

**Efektivitas Kombinasi Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*)
Dan Gel Teripang Emas (*Sticopus Hermanii*) Terhadap Regenerasi
Tulang Melalui Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2***

**Effectiveness Of The Combination Of Pearl Shells (*Pinctada Maxima*)
And Gel Of Gold Cucumber (*Sticopus Hermanii*) On Bone
Regeneration Through Expression Of Bone Morphogenetic Protein-2**



**ADELIA CHANDRA CAROLINA
J035211001**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Efektivitas Kombinasi Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*)
Dan Gel Teripang Emas (*Sticopus Hermanii*) Terhadap Regenerasi
Tulang Melalui Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2***

**Effectiveness Of The Combination Of Pearl Shells (*Pinctada Maxima*)
And Gel Of Gold Cucumber (*Sticopus Hermanii*) On Bone
Regeneration Through Expression Of Bone Morphogenetic Protein-2**

**ADELIA CHANDRA CAROLINA
J035211001**



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

**PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR, INDONESIA
2024**

**Efektivitas Kombinasi Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*)
Dan Gel Teripang Emas (*Sticopus Hermanii*) Terhadap Regenerasi
Tulang Melalui Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2***

**Effectiveness Of The Combination Of Pearl Shells (*Pinctada Maxima*)
And Gel Of Gold Cucumber (*Sticopus Hermanii*) On Bone
Regeneration Through Expression Of Bone Morphogenetic Protein-2**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Profesi Spesialis-1 dalam bidang ilmu periodonsia

Disusun dan diajukan oleh:

ADELIA CHANDRA CAROLINA
J035211001

Kepada

**PROGRAM STUDI PERIODONSIA
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

Efektivitas Kombinasi Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) Dan Gel Teripang Emas (*Sticopus Hermanii*) Terhadap Regenerasi Tulang Melalui Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2*

Effectiveness Of The Combination Of Pearl Shells (*Pinctada Maxima*) And Gel Of Gold Cucumbar (*Sticopus Hermanii*) On Bone Regeneration Through Expression Of Bone Morphogenetic Protein-2

ADELIA CHANDRA CAROLINA
J035211001

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Profesi Spesialis-1 pada tanggal 22 Maret 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

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

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

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

drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio (K)
NIP. 195909011987022001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UMHAS

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
UNIVERSITAS HASANUDDIN



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K), Sp.P.P.I.D(K)
NIP. 196410031990022001



Irfan Sugianto, drg., M. Med., Ed., PhD
NIP. 198102152008011009

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Efektivitas Kombinasi Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dan Gel Teripang Emas (*Sticopus hermannii*) terhadap Regenerasi Tulang melalui Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2*" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing yaitu Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS., Sp.Perio(K) dan drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio (K). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini akan dipublikasikan dan dengan status *under review* di Jurnal *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences* dengan judul "*Effectiveness of bone graft containing pearl oyster shell (*Pinctada maxima*) combined with golden sea cucumber (*Sticopus hermannii*) on bone regeneration through the expression of osteoclasts, osteoblasts, and osteocalcin*"

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 10 Juni 2024



Adelia Chandra Carolina

NIM J035211001

Ucapan Terima Kasih

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS,. Sp.Perio(K) sebagai pembimbing utama dan drg. Surijana Mappangara, M.Kes,. Sp.Perio (K) sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Laboratorium Biokimia Polítani POLTEK Pangkep, Klinik hewan *Doc Pet*, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang.

Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., dekan Fakultas Kedokteran Gigi Irfan Sugianto, drg., M.Med.Ed., Ph.D. dan Kepala Program Studi Periodonsia Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K) yang telah memfasilitasi saya menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia. Terima kasih kepada para dosen Prof. Dr. A. Mardiana Adam, M.S., Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp. Perio (K), Surijana Mappangara, drg., M. Kes., Sp.P erio (K), Dian Setiawaty, drg., Sp.Perio (K) dan Sitti Raodah Juanita Ramadhan, drg., Sp.Perio serta Dr. Asdar Gani, drg., M. Kes dan Supiaty, drg., M.Kes. Terima kasih kepada kak Juli sebagai rekan dalam tim penelitian serta teman-teman angkatan saya Dextra (kak Ibri, Tira, Kak Ditha dan Kak Nurul) yang saling support selama masa pendidikan. Kepada kakak dan adek junior (Venom, Phoenix, Falcon, Vision dan maba), saya ucapkan terima kasih telah memberikan dukungan dan selamat selama menempuh pendidikan.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya Kandi dan Lina, saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada suami tercinta Bisma yang selalu mendukung dan menghibur selama proses pendidikan. Terima kasih kepada seluruh saudara saya Ivan atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis

Adelia Chandra Carolina

ABSTRAK

ADELIA CHANDRA CAROLINA. **Efektivitas Kombinasi Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dan Gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Regenerasi Tulang melalui Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2*** (dibimbing oleh Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS,. Sp.Perio(K) drg. Surijana Mappangara, M.Kes,. Sp.Perio (K)

Latar belakang: *Bone graft* digunakan untuk merekonstruksi kerusakan *intraosseous* yang terbentuk akibat penyakit periodontal. *Pinctada maxima* bersifat biokompatibel dan osteokonduktif terhadap tulang secara simultan. *Nacre* dari *Pinctada maxima* memiliki aktivitas osteogenik secara *in vivo*. Kandungan flavonoid dari teripang emas (*Stichopus hermanii*) dapat meningkatkan diferensiasi osteoblas dalam proses regenerasi tulang. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan menganalisis efektivitas kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) efektif dalam meningkatkan ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2* (BMP-2) pada regenerasi tulang. **Metode:** Penelitian ini menggunakan *pre-post test control grup design* dengan subjek penelitian adalah marmut jantan (*Cavia cobaya*). Pembuatan bubuk kerang mutiara *Pinctada maxima* menggunakan metode presipitasi dengan konsentrasi 0,8%, sementara ekstraksi gel *Stichopus hermanii* dengan NaCMC. Ekspresi BMP-2 diamati pada hari ke-14 dan ke-21 dan data dianalisis dengan SPSS *Statistics* V.21. **Hasil:** Ekspresi BMP-2 pada hari ke-14 dan ke-21 pada kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan dan kontrol positif (BATAN). Sedangkan kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negative ($p < 0,05$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif (BATAN) dengan $p > 0,05$. **Kesimpulan.** Kombinasi terapi *bone graft* Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) mampu meningkatkan ekspresi BMP-2 dan menginduksi regenerasi tulang.

Kata kunci: BMP-2, *bone graft*, *Pinctada maxima*, *Stichopus hermanii*

ABSTRACT

ADELIA CHANDRA CAROLINA. **The Effectiveness of Combination Pearl Oyster Shell (*Pinctada maxima*) and Golden Sea Cucumber (*Stichopus hermanii*) Gel on Bone Regeneration through Bone Morphogenetic Protein-2 Expression** (Supervisor: Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS,. Sp.Perio(K) drg. Surijana Mappangara, M.Kes,. Sp.Perio (K)).

Background: Bone grafts are utilized to reconstruct intraosseous defects resulting from periodontal disease. *Pinctada maxima* exhibits both biocompatibility and osteoconductivity towards bone simultaneously. The nacre of *Pinctada maxima* demonstrates osteogenic activity in vivo. The flavonoid content from golden sea cucumbers (*Stichopus hermanii*) can enhance osteoblast differentiation in the bone regeneration process. **Objective:** This study aims to analyze the effectiveness of the combination of Pearl Oyster Shell (*Pinctada maxima*) with Golden Sea Cucumber (*Stichopus hermanii*) gel in enhancing the expression of Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) in bone regeneration. **Method:** This study employs a pre-post test control group design with male guinea pigs (*Cavia cobaya*) as the research subjects. The preparation of *Pinctada maxima* powder is conducted using the precipitation method with a concentration of 0.8%, while the extraction of *Stichopus hermanii* gel is done with NaCMC. The expression of BMP-2 is observed on the 14th and 21st days, and the data are analyzed using SPSS Statistics V.21. **Result:** The expression of BMP-2 on days 14 and 21 in the negative control group shows significant differences compared to both the treatment group and the positive control group (BATAN). Meanwhile, the treatment group exhibits significant differences compared to the negative control group ($p < 0.05$), but no significant difference is observed compared to the positive control group (BATAN) ($p > 0.05$). **Conclusion:** The combination therapy of *Pinctada maxima* bone graft with Golden Sea Cucumber (*Stichopus hermanii*) gel is capable of increasing the expression of BMP-2 and inducing bone regeneration.

Keyword: BMP-2, bone graft, *Pinctada maxima*, *Stichopus hermanii*

DAFTAR ISI

TESIS.....	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	12
1.3. Hipotesis Penelitian	12
1.3. Tujuan Penelitian	12
1.3.1 Tujuan Umum.....	12
1.3.2 Tujuan Khusus	12
1.4. Manfaat Penelitian	12
1.5. Teori Konseptual.....	13
1.5.1 Deskripsi Teori Konseptual	13
BAB II	15
METODE PENELITIAN	15
2.1. Desain Penelitian	15
2.2. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	15
2.2.1. Lokasi Penelitian	15
2.2.2. Waktu Penelitian	15
2.3. Subjek Penelitian	16
2.3.1. Kriteria Subjek Penelitian	16
2.3.2. Jumlah Subjek Penelitian.....	16
2.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	16
2.4.1. Variabel Penelitian	16
2.4.2. Definisi Operasional	17

2.5.	Alat dan Bahan Penelitian	17
2.5.1.	Alat Penelitian	17
2.5.2.	Bahan Penelitian	18
2.6.	Metode Penelitian.....	18
2.6.1.	Persiapan Penelitian	18
2.6.2.	Pelaksanaan Penelitian.....	19
2.7.	Analisa Data.....	22
2.8.	Etika Penelitian	22
BAB III	23	
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23	
3.1	Hasil Pengamatan Mikroskopik BMP-2.....	23
3.2	Uji Normalitas dan Homogenitas pada BMP-2	24
3.3	Uji Beda dengan ANOVA pada BMP-2	25
3.4	Pembahasan	26
3.5	Limitasi Penelitian.....	29
BAB IV.....	30	
KESIMPULAN DAN SARAN.....	30	
4.1	Kesimpulan.....	30
4.2	Saran	30
DAFTAR PUSTAKA.....	31	
LAMPIRAN	37	

DAFTAR TABEL

1. Fungsi <i>bone morphogenetic protein</i>	5
2. Tabel sintesa penelitian	9
3. Ekspresi BMP-2 pada seluruh kelompok pengamatan	24
4. Uji perbedaan ekspresi BMP-2 pada seluruh kelompok pengamatan	25
5. Uji multivariat pada ekspresi BMP-2 hari ke-14	25
6. Uji multivariat pada ekspresi BMP-2 hari ke-21	26

DAFTAR GAMBAR

1. Proses deposisi mineral pada tulang	2
2. Proses <i>remodelling</i> pada tulang	4
3. Teori Konseptual.....	13
4. Kerangka konsep penelitian.....	15
5. Hasil pengamatan BMP-2 pada hari ke-14, tanda panah hitam dan kotak hitam adalah ekspresi BMP-2.	23
6. Hasil pengamatan BMP-2 pada hari ke-21, tanda panah hitam dan kotak hitam adalah BMP-2.	24

DAFTAR LAMPIRAN

1. Alur penelitian	37
2. Rekomendasi persetujuan etik.....	38
3. Proses ekstraksi cangkang kerang mutiara	39
4. Perlakuan hewan coba dan pengambilan jaringan	40
5. Hasil Normalitas BMP-2 hari ke-14 dan ke-21	41
6. Hasil uji deskriptif dan homogenitas BMP-2 hari ke-14	42
7. Hasil uji ANOVA dan multivariat BMP-2 hari ke-14	43
8. Hasil uji deskriptif dan homogenitas BMP-2 hari ke-21	43
9. Hasil uji ANOVA dan multivariat BMP-2 hari ke-21	44

DAFTAR SINGKATAN

AAS	: <i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
BMPs	: <i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
CaCO ₃	: <i>Kalsium Karbonat</i>
EGF	: <i>Endothelial Growth Factor</i>
EPA-DHA	: <i>Eicosapentaenoic Acid dan Docosahexaenoic Acid</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
FTIR	: <i>Fourier Transform Infrared</i>
GAGs	: <i>Glycosaminoglycans</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
Hap	: <i>Hidroksiapatit</i>
HRP	: <i>Horse Radish Peroxidase</i>
IGF	: <i>Insulin Growth Factor</i>
KN	: <i>Kontrol Negatif</i>
KP	: <i>Kontrol Positif</i>
M-CSF	: <i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
OP	: <i>Osteogenic Protein</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PDGF	: <i>Platelet Derivative Growth Factor</i>
PM	: <i>Pinctada maxima</i>
polyP	: <i>Hidrolisis Polifosfat</i>
RANK-L	: <i>Receptor Activator Of Nuclear Factor Kappa-B Ligand</i>
TCp	: <i>Tricalcium Phosphate</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-B</i>
TNF	: <i>Tumor Necrotizing Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WSM	: <i>Water Soluble Matrix</i>
XRD	: <i>X-Ray Diffraction</i>
XRF	: <i>X-Ray Fluorescence</i>

BAB 1

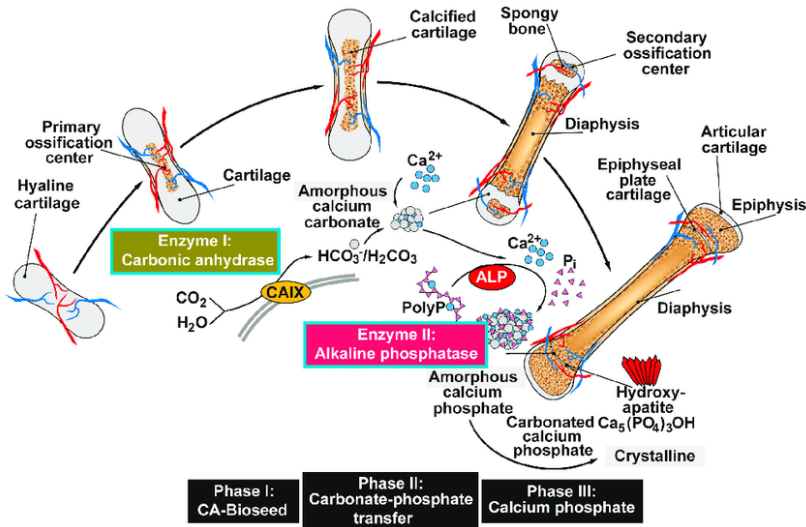
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Setiap kelainan bawaan atau didapat pada jaringan yang mengelilingi dan menopang gigi didefinisikan sebagai penyakit periodontal. Penyakit ini mungkin berasal dari perkembangan inflamasi, traumatis, neoplastik, genetik, atau metabolik. Namun, istilah penyakit periodontal biasanya mengacu pada gangguan inflamasi umum gingivitis dan periodontitis yang disebabkan oleh mikroflora patogen dalam *biofilm* yang terbentuk pada gigi. Penyakit periodontal dihasilkan dari interaksi yang kompleks antara *biofilm* subgingiva dan kejadian imun-inflamasi pejamu yang berkembang pada jaringan gingiva dan periodontal sebagai respons terhadap bakteri. Kerusakan jaringan yang dihasilkan tersebut diakui secara klinis sebagai periodontitis. Hasil dari perubahan inflamasi ini adalah kerusakan serat ligamen periodontal, yang mengakibatkan hilangnya perlekatan klinis bersama dengan resorpsi tulang alveolar (Caton *et al.*, 2018).

Hilangnya dukungan tulang alveolar merupakan salah satu gejala utama dari penyakit periodontal yang merusak dan merupakan kondisi anatomi yang muncul karena penyebaran penyakit periodontal ke bagian apikal akibat invasi patogen ke dalam jaringan periodontal. Secara khusus, dalam hal bagaimana progresi penyakit berkaitan dengan anatomi lokal, bentuk tulang alveolar ditentukan oleh beberapa faktor, termasuk lokasi *biofilm* subgingiva di permukaan akar gigi, bentuk kompleks akar gigi, jarak antar akar gigi, ketebalan tulang alveolar, dan posisi akar gigi di dalam tulang alveolar, yang menunjukkan lebar tulang alveolar dalam arah bukolingual. Jika luka menyebabkan peradangan, proses tersebut dapat menyebar ke jaringan periodontal, yang mengakibatkan pelepasan mediator inflamasi oleh jaringan. Jika peradangan awal ini tidak terkendali, maka respons inflamasi akan menyebar hingga mencapai tulang alveolar (Hasegawa, Takayama and Iwano, 2021).

Tahapan proposal dalam deposisi mineral tulang adalah proses yang terjadi dalam osteogenesis endokondral (Gambar 1.1). Pada tahap awal, tulang rawan hialin mulai mengalami kalsifikasi setelah pembuluh darah tumbuh di pusat ossifikasi primer di diaphysis. Kemudian, terbentuklah tulang spons di epiphysis, yang merupakan pusat ossifikasi sekunder. Proses ini dikendalikan oleh dua enzim utama, yakni karbonat anhidrase dan *alkaline phosphatase* (ALP). Deposisi mineral tulang terjadi dalam tiga tahap. Tahap pertama melibatkan pembentukan biji mineral kalsium-karbonat amorf yang dimediasi oleh karbonat anhidrase. Selanjutnya, pada tahap kedua, terjadi transfer karbonat-fosfat tanpa enzim menggunakan ortofosfat yang dihasilkan dari hidrolisis polifosfat (polyP) oleh ALP. Tahap terakhir adalah pembentukan kalsium fosfat amorf yang berkarbonat dan akhirnya berubah menjadi hidroksiapatit kristalin (Müller, Schröder and Wang, 2017).



Gambar 1.1 Proses deposisi mineral pada tulang

Sel-sel tulang awalnya berasal dari stem sel tulang yang kemudian berkembang menjadi progenitor mesoderm, membentuk dua jalur, yaitu jalur mesenkimal (yang mencakup preosteoblas, osteoblas, osteosit, dan sel penutup tulang) dan jalur hematopoietik (yang mencakup preosteoklas dan osteoklas). Osteoblas memiliki masa hidup yang terbatas, sekitar 3 bulan selama siklus normal remodeling tulang pada manusia. Setelah tahap pembentukan tulang, osteoblas memiliki tiga potensi kehidupan. Pertama, mereka dapat terintegrasi dalam matriks tulang, mengalami perubahan struktural, dan diferensiasi menjadi osteosit; kedua, mereka dapat mengalami apoptosis; ketiga, mereka dapat menjadi tidak aktif sebagai sel penutup tulang di permukaan tulang. Oleh karena itu, regenerasi osteoblas harus terus-menerus dipertahankan melalui prekursor mereka. Aktivitas mitosis eksklusif ditemukan pada pre-osteoblas, yang berada di atas osteoblas dewasa. Salah satu tujuan utama dari semua sel punca dan progenitor dalam garis keturunan osteoblas, sering disebut sebagai "sel punca dan progenitor skeletal", adalah untuk mempertahankan pembentukan osteoblas baru dengan menyediakan pre-osteoblas secara berkelanjutan. Sel punca skeletal secara umum didefinisikan sebagai sel yang dapat melakukan pembaruan diri dengan potensi untuk diferensiasi menjadi kondrosit, osteoblas, dan sel stromal sumsum tulang atau adiposit dalam kondisi kultur in vitro (Matsushita, Ono and Ono, 2020; Mizoguchi and Ono, 2020).

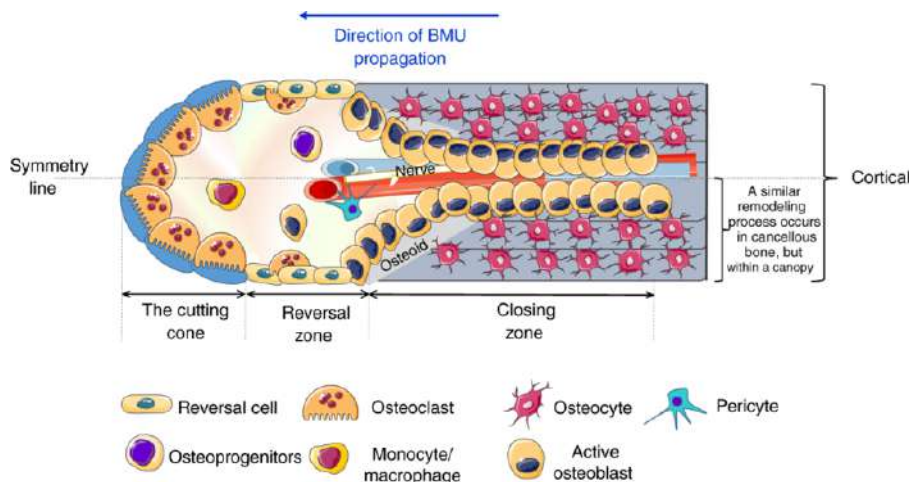
Osteosit diakui semakin penting sebagai pengatur proses pembentukan tulang oleh osteoblas dan penghancuran tulang oleh osteoklas. Meskipun peran ini penting dalam menentukan lokasi dan waktu pembentukan kembali tulang, osteosit sendiri memiliki kemampuan untuk dengan mudah mengakses jaringan tulang dalam jumlah besar. Menyusun lebih dari 90% konten seluler tulang, osteosit membentuk jaringan yang kaya akan dendrit yang berkomunikasi dengan sekitar 50 osteosit tetangga, menghasilkan luas permukaan total yang jauh melebihi gabungan luas

permukaan osteoblas dan osteoklas. Dengan demikian, setiap rangsangan yang memicu osteosit untuk berinteraksi langsung dengan matriks tulang dapat memiliki dampak yang signifikan baik secara positif maupun negatif pada integritas tulang secara keseluruhan (Creecy, Damrath and Wallace, 2021).

Biasanya, ketika terjadi cedera atau luka, perdarahan akan terjadi di area yang terkena. Pada kondisi normal, molekul yang bertanggung jawab untuk pembekuan akan terbentuk, membentuk lapisan pelindung di atas luka dan menyediakan matriks untuk migrasi ke area yang terluka. Proses ini umumnya terjadi dalam kurun waktu 24 jam setelah terjadinya cedera. Setelah terbentuknya bekuan darah, proses akan berlanjut ke fase inflamasi, di mana sel-sel inflamasi seperti neutrofil polimorfonuklear dan monosit menjadi aktif, membersihkan jaringan nekrotik di sekitar luka. Fase ini berlangsung selama 0-5 hari. Setelah fase inflamasi, jaringan granulasi akan terbentuk, dimulai dengan akumulasi kolagen, diikuti oleh migrasi fibroblas dan sel endotel ke area luka melalui sinyal dari makrofag dan faktor pertumbuhan. Sel-sel kaya jaringan granulasi ini mengaktifkan pembentukan matriks dan fase pematangan. Fibroblas kemudian akan menggantikan matriks ekstraseluler dengan matriks yang kaya akan kolagen, memungkinkan peningkatan vaskularisasi oleh sel endotel, sebuah proses yang dikenal sebagai angiogenesis. Keseluruhan proses proliferasi ini berlangsung dalam kurun waktu sekitar 5-15 hari. Jaringan granulasi yang telah matang akan menyebabkan regenerasi atau perbaikan jaringan, sebuah proses yang biasanya berlangsung selama sekitar 20 hari. Setelah terjadi jejas, pembuluh darah dan periosteum rusak, menyebabkan terjadinya hematoma pada daerah sekitar jejas. Bekuan darah membentuk *frame* sementara untuk penyembuhan tulang. Jejas ini menyebabkan sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF α , BMPs, dan Interleukin (IL-1, IL-6, IL-11, IL-23). Sitokin ini menstimulasi sel-sel daerah jejas seperti makrofag, monosit, dan limfosit. Sel ini bekerjasama mengeluarkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dalam menstimulasi penyembuhan (Zaidi and Green, 2019; Wilkinson and Hardman, 2020).

Pelepasan VEGF menyebabkan terjadinya angiogenesis pada daerah jejas, dan dalam hematoma jaringan granulasi yang kaya akan fibrin mulai berkembang. Selanjutnya mesenchymal stem sel ditarik ke daerah jejas dan proses differensiasi dimulai (oleh BMP) menjadi fibroblas, chondroblas dan osteoblas. Pada saat ini lapisan periosteal yang berdekatan, lapisan tulang muda (*woven bone*) dibentuk oleh sel osteoprogenitor. Terbentuknya *callus cartilage* merupakan tahap awal ossifikasi tulang. RANK-L diekspresikan, menstimulasi differensiasi lebih lanjut dari konroblas, kondroklas, osteoblas, osteoklas. Sebagai hasilnya *callus cartilage* diresorpsi dan dimulai tahap kalsifikasi. *Woven bone* tetap berlanjut untuk terbentuk. Pembuluh darah yang baru terbentuk berlanjut ke tahap proliferasi, menyebabkan migrasi stem sel mesenchymal. Di akhir fase ini, terbentuk tulang keras, yang merupakan kalsifikasi *callus* tulang *immature*. Dalam kelanjutan migrasi osteoblas dan osteoklas, *hard callus*, mengulang proses *remodeling* yang disebut "*couple remodeling*". *Couple remodelling* merupakan tahap keseimbangan antara resorpsi oleh osteoklas dan formasi oleh osteoblas. Pusat *callus* diganti dengan tulang kompak, sementara *callus*

luar diganti dengan tulang lamellar. Proses ini membutuhkan waktu berbulan-bulan hingga struktur normal tulang terbentuk sempurna (Lamora *et al.*, 2016; Cho *et al.*, 2021).



Gambar 1.2 Proses *remodelling* pada tulang

Pada regenerasi tulang, proses *remodelling* tulang selain dipengaruhi oleh faktor sistemik, juga oleh faktor lokal. Beberapa polipeptida yang dihasilkan baik oleh tulang itu sendiri maupun oleh jaringan ekstraosesus lain dapat bekerja sebagai modulator fungsi seluler, pertumbuhan, diferensiasi dan proliferasi sel-sel tulang, diantaranya adalah *Insulin Growth Factor* (IGF) -I dan II, *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *Bone Morphogenetic Protein* (BMP), *Platelet Derivative Growth Factor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Endothelial Growth Factor* (EGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF), *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF), dan *Tumor Necrotizing Factor* (TNF) (Kini and Nandeesh, 2012).

Bone Morphogenetic Protein (BMP) adalah bagian dari *superfamily Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), merupakan asam polipeptida multifungsional yang sebagian besar disintesis dan disekresikan oleh osteoblas. BMP-2 merupakan penginduksi kuat formasi tulang yang mendorong terjadinya diferensiasi sel fibroblas menjadi osteoblas dan kondroblas. BMP-2 sebagai faktor pengatur penting dalam osteogenesis. BMP-2 merupakan faktor pertumbuhan polipeptida yang mengandung 396 asam amino, yang fungsinya menginduksi sel mesenkim yang tidak terdiferensiasi ke dalam tulang rawan dan jaringan tulang. BMP-2 dapat menyediakan dasar untuk kontruksi tulang pada suatu rekayasa jaringan, dan mampu menginduksi diferensiasi osteoblas yang berperan untuk mensintesis matriks tulang baru. Keberadaan BMP-2 merupakan salah satu tanda terjadinya proses osteogenesis (Wei *et al.*, 2019).

Bone morphogenetic protein (BMP) merupakan bagian dari *family* protein, yang awalnya diidentifikasi dan dikarakterisasi berdasarkan kemampuan baru mereka untuk menginduksi tulang rawan dan pembentukan tulang di situs ekstraskeletal ektopik secara *in vivo*. Baru-baru ini, beberapa anggota *family* protein ini telah dikloning, diekspresikan dalam sel mamalia, dan dikarakterisasi. Anggota ini termasuk BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7 (juga disebut sebagai *osteogenic protein* OP-1 dan OP-2). Semua BMP mengandung tujuh karakteristik sistein yang sangat terkonservasi dalam bagian terminal karboksilnya dan termasuk dalam *superfamily transforming growth factor- β* , yang meliputi TGF- β s, aktivin, inhibin, dan zat penghambat Mullerian. Anggota *superfamily* TGF- β multifungsi, misalnya TGF- β s diketahui terlibat dalam regulasi berbagai fenomena biologis seperti proliferasi sel, diferensiasi sel, angiogenesis, immunosupresi, peradangan, perbaikan jaringan, dan embriogenesis. Ekspresi gen BMP telah diamati di berbagai jaringan termasuk ginjal, otak, dan kulit. Semakin banyak bukti menunjukkan peran regulasi untuk BMP dalam perkembangan embrio, menunjukkan bahwa *family* protein BMP mungkin memiliki efek biologis yang jauh lebih luas yang tidak hanya terkait dengan pembentukan tulang. Meskipun demikian, fungsi fisiologis yang tepat dan mekanisme kerja BMP sebagian besar masih belum diketahui (Yan *et al.*, 2010).

Tabel 1.1 Fungsi *bone morphogenetic protein*

BMP	Fungsi
BMP-2	Osteoinduksi, diferensiasi osteoblas, dan apoptosis
BMP-3	BMP paling melimpah di tulang, menghambat osteogenesis
BMP-4	Perkembangan osteoinduktif, paru-paru, dan mata
BMP-5	Kondrogenesis
BMP-6	Perkembangan osteoblas, kondrogenesis
BMP-7 (OP-1)	Perkembangan osteogenesis ginjal dan mata
BMP-8 (OP-1)	Osteoinduktif
BMP-9	Sistem saraf, sistem retikuloendotelial hati, hepatogenesis
BMP-10	Perkembangan jantung
BMP-11 (GDF-8)	Pola mesodermal dan jaringan saraf myostatin
BMP-12 (GDF-7)	Menginduksi pembentukan jaringan tendon-iliaka
BMP-13 (GDF-6)	Menginduksi pembentukan jaringan tendon-iliaka
BMP-14 (GDF-5)	Menginduksi tendon dan ligamen - seperti pembentukan jaringan
BMP-15	Memodifikasi aktivitas hormon perangsang folikel

Secara tradisional BMP dianggap terlokalisasi pada tulang tetapi penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa BMP diekspresikan di sebagian besar jaringan dan sepanjang perkembangan embrio. Beberapa anggota *family* BMP juga telah

dipetakan ke lokus kromosom yang berbeda: BMP 2 (Kromosom 20), BMP 3 (Kromosom 4), BMP 4 (Kromosom 14), BMP 6 (Kromosom 6), BMP 7 (Kromosom 20), BMP 8 (Kromosom 1), dan BMP 15 (kromosom X). Pada tulang, BMP diproduksi oleh sel osteoprogenitor, osteoblas, *chondrocytes*, dan platelet. Setelah dilepas, matriks ekstraseluler menjadi tempat penyimpanan sementara BMP. Efek regulasi dari BMP bergantung pada tipe sel target, tahap diferensiasi, konsentrasi lokal BMP itu sendiri, dan interaksi dengan protein yang disekresi lainnya. BMP menginduksi sekuensial pembentukan chondrogenesis, osteogenesis, angiogenesis, dan kontrol sintesis matriks ekstraseluler. Secara umum fungsi BMP adalah mengatur berbagai aktivitas mesenkim/osteoblas seperti: kemositaksis, perlekatan sel (fibronektin), replikasi sel (mitosis), diferensiasi osteoblas, aktivitas alkaline fosfatase serta sintesis/mineralisasi osteokalsin. Anggota *superfamily* ini dapat memberikan efek penghambat atau stimulasi pada sel, tergantung pada tahap diferensiasi seluler di mana mereka mulai bekerja. Fungsi *family* BMP dapat dilihat pada tabel 1.1 (Faßbender *et al.*, 2014; Khoswanto, 2019; Sharma and Sharma, 2019).

Pemanfaatan hasil laut sebagai sumber bahan dasar *bone graft* pengganti dipercaya memberikan hasil yang lebih baik dari bahan kimia. Beberapa struktur biota laut kandungannya dapat digunakan dalam membangun struktur gigi seperti tulang, dentin, maupun ligamen periodontal yang rusak atau hilang akibat suatu penyakit. Penemuan implan gigi pada tulang tengkorak suku mayan menjadi awal dilakukannya sejumlah penelitian terhadap cangkang kerang. *Nacre* biasa disebut "*mother of pearl*" merupakan bagian dari cangkang kerang yang memiliki kandungan utama kalsium karbonat (CaCO₃). Kalsium karbonat mampu memfasilitasi proliferasi osteoblas, mempercepat produksi matriks ekstraseluler, dan mineralisasi. Kerang mutiara merupakan salah satu sumber daya laut yang bernilai ekonomis baik di pasaran Nasional maupun Internasional karena organisme ini dapat menghasilkan butiran mutiara yang bernilai jual tinggi. Di Indonesia terdapat beberapa jenis kerang yang dapat menghasilkan butiran mutiara. *Pinctada maxima* merupakan jenis kerang mutiara yang berukuran lebih besar jika dibandingkan dengan jenis kerang mutiara lain yang ada di perairan Indonesia. Kerang mutiara jenis *Pinctada maxima* di pasaran dunia dikenal dengan nama mutiara laut selatan (*South sea pearls*) dan 41,21% mutiara yang dihasilkan dari kerang jenis ini yang beredar di pasaran dunia berasal dari Indonesia. Jumlah ini jauh di atas Australia 34,27% dan masih terus mengalami peningkatan. *Pinctada maxima* merupakan salah satu jenis kerang yang telah di budidaya di Kepulauan Pangkep Sulawesi Selatan (Rousseau, 2011; Tomatala, 2014; Diaz-Rodriguez *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian terdahulu menemukan bahwa *Pinctada maxima* secara simultan biokompatibel dan osteokonduktif terhadap tulang. Penelitian dengan menggunakan *chip nacre* pada osteoblas manusia secara *in vitro* menunjukkan terbentuknya matriks osteoid tebal yang terdiri dari *foci* dengan struktur termineralisasi dan tulang. *Nacre Pinctada maxima* memiliki aktivitas osteogenik secara *in vivo*. Selain itu, dilakukan penelitian dengan menggunakan bubuk *nacre* dan darah pada defek tulang 8 pasien yang menderita kehilangan tulang dan hasilnya

menunjukkan bahwa *nacre* memiliki biokompatibilitas yang baik terhadap tulang yang tampak 6 bulan setelah perawatan. Tulang yang terbentuk menyatu baik dengan *nacre* tanpa adanya intervensi jaringan lunak atau fibrous. Penelitian juga dilakukan di Indonesia pada tahun 2018 oleh Rahayu S *et al*, dengan menggunakan cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*). Pada penelitian ini peneliti memilih untuk menggunakan teknik presipitasi yang didasarkan dari penelitian-penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini diperoleh HAp dan TCp pada serbuk cangkang Mutiara. Sehingga dapat menjadi dasar metoda sintesis cangkang kerang Mutiara untuk dijadikan bahan *bone graft* yang osteoinduktif, osteokonduktif dan osteogenesis (Jangid *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2017; Rahayu, Kurniawidi and Gani, 2018).

Komposisi kimia dari cangkang kerang *Pinctada maxima* terdiri sebagian besar dari materi anorganik, mencapai sekitar 97%, sementara sisanya sekitar 3% adalah bahan organik, termasuk protein, peptida, glukoprotein, kitin, lipid, dan pigmen. Komposisi mineral dari *Pinctada maxima* mencakup kalsium (Ca), magnesium (Mg), natrium (Na), fosfor (P), besi (Fe), tembaga (Cu), nikel (Ni), boron (B), seng (Zn), dan silikon (Si). Komponen utama dari cangkang ini adalah kalsium karbonat (CaCO_3). Strukturnya menyerupai tulang manusia, dengan struktur anorganik memberikan kekuatan yang luar biasa, sementara matriks organik meningkatkan kemampuan osteokonduktif, dibandingkan dengan bahan sintesis lainnya. Di dalam matriks organik cangkang kerang terdapat molekul biologis yang serupa dengan yang ditemukan pada manusia. Protein matriks organik ini, terutama BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*) dan molekul lainnya, dapat mengaktifkan osteoblas melalui sinyal kimiawi yang diterima oleh osteoblas. Cangkang kerang juga mengandung protein matriks organik yang bersifat osteoinduktif. Penelitian oleh Lamghari dan rekan menunjukkan bahwa peptida dalam matriks cangkang kerang dapat merangsang respon seluler terhadap *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dan *Transforming Growth Factor* ($\text{TGF-}\beta$). Ekstrak cangkang kerang, yang disebut *Water Soluble Matrix* (WSM), dapat memengaruhi sinyal molekuler dan aktivitas regulasi ekspresi gen pada osteoblas dan osteoklas, meningkatkan aktivitas osteoblas dan mengurangi osteoklas. Penelitian lain oleh Zhang dan rekan menunjukkan bahwa penerapan bubuk *nacre* pada defek tulang, yang kemudian menyatu dengan tulang tanpa pembentukan jaringan fibrosa, serta meningkatkan aktivitas alkaline fosfatase. Wang melaporkan bahwa penerapan kalsium karbonat alami dari ekstrak cangkang kerang dapat meningkatkan ekspresi gen pada sel sumsum tulang kelinci, termasuk kolagen 1, osteokalsin, runx2, dan osteopontin. Kalsium karbonat alami telah terbukti sebagai bahan pengganti tulang yang biokompatibel dan bioaktif selama lebih dari 15 tahun, dengan derajat kelarutan dan biodegradasi yang berhubungan dengan resorpsi bahan pengganti tulang (Green, Lai and Jung, 2014; Zhang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018).

Selain *nacre*, teripang *Stichopus hermannii* atau teripang emas juga merupakan senyawa bioaktif dari biota alam yang dapat dimanfaatkan karena kaya dengan protein dan *growth factor* yang dapat memperbaiki sel yang rusak. Teripang

emas banyak mengandung kolagen, glikoprotein, dan heparin sulfat yang dapat memicu migrasi dan adhesi fibroblas. Kandungan protein pada teripang kering adalah 82 g per 100 g, dan sekitar 80% berupa kolagen. Kolagen berfungsi sebagai pengikat jaringan dalam pertumbuhan tulang dan kulit. Teripang emas (*Stichopus hermanii*) telah lama digunakan oleh bangsa Asia sebagai sumber nutrisi maupun untuk pengobatan tradisional. Kandungan nutrisinya yang lengkap menyebabkan teripang sering disebut sebagai ginseng dasar laut dan menjadi suplemen yang mujarab (Monika, Pringgenies and Setyati, 2021).

Pada pengobatan Cina tradisional, teripang diketahui bermanfaat untuk melancarkan peredaran darah, mencegah penyempitan pembuluh darah akibat kolesterol, melancarkan fungsi ginjal, meningkatkan metabolisme, mencegah penyakit arthritis, diabetes melitus, hipertensi, mempercepat penyembuhan luka, dan antiseptik tradisional. Penggunaan teripang emas (*Stichopus hermanii*) sebagai antiseptik tradisional dan obat serbaguna untuk berbagai penyakit telah dilakukan sejak 500 tahun yang lalu pada masyarakat Pulau Langkawi di Semenanjung Malaysia. Teripang merupakan salah satu biota laut yang banyak ditemukan di perairan Indonesia, terutama pada daerah Sulawesi Tengah dan Sulawesi Selatan. Kandungan flavonoid dari teripang emas dapat meningkatkan diferensiasi osteoblas dalam proses regenerasi tulang. Kandungan hyaluronan, EPA-DHA dan kondroitin sulfat memiliki efek antiosteoklastogenik, serta kandungan flavonoid meningkatkan level OPG, dengan cara menstimulasi fungsi dan meningkatkan diferensiasi osteoblas sehingga dapat menjaga kesehatan tulang alveolar dan dapat mencegah resorpsi tulang alveolar serta terbukti dalam menurunkan ekspresi RANKL secara signifikan. *S. hermanii* juga dapat meningkatkan sitokin antiinflamatorik secara lokal melalui peningkatan ekspresi OPG sebagai marker jaringan periodontal selain itu kandungan aktif EPADHA juga berfungsi menghambat aktivitas sel osteoklas yang berperan dalam proses penguraian tulang dan meningkatkan aktivitas osteoblas dalam proses pembentukan tulang melalui peningkatan sintesis senyawa prostaglandin (Sandana *et al.*, 2017).

Kondroitin sulfat adalah senyawa glikosaminoglikan yang tersulfatisasi dan rantai kondroitin dapat berupa 100 molekul gula. Kondroitin sulfat merupakan komponen struktural penting dalam tulang rawan dan memberikan pertahanan terhadap kompresi. Penelitian oleh Kusumandari, menemukan bahwa pemberian kondroitin sulfat dapat meningkatkan kadar ALP (*Alkalin Fosfatase*) pada tikus *Rattus norvegicus* yang mengalami fraktur tulang tibia-fibula. Carter menyatakan, selama proses penyembuhan tulang berlangsung, sel osteoblas aktif menghasilkan jaringan osteoid dan mensekresikan sejumlah besar alkaline fosfatase, yang memegang peranan penting dalam mengendapkan kalsium dan fosfat ke dalam matriks tulang. Berdasarkan hal tersebut, maka sebagian dari alkaline fosfatase di dalam darah dapat menjadi indikator yang baik tentang tingkat pembentukan tulang. Hal ini sejalan dengan Gaw dkk juga menyatakan bahwa peningkatan kadar serum alkaline fosfatase mengindikasikan adanya peningkatan aktivitas osteoblas (Alamsjah, Hanindika and Sugijanto, 2014).

Kandungan aktif lainnya adalah asam hialuronat. Asam hialuronat merupakan komponen kunci pada proses regenerasi jaringan. Asam Hialuronat mengatur proses regenerasi melalui reseptor spesifik, mengatur respon inflamasi, migrasi sel dan angiogenesis pada proses penyembuhan. Asam Hialuronat adalah anggota dari kelompok *glycosaminoglycans* (GAGs) yang terdiri dari *D-glucuronic acid* and *N-acetyl-D-glucosamine* yang berikatan dengan β glycosidic membentuk polimer yang sangat panjang dengan berat molekul 5×10^6 kDa. Asam Hialuronat di sintesis oleh permukaan dalam membrane sel berbeda dengan GAGs yang disintesis didalam sel. Melalui penelitiannya, Setiawatie menemukan bahwa aplikasi hidrogel asam hyaluronat karbonat hidroksiapatit pada soket *post* ekstraksi secara *in vivo* pada tikus wistar dapat meningkatkan ekspresi osteoprotegerin (OPG) dan TGF Beta 5 kali lipat dibanding kontrol, namun bila dibandingkan dengan pemberian bahan *graft* saja dapat meningkatkan ekspresi TGF beta dan OPG dua kali lipat (Setiawatie *et al.*, 2019).

Penelitian ini penting dilakukan karena teripang sebagai biota laut yang banyak terdapat di perairan Sulawesi mengandung berbagai senyawa kimia yang dapat mempengaruhi proses regenerasi tulang. Diharapkan dengan dilakukannya penelitian ini dapat menghasilkan suatu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang dalam bidang kedokteran gigi. Penelitian bahan *nacre* sebagai *bone graft* telah banyak dilakukan di berbagai negara dengan spesies beragam. Penelitian cangkang kerang mutiara dan teripang emas sebagai bahan *bone graft* telah banyak diteliti sebelumnya. Namun kombinasi kedua bahan ini sebagai bahan *bone graft* belum pernah di teliti sebelumnya, khususnya peranannya terhadap *Bone Morphogenetic Protein-2* (BMP-2).

Tabel 1.2 Tabel sintesa penelitian

No	Author, Tahun	Metode	Hasil
1.	Chandha, M Hendra, 2022	Penelitian eksperimental kuantitatif dengan metode analisa ANOVA dan Tukey HSD Test	Terdapat ekspresi OPG dan BMP-2 yang meningkat secara signifikan pada kelompok tikus dengan <i>bone graft</i> bubuk hydroxyapatite <i>Pinctada maxima</i> dibanding kontrol negatif ($p < 0,005$).
2.	Patty, Diana Julaidy, 2022	Penelitian <i>in-vitro</i> dengan <i>tissue engineering</i> . Metode analisa dengan ANOVA dan Tukey HSD Test.	Cangkang kerang mutiara <i>Pinctada maxima</i> mengandung <i>carbonate-hydroxyapatite</i> serta kalsium yang secara signifikan meningkatkan ukuran pori, porositas, biokompatibilitas tulang, dan sifat antibakteri yang kuat pada penyakit periodontitis.
3.	Adam, Mardiana, 2021	<i>Literature Review</i>	Teripang emas (<i>Stichopus hermanii</i>) mengandung

			berbagai komponen bioaktif yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia. Kandungan protein pada teripang kering adalah 82 g per 100 g, dan sekitar 80% berupa kolagen. Kolagen berfungsi sebagai pengikat jaringan dalam meregenerasi tulang dan kulit.
4.	Ingwersen, Lena-Christin, 2022	Penelitian eksperimental kuantitatif dengan analisa menggunakan <i>GraphPad Prism 8.0</i> , analisis varians dua arah (ANOVA) diikuti oleh uji perbandingan berganda <i>Bonferroni</i> . Tingkat signifikansi statistik ditetapkan sebagai $p < 0,05$.	BMP-2 selama 14 atau 28 hari menghasilkan peningkatan osteogenesis, melalui peningkatan ekspresi <i>run-related transcription factor 2</i> , <i>osterix</i> , <i>alkaline phosphatase</i> , dan <i>integrin-binding sialoprotein</i> . Namun, peningkatan TNF alfa dan aktivator reseptor tingkat protein ligan NfKB diamati setelah paparan BMP-2, menunjukkan potensi peningkatan aktivasi osteoklas oleh osteoblas. Selain itu, perubahan morfologis seperti intraseluler, vakuola yang terisi dapat dideteksi. Peningkatan transkrip PPARG dan perilipin 1 mRNA dan tetesan lipid menunjukkan diferensiasi adipogenik yang diinduksi.
5.	Sularsih, 2015	Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris pada hewan dengan analisis ANOVA.	Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna pada BMP-2 pada pengamatan 7,14 dan 21 hari ($p < 0,05$). Peningkatan BMP-2 ditemukan pada kelompok yang diberi gel kitosan dengan berat molekul tinggi.
6.	Rahayu, Susi, 2018	Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Hasil sintesis dianalisis menggunakan XRD dan FTIR.	Dari pemeriksaan ditemukan senyawa HAp. Gugus PO ₄ ³⁻ , CO ₃ ²⁻ , dan OH merupakan gugus penyusun senyawa HAp. Selain itu, terbentuk lagi kalsium fosfat yaitu TCP. Senyawa HAp ini memiliki kristalinitas maksimum sebesar 78,33% pada sudut 77,18°. Ukuran partikel HAp terkecil pada sudut

			31,92 Å° adalah 1,4 Å¼m. Derajat kristalinitas yang tinggi dipengaruhi oleh intensitas yang tinggi dan FWHM yang lebar. Sedangkan ukuran molekul yang kecil diperoleh pada FWHM yang lebar dengan posisi sudut Bragg yang kecil.
7.	Maulana, Faraziza, 2017	Penelitian eksperimental dengan desain factorial. Analisis menggunakan <i>One Way ANOVA</i>	Pemberian kombinasi gel <i>Stichopus hermanii</i> 3% dan oksigen hiperbarik 2,4 ATA 3x30 menit sehari dengan interval 5 menit dalam 7 hari berturut-turut dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada tikus diabetes melitus dengan periodontitis.
8.	Oktawati, Sri, 2021	<i>Literature Review</i>	Kerang mutiara <i>Nacre</i> adalah bahan yang memiliki beberapa kesamaan dengan tulang. Cangkang mutiara <i>nacre</i> berpotensi untuk digunakan sebagai bahan substitusi tulang pada <i>remodelling</i> tulang periodontal.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) efektif dalam meningkatkan ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2* (BMP-2) pada regenerasi tulang?

1.3. Hipotesis Penelitian

Kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) efektif dalam meningkatkan ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2* (BMP-2) pada regenerasi tulang.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat efektivitas kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) efektif dalam meningkatkan ekspresi *Bone Morphogenetic Protein-2* (BMP-2) pada regenerasi tulang.

1.3.2 Tujuan Khusus

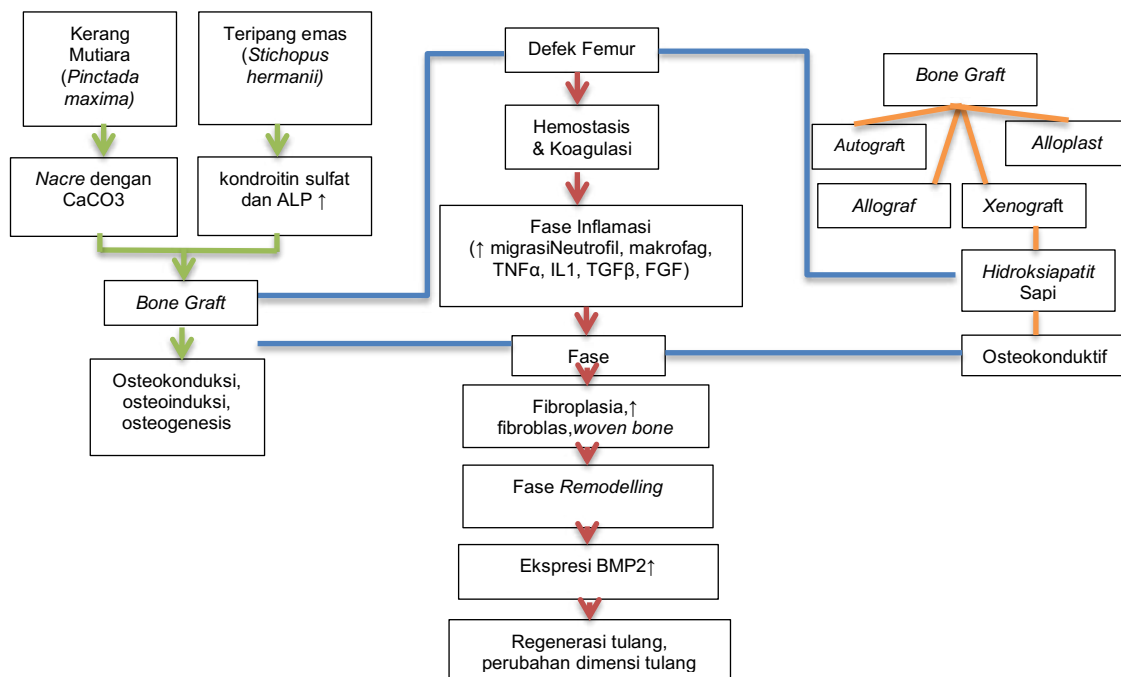
1. Untuk melihat ekspresi BMP-2 pada femur marmut setelah aplikasi bahan kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) pada hari ke-14 dan 21.
2. Untuk melihat ekspresi BMP-2 pada femur marmut setelah aplikasi hidroksiapatit *xenograft bovine* pada hari ke-14 dan 21.
3. Untuk melihat perbedaan ekspresi BMP-2 antara kelompok Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*), kelompok hidroksiapatit *xenograft bovine*, dan kelompok kontrol negatif pada hari ke-14 dan 21.

1.4. Manfaat Penelitian

- a. Memberikan kontribusi pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) pada bidang periodontal.
- b. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dengan gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) ekspresi BMP-2.
- c. Memberikan informasi tentang pemanfaatan Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) dan Teripang Emas (*Stichopus hermanii*), sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang, khususnya pada *bone graft*.
- d. Melalui penelitian ini, kombinasi Kerang Mutiara dan Teripang Emas dapat menjadi alternatif dalam pemilihan bahan *graft* yang murah, mudah diperoleh, dan efektif untuk regenerasi jaringan tulang alveolar pasca pencabutan gigi.

- e. Dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya mengenai penggunaan kombinasi Kerang Mutiara dan Teripang Emas dalam meregenerasi tulang.

1.5. Teori Konseptual



Gambar 1.3 Teori Konseptual

1.5.1 Deskripsi Teori Konseptual

Cangkang kerang mutiara merupakan *bone graft* yang termasuk dalam kelompok *xenograft* karena merupakan bahan *bone graft* yang terbuat dari bahan alam (cangkang kerang). Teripang emas mengandung kondroitin sulfat yang dapat meningkatkan ALP (*alkalin phosphatase*) yang berperan dalam proses remineralisasi tulang. Selain itu juga mengandung asam hialuronat yang bersifat osteoinduksi dimana dapat meningkatkan TGF- β sehingga dapat menginduksi BMP-2. Begitu pula dengan terapi *bone graft* (*autograft*, *allograft*, *alloplast* dan *xenograft*). *Xenograft* dapat berasal dari tulang sapi atau *bovine* hidroksiapatit, yang memiliki

sifat osteokonduktif. Pasca inflamasi atau trauma, tulang akan mengalami fase penyembuhan yaitu dimulai dari hemostasis dimana akan terjadi koagulasi darah, kemudian dilanjutkan dengan fase inflamasi hingga hari ke-5 terjadi peningkatan sel neutrofil, makrofag, sitokin inflamasi dan *growth factor* TGF β . Fase proliferasi dimulai dari hari ke-3 hingga ke-14 terjadi pembentukan fibroblas, dan *woven bone*. Pada fase *remodelling*, preosteoblas mensintesis zat *cementing* di mana jaringan baru melekat dan mengekspresikan BMP-2 yang bertanggung jawab untuk diferensiasi osteoblas sehingga mempercepat proses *remodelling* atau regenerasi tulang