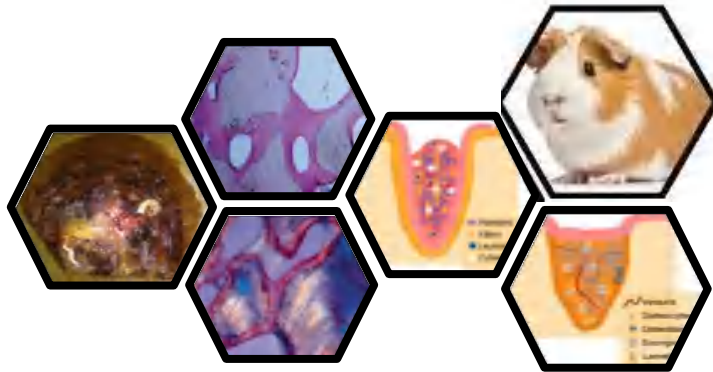


**EFEKTIVITAS KALSIMUM KARBONAT CANGKANG KERANG MUTIARA
(*PINCTADA MAXIMA*) NON BUDIDAYA TERHADAP PEMBENTUKAN *WOVEN BONE*
PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION***

**THE EFFECTIVENESS OF CALCIUM CARBONATE OF NON CULTURED
PEARL OYSTER SHELLS (*PINCTADA MAXIMA*)
ON THE FORMATION *WOVEN BONE* IN *SOCKET PRESERVATION* PROCEDURES**



**YOSEPH SAFERIUS KANISIUS ANI
J035 212 006**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
20024**

**EFEKTIVITAS Kalsium karbonat CANGKANG KERANG MUTIARA
(*PINCTADA MAXIMA*) NON BUDIDAYA TERHADAP PEMBENTUKAN *WOVEN BONE*
PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION***

**THE EFFECTIVENESS OF CALCIUM CARBONATE OF NON CULTURED
PEARL OYSTER SHELLS (*PINCTADA MAXIMA*)
ON THE FORMATION *WOVEN BONE* IN *SOCKET PRESERVATION* PROCEDURES**

**YOSEPH SAFERIUS KANISIUS ANI
J035 212 006**



Pembimbing 1 : Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K).

Pembimbing 2 : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K).

Penguji 1 : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K).

Penguji 2 : Dian Setiawati, drg., Sp. Perio., Subsp. M.P (K).

Penguji 3 : Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S.



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

20024

**EFEKTIVITAS KALSIUM KARBONAT CANGKANG KERANG MUTIARA
(*PINCTADA MAXIMA*) NON BUDIDAYA TERHADAP PEMBENTUKAN *WOVEN BONE*
PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION***

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Dokter Gigi Spesialis
Program Studi Pendidikan DOKter Gigi Spesialis Periodonsia

Disusun dan diajukan oleh :

YOSEPH SAFERIUS KANISIUS ANI

J035 212 006

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
20024**



**EFEKTIVITAS KALSIMUM KARBONAT CANGKANG KERANG MUTIARA
(PINCTADA MAXIMA) NON BUDIDAYA TERHADAP PEMBENTUKAN WOVEN BONE
PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION**

TESIS

**YOSEPH SAFERIUS KANISIUS ANI
J035 212 006**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Profesi Spesialis-1 pada tanggal 04 Oktober 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada :

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

Mengesahkan :

Pembimbing Utama



drg. Surijana Mappangara, M.Kes.,Sp.Perio (K)
NIP. 19590901 198702 2 001

Pembimbing Pendamping



Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K)
NIP. 19581110 198609 1 002



Optimized using
trial version
www.balesio.com

Ketua Program Studi (KPS)
R.P.D.G. Periodonsia FKG-UNHAS

Irawaty drg., Sp.Perio., Subsp.R.P.I.D (K)
199002 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
UNIVERSITAS HASANUDDIN

Irfan Sugianto, drg., M. Med. Ed., PhD
NIP. 19810215 201801 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Efektivitas Kalsium Karbonat dari Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) Non Budidaya terhadap Pembentukan Woven Bone pada tindakan *Socket Preservation*” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing yaitu drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio (K) sebagai Pembimbing Utama dan Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K) sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. 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.

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. 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, 04 Oktober 2024



Yoseph Saferius Kanisius Ani

J035212006



Ucapan Terima Kasih

Penelitian dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio (K) diskusi dan arahan sebagai pembimbing utama dan Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K) sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada mereka.

Terima kasih kepada Laboratorium Terpadu Teknik Kimia PNUP, Laboratorium Mikrostruktur Fakultas Teknik Universitas Muslim Indonesia, Klinik dokter hewan Doc Pet, Laboratorium Patologi Anatomi RSP UNHAS, dan Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian ini.

Terima kasih kepada Badan Kepegawaian Daerah Kabupaten Ende yang telah memberikan kesempatan kepada saya dalam menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia. Terima kasih saya haturkan 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, 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.Perio (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 drg. Muna Fatma, M.Kes. (Mantan Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Ende) atas dukungannya kepada saya untuk melanjutkan pendidikan, teman-teman angkatan Venom dan teman sejawat residen periodonsia yang telah memberikan dukungan selama menempuh pendidikan ini.

Terima kasih kepada leluhur, keluarga besar Kerhi Kandu Rau, Thomas Da Ruka, Embu Rau, Tiwurande dan Tomberabu, kedua almarhum orang tua tercinta bapak Vitalis Bhandu dan mama Maria Dete, alm. Yohanes Ngaji, alm. Anastasia Ngura, alm. Nikolaus Bendu, alm. Gabriel Gende, alm. Bonefasius Ruka, alm. Hendrikus Raka, alm. bibi Ernes, alm. Rafeel Rhapo, alm. Teresia Ndae, alm. Benediktus Dhonga, alm. Monika Mbuka, alm. maria Mbopo, alm, Bernadus Baba, alm. ibu Nela, alm. ka'e Daniel, alm. nene Len dan semua keluarga yang telah meninggal dunia. Terima kasih tak terhingga kepada mama Katrina Isa, mama Theresia Tuga, mama Sisi, mama Martha, mama Agus, mama Teresia Sedho, ka'e Frans, Pater Adam Satu, SVD, Ka'e Donatus, bibi Kata, om Doni, bibi Mery, Pak Goris, ka'e Anton, bibi Anas, Om Jarot, bibi Lita, Om Rius, bibi Ria, Hendra sek., Haldi sek., Herson, Hilton, Aril, Rian, Aldo, Riski, Kristin, ka'e Anus, Ibu Hilde, Ade Madin sek. Ade Eman, Ade Wiwin, Ade Oman, Ade Yanti, Ade Lontar, Ade Ludwi, ade Fi dan istri, Ka'e Roy (Konco), tua Dida, Bapak Lorens, Ibu Asna, ka'e Pelita, bibi Eris, Eja Faris, Ibu Eni, eja Paskal, bibi Rensi, Eja Berwan, ibu Krist, Eja Fila, bibi Tin, Eja Petrus, bibi Emi, eja Delon, bibi Krist, kae Edi, mami Fa, ka'e Mans, mama Wilson, om Hakim sek., du'a Lu, om Eman, Bibi Yo, om Alo Wa'o. mama Kresen, ka'e Numba, bibi Pao, bibi Martin, eja Aris, weta Bibi, eja Hanes, bibi Domi, Eja Embu, weta Migon, bibi Wunu, bibi Dorce, mba Nur, eja Yan, ibu Tin, om Hakim sek., bapak Rafeel, tanta Gina, Eja Blasius Kedu Sek., ka'e Baron, ka'e Herlin, mas Dus dan bibi Nita, bapak RT Bhaki, om Sapo, mama Agus (ACI), mama Lu, lo'o Anas, ka'e Ambros Sek, mama Vina, mama Len, mama lo'o Aga, om Once, opa Aloysius Lagu, mama ani, mama Oci, anak Ebet, ibu Ewit, ane Arlan dan mama Delon, Ane dedy Sek., Rofin, bibi Vero, ane Kenzo sek., ade Rinus, Ade Eros sek, ade Jhon, bapak de Alfian Sek., dokter Tinus, ade Aven, anak-anak serta semua cucu.



ABSTRAK

Yoseph Saferius Kanisius Ani. **Efektivitas Kalsium karbonat Dari Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) Non Budidaya Terhadap Pembentukan Woven Bone Pada Tindakan *Socket Preservation*** (dibimbing oleh Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K)., Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K).).

Latar belakang : *Bone graft* digunakan sebagai pengisi dan scaffold untuk memfasilitasi pembentukan tulang dan mempercepat penyembuhan luka. Bahan graft bersifat bioresorbable dan tidak mempunyai reaksi antigen-antibodi dan bertindak sebagai reservoir mineral untuk menginduksi pembentukan tulang baru. Mekanisme biologis yang dimiliki bahan bone graft dapat membantu regenerasi tulang melalui tiga metode yaitu osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenesis. Salah satu bahan Bone Graft pengganti dari hasil laut adalah *Pinctada maxima* yang digunakan sebagai bahan bone graft. Nacre dari *Pinctada maxima* memiliki aktivitas osteogenic Secara *in vivo*. **Tujuan** : Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas Kalsium karbonat cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) non budidaya terhadap pembentukan *woven bone* pada tindakan *socket preservation*. **Metode** : Penelitian ini menggunakan *pre-post test control grup design* dengan subjek penelitian adalah marmut jantan (*Cavia cobaya*). Pembuatan bubuk cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) melalui metode presipitasi dan di-furnance selama 2 jam. Hasil sampel kemudian disaring dengan ukuran -60+120 mesh sehingga diperoleh serbuk cangkang kerang mutiara. Serbuk diuji menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)* untuk mengetahui kandungan kalsium. Kemudian sampel di furnace 900°C dan selanjutnya dikalsinasi untuk memperoleh kandungan kalsium karbonat (CaCO_3). *Woven Bone* diamati pada hari ke-7, ke-14 dan 21, kemudian data dianalisis dengan *SPSS Statistics V.21*. **Hasil** : Pembentukan *Woven Bone* pada hari ke-7, ke-14 dan 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** : Terapi *bone graft* Kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) yang mengandung Kalsium karbonat dapat meningkatkan pembentukan *Woven Bone* dan menginduksi regenerasi tulang.

Kata kunci: *Woven Bone, bone graft, Pinctada maxima, Kalsium karbonat*



ABSTRACT

Yoseph Saferius Kanisius Ani. **The Effectiveness Of Calcium Carbonate Of Non Cultured Pearl Oyster Shells (*Pinctada Maxima*) On The Formation Woven Bone In Socket Preservation Procedures**(supervised by drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio (K), Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K)).

Background : Bone graft is used as a filler and scaffold to facilitate bone formation and accelerate wound healing. The graft material is bioresorbable and does not have an antigen-antibody reaction and acts as a mineral reservoir to induce new bone formation. The biological mechanism of bone graft material can help bone regeneration through three methods, namely osteoconductive, osteoinductive and osteogenesis. One of the substitute bone graft materials from marine products is *Pinctada maxima* which is used as a bone graft material. Nacre from *Pinctada maxima* has osteogenic activity in vivo. **Objective** : This study aims to analyze the effectiveness of calcium carbonate of non-cultivated Pearl clam (*Pinctada Maxima*) shells on the formation of woven bone in socket preservation procedures. **Method** : This study used a pre-post test control group design with the research subjects being male guinea pigs (*Cavia cobaya*). Making pearl shell powder (*Pinctada Maxima*) using the precipitation method and in the furnace for 2 hours. The sample results were then filtered with a size of -60+120 mesh to obtain pearl shell powder. The powder was tested using Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) to determine the calcium content. Then the sample is placed in a furnace at 900oC and then calcined to obtain the calcium carbonate (CaCO₃) content. Woven Bone was observed on days 7, 14 and 21, then the data was analyzed using SPSS Statistics V.21. **Results** : Woven Bone formation on days 7, 14 and 21 in the negative control group had significant differences in the treatment and positive control groups (BATAN). Meanwhile, the treatment group had a significant difference from the negative control group ($p < 0.05$), but was not significantly different from the positive control group (BATAN) with $p > 0.05$. **Conclusion** : Pearl Shell (*Pinctada maxima*) bone graft therapy containing calcium carbonate can increase woven bone formation and induce bone regeneration.

Kata kunci : *Woven Bone, bone graft, Pinctada maxima, Kalsium karbonat*



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
SARAT MEMPEROLEH GELAR	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIHAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori	2
1.2.1 Pencabutan gigi dan Proses Penyembuhan Luka	2
1.2.2 Perubahan Dimensi Tulang Alveolar Setelah Penyembuhan Soket	5
1.2.3 Woven Bone	6
1.2.4 Soket Preservation	7
1.2.5 Bone Graft	8
1.2.6 Kalsium karbonat	10
1.2.7 Kerang Mutiara (<i>Pinctada Maksima</i>)	10
1.2.7.1 Klasifikasi dan Morfologi	11
1.2.7.2 Kandungan Cangkang Kerang Mutiara	12
1.2.8 Pemanfaatan Cangkang Kerang Mutiara	12
1.3 Rumusan Masalah	14
1.4 Hipotesis	14
1.5 Tujuan Penelitian	14
1.5.1 Tujuan Umum	14
1.5.2 Tujuan Khusus	14
1.6 Manfaat Penelitian	14
1.6.1 Manfaat Pengembangan Ilmu	14
1.6.2 Manfaat Praktis	14
1.6.3 Manfaat Aktual	15
1.6.4 Manfaat Teori	15
1.6.5 Konsep	16
1.6.6 Teori Konseptual	16



BAB II METODE PENELITIAN	17
2.1 Desain Penelitian.....	17
2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	17
2.3 Subjek Penelitian.....	17
2.3.1 Kriteria Subjek Penelitian	17
2.3.2 Penentuan Sumber Data (Penentuan Besar Sampel)	17
2.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	18
2.4.1 Variabel Penelitian.....	18
2.4.2 Definisi Operasional	18
2.5 Alat dan Bahan Penelitian	18
2.5.1 Alat Penelitian	18
2.5.2 Bahan Penelitian	19
2.6 Metode Penelitian.....	19
2.6.1 Persiapan Penelitian	19
2.6.1.1 Pembuatan Bubuk Kalsium karbonat	19
2.6.2 Pelaksanaan Penelitian	20
2.7 Analisa Data	20
2.8 Alur Penelitian	21
2.9 Etika Penelitian	21
 BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 22
3.1 Karakteristik Bahan	22
3.1.1 Karakteristik Fisik Kalsium karbonat.....	22
3.1.2 Uji Kandungan Bahan FT-IR (Fourier Transform_Infrared Spectroscopy).....	22
3.1.3 Uji Sem	23
3.1.4 Uji Porositas	23
3.2 Pemeriksaan Jumlah <i>Woven Bone</i> dan Uji Statistik	24
3.2.1 Hasil Pengamatan Histologi <i>Woven Bone</i>	24
 BAB IV PEMBAHASAN.....	 30
 BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
4.1. Simpulan.....	33
4.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	40



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Tabel sintesa penelitian	13
2. Uji kandungan bahan FT-IR (Fourier Transform_Infrared Spectroscopy).....	22
3. Perbandingan jumlah woven bone pada setiap kelompok.....	24
4. Perbandingan jumlah woven bone pada dua kelompok perlakuan hari ke-7.....	25
5. Perbandingan jumlah woven bone pada dua kelompok perlakuan hari ke-14.....	26
6. Perbandingan jumlah woven bone pada dua kelompok perlakuan hari ke-21.....	27
7. Perbandingan jumlah woven bone pada tiga kelompok perlakuan hari ke-7, 14 dan 21	28



DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Fase penyembuhan soket setelah pencabutan gigi.....	3
2. Gambaran <i>woven bone</i> dan <i>lamellar bone</i>	6
3. Tampilan luar kerang mutiara	11
4. Teori konseptual	15
5. Kerangka konsep	16
6. Bubuk Kalsium karbonat cakang kerang mutiara (<i>Pinctada Maxima</i>).....	22
7. Scaffold.....	23
8. Perbandingan woven bone antara kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke-7	25
9. Perbandingan woven bone antara kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke-14.....	26
10. Perbandingan woven bone antara kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke-21	27
11. Perbandingan woven bone antara kelompok kontrol positif dan kontrol negatif berdasarkan waktu pengamatan	29



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Alur penelitian	40
2. Persetujuan etik.....	41
3. Lembar perbaikan ujian seminar hasil	42
4. Proses ekstraksi cangkang kerang Mutiara	43
5. Perlakuan hewan coba dan pengambilan jaringan	44
6. Output uji statistic woven bone.....	45



DAFTAR SINGKATAN

CaCO ₃	Kalsium Karbonat
BMP-2	Bone Morphogenetic Protein-2
FGF	Fibroblast Growth Factor
TGF	Transforming Growth Factor
EGF	Epidermal Growth Factor
BMP	Bone Morphogenetic Protein
RANKL	Receptor Activator Of NFKB Ligand
RUNX-2	Runt Related Transcription Factor-2
OC	Osteoclasin
OPN	Osteopontin
OST	Osterix
MOBL	Mesenchymal Osteoblast
SOBL	Surface Osteoblast
MSC	Mesenchymal Stem Cell
GDR	Guided Bone Regeneration
FT-IR	Fourier Transform Infrared
CHA	Karbonat Hidroksiapatit
HA	Hidroksiapatit
CHO	Kalsium Oksida



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tulang alveolar merupakan bagian dari maksilla dan mandibula yang membentuk dan menopang soket gigi. Tulang alveolar terbentuk ketika gigi erupsi melalui proses osifikasi tulang untuk memberikan perlekatan pada ligamentum periodontal. (Caecilia S.W.N, 2015) Perubahan tulang alveolar dapat disebabkan karena berbagai sebab antara lain perubahan patologis karena periodontitis kronis, trauma setelah pencabutan gigi, gangguan perkembangan (celah langit-langit), kehilangan gigi jangka panjang, efek mekanis *crest* alveolar rahang atas dan pembentukan gigi. (Irinakis, 2006)

Resorpsi tulang alveolar atau *residual ridge* adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan perubahan yang terjadi pada alveolar setelah pencabutan gigi dan proses tersebut akan terus berlanjut bahkan setelah penyembuhan soket. (Pagni *et al.*, 2012) Beberapa penelitian menunjukkan bahwa, selama tiga bulan pasca pencabutan gigi, dua pertiga jaringan keras dan lunak akan mengalami resorpsi. Sebagian besar kehilangan tulang ini terjadi pada enam bulan pertama setelah pencabutan gigi dengan peningkatan kecepatan resorpsi rata-rata sebesar 0,5-1% setiap tahunnya. (Cai *et al.*, 2004) Kehilangan tulang alveolar ini akan mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi serta penempatan implan gigi sehingga menyebabkan berkurangnya kenyamanan pada pasien. (Chappuis, Araújo and Buser, 2017) Waktu terbaik untuk mempersiapkan *ridge alveolar* yaitu pada saat pencabutan gigi melalui prosedur *socket preservation*. (Chappuis, Araújo and Buser, 2017) *Socket preservation* merupakan suatu upaya membatasi resorpsi tulang alveolar pasca pencabutan gigi dengan cara mengaplikasikan *bone graft*, *membran barrier*, dan atau agen biologis dalam soket gigi. Keberhasilan prosedur ini sangat tergantung pada derajat trauma dan respon inflamasi pada soket, morfologi soket alveolar, penutupan luka pencabutan, penggunaan bahan *graft* dalam soket, dan penggunaan bahan regeneratif. (Nardiatmo, Mapangara and Jais, 2019)

Kriteria penting yang harus dipenuhi oleh *bone graft* adalah dapat diterima oleh tubuh atau biokompatibel dan menguntungkan pada proses osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis tulang. Osteokonduktif dan osteoinduktif adalah fase terpenting untuk biomaterial *reasonable* guna mendorong dan mengarahkan formasi pertumbuhan jaringan. (Pang *et al.*, 2017; Fauzia, Agoes Wibisono and Maduratna, 2019) Salah satu bahan *graft* yang dapat digunakan pada *socket preservation* adalah kalsium karbonat (CaCO_3). Kalsium karbonat merupakan mineral anorganik yang dibentuk oleh tiga unsur utama yaitu karbon, oksigen dan kalsium (Omari *et al.*, 2016) Sifat kalsium karbonat yang biokompatibel, bioaktif, dan osteokonduktif sering dimanfaatkan untuk regenerasi jaringan keras. Contoh sumber kalsium karbonat alami yang berasal dari laut adalah cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*). Perairan Indonesia memiliki potensi dalam pembudidayaan kerang mutiara (*pinctada maxima*). Kerang mutiara merupakan salah satu komoditas unggulan Indonesia dimana setiap tahunnya menghasilkan limbah cangkang kerang sebanyak 600 kg. Limbah ini belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat umum komposisi dari cangkang kerang mutiara terdiri dari Ca, Mg, Na, P, dan Fe, Cu, Ni, B, Zn, serta Si. Kandungan kalsium karbonat pada cangkang kerang mutiara ini merupakan sumber kalsium yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber kalsium. (Rahayu, Dian W. Kurniawidi, 2018) Keberadaan kerang mutiara di Indonesia sebagai sumber, yaitu non-budidaya dengan cara pengumpulan kerang dari habitat alam dan budidaya kerang dengan cara penyelaman dan pembudidayaan dengan metode



pembenihan dilaut terbuka atau ditempat yang tertutup (laboratorium pembenihan) melalui pemijahan dari induk-induk siput mutiara. (Disodonta, Pteridae and Pinctada, no date)

Penelitian mengenai kerang mutiara sebagai bahan *bone graft* telah dilakukan dengan menggunakan spesies yang berbeda-beda. Penelitian *in vivo* oleh Lamghari dkk menunjukkan aktivitas osteogenik dari cangkang kerang mutiara (*pinctada maxima*) dengan terbentuknya tulang baru pada defek tulang belakang kelinci dan domba. (Gerhard *et al.*, 2017) Sementara pada penelitian lain oleh Hendra dkk. (Chandha *et al.*, 2022) menemukan bahwa sifat kimia dan karakteristik Kalsium karbonat dalam *Pinctada maxima* dapat memicu pembentukan regenerasi tulang baru melalui peningkatan ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG) dan *Bone Morphogenetic Protein* (BMP)-2.

Pinctada Maxima mengandung bahan anorganik dan organik yang memiliki struktur dasar mirip tulang merupakan salah satu jenis kerang yang banyak dibudidayakan di Kepulauan Pangkep, Sulawesi Selatan. Spesies ini juga telah banyak diteliti di beberapa negara sebagai bahan *bone graft*, namun penelitian kedokteran gigi menggunakan spesies ini masih belum banyak dilakukan di Indonesia. (Fauzia, Agoes Wibisono and Maduratna, 2019; Chandha *et al.*, 2022, 2023)

Woven bone adalah bentuk tulang paling awal pada masa embrio terdiri dari jaringan kolagen yang bentuknya tidak beraturan. Setelah dewasa *woven bone* digantikan oleh tulang berlapis atau *Lamella Bone*, yang terdiri dari tulang kortikal dan trabekuler. (Arnawati and Sudiana, 2022) *Woven bone* merupakan jenis tulang sementara yang tidak memiliki kapasitas menahan beban. (Baron, 2000; Cai *et al.*, 2004; Trombelli *et al.*, 2008) Pada fase proliferasi *woven bone* mulai terbentuk dari dinding soket hingga ke tengah soket di dalam matriks jaringan ikat yang terbuat dari serat kolagen dengan struktur yang tidak teratur pada hari ke-7 dimana osteoblas akan membantu proses mineralisasi *soft callus* dengan cara mensekresi matriks kolagen yang nantinya akan menjadi *woven bone*. Aktivitas osteoblas dan osteoklas akan mengubah tulang yang belum matang (*woven bone*) menjadi *lamellar bone* terjadi pada hari ke-14 dimana osteoklas mampu merusak sel-sel yang rusak pada soket pasca dilakukan pencabutan gigi yang kemudian akan diganti oleh osteoblas untuk membentuk tulang baru pada hari ke-21. (Sa'diyah, *et al.*, 2020)

Pembentukan *woven bone* dipengaruhi oleh osteoklast-osteoblast dan sel-sel tulang lamellar di dalam matriks kolagen yang mengelilinginya dan membentuk susunan lingkaran 360°. *Woven bone* yang terbentuk berfungsi sebagai *scaffold* untuk sintesis tulang matur. Selanjutnya, osteoklas akan menghilangkan *woven bone* setelah perannya sebagai *scaffold* untuk deposisi tulang lamellar selesai. Terbentuknya *woven bone* ini akan mempengaruhi lingkungan tempat beraktivitasnya sel osteoblas dan vaskularisasi tulang, yang kemudian akan mempengaruhi pembentukan tulang matur. Pengamatan pembentukan *woven bone* dapat dilakukan melalui pemeriksaan histologi. (Baron, 2000; Rostiny *et al.*, 2014; Lamusul Afiah and Medawati, 2017) oleh karena itu pembentukan *woven bone* memainkan peran penting dalam proses penyembuhan mukosa tulang dengan secara fisik menjembatani jaringan lunak dan keras di rongga mulut dan *woven bone* diperiksa dengan menggunakan Pemeriksaan histologi. (Williams *et al.*, 2014)

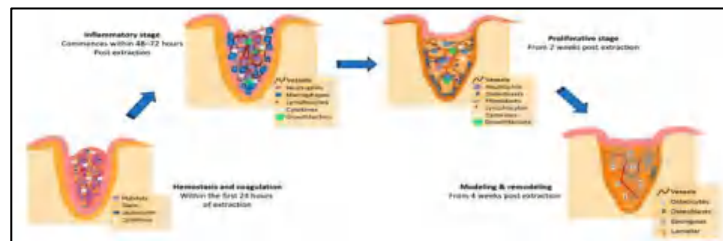
Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti efektivitas Kalsium karbonat dari cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) sebagai bahan *bone graft* pada *socket preservation* dengan menggunakan analisis pembentukan *woven bone*.



1 Gigi dan Proses Penyembuhan Luka

Gigitan merupakan suatu tindakan yang dapat menimbulkan trauma minimal dan luka pada soket gigi. Proses penyembuhan *ridge alveolar* setelah

pencabutan gigi digambarkan sebagai serangkaian peristiwa termasuk pembentukan koagulum yang secara progresif digantikan oleh jaringan granulasi yang sangat tervascularisasi, kemudian digantikan oleh matriks sementara dan kemudian oleh *woven bone*. (Cai *et al.*, 2004; Caecilia S.W.N, 2015; Nardiatmo, Mapangara and Jais, 2019) Penyembuhan luka secara normal terjadi dengan beberapa proses yang kompleks dan melibatkan sel radang serta faktor pertumbuhan yang saling mempengaruhi pada setiap fase penyembuhan.(Budi, Soesilowati and Imanina, 2017) Tahapan penyembuhan luka pada daerah bekas pencabutan terdiri atas beberapa fase, yaitu tahapan koagulasi dan hemostasis, inflamasi, proliferasi, serta proses *remodelling* tulang (Gambar 1). (Srinivas *et al.*, 2018; Udeabor *et al.*, 2023)



Gambar 1: fase penyembuhan soket setelah pencabutan gigi. (Udeabor *et al.*, 2023)

A. Fase Koagulasi dan Hemostasis

Setelah pencabutan gigi, soket segera terisi dengan darah, menyebabkan pembentukan bekuan darah, yang secara umum terdiri dari sel darah merah dan putih dengan trombosit yang semuanya terperangkap dalam jaringan fibrin.(Devlin and Sloan, 2002; Cardaropoli, Araújo and Lindhe, 2003; Trombelli *et al.*, 2008) Dalam 7 hari pertama, bekuan darah ini digantikan oleh jaringan granulasi yang sebagian besar terdiri dari sejumlah besar pembuluh darah yang tertanam di jaringan ikat sel mesenkim dan leukosit.(Trombelli *et al.*, 2008; Srinivas *et al.*, 2018) Penelitian oleh Trombelli dkk. (Trombelli *et al.*, 2008) tentang modeling dan remodeling soket alveolar manusia, mencatat bahwa biopsi yang diperoleh dari soket pencabutan pada 2-4 minggu pasca pencabutan sebagian besar memiliki sel mesenkim dengan hanya sedikit sel darah merah. Hal ini menunjukkan bahwa bekuan awal yang mengisi soket ekstraksi mungkin telah diperbaiki sepenuhnya dalam waktu satu minggu pertama setelah ekstraksi.(Udeabor *et al.*, 2023) Proses pembentukan bekuan pada soket mengikuti serangkaian reaksi enzimatik yang terjadi pada saat pembekuan darah. Perdarahan setelah pencabutan gigi akan memicu interaksi trombosit dengan sel endotel dan matriks ekstraseluler yang terbuka, menyebabkan agregasi trombosit dan selanjutnya pembentukan bekuan fibrin.(Gomes *et al.*, 2019) Selain membantu mencapai hemostasis, bekuan darah awal yang mengisi soket juga menyediakan kerangka atau *scaffold* untuk adhesi sel yang berperan penting dalam tahap penyembuhan soket.(Davies and Hosseini, 2000; Gomes *et al.*, 2019) Bekuan darah dan trombosit yang teraktivasi, bersama dengan sel endotel dan leukosit, melepaskan berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan yang memodulasi tahap inflamasi penyembuhan soket. (Davies and Hosseini, 2000; Barrientos *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2019)



ip penyembuhan soket, yang dimulai dalam waktu 48 hingga 72 jam setelah
krutmen, migrasi, diferensiasi, dan proliferasi sel inflamasi sebagai respons
n sitokin dan *growth factor*. Sejumlah besar sel inflamasi ini bermigrasi ke
n dan membantu membersihkan sisa-sisa, termasuk bekuan darah, untuk

membuka jalan bagi pembentukan jaringan baru. (Cai *et al.*, 2004; Roberta Farina, 2012) Peran *growth factor* dan sitokin yang berkaitan dengan penyembuhan soket gigi telah diteliti dan didokumentasikan sebelumnya (Fisher *et al.*, 2004; Garlet *et al.*, 2012), namun menurut Araujo dkk (Cai *et al.*, 2004), “karakterisasi sederhana” dari efeknya tidak tepat karena dengan fungsinya yang beragam dan tumpang tindih. Neutrofil mendominasi pada tahap awal, diikuti oleh makrofag dan kemudian limfosit. Sel-sel ini memfagositosis bekuan darah dan jaringan nekrotik. Makrofag juga melepaskan berbagai faktor pertumbuhan, seperti faktor pertumbuhan fibroblas (FGF), TGF-Alpha, TGF- β , dan faktor pertumbuhan epidermal (EGF), yang mengaktifkan fibroblas dan osteoblas seiring dengan berlangsungnya penyembuhan soket. (Davies and Hosseini, 2000; Barrientos *et al.*, 2008; Timothy J. Koh, 2013; Gomes *et al.*, 2019) Pada tahap ini bekuan fibrin kemudian digantikan oleh jaringan granulasi yang terjadi dalam 4 minggu pertama setelah pencabutan gigi. Jaringan granulasi ini terutama terdiri dari sejumlah besar pembuluh darah baru dengan sel inflamasi dan fibroblas imatur yang membentuk jaringan ikat. (Devlin and Sloan, 2002; Cai *et al.*, 2004; Trombelli *et al.*, 2008)

C. Fase Proliferasi

Fibroplasia menandai awal dari tahap proliferasi dan diyakini diaktifkan oleh TGF- β 1 dan FGF-2. Tahap penyembuhan soket ini terjadi dalam dua fase yaitu fibroplasia dan pembentukan *woven bone*, dimana matriks sementara digantikan oleh pembuluh darah yang baru terbentuk, sel-sel pembentuk tulang, dan *woven bone* di sekitar pembuluh darah. Matriks sementara akan secara progresif menggantikan jaringan granulasi dan sisa-sisa ligamen periodontal seiring dengan perkembangan tahap ini. Matriks sementara ini umumnya terdiri dari sel-sel mesenkim padat dalam matriks jaringan ikat yang kaya akan kolagen dengan banyak pembuluh darah dan sedikit leukosit mononuclear. (Cai *et al.*, 2004; Trombelli *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2019) Hampir seluruh jaringan granulasi digantikan oleh *woven bone* dalam waktu 6 sampai 8 minggu setelah penyembuhan soket. Namun hal ini dapat diidentifikasi pada awal 2 minggu pasca ekstraksi. (Cai *et al.*, 2004) Berdasarkan hasil biopsi 27 soket pasca ekstraksi manusia pada penelitian oleh Trombelli dkk. (Trombelli *et al.*, 2008) terlihat bahwa *woven bone* mempunyai nilai rata-rata $34,0 \pm 24,6\%$ dari seluruh spesimen yang dianalisis. *Bone morphogenetic protein* (BMP), bersama dengan TGF- β , telah terbukti memainkan peran utama dalam tahap morfogenesis tulang dan diferensiasi osteoblas ini. (Trombelli *et al.*, 2008; Beck-Broichsitter *et al.*, 2015)

D. Fase Remodeling

Fase ini merupakan tahap terakhir dari penyembuhan soket yang mengarah pada penggantian *woven bone* dengan tulang matur yaitu tulang pipih (*lamellar bone*) dan sumsum tulang yang memiliki kapasitas menahan beban. (Cai *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2019; Udeabor *et al.*, 2023) Modeling secara umum mengacu pada perubahan struktur tulang dengan modifikasi pada bentuk dan arsitekturnya, sedangkan remodeling adalah perubahan pada struktur tulang tanpa modifikasi pada bentuk atau arsitekturnya. (Cai *et al.*, 2004; Trombelli *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2019) Maka dalam konteks ini, pembentukan *lamellar bone* dan sumsum tulang untuk menggantikan *woven bone* dalam soket penyembuhan adalah remodeling, sedangkan



yang terjadi pada tulang alveolar sebagai akibat resorpsi disebabkan oleh remodeling tulang bervariasi pada setiap individu dan dapat memakan waktu beberapa tahun. (Cai *et al.*, 2004; Irinakis, 2006; Trombelli *et al.*, 2008; Caecilia S.W.N., 2019)

Sumsum tulang matur dan sumsum trabekula menggantikan *woven bone* dimulai pada fase awal penyembuhan soket (sekitar minggu ke-4) dan kemudian di daerah

mahkota pada sekitar minggu ke-12 menyebabkan penutupan soket dengan tulang kortikal. (Nahles *et al.*, 2013) Berdasarkan hasil penelitian histologis oleh Evian dkk. (Evian *et al.*, 1982) disimpulkan bahwa 8 hingga 12 minggu sebagai periode tulang baru mengalami pematangan dan membentuk pola trabekuler. Hal yang sama ditunjukkan pada penelitian Ahn dan Shin (Ahn JJ, 2008) yang melaporkan penyembuhan soket lengkap dengan tulang termineralisasi setelah 10 minggu pasca ekstraksi. Temuan ini selanjutnya dikonfirmasi oleh berbagai penelitian lain yang menganalisis biopsi yang diambil dari soket ekstraksi penyembuhan pada minggu ke 12 pasca ekstraksi dan menemukan bukti adanya mineralisasi tulang trabekuler dengan jumlah yang bervariasi. (Aimetti M, Romano F, Griga FB, 2009; Heberer *et al.*, 2011)

Hasil berbeda ditunjukkan pada penelitian oleh Trombelli dkk. (Trombelli *et al.*, 2008) yang melaporkan bahwa *woven bone* merupakan jaringan yang mendominasi (41%) dalam waktu 12 hingga 24 minggu pasca ekstraksi, sementara *lamellar bone* dan sumsum hanya ditemukan pada 1 dari 11 biopsi sampel soket dalam periode yang sama. Persentase yang lebih tinggi mencapai 65% volume *lamellar bone* dan sumsum tulang terhadap total jaringan, dilaporkan oleh Lindhe dkk. (Lindhe *et al.*, 2012) setelah 16 minggu penyembuhan soket ekstraksi. Beberapa penelitian mengenai proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi ditunjukkan pada tabel 1. Aktivitas osteoblas dan osteoklas berperan pada fase modeling dan remodeling soket alveolar. (Cai *et al.*, 2004; Trombelli *et al.*, 2008) Selain itu sejumlah *growth factor*, seperti *runt-related transcription factor 2* (RUNX2), *osteocalcin* (OC), *osteopontin* (OPN), *osterix* (OST), *receptor activator of nuclear kappa B* (RANK), *receptor activator of nuclear kappa B ligand* (RANKL), dan *osteoprotegerin* (OPG), juga ikut berperan penting dalam memodulasi fase ini. (Sheng Z, Zheng F, Li J, Wang Y, Du Y, Liu X, 2023) Proses ini dimulai dengan adanya osteoklas pada dinding soket dan struktur trabekula marginal pada *woven bone*. (Gomes *et al.*, 2019) Hasil dari modeling dan remodeling akan menghasilkan perubahan dimensi pada *ridge* alveolar edentulous dengan penurunan tinggi dan volume *ridge* secara keseluruhan. (Cai *et al.*, 2004; Van Der Weijden, Dell'Acqua and Slot, 2009)

1.2.2 Perubahan Dimensi Tulang Alveolar Setelah Penyembuhan Soket

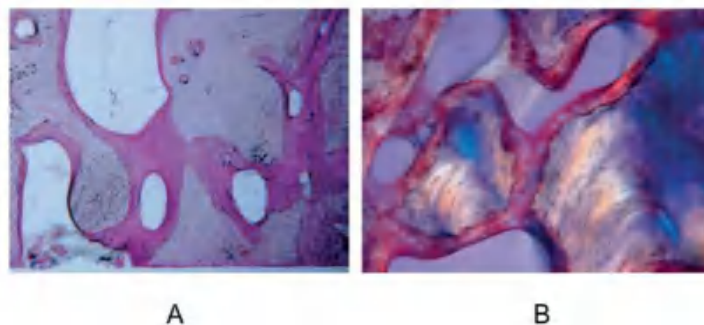
Remodeling tulang alveolar pasca ekstraksi terjadi pada setiap aspek tulang alveolar (bukal, labial, lingual, dan palatal), sehingga menyebabkan perubahan dimensi tulang. *Bundle bone* dilaporkan menjadi yang pertama mengalami resorpsi. (Pagni *et al.*, 2012) dan terdapat pengurangan cepat secara keseluruhan pada ukuran alveolar ridge dalam 6 bulan pertama setelah pencabutan, setelah itu, resorpsi berlanjut dengan kecepatan yang lebih lambat sepanjang hidup. (Devlin and Sloan, 2002; Udeabor *et al.*, 2023) Resorpsi yang cepat ini diperkirakan disebabkan oleh tingginya aktivitas osteoklastik yang terjadi selama fase awal modeling dan remodeling tulang alveolar pasca ekstraksi. (Gomes *et al.*, 2019)

Araujo dkk. membuktikan bahwa resorpsi tulang terjadi dalam dua fase. Pada fase pertama, terjadi resorpsi *bundle bone* dan digantikan oleh *woven bone* mengakibatkan berkurangnya dimensi vertikal terutama pada aspek bukal soket pencabutan, karena bagian krestalnya terbentuk oleh *bundle bone*. (Araújo and Lindhe, 2005) Tulang bukal mengalami resorpsi lebih banyak karena ketebalannya lebih tipis, rata-rata 0,8 mm pada gigi anterior dan 1,1 mm pada gigi premolar. (Huynh-Ba *et al.*, 2010) Pada fase kedua, permukaan luar tulang alveolar mengalami resorpsi sehingga mengakibatkan kontraksi jaringan vertikal dan horizontal. Modeling pada proses ini tidak diketahui dengan jelas, tetapi atrofi, kurangnya inflamasi lokal merupakan faktor predisposisi penting. (Pagni *et al.*, 2012) Terdapat banyak variasi dalam penyembuhan soket alveolar dan hasil akhirnya dipengaruhi oleh sejumlah faktor mulai dari faktor lokal, sistemik, iatrogenik, dan bahkan genetik. (Cai *et al.*, 2004; Van Der Weijden, Dell'Acqua and Slot, 2009; Udeabor *et al.*, 2023)



1.2.3. Woven Bone

Pembentukan tulang pada periode embriologis dan janin paling awal, ditandai dengan deposisi matriks kolagen dalam pola yang berorientasi acak, yang disebut sebagai *woven bone*, diikuti oleh deposisi matriks kolagen dalam orientasi paralel, yang disebut sebagai *lamellar bone*. (Shapiro and Wu, 2019) Secara histologis, *woven bone* atau disebut juga *immature bone* ditandai dengan adanya serat kolagen kasar yang berorientasi acak dan terlihat jelas di bawah mikroskop polarisasi (Gambar 2). (Antonio Barone, 2014). *Woven bone* mendahului dan menginduksi pembentukan *lamellar bone* yang lebih matur. *Woven bone* mempunyai dua fungsi utama yaitu sebagai *nidus* aktif yang mengawali pembentukan tulang secara *de novo* di tempat yang sebelumnya tidak terdapat tulang dan sebagai *scaffold* tempat sintesis *lamellar bone*. Osteoblas mesenkim dan *woven bone* mengandung faktor molekuler konsentrasi tinggi yang mengarahkan diferensiasi sel ke dalam garis pembentuk tulang. (Shapiro and Wu, 2019)



Gambar 2 : (A) Gambaran *woven bone* dan *lamellar bone*. Tampak proses remodeling sedang berlangsung, yang ditandai dengan pembentukan tulang baru pada beberapa area. (Pewarnaan *Acid fuchsin-toluidine blue*, dengan pembesaran 40x) (B) Pengamatan *woven bone* dan *lamellar bone* Terlihat adanya serat kolagen dengan orientasi paralel, yang merupakan ciri khas dari *lamellar bone*. (Mikroskop cahaya terpolarisasi 100x). (Antonio Barone, 2014)

Penelitian tentang pembentukan tulang semakin mengenali perbedaan populasi Osteoblast yang terkait dengan dua konformasi matriks yaitu *woven* dan *lamelar*. (Shapiro and Wu, 2019; Di Conza *et al.*, 2023)

Terdapat dua jenis osteoblast berbeda yang mensintesis *woven bone* dan *lamellar bone* :

1. Osteoblas mesenkim, yang disebut sebagai *mesenchymal osteoblast* (MOBL) tersusun melingkar dalam kolagen yang tersusun acak untuk membentuk *woven bone*;
2. Osteoblas permukaan, disebut sebagai *surface osteoblast* (SOBL), tersusun secara linier pada permukaan *woven bone* (atau tulang lamellar yang berdekatan) untuk mensintesis tulang lamellar berserat paralel. (Antonio Barone, 2014; Di Conza *et al.*, 2023); (Shah *et al.*, 2019)

Perkembangan pembentukan *woven bone* terdiri dari beberapa tahap, yaitu :

1. Tahap I : terdapat akumulasi sel pre-osteoblas padat yang sangat seluler secara *de novo* pada tempat yang tidak terdapat jaringan tulang. Sel pre-osteoblas ini berdifferentiasi dari sel mesenkim.



oblas mesenkim tersusun membentuk lingkaran dengan serat matriks yang acak. Terdapat 3 jenis skenario; besar dari luas matriks, dengan luas matriks, lebih besar dari luas sel.

3. Tahap III : Matriks dengan jumlah cukup bertindak sebagai *scaffold* tempat osteoblast permukaan mulai mensintesis tulang.
4. Tahap IV : Terdapat penurunan jumlah *woven bone* dalam kompleks tulang. Pengurangan *woven bone* secara relatif terjadi karena peningkatan sintesis tulang lamellar dan absolut karena resorpsi oleh osteoklas. Pembentukan *lamellar bone* bergantung pada tiga skenario pada tahap II :
 - a. *woven bone* lebih banyak dari pada tulang lamellar,
 - b. *woven bone* sama dengan tulang lamellar,
 - c. tulang lamellar lebih dari *woven bone*
5. Tahap V : semua tulang yang terlihat merupakan lamellar bone. (Shapiro and Wu, 2019; Yang *et al.*, 2020; Di Conza *et al.*, 2023)

Setelah *woven bone* terbentuk, dengan cepat berfungsi sebagai *scaffold* untuk sintesis *lamellar bone*. *Woven bone* jarang ditemukan sendirian dalam kelompok besar. Tulang ini selalu ditutupi oleh SOBL dan *lamellar bone* berserat paralel membentuk kompleks *woven-lamellar*, *fibro-lamellar* atau *woven-serat paralel*. *Woven bone* dihilangkan oleh osteoklas setelah perannya sebagai *scaffold* untuk *lamellar bone* selesai. (Shapiro and Wu, 2019) Pada penelitian menggunakan hewan coba tikus menunjukkan *woven bone* baru terbentuk pada hari ke-7 dengan osteoblas yang berdiferensiasi serta matriks tulang yang sedang berkembang, sementara proporsi osteosit yang tinggi muncul pada lapisan dinding soket dan meluas ke wilayah tengah soket dengan pola sentripetal. (Vieira *et al.*, 2015) Pada penelitian lain oleh dilakukan Cardaropoli dkk pada anjing, soket pencabutan diisi oleh *woven bone* setelah 4 minggu dan setelah 2 bulan tulang telah diganti dengan tulang lamellar dan sumsum tulang. (Roberta Farina, 2012)

1.2.4. Socket Preservation

Tulang alveolar merupakan bagian dari maksila dan mandibula yang membentuk dan menopang soket gigi. Tulang alveolar terbentuk saat gigi erupsi melalui proses osifikasi tulang untuk memberikan perlekatan pada ligamentum periodontal. Kehilangan tulang alveolar dihubungkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah pencabutan gigi yang dapat mengakibatkan deformitas tulang, termasuk penurunan tinggi dan lebar dari *ridge* sisa. (Koković and Todorović, 2011; Kassim, Ivanovski and Mattheos, 2014) Pencabutan gigi dapat mengakibatkan hilangnya fungsi pendukung dari tulang alveolar dan menyebabkan volume tulang tidak memadai untuk persiapan penempatan protesa diposisi yang benar serta dapat mengganggu estetika. Oleh karena itu, beberapa tahun terakhir disarankan untuk mengisi soket bekas pencabutan gigi dengan bahan biomaterial dan melakukan rekonstruksi tulang segera setelah pencabutan gigi. (Nardiatmo, Mapangara and Jais, 2019; Pranskunas, Galindo-Moreno and Padiál-Molina, 2019)

Ketika gigi dicabut, tulang alveolar atau bagian tulang rahang yang menahan gigi di mulut, tidak lagi menerima rangsangan yang diperlukan, sehingga mengalami kerusakan atau penyusutan. Tanpa intervensi (penyembuhan alami), hasil dari sembilan penelitian menunjukkan hilangnya lebar *ridge* yang signifikan (-2,6 hingga 4,6 mm), dan hasil dari lima penelitian menunjukkan hilangnya tinggi *ridge* tulang yang signifikan secara statistik (-0,55 hingga 3,3 mm).



terlihat penurunan yang signifikan pada tinggi *ridge* dari *baseline* dengan sisi soket tertentu. (Nardiatmo, Mapangara and Jais, 2019; Landsberg *et al.*, 2019) Teknik ini dapat digunakan untuk *socket preservation* dan meminimalkan kehilangan tulang setelah pencabutan gigi, antara lain :

1. Soket yang dirawat secara endodontik (paling diterima secara fisiologis)

2. *Socket preservation*

3. Penempatan *immediate* implant
4. Penggunaan analog akar. (Zhao *et al.*, 2021)

Socket preservation paling sering dilakukan dengan cara *guided bone regeneration* (GDR) yaitu dengan menggunakan membran, baik *resorbable* maupun *non-resorbable*, kombinasi *bone graft* dengan atau tanpa membran, atau dengan penggunaan molekul bioaktif untuk regenerasi tulang pada daerah soket. (Markel, 2019)

1.2.5. *Bone Graft*

Bahan cangkok tulang atau yang dikenal dengan istilah *bone graft* adalah suatu bagian jaringan yang diambil dari suatu 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. (Kumar, Vinitha and Fathima, 2013) *Bone graft* digunakan sebagai pengisi dan *scaffold* untuk memfasilitasi pembentukan tulang dan mempercepat penyembuhan luka. Bahan *graft* bersifat bioresorbable dan tidak mempunyai reaksi antigen-antibodi. *Bone graft* bertindak sebagai reservoir mineral yang menginduksi pembentukan tulang baru. (Pramod, 2015) Mekanisme biologis yang dimiliki bahan *bone graft* antara lain yaitu osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenesis. Bahan *graft* minimal memiliki 2 sifat biologis tersebut. (Roberts and Rosenbaum, 2012; Kumar, Vinitha and Fathima, 2013; Wang and Yeung, 2017; Markel, 2019; Zhao *et al.*, 2021)

a. Osteokonduktif

Terjadi ketika *bone graft* berfungsi sebagai *scaffold* untuk pertumbuhan tulang baru, yang didukung oleh tulang asli. Osteoblas dari *margin* defek yang sedang *digraft*, memanfaatkan *bone graft* sebagai kerangka untuk menyebarkan dan menghasilkan tulang baru. (Ladd and Wirsing, 2009) Osteokonduktif merupakan proses di mana *scaffold* yang ditanamkan secara pasif memicu pertumbuhan kapiler *host*, jaringan perivaskular, dan sel induk mesenkim. (Pramod, 2015; Markel, 2019)

b. Osteoinduktif

Melibatkan stimulasi sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas dan kemudian memulai pembentukan tulang baru. Jenis mediator sel osteoinduktif yang paling banyak dipelajari adalah BMP. Bahan *bone graft* yang bersifat osteokonduktif dan osteoinduktif tidak hanya berfungsi sebagai *scaffold* bagi osteoblas yang sudah ada, tetapi juga akan memicu pembentukan osteoblas baru, sehingga mempercepat integrasi *bone graft*. (Giannoudis, Dinopoulos and Tsiridis, 2005; Ladd and Wirsing, 2009; Roberts and Rosenbaum, 2012; Pramod, 2015; Wang and Yeung, 2017)

c. Osteogenesis

Terjadi ketika osteoblas vital yang berasal dari bahan *bone graft* berkontribusi pada pertumbuhan tulang baru bersamaan dengan pembentukan tulang. Sel yang terlibat dalam proses ini termasuk *mesenchymal stem cell* (MSC), osteoblas, dan osteosit. Hanya bahan autograft yang terlibat dalam proses ini karena memiliki sel sel osteoblas dan prekursornya. (Giannoudis, Dinopoulos and Tsiridis, 2005; Roberts and Rosenbaum, 2012)



graft dapat digolongkan menjadi empat jenis, yaitu :

graft

merupakan bahan yang diambil dari bagian anatomi dan ditransplantasikan ke individu yang sama, biasa disebut dengan *bone graft* autologus. Graft ini

dianggap sebagai *gold standar* karena memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenik, serta dapat berintegrasi ke tulang *host* dengan lebih cepat dan lengkap. (Thahir *et al.*, 2020) Kekurangan dari *autograft* adalah diperlukannya waktu dan biaya serta prosedur operasi tambahan, daerah donor terbatas, dan penambahan morbiditas pasien. (*Next-Generation Biomaterials for Bone & periodontal Regeneration*. 1st edn, 2011)

2. Allograft

Allograft merupakan bahan *graft* yang dapat diperoleh dari donor hidup yang kompatibel atau dari sumber tulang *cadaver*. Bahan *allograft* dapat disiapkan dalam tiga bentuk yaitu tulang segar beku, *Freeze-dried Bone Allograft* (FDBA) dan *Demineralized Freeze-dried Bone Allograft* (DFDBA). Bahan *allograft* segar dan beku memiliki sifat osteoinduktif yang unggul tetapi jarang digunakan saat ini karena risiko yang lebih tinggi dari respons imun *host* serta adanya peningkatan risiko transmisi penyakit. Salah satu keunggulan *allograft* dibandingkan *graft* komersial lainnya adalah adanya potensi osteoinduktif, terutama pada *allograft* yang telah didemineralisasi. *Allograft* merupakan bahan ideal untuk penyembuhan soket ekstraksi, prosedur elevasi sinus, GBR, dan dalam prosedur implan. Penelitian yang dilakukan oleh Kao dkk, menyebutkan bahwa *allograft* memiliki keberhasilan yang tinggi ketika dikombinasikan dengan xenograft untuk tindakan *Guided Bone Regeneration* (GBR) pada perawatan augmentasi tulang. (Giannoudis, Dinopoulos and Tsiridis, 2005; Ladd and Wirsing, 2009; Markel, 2019)

3. Xenograft

Graft yang berasal dari spesies yang berbeda selain manusia, seperti sapi, babi, dan kerang. Ketiga sumber ini dapat menghasilkan produk yang biokompatibel dan secara struktural mirip dengan tulang manusia. Xenograft bersifat osteokonduktif, mudah diperoleh, dan bebas dari resiko transmisi penyakit. Namun *graft* ini memiliki kekurangan sifat mekanik yang cukup buruk sehingga menyebabkan resorpsi partikel yang lambat. (Thahir *et al.*, 2020) *Xenograft* dapat mempertahankan volumenya hingga bertahun-tahun, tidak seperti *allograft* yang rentan mengalami resorpsi dimensional. Sehingga, meskipun *xenograft* tidak memiliki potensi osteogenik atau osteoinduktif, sifatnya yang sulit diresorpsi menjadikannya bahan ideal untuk mempertahankan volume tulang. (*Next-Generation Biomaterials for Bone & periodontal Regeneration*. 1st edn, 2011; Zhao *et al.*, 2021)

4. Alloplast

Graft aloplastik adalah pengganti tulang sintesis yang tersedia dalam berbagai ukuran, bentuk dan tekstur. Karakteristik struktural *graft* aloplastik mirip dengan jaringan tulang. Beberapa contoh *graft* aloplastik antara lain *hydroxyapatite allograft*, *tricalcic phosphate graft*, *bioglass graft*, *coralline hydroxyapatite graft*. (Antonio Barone, 2014)

Bahan *graft* wajib bersifat biokompatibel, aman, memiliki karakteristik permukaan yang ideal, penanganan dan geometri yang sesuai, dan sifat mekanis yang baik. Bahan *graft* yang ideal harus memenuhi kriteria sebagai berikut yaitu :

1. Osteogenik yang mengandung sel progenitor osteogenik pada scaffold bone *graft* sehingga sisi matriks tulang yang baru. yang berpotensi untuk memicu dan menginduksi sel punca mesenkimal untuk menjadi osteoblast dewasa untuk pembentukan tulang. yaitu menyediakan scaffold yang memfasilitasi pertumbuhan jaringan secara



Beberapa bahan *graft* harus memiliki sifat osteoinduktif yang tinggi untuk memfasilitasi pertumbuhan tulang vertikal atau horisontal (misalnya *autograft*), sedangkan bahan *graft* lainnya diperlukan untuk mencegah resorpsi (misalnya *xenograft bovine*). Mempertimbangkan berbagai kegunaan, kelebihan, dan kekurangan masing-masing bahan *graft*, tidak ada bahan tunggal yang sempurna. Untuk itu, kadang diperlukan kombinasi dua atau lebih bahan *graft* untuk mendapatkan hasil yang memuaskan. (*Next-Generation Biomaterials for Bone & periodontal Regeneration*. 1st edn, 2011; Zhao *et al.*, 2021)

1.2.6. Kalsium karbonat (CaCO₃)

Kalsium karbonat merupakan bahan penting dalam biomaterial yang dapat diperoleh dari bahan sintesis maupun alami, seperti kalsium karbonat kerang mutiara, tulang sapi (*bovine*). Komposisi kimia kalsium karbonat sangat mirip dengan komponen anorganik tulang, yang memungkinkannya digunakan sebagai bahan *bone graft*. Kalsium karbonat sintetis tidak mengandung sejumlah kecil Na⁺, Mg²⁺, K⁺ dan Sr⁺, yang ditemukan dalam kalsium karbonat yang diturunkan secara alami, seperti tulang sapi, yang mempengaruