hasanudin FKG-UNHAS



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K)  
Nip. 19641003199002 2 001

## Pernyataan keaslian karya tulis akhir

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muthmainnah

Stambuk : J 035192006

Program studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, oktober 2022

Yang menyatakan



## Kata pengantar

Assalamu alaikum wr wb

Bismillahirrahmanirrahim, puji syukur kehadirat Allah SWT karena limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir yang berjudul **Efektivitas *Bone graft* cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) yang mengandung hidroksiapatit dan platelet rich fibrin (PRF) terhadap level tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )** sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia fakultas kedokteran gigi universitas Hasanuddin Makassar.

Di dalam proses penelitian dan penulisan tesis ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, arahan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan tepat waktu. Oleh karena itu, ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada bapak/ibu dan kerabat:

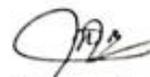
1. Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Si selaku rektor Universitas Hasanuddin
2. Prof. Dr. Drg. Edy Mahmud, Sp. Prosto(K) selaku dekan fakultas kedokteran gigi Universitas Hasanuddin
3. Prof. Dr. Drg. Sri Oktawati, Sp. Perio(K) sebagai ketua program studi PPDGS Periodonsia
4. Prof. Dr. Drg. Sri Oktawati, Sp. Perio(K), sebagai pembimbing pertama yang selama ini telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini
5. Dr. Drg. Nurlindah Hamrun, M. Kes, sebagai pembimbing kedua tesis yang selama ini sudah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini
6. Surijana Mappangara, Drg., M. Kes., Sp. Perio(K), Prof. Dr. Drg. Hasanuddin Thahir, MS. Sp. Perio (K) dan Prof. Dr. Drg. Arni Irawaty Djais., Sp. Perio (K)

sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini.

7. Seluruh staf pengajar pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis yang telah memberikan ilmunya.
8. Ayahanda **Buddin Hari, BA** dan ibunda **Kasminah Amd** yang telah melahirkan, menyayangi, mendidik serta selalu mendukung saya selama masa pendidikan saya hingga saat ini, saudara ponakan yang selalu mensupport.
9. Teman-teman **SIGMA** seperjuangan drg. Machirah, drg Febrianty, drg Hatimurni, drg Afriani, dan drg Nurfitriah Abdul Fattah atas kebersamaan dengan segala cerita hingga dapat terselesaikannya pendidikan spesialis ini bersama.
10. Teman-teman Senior **TITU** dan **all Residen Periodonsia** atas perhatiannya selama masa pendidikan spesialis.
11. Teman- teman Oral 02, teman teman Bestiejerq, teman teman Residen FKG Unhas yang sama sama berjuang, buat ade ade kerdusdent, dan special buat kk milachink.
12. Seluruh staf dan karyawan bagian Periodonsia dan RSGM Halimah dg. Sikati yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama menjalani pendidikan.

Semoga penelitian ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan terkhusus pada bagian periodontologi.

Makassar, oktober 2022



Muthmainnah

**Efektivitas *Bone graft* cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) yang mengandung hidroksiapatit dan *platelet rich fibrin* (PRF) terhadap level tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )**

**Abstrak**

**Pendahuluan:** perawatan periodontitis selain plak kontrol dan prosedur antiinflamasi membutuhkan terapi tambahan seperti terapi regeneratif yang dapat mempercepat penyembuhan dan pembentukan tulang baru. Pengaplikasian *Bone graft* sebagai salah satu terapi regeneratif dapat meregenerasi tulang alveolar yang rusak akibat periodontitis. *Bone graft* pengganti dari cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) merupakan hasil laut potensial yang banyak terdapat di perairan wilayah timur Indonesia. Dalam matriks organik cangkang kerang ini ditemukan molekul biologis berupa hidroksiapatit yang mirip pada tulang manusia. Penggunaan klinis hidroksiapatit ini dapat digunakan sebagai material pengganti tulang. Pengembangan klinis hidroksiapatit dengan penambahan PRF sangat menjanjikan dalam rekayasa jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penambahan PRF terhadap bahan *Bone graft* yang mengandung hidroksiapatit dari cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) terhadap level tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )

**Bahan dan metode:** penelitian ini menggunakan cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) yang diproses menjadi bubuk hidroksiapatit. PRF adalah konsentrat platelet yang diperoleh dari darah marmut. Pengujian bahan dilakukan pada marmut jantan usia 8-10 minggu dengan jumlah sampel 30 ekor yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan diberi *Bone graft* dan ditambahkan PRF, kelompok kontrol positif diberikan *Bone graft pinctada maxima*. Setiap kelompok perlakuan dibagi 2 berdasarkan waktu pengamatan 7 dan 14 hari. Hasil penelitian kemudian dianalisis dengan bantuan program analisis data IBM SPSS Statistics versi 21 dengan nilai signifikan  $p < 0.05$

**Hasil:** hasil uji bahan menggunakan analisa FTIR yang menunjukkan bahan mengandung gugus fungsi hidroksiapatit yaitu  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  dan  $\text{OH}^-$ . Gugus fungsi yang teramati pada hap komersial pada gugus fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pada bilangan gelombang  $1477,47 \text{ cm}^{-1}$ , gugus hidroksil ( $\text{OH}^-$ )  $3641,60$  dan gugus karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ )  $1635,64$ . Hasil analisa data menunjukkan adanya adanya penurunan rerata level TNF- $\alpha$  pada seluruh kelompok. Terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok PM terhadap kelompok KN pada pengamatan hari ke 7 dan 14.

**Kesimpulan:** hasil penelitian menunjukkan *Bone graft* yang mengandung cangkang kerang mutiara mengandung unsur hidroksiapatit yang cukup tinggi. Dengan penambahan bahan ini dengan PRF terbukti efektif. Level TNF- $\alpha$  yang dilihat berdasarkan waktu pengamatan hari ke 7 dan hari ke 14 terdapat penurunan

dibandingkan kontrol negatif, sedangkan perbandingan dengan kelompok kontrol positif tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

**Kata kunci:** *Bone graft*, cangkang kerang mutiara, *Pinctada maxima*, PRF, TNF- $\alpha$

## **Effectiveness of Bone Graft Shells of Mutiara Shells (*Pinctada Maxima*), which contain hydroxyapatite and platelet-rich fibrin (PRF) to the tumor level of necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )**

### **Abstract**

**Introduction:** Periodontitis Treatment Controlling plaque and anti-inflammatory procedures require additional therapy, such as regenerative therapy, that can accelerate healing and new bone formation. Applying Bone Graft as a regenerative therapy can regenerate alveolar bones damaged by periodontitis. Bone Graft Substitutes from Mutiara Shells (*Pinctada Maxima*) are potential marine products widely found in Eastern Indonesia waters. In the organic matrix of the shell shells, biological molecules are located in the form of hydroxyapatite, similar to human bones. The clinical use of hydroxyapatite can be used as a substitute for bone material. Clinical development of hydroxyapatite with the addition of PRF is very promising in network engineering. This study aims to determine the effectiveness of the expansion of PRF to Bone Graft which contains hydroxyapatite from the pearl shell (*Pinctada Maxima*) to the level of the alpha necrosis factor tumor (TNF- $\alpha$ )

**Materials and Methods:** This research uses pearl kerrang shells (*Pinctada maxima*) which are processed into hydroxyapatite powder. PRF is a platelet concentrate obtained from guinea pigs. Material testing is carried out on male guinea pigs aged 8-10 weeks with the number of samples of 30 tails grouped into 3 groups. The negative control group, the treatment group, was given a Bone graft and added PRF, and the positive control group was assigned Bone Graft *Pinctada Maxima*. Each treatment group is divided into 2 based on observation times 7 and 14 days. The results of the study were then analyzed with the help of the IBM SPSS Statistic data analysis program version 21 with a significant value of  $p < 0.05$

**Results:** The results of the material test use FTIR analysis, which shows the material containing hydroxyapatite function groups, namely PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, and OH-. Functional groups observed in a commercial cellphone in phosphate groups (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) in wave numbers 1477.47 cm<sup>-1</sup>, hydroxyl groups (OH-) 3641.60, and carbonate groups (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) 1635.64. The results of the data analysis indicate a decrease in the average level of TNF Alpha in the entire group. There is a significant difference in the PM group against the KN group in observations of days 7 and 14.

**Conclusion:** The results showed a bone graft containing a high hydroxyapatite shell with the addition of this material with PRF proven effective. TNF- $\alpha$  levels were seen based on the observation time on the 7th and the day of the 14th. There is an uproar compared to the negative control. In contrast, in comparison with positive control groups, there is no significant difference.

**Keywords:** Bone Graft, Mutiara Shells, *Pinctada Maxima*, PRF, TNF- $\alpha$

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS.....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang.....	2
I.2 Rumusan Masalah.....	5
I.3 Tujuan Penelitian.....	6
I.4 Manfaat Penelitian .....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tulang .....	8
2.2 Regenerasi tulang.....	11
2.3 TNF- $\alpha$ .....	13
2.4 Bone graft.....	17
2.4.1 Klasifikasi Bone Graft.....	17
2.4.2 Mekanisme Bone Graft. ....	19
2.4.3 Karakteristik Bone Graft. ....	21
2.5 PRF .....	25

2.6 Cangkang kerang mutiara .....	24
2.6.1. Klasifikasi cangkabg kerang mutiara. ....	24
2.6.2. Morfologi dan anatomi.....	25
2.6.3. Nacre dan Tulang. ....	26
<b>BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA .....</b>	<b>31</b>
3.1 Kerangka Teori.....	31
3.2 Kerangka Konsep.....	32
3.3 Hipotesa.....	33
<b>BAB IV. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>34</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	34
4.2 Lokasi dan waktu penelitian .....	34
4.2.1. Waktu Penelitian.....	34
4.2.2 Lokasi Penelitian . ....	34
4.3 Sample Penelitian.....	35
4.3.1 Jenis Sample. ....	35
4.3.2 Kriteria Sample Penelitian .....	35
4.3.3 Besar Sample Penelitian. ....	36
4.4 Identifikasi Variabel penelitian dan defenisi operasional .....	36
4.4.1. Identifikasi Variabel Penelitian . ....	36
4.4.2 Definisi Operasional . ....	37
4.5 Persiapan dan tahapan penelitian .....	37
4.5.1. Persiapan Penelitian .....	37
4.5.2. Prosedur Penelitian .....	41
4.6 Analisa data.....	48
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>51</b>
5.1 Persiapan penelitian .....	51

5.2 Hasil penelitian .....	52
5.3. Pembahasan .....	59
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>63</b>
6.1 Kesimpulan .....	63
6.2 Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>68</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses penyembuhan defek tulang .....	13
Gambar 2. Komponen utama PRF.....	22
Gambar 3. Struktur lapisan nacreous <i>Pinctada Maxima</i> .....	26
Gambar 4. Fourier Transform Infra Red (FTIR) dari Hidroksiapatit cangkang Kerang Mutiara( <i>Pinctada maxima</i> ) .....	52
Gambar 5. Rerata level TNF- $\alpha$ .....	54
Gambar 6. Level TNF- $\alpha$ pada hari ke 7 dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 1000x.....	55
Gambar 7. Level TNF- $\alpha$ pada hari ke 14 dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 1000x.....	56

## DAFTAR TABEL

Tabek 1. Sintesa Penelitian .....	29
Tabel 2. Perbandingan rerata dan simpang baku level TNF- $\alpha$ masing-masing kelompok penelitian pengamatan immunohistokimia defek femur marmut cavia porcellus.....	57
Tabel 3. Uji beda lanjut LSD rerata level antar kelompok penelitian pada pengamatan immunohistokimia defek femur marmot cavia porcellus pada hari ke 7 dan hari ke 14.....	58

## Daftar singkatan

<b>Riskesdas</b>	: riset kesehatan dasar
<b>Pbb</b>	: perserikatan bangsa bangsa
<b>Brp2b</b>	: balai riset pengolahan produk dan bioteknologi
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: <i>tumour nucleous factor alfa</i>
<b>Il-6</b>	: interleukin 6
<b>Mmp</b>	: matriks metaloproteinase
<b>M-csf</b>	: <i>macrophage colony stimulating factor</i>
<b>Rank</b>	: <i>receptor activator of nuclear factor kappa b</i>
<b>Rankl</b>	: <i>receptor activator of nuclear factor kappa b ligand</i>
<b>Opg</b>	: osteoprotegerin
<b>Cox-2</b>	: <i>cyclooxygenase-2</i>
<b>Bmp-2</b>	: <i>bone morphogenetic protein-2</i>
<b>Dmp-1</b>	: <i>dentin matrices protein 1a</i>
<b>Msc</b>	: <i>mesenchymal stem cell</i>
<b>Fdba</b>	: <i>freeze-dried bone allograft</i>
<b>Dfdbba</b>	: <i>demineralized freeze-dried bone allograft</i>
<b>Gbr</b>	: <i>guided bone regeneration</i>
<b>Ha</b>	: hidroksiapatit
<b>FTIR</b>	: <i>fourier transform infra red</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Periodontitis adalah penyakit infeksi kronis multifaktorial yang ditandai dengan respon inflamasi jaringan periodontal terhadap bakteri patogen periodontal, level *tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )* merupakan sitokin proinflamatori yang dilepaskan oleh makrofag yang telah diketahui peranannya dalam kehilangan tulang yang terjadi pada inflamasi jaringan periodontal dan dapat dideteksi pada saliva dan cairan crevicular gingiva baik pada individu sehat dan individu dengan periodontitis. Periodontitis mempengaruhi sekitar 14% dari populasi orang dewasa di seluruh dunia.<sup>(1)(2)</sup>

Berdasarkan data dari Riskesdas tahun 2018, sekitar 37 % masyarakat masih memiliki tingkat kesadaran yang rendah tentang kesehatan gigi dan mulut, serta 74,1% penduduk Indonesia yang bermasalah dengan penyakit periodontal. Prevalensi periodontitis pada masyarakat usia  $\geq 15$  tahun menurut data adalah 67,8% ini berarti dari sepuluh orang penduduk Indonesia sebanyak 7 orang yang menderita periodontitis.<sup>(3)(4)(5)(6)</sup>

Perawatan periodontitis dengan metode konservatif seperti plak kontrol dan prosedur anti inflamasi biasanya tidak menghasilkan regenerasi jaringan secara spontan. Akan tetapi, pada penyakit periodontal parah yang ditandai dengan resorpsi jaringan baik tulang alveolar dan sementum dapat mengakibatkan kehilangan gigi. Perawatan periodontitis membutuhkan terapi regeneratif yang dapat mempercepat

penyembuhan dan pembentukan tulang baru. Terapi regeneratif telah menjadi perhatian pada beberapa tahun terakhir. Terapi ini seperti rekayasa jaringan merupakan teknologi biomedis yang dikembangkan untuk membantu regenerasi anggota tubuh yang tidak dapat diperbaiki sendiri oleh jaringan. <sup>(3) (6) (7)(8)</sup>

Teknologi biomedis seperti rekayasa jaringan sangat berkembang saat ini. Salah satu tantangan terbesar dalam kedokteran gigi saat ini adalah untuk meregenerasi tulang alveolar yang rusak akibat periodontitis. Jenis rekayasa jaringan untuk meregenerasi periodontal adalah dengan pengaplikasian *Bone graft*. *Bone graft* digunakan untuk merekonstruksi defek *intraosseous* yang terbentuk akibat adanya penyakit periodontal. Penggunaan bahan-bahan *Bone graft* dalam meregenerasi jaringan mempunyai keunggulan masing-masing sehingga dibutuhkan pengetahuan mengenai bahan regeneratif untuk mengoptimalkan hasil perawatan. Sifat bahan *graft* yang wajib dimiliki yakni biokompatibel, aman, memiliki karakteristik permukaan yang ideal, penanganan dan geometri yang sesuai, serta sifat mekanis yang baik. *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 sintetis *alloplastic*. *Autograft* masih menjadi pilihan utama dalam merestorasi defek tulang namun masih sangat terbatas sehingga dibutuhkan bahan *Bone graft* pengganti yang dapat membantu regenerasi tulang. <sup>(8)(9)(10)</sup>

Salah satu bahan *Bone graft* pengganti yang dapat dimanfaatkan adalah hasil laut kerang mutiara (*Pinctada maxima*) yang cukup potensial terutama di perairan wilayah timur Indonesia seperti Papua, Maluku dan Sulawesi. Kerang mutiara tergolong salah satu hewan moluska laut Kelas Bivalvia yang hampir semua bagian dari tubuhnya mempunyai nilai jual, baik mutiara, cangkang, daging dan organisme kerang itu sendiri (benih maupun induk).<sup>(11)(12)</sup>

Komposisi kimia cangkang kerang *Pinctada maxima* 97% anorganik dan 3% organik, yang terdiri dari protein, peptide, glukoprotein, kitin, lipid, dan pigmen. Komposisi *Pinctada maxima* terdiri dari Ca, Mg, Na, P, Fe, Cu, Ni, B, Zn, dan Si. Kandungan utama dari *nacre* ini adalah kalsium karbonat ( $\text{Ca}_2\text{CO}_3$ ). 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.

Molekul biologis termasuk hidroksiapatit adalah senyawa yang mengandung ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) yang mengubah ion logam beracun dan menyerap unsur kimia organik dalam tubuh. Struktur ini mirip dengan tulang, struktur anorganik memiliki kekuatan yang luar biasa, sedangkan matriks organik mampu meningkatkan osteokonduktivitas jika dibandingkan dengan bahan sintetik lainnya. Dalam matriks organik cangkang kerang, molekul biologis ditemukan mampu mengaktifkan sinyal kimia osteoblast<sup>(13)(14)</sup> Dengan adanya kesamaan struktur kimia dengan mineral tulang pada jaringan

manusia, maka hidroksiapatit sintetik menunjukkan daya afinitasnya (daya tarik) sangat kuat pada jaringan keras. Keuntungan hidroksiapatit dalam aplikasi klinis adalah sebagai material pengganti tulang, seperti *allograft* atau sebagai pelapis implan logam dan secara kimia sama dengan mineral tulang manusia<sup>(9)(15)</sup>

Beberapa penelitian tentang Hidroksiapatit telah dikembangkan beberapa tahun terakhir seperti penelitian yang dilakukan oleh Gani dkk<sup>(15)</sup> yaitu kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan (*Portunus Pelagicus*) dengan hasil dari penggunaan bahan ini efektif meningkatkan BMP2. Selain itu Adam dkk<sup>(17)</sup> juga melakukan penelitian mengenai penggunaan teripang emas (*Stichopus hermanni*) sebagai cangkok tulang yang memperlihatkan peningkatan ekspresi osteoblas dan osteokalsin pada defek tulang femur marmut dan juga menyimpulkan bahwa penggunaan bahan hidroksiapatit dari teripang emas dapat membantu proses regenerasi tulang menjadi lebih cepat.

Pengembangan bahan regeneratif seperti hidroksiapatit dapat dikombinasikan dengan penambahan PRF yang menjanjikan dalam rekayasa jaringan, PRF merupakan generasi baru trombosit konsentrat yang mampu meregenerasi jaringan khususnya jaringan lunak dan sebagai media dalam proses penyembuhan sehingga dapat membantu proses regenerasi dan diaplikasikan dibidang periodontologi. Penelitian penggunaan PRF dianggap sebagai salah satu modalitas baru dalam mengurangi komplikasi pasca ekstraksi dan mengurangi waktu penyembuhan (Moraschini dan Barboza, 2015).<sup>(16)(17)(18)</sup>

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, penulis menjadi tertarik untuk melihat efektifitas *Bone graft* yang mengandung hidroksiapatit dari cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) dan PRF terhadap level *tumor necrosis factor alpha* ( $TNF-\alpha$ )

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah ada perbedaan efektifitas efektifitas *Bone graft* yang mengandung hidroksiapatit dari cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) dan PRF terhadap level *tumor necrosis factor alpha* ( $TNF-\alpha$ )

## **I.3 Tujuan Penelitian**

### **I.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui efektifitas efektifitas *Bone graft* yang mengandung hidroksiapatit dari cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) dan PRF terhadap level *tumor necrosis factor alpha* ( $TNF-\alpha$ ) dalam proses inflamasi.

### **I.3.1 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui potensi kandungan dan karakteristik dari bahan cangkang mutiara sebagai bahan *Bone graft* yang dikombinasi dengan PRF.
2. Untuk mengetahui level *tumor necrosis factor alpha* ( $TNF-\alpha$ ) dalam proses inflamasi setelah aplikasi *Bone graft* yang mengandung hidroksiapatit dari

cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) kombinasi PRF pada hari ke 7 dan 14.

#### **I.4 Manfaat Penelitian**

##### **I.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu**

1. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi kandungan cangkang kerang mutiara sebagai bahan *Bone graft* dengan penambahan PRF pada proses inflamasi.
2. Menjadi pertimbangan bahan regenerasi dalam perawatan periodontal.

##### **I.4.2 Manfaat Praktis**

Diharapkan penelitian ini bisa memberikan kontribusi dengan ditemukannya produk pemanfaatan pengolahan limbah cangkang kerang mutiara, sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan *Bone graft* dengan penambahan PRF untuk mempercepat penyembuhan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

Manifestasi klinis terjadinya periodontitis adalah dengan kerusakan/defek tulang. Perawatan yang melibatkan kerusakan jaringan penyangga gigi termasuk tulang dapat dilakukan dengan bedah periodontal. Etiologi utama penyebab infeksi pada jaringan periodontal adalah adanya akumulasi bakteri plak. Tulang alveolar, ligamen periodontal, sementum dan gingiva merupakan struktur unik komponen penyusun jaringan periodontal yang mendukung dan menutrisi gigi. Infeksi jaringan periodontal ditandai dengan terjadinya resorpsi jaringan periodontal yang apabila tidak dirawat dapat mengakibatkan kehilangan gigi. Infeksi ini dapat menyebabkan terjadinya defek pada tulang, sehingga terbentuk kerusakan tulang yang tidak merata dan kompleks.<sup>(3)</sup>

Tulang merupakan jaringan aktif yang mengalami regenerasi secara terus menerus baik pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang. Proses ini bergantung pada aktivitas osteoklas, osteoblas, dan osteosit. Tulang terdiri dari kristal hidroksiapatit dan berbagai ekstraseluler matriks protein, termasuk kolagen tipe I, osteokalsin, osteopontin, sialoprotein tulang, dan proteoglikan. Sebagian besar protein matriks tulang ini disekresikan dan diendapkan oleh osteoblas dewasa, yang terjadi di permukaan tulang. Pembentukan kristal hidroksiapatit dalam osteoid juga diatur oleh osteoblas. Ekspresi sejumlah protein matriks ekstraseluler tulang, aktivitas enzimatis alkali fosfatase (ALP) yang tinggi, dan responsif terhadap hormon osteotropik dan sitokin diyakini merupakan karakteristik utama osteoblast.

## 2.1. Tulang(11)

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

- Komponen Matriks tulang terdiri dari protein kolagen dan protein non kolagen. Protein kolagen terdiri dari matriks organik sekitar 80%-90% dalam jaringan tulang termineralisasi yang dihasilkan dari osteoblas dan fibroblas. Sedangkan, protein non kolagen seperti osteokalsin, osteonektin, osteopontin, sialoprotein, dan proteoglikan.
- Komponen selular dari tulang yaitu *osteogenic precursor cell*, osteoblas, osteoklas, osteosit.
  - a. *Osteogenic precursor cell* terdapat pada periosteum dan endosteum. Periosteum merupakan jaringan ikat yang menutupi tulang, yang terdiri atas lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar terdiri dari jaringan ikat padat yang iregular sedangkan lapisan dalam disebut juga osteogenic layer terdiri dari sel-sel osteogenic. Pada endosteum hanya terdapat selapis sel osteogenic dan tidak mengandung komponen jaringan ikat.
  - b. Osteoblas merupakan sel tulang yang mensintesis dan menjadi perantara mineralisasi osteoid. Osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor *mesenchymal stem cells* (MSC) dan jaringan ikat lainnya, yang berdiferensiasi dan berkembang menjadi osteoblas

sebelum membentuk tulang. Beberapa fungsi dari osteoblas adalah mensintesis kolagen dan non-kolagen dari matriks tulang organik, mengarahkan susunan fibril matriks ekstraseluler, mineralisasi osteoid, memediasi resorpsi osteoblas melalui sintesis sitokin spesifik, dan mensintesis *growth factors*. Diferensiasi sel dimediasi oleh sejumlah besar *bone morphogenic proteins* (BMPs), *growth factors* dan sitokin. Osteoblas bertahan selama 1-10 minggu, memiliki tiga perjalanan perkembangan yaitu osteoblas inaktif menjadi *bone-lining cells*, matriks termineralisasi yang dihasilkan akan mengililingi osteoblas dan menjadi osteosit, menghilang dari tempat pembentukan tulang sebagai hasil dari apoptosis.

c. Osteosit merupakan osteoblas dewasa yang terjebak dalam matriks tulang. Setiap osteosit melakukan kontak dengan osteosit lain, sum-sum tulang, lapisan osteoblas, dan pembuluh darah melalui tubular kanalikuli. Osteosit berperan dalam regulasi konsentrasi kalsium dan fosfat ekstraseluler serta dalam reaksi adaptasi terhadap lingkungan lokal. Osteosit didefinisikan sebagai sel yang terletak di dalam matriks tulang, diturunkan dari sel punca mesenkim melalui diferensiasi osteoblas, berkomunikasi secara luas dengan populasi sel tulang lainnya untuk mengatur metabolisme tulang. Distribusi osteosit dalam tulang adalah matriks tiga dimensi yang sangat terorganisir yang dirancang untuk meningkatkan adaptasi.

d. Osteoklas (sel pemecah tulang) adalah sel terpenting pada resorpsi tulang yang berasal dari sel induk sumsum tulang (penghasil makrofag-monosit). yang diregulasi oleh mekanisme hormonal dan seluler. Pada proses resorpsi tulang tersebut osteoklas melekat pada permukaan tulang dan melepaskan enzim hidrolitik yang menyebabkan hidrolisis dari matriks tulang dan *calcified cartilage*. Proses tersebut menghasilkan terbentuknya cekungan pada tulang yang disebut lakuna Howship.<sup>(12)</sup>

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

periodontal berikatan dengan RANKL, mencegah interaksi RANK/RANKL sehingga menghambat osteoklastogenesis. Sistem RANKL / RANK / TNF- $\alpha$  adalah mediator kunci dari osteoklastogenesis. <sup>(13)(12)</sup>

## **2.2. Regenerasi Tulang**

Proses pembentukan tulang baru diawali oleh fase inflamasi. Fase ini melibatkan trombosit dalam proses pembekuan darah dan sel polimorfonuklear (PMN), makrofag, serta limfosit. Sel-sel inflamasi akan memfagosit jaringan nekrotik dan melepaskan sitokin seperti interleukin 1 (IL-1) dan IL-6, *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan PGE2. Sitokin tersebut berfungsi untuk menarik sel progenitor yang dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas, sel endotelial, dan osteoklas. Infiltrasi sel-sel tersebut menimbulkan jaringan granulasi, menstimulasi angiogenesis serta migrasi sel-sel mesenkimal agar area yang mengalami fraktur atau luka mendapat suplai oksigen dan nutrisi dengan baik. Fase inflamasi berlangsung antara minggu pertama sampai minggu ke-2. <sup>(14)(15)</sup>

Fase kedua yaitu fase reparasi yang dimulai dalam beberapa hari setelah fraktur atau luka dan tumpang tindih dengan fase inflamasi. Pada fase ini, lingkungan lokal yang bersifat asam dan hipoksia selama fase inflamasi berangsur-angsur menjadi netral dan sedikit basa untuk memungkinkan mineralisasi tulang. *Bone graft* akan merangsang pertumbuhan tulang dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang. Setelah itu, luka akan distabilisasi oleh kartilago (*soft callus*) yang

nantinya akan menjadi tulang (*hard callus*). Fase ini berlangsung dalam hitungan beberapa bulan. Selama fase reparatif yaitu terjadi diferensiasi dari sel mesenkim pluripotensial menjadi fibroblast, chondroblast, dan osteoblast. Chondroblast dan fibroblast akan menginfeksi daerah hematoma fraktur dan kemudian membawa matriks pada daerah luka. Pada minggu ke-4 hingga minggu ke-6 akan terbentuk *soft callus* yang tersusun dari jaringan fibrous dan kartilago. Sel osteoblast akan membantu proses mineralisasi *soft callus* dengan cara mensekresi matriks (kolagen tipe I) yang nantinya akan menjadi *hard callus* atau *woven bone*. Pada fase ini, tulang masih imatur dimana tulang masih lemah terhadap tekanan.<sup>(14)</sup>

Fase terakhir dalam proses pembentukan tulang baru adalah fase remodeling. Fase remodeling berfungsi untuk memperbaiki bentuk, struktur, serta sifat-sifat mekanis tulang dan berlangsung selama beberapa bulan sampai bertahun-tahun. Pada fase ini, aktifitas osteoblast dan osteoclast merubah tulang imatur menjadi matur, membentuk lamella menjadi lebih terorganisir agar *woven bone* yang susunannya tidak beraturan menjadi lebih beraturan dan menjadikan daerah fraktur menjadi lebih stabil. Osteoblast menghasilkan *bone morphogenetic protein* (BMP), antara lain BMP-2, BMP-7, dan perubahan faktor  $\beta$  dengan *Insulin-Like Growth factor*, (IGF-I dan IGF-II), *Platelet-Derived Growth factor* (PDGF), *Fibroblastic Growth factors* (FGF), TGF- $\beta$ , interleukin I dan osteoid yang sebagian terdiri dari kolagen tipe-I untuk proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi osteosit dan matriks tulang. Setelah itu, terjadi pembentukan *medullary canal* dan pembentukan permukaan tulang baru.<sup>(14)</sup>



Gambar.1 Proses penyembuhan defek tulang. *Time line* fase penyembuhan tulang sekunder: peradangan, perbaikan dan remodeling. Tingkat jaringan, seluler, dan subseluler diwakili. Inflamasi (kiri): pembentukan hematoma memicu invasi sel inflamasi (neutrofil, monosit dan makrofag) dan pelepasan sitokin proinflamasi (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) dan antiinflamasi (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13). Makrofag yang tidak aktif berdiferensiasi menjadi makrofag yang diaktifkan klasik (M1) dan alternatif (M2). Perbaikan (tengah): revaskularisasi (sel endotel), pembentukan kalus lunak (fibrokartilago) dan pembentukan kalus keras berikutnya (tulang anyaman) diatur oleh sel perbaikan (SPC, fibroblas, kondrosit dan osteoblas) dan faktor pertumbuhan (VEGF, FGF, BMP, TGF- $\beta$ ). Remodeling (kanan): pemulihan bentuk asli tulang oleh osteoblas, osteosit dan osteoklas, diatur oleh keseimbangan RANKL/TNF-A. Ketiga fase ini tumpang tindih, seperti yang ditunjukkan oleh kurva di bagian bawah gambar.

### 2.3. TNF- $\alpha$ dan Regenerasi Tulang

*Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )* adalah sitokin yang banyak disekresikan oleh makrofag dan memiliki banyak peran metabolisme seperti proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, metabolisme lipid, dan koagulasi.<sup>2</sup> *TNF- $\alpha$*  merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri Gram negatif dan mikroba lainnya. Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF dalam jumlah besar yang menimbulkan reaksi sistemik. TNF disebut TNF- $\alpha$  atas dasar historis dan untuk membedakannya dari TNF- $\beta$  atau limfotoksin. Sumber utama TNF- $\alpha$  ialah fagosit mononuklear dan sel T

yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast. Lipopolisakarida merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk menyekresi TNF. IFN- $\gamma$  yang diproduksi sel T dan sel NK juga merangsang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF.<sup>(14)(16)(17)(18)</sup>

TNF- $\alpha$  mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrophil dan makrofag. TNF- $\alpha$  juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasit.<sup>(16)</sup>

Hampir semua proses inflamasi mengakibatkan aktivasi makrofag jaringan dan infiltrasi monosit darah. Aktivasi ini menyebabkan banyak perubahan dalam sel, di antaranya ialah produksi TNF, IL-1, dan IL-6, yaitu sitokin-sitokin yang menyebabkan efek multipel pada hospes. Efek-efek ini meliputi:

- 1) Induksi demam
- 2) Respon fase akut hepatic yang disertai lekositosis dan produksi protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP); dan
- 3) Diferensiasi atau aktivasi dari sel T, sel B dan makrofag.<sup>(16)</sup>

TNF- $\alpha$  berperan dalam pertahanan pejamu untuk infeksi bakteri, virus dan parasit. TNF- $\alpha$  diproduksi oleh makrofag dan diaktifkan oleh sel T limfosit, antigen,

sel NK, dan sel mast. TNF- $\alpha$  biasanya tidak terdeteksi pada individu sehat tapi sering ditemukan dalam kondisi inflamasi dan infeksi dalam serum.

TNF- $\alpha$  bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut pada kadar rendah karena TNF- $\alpha$  merupakan pirogen yang kuat. TNF- $\alpha$  berperan pada inflamasi sistemik pada kadar sedang. TNF- $\alpha$  menimbulkan kelainan patologis syok septik pada kadar yang tinggi, sebab TNF- $\alpha$  bersifat sitotoksik. <sup>(14)(27)(21)</sup>

Efek biologis TNF- $\alpha$  sebagai berikut:

- a. Pengerahan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel- sel tersebut untuk menyingkirkan mikroba.
- b. Memacu Level molekul adhesi sel-sel endotel vaskuler untuk leukosit.
- c. Merangsang makrofag mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis serta pengerahan leukosit.
- d. Merangsang fagosit mononuklear untuk mensekresi IL-1 dengan efek seperti TNF- $\alpha$ .
- e. Menginduksi apoptosis sel inflamasi yang sama.
- f. Merangsang hipotalamus yang menginduksi panas, sehingga disebut pyrogen endogen.
- g. Produksi TNF- $\alpha$  dalam jumlah besar dapat mencegah kontraktilitas myokard dan tonus otot polos vaskuler yang menurunkan tekanan darah atau syok dan sel lemah yang menimbulkan kaheksia (gangguan metabolisme berat seperti gula darah turun sampai dengan kadar yang tidak memungkinkan untuk hidup).

h. Komplikasi sindrom syok sepsis yang ditimbulkan bakteri gram negatif atau gram positif yang ditandai dengan kolaps vaskuler.<sup>(13)(15)</sup>

Dengan demikian beberapa fungsi biologis TNF- $\alpha$  terdiri proliferasi seluler dan diferensiasi, tumorigenesis, apoptosis atau kematian sel nekrotik, imunoregulator, metabolisme lipid, koagulasi dan fungsi endotel.

Selain itu, dalam proses regenerasi tulang, sitokin yang turut berperan antara lain IL-1, IL-6, dan TNF- $\alpha$ . Memainkan peran utama dalam resorpsi tulang, menstimulasi prekursor mitogenik osteogenik. Fungsi IL-1 diperkuat oleh TNF- $\alpha$ , keduanya bekerja secara sinergis memicu pembentukan osteoklas dengan meningkatkan regulasi Level RANKL di permukaan sel stroma sumsum tulang dan osteoblas yang belum matang. RANKL melekat pada reseptor RANK pada permukaan prekursor osteoklas. Jalur faktor nuklir kappa B (NF- $\kappa$ B) dan Jun N-Terminal Kinase (JNK) memicu pembentukan osteoklas dan mendorong kelangsungan hidup osteoklas. Lebih lanjut, sebagai sitokin proinflamasi, TNF- $\alpha$  diproduksi secara melimpah di area yang meradang. Selain sebagai mediator, TNF- $\alpha$  menginduksi kerusakan tulang dalam kondisi inflamasi seperti rheumatoid arthritis dan periodontitis. Jadi, TNF- $\alpha$  memberikan efek stimulasi pada kelangsungan hidup osteoklas dan memainkan peran dalam mengaktifkan fungsi osteoklas.<sup>(19)(22)(23)(24)</sup>

#### **2.4. Bone graft**

*Graft* adalah suatu bagian jaringan yang diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama maupun yang berlainan. Tujuannya adalah untuk memperbaiki suatu cacat yang disebabkan oleh

penyakit, kecelakaan atau anomali pertumbuhan dan perkembangan. *Bone graft* adalah pilihan yang banyak digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang periodontal, hal ini lebih baik bila dibandingkan dengan cara bedah pembersihan biasa tanpa penambahan bahan *graft*. Pada kasus-kasus yang regenerasinya kurang diharapkan, misalkan karena tulang alveolar sudah banyak yang hilang maka dapat dilakukan *Bone grafting*. Tujuan dari *Bone grafting* adalah mengurangi kedalaman poket periodontal, peningkatan perlekatan klinis, pengisian tulang di daerah defek dan regenerasi tulang baru, sementum dan ligamentum periodontal sehingga diharapkan akar gigi dapat terdukung dengan baik. <sup>(25)(26)(27)</sup>

#### **2.4.1 Klasifikasi *Bone graft***

*Bone graft* merupakan tindakan yang tepat untuk menambah tinggi lingir alveolar, remodeling tulang rahang, transfer jaringan yang bebas dari mikrovaskular, dan pembentukan kembali *crest* alveolar. Umumnya, *Bone graft* diklasifikasikan menjadi 4 kategori yaitu : <sup>(23)(25)(31)</sup>

- ***Autograft***

Pencangkokan tulang autologous atau autogenous atau autograft diperoleh dari individu yang sama dengan individu yang menerima cangkok, dimana dapat diambil dari bagian tulang lain seperti *iliac crest*, simpisis mandibular, ramus mandibular anterior (prosesus coronoid). Jenis cangkok ini memiliki risiko penolakan cangkok lebih sedikit, namun memiliki

kerugian antara lain diperlukan lokasi pembedahan tambahan, dan adanya rasa nyeri dan komplikasi pasca operasi

- ***Allograft***

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

- ***Xenograft***

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

- ***Alloplastic grafts***

Jenis graft ini dibuat dari hidroksiapatit, mineral alami (komponen mineral utama tulang). Hidroksiapatit adalah *Bone graft* sintesis yang paling banyak digunakan karena sifat osteokonduksi, kekerasan dan penerimaannya oleh tubuh.<sup>(32)</sup>

#### **2.4.2 Mekanisme *Bone graft***

*Bone graft* memperlihatkan gambaran biologis dan mekanik serta memberikan suatu *scaffold* sehingga tulang baru dapat dibentuk melalui osteogenesis, osteoinduksi, dan osteokonduksi. Material *Bone graft* minimal memiliki 2 sifat biologis ini. (30)(33)

### 1. Osteokonduktif

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

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

### 2. Osteoinduktif

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

### 3. Osteogenesis

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

Osteogenesis terjadi ketika osteoblas vital yang berasal dari bahan *Bone graft* berkontribusi terhadap pembentukan tulang begitu juga sel sel yang terkandung dalam graft. Proses terbentuknya tergantung pada sel tulang yang ada dalam *Bone graft*. Allografts dapat menggabungkan faktor pertumbuhan, MSC, sel 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.

### **2.4.3 Karakteristik *Bone graft***

Bahan yang ideal untuk remodeling tulang harus memiliki karakteristik berikut:(30)

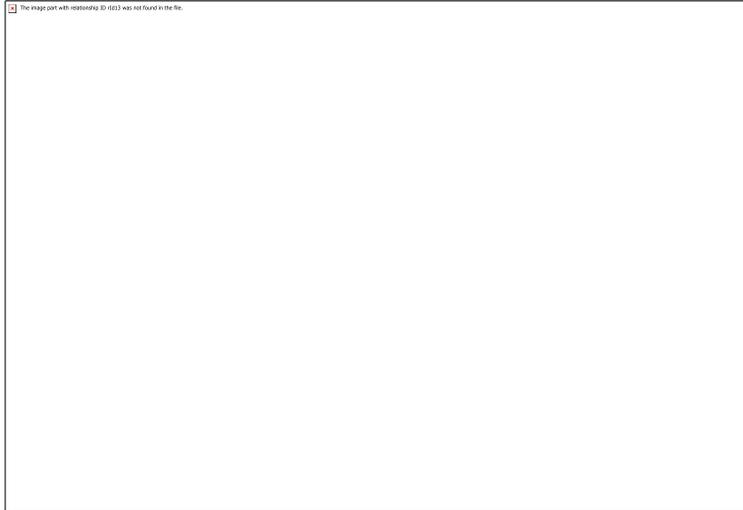
- Sifat osteogenik, osteoinduktif dan osteokonduktif;
- Stimulasi neo-angiogenesis;
- Kurangnya reaksi antigenik, teratogenik atau karsinogenik;
- Suplai dalam jumlah yang cukup;

- Dukungan dan stabilitas yang memuaskan;
- Minimum hingga nol morbiditas - komplikasi;
- Sifat hidrofilik;
- Penanganan yang mudah;
- Biaya murah

## **2.5. PRF**

Perkembangan saat ini untuk mendapatkan *growth factor* dengan lebih mudah, dengan dikembangkan *platelet-rich fibrin (PRF)*. Keuntungan PRF apabila digabungkan dengan *Bone graft* adalah PRF dapat melindungi Bone graft, menghubungkan antara partikel *Bone graft* dengan tulang donor, membantu angiogenesis dan regenerasi sel endotel, dan mempersingkat waktu inflamasi. Dari beberapa penelitian yang menggunakan PRF sebagai tissue engineering, PRF merupakan *scaffold* untuk proliferasi sel perioosteum.

Tiga komponen utama PRF dicatat sebagai komponen utama dalam regenerasi jaringan



Gambar.2 Tiga komponen utama PRF meliputi 1) tipe sel (trombosit, leukosit, dan sel darah merah), 2) matriks ekstraseluler sementara perancah tiga dimensi yang dibuat dari fibrin autologus (termasuk fibronektin dan vitronektin) dan 3) beragam lebih dari 100 molekul bioaktif termasuk terutama PDGF, VEGF, IGF, EGF, TGFbeta, dan BMP2. Sumber: Mirondkk.2016

Proliferasi sel memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka, yang meningkatkan populasi sel pada tahap awal dan merupakan prasyarat untuk pembentukan jaringan pada tahap – tahap selanjutnya. Secara bersama sama, sifat sifat fibrin alam biomaterial PRF dapat memberikan potensi besar selama penyembuhan luka. (16)(35)(35)

Proses penyembuhan luka menggunakan PRF terdiri dari tiga sebagai berikut:

- A. Fase inflamasi atau fase persiapan substrat berlangsung selama 1-4 hari. PRF melepaskan faktor pertumbuhan dan sitokin di daerah luka. Faktor pertumbuhan melepaskan granulasi alfa pada trombosit sehingga ketika aktif, disekresikan dan dikumpulkan oleh epinefrin atau kolagen.
- B. Fase proliferasi atau fase pembentukan kolagen berlangsung selama 2-22 hari. PRF merangsang proliferasi osteoblas, fibroblas gingiva dan sel ligamen

periodontal sebagai mitogen. Struktur molekul dengan konsentrasi fibrin yang rendah mengoptimalkan migrasi sel endotel dan fibroblas. Kehadiran migrasi mempercepat angiogenesis.

- C. Fase remodeling atau pematangan berlangsung antara 6-12 bulan. Setelah angiogenesis, diikuti oleh remodeling oleh fibrin. Leukosit dan sitokin imun seperti IL-1 $\beta$ , IL6, IL 4 dan TNF yang terperangkap dalam PRF bertindak sebagai regulasi imun.

Pembawa faktor pertumbuhan dan sel, matriks fibrin sebagai fitur utama dari PRF yang bertindak sebagai komponen utama dari penyembuhan luka jaringan, sitokin yang terkandung dalam PRF memiliki keuntungan sebagai faktor pertumbuhan alami yang ditemukan dalam darah.<sup>(36)</sup>

Prosedur regeneratif umumnya menggunakan membran penghalang dan bahan cangkang tulang mendorong pertumbuhan di sekitar jaringan yang rusak seperti ligamen periodontal, sementum, tulang dan jaringan ikat. Untuk meningkatkan proses penyembuhan dan regenerasi jaringan atau tulang, aplikasi faktor pertumbuhan/sitokin secara lokal dapat memaksimalkan proses penyembuhan. Tujuan pembedahan periradikular adalah membuang semua jaringan nekrotik untuk memfasilitasi regenerasi jaringan lunak dan keras untuk membentuk perlekatan baru.<sup>(35)</sup>

## **2.6. Cangkang Kerang Mutiara**

### **2.6.1. Klasifikasi Kerang Mutiara**

Kerang mutiara atau tiram mutiara (*Pinctada maxima*) secara taksonomi dimasukkan ke dalam hewan berjenis invertebrata, yang berarti hewan tidak bertulang belakang dan filum Mollusca yang berarti bertubuh lunak. *Pinctada maxima* adalah spesies tiram mutiara, moluska kerang laut dalam keluarga Pteridae, tiram mutiara. Ada dua varietas warna yang berbeda: tiram berbibir perak dan tiram berbibir emas. Bivalvia ini adalah tiram mutiara terbesar di dunia. Mereka memiliki lapisan kulit dalam yang sangat kuat yang terdiri dari *nacre*, juga dikenal sebagai "induk mutiara" dan penting bagi industri mutiara budidaya karena dibudidayakan untuk menghasilkan mutiara Laut Selatan.<sup>(37)</sup>

Secara rinci, jenis tiram mutiara dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Invertebrata  
Phyllum : Mulusca  
Kalss : Pellecypoda atau lamellibranchiata  
Ordo : Anysomyaria  
Famili : Pteridae  
Genus : Pinctada  
Spesies : Pinctada sp dan Pteria sp

### 2.6.2. Morfologi dan Anatomi

Bentuk luar tiram mutiara tampak seperti batu karang yang tidak ada tanda –

tanda kehidupan. Tetapi di balik kekokohan tersebut terdapat organ yang dapat mengatur segala kativitas kehidupan dari tiram mutiara itu sendiri. Dalam kelunakan tubuh tiram tersebut terdapat cangkang yang keras untuk melindungi bagian tubuh agar terhindar dari benturan maupun serangan hewan lain. Di samping itu, dalam cangkang yang jumlahnya satu pasang dan mempunyai bentuk yang berlainan itu terdapat *mother of pearl* atau lapisan induk mutiara serta *nacre* yang dapt membentuk lapisan mutiara

Jika dilihat zat penyusunnya maka lapisan pada cangkang tiram di bagi 3 lapisan yaitu:

1. Lapisan periostracum adalah lapisan kulit luar yang kasar yang tersusun dari zat organik yang menyerupai tanduk.
2. Lapisan prismatic adalah lapisan kedua yang tersusun dari kristal – kristal kecil yang berbentuk prisma dari *hexagonal calcite*.
3. Lapisan mutiara atau *nacre* adalah lapisan kulit sebelah dalam yang tersusun dari kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ).<sup>(19)</sup>



Gambar.3 Struktur lapisan nacreous Pinctada: A: Lapisan nacreous lustrous sebagai lapisan cangkang internal; B: Memindai

Mikroskop Elektron gambar yang menunjukkan karakteristik struktur bata dan mortar nacre; C: Gambar Mikroskop Gaya Atom dalam mode Kontras Fase ( $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ ) pada skala panjang nanometer (nm).

### 2.6.3. *Nacre* dan Tulang

*Nacre* adalah bagian dari cangkang, terdiri dari kalsium karbonat aseluler yang diproduksi oleh bivalvia, gastropoda, dan cephalopoda. *Nacre* terdiri dari tablet kristal aragonit yang dilapisi dengan matriks organik. Aragonit dan kalsit adalah dua polimorf kalsium karbonat yang merupakan penyusun cangkang moluska dan memberikan kekuatan dan ketahanan terhadap keseluruhan arsitektur cangkang. Sebagian besar cangkang invertebrata kecil terdiri dari matriks organik yang bertanggung jawab untuk proses nukleasi, pertumbuhan, dan penghambatan kalsium karbonat. <sup>(20)(19)(38)</sup>

Struktur khusus cangkang mutiara *nacre* terdiri dari dinding berbentuk bata yang mengandung tablet aragonit pseudoheksagonal dengan ketebalan sekitar 0,5  $\mu\text{m}$  dan diameter 5-15  $\mu\text{m}$ . Tablet disusun dalam lamina paralel dan dipisahkan oleh lembaran matriks organik interlamellar. *P. Margaritifera* dan *P. Maxima* adalah spesies *nacre* terbesar, dengan ukuran maksimum hingga 30 cm pada spesies *P. Margaritifera* dan 20-25 cm pada spesies *P. Maxima*. Partikel mikro dan komponen berlapis dari *nacre* memberikan kualitas yang sangat baik. dan tekanan yang lebih baik ke tulang. <sup>(11)(45)</sup>

Penemuan implan gigi pada tengkorak suku Maya menjadi awal dari sejumlah penelitian terhadap cangkang kerang. *Nacre* telah menunjukkan hasil yang menjanjikan sebagai bahan cangkok biomimetik yang dapat diserap kembali. *Nacre*

sering menunjukkan substitusi osteokonduktif alami dengan efek kuat pada osteoprogenitor, osteoblas, dan osteoklas selama pembentukan jaringan tulang dan morfogenesis. Selain itu, *nacre* juga menunjukkan sifat biokompatibel dan biodegradable dalam jaringan tulang.

*Nacre* merupakan bahan yang memiliki beberapa keunggulan antara lain murah, desain modern, struktur dan arsitektur hierarkis, fungsi biologis intrinsik, imogenitas rendah, toksisitas rendah, penyimpanan yang aman dan mudah. Cangkang dan tulang memiliki beberapa kesamaan, struktur aseluler cangkang dibentuk oleh kerangka luar moluska, sedangkan struktur aseluler tulang dibentuk oleh kerangka internal invertebrata. Kedua struktur ini berbagi matriks organik yang disimpan oleh sel khusus (sel tulang pada vertebrata dan sel epitel pada moluska), bentuk organiknya membentuk perancah untuk kristalisasi dan mineralisasi langsung. Komposisi kimia cangkang *Pinctada maxima* adalah 97% anorganik dan 3% organik, yang terdiri dari protein, peptida, glukoprotein, kitin, lipid, dan pigmen. Komposisi *Pinctada maxima* adalah Ca, Mg, Na, P, Fe, Cu, Ni, B, Zn, dan Si. Kandungan utama nacre ini adalah kalsium karbonat ( $\text{Ca}_2\text{CO}_3$ ). Hidroksiapatit adalah senyawa yang mengandung ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) yang mengubah ion logam beracun dan menyerap unsur kimia organik dalam tubuh. Struktur ini mirip dengan tulang, struktur anorganik memiliki kekuatan yang luar biasa, sedangkan matriks organik mampu meningkatkan osteokonduktivitas jika dibandingkan dengan bahan sintetik lainnya. Dalam matriks organik dari kerang, molekul biologis ditemukan mampu mengaktifkan sinyal kimia osteoblas.<sup>(14)(19)(41)</sup>

Jaringan tulang terdiri dari sel osteogenik, matriks ekstraseluler, protein, faktor pertumbuhan, mineral kalsium fosfat untuk membentuk hidroksiapatit dan sistem vaskular yang kompleks. Osifikasi terjadi melalui jalur intramembran atau endokondral. Sel pembentuk tulang termasuk sel osteoprogenitor, osteoblas, dan osteosit. Sedangkan matriks organik dalam tulang terdiri dari 95% kolagen tipe I dan sisanya 6% terdiri dari proteoglikan seperti kondroitin sulfat dan asam hialuronat serta sejumlah protein nonkolagen seperti osteonektin, osteokalsin (protein GLA tulang), osteopontin. (*bone sialoprotein I*), *bone sialoprotein II*, *growth factor* (IGF-I dan II), *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), dan *bone morphogenic protein* (BMP). Selain itu, bahan anorganik utama adalah garam kristal yang diendapkan dalam matriks tulang yang sebagian besar terdiri dari kalsium dan fosfat.<sup>(16,42)</sup>

*Nacre* dan tulang memiliki beberapa kesamaan, struktur aselular nacre dibentuk oleh skeleton luar moluska, sedangkan struktur aselular dari tulang dibentuk oleh skeleton internal invertebrate. Kedua struktur ini berbagi matriks organik yang terdeposit oleh sel khusus (sel tulang pada vertebrata dan sel matle epithelial pada moluska. Bentuk organiknya membentuk *scaffold* untuk kristalisasi dan mineralisasi langsung. Penggunaan *nacre* dalam dunia medis telah memiliki sejarah panjang. Pada pengobatan cina kuno, nacre digunakan sebagai bahan untuk mengobati *hepatopat*y selama lebih 100 tahun (dalam buku bahan medis classic, Bencao Tujing 1061). Ditemukan gigi implant dengan bahan dasar *nacre* pada tengkorak suku mayan, yang menyatu dengan baik dengan tulang di sekitarnya (1931). Penelitian Lopes et al 1992,

menemukan bahwa *Pinctada maxima* secara simultan biokompatibel dan osteokonduktif terhadap tulang.<sup>(24)(47)</sup>

No	Peneliti	Tahun	Metode	Hasil
1.	Rahayu S et.al	2018	Penelitian yang menggunakan <i>Pinctada maxima</i> dengan metode presipitasi	Hasil penelitian ini memperoleh Hap dan TCp pada serbuk cangkang kerang Mutiara. Untuk dijadikan bahan bone graft yang osteokonduktif, osteoinduktif, dan osteogenesis
2.	Barunadavanam et al	2017	Penelitian ini memanfaatkan cangkang kerang Mutiara sebagai sumber hidroksiapatit dalam regenerasi jaringan periodontal	Hasil penelitian diperoleh Hidroksiapatit merupakan kalsium fosfat yang dapat dipertimbangkan menjadi pengganti tulang
3.	Alakpa E V <sup>44</sup>	2017	Penelitian menggunakan cangkang kerang Mutiara ( <i>Pinctada Maxima</i> ) secara in vitro dimana peneliti mengisolasi topografi nacre dari sifat kimiawi	Dari penelitian ini ditemukan bahwa nacre memiliki sifat osteokonduktif terhadap tulang
4.	Mardiana Adam	2022	pemberian bone graft Teripang Emas melalui peningkatan	Penelitian yang dilakukan dengan tiga puluh hewan percobaan. Setelah 14 dan 21 hari, marmut dikorbankan

			<p>jumlah Osteoblas dan Osteocalcin. Ini penelitian ini menggunakan bahan baku teripang emas. Setelah melalui proses deproteinisasi dan maserasi, dilakukan analisis uji XRD dan XRF</p>	<p>untuk pemeriksaan histologis pemeriksaan dan imunohistokimia.</p> <p>Ekspresi Osteoblas dan Osteocalcin pada kelompok Teripang Emas secara signifikan berbeda dari kelompok kontrol positif.</p> <p>Bahan cangkok tulang dari teripang emas memiliki mekanisme regenerasi tulang seperti tulang bahan cangkok, sehingga teripang emas dapat digunakan sebagai bahan alternatif tulang regenerasi</p>
5	Asdar Gani <sup>15</sup>	2022	<p>Kombinasi gel kitosan dan HA dari cangkang kepiting rajungan (<i>Portunus Pelagicus</i>) efektif meningkatkan BMP2</p>	<p>Pada hari ke 7, 14, dan 21 tingkat ekspresi IL-1 dan BMP2 berbeda nyata antara ketiga kelompok. Kelompok yang ditambahkan gel kitosan dan HA cangkang kepiting menunjukkan penurunan ekspresi IL-1 yang lebih cepat dibandingkan kelompok kontrol. Ekspresi BMP-2 meningkat pada kelompok ujio dibandingkan kelompok kontrol.</p>

Berikut beberapa penelitian Hidroksiapatit

Tabel 1. Tabel Sintesa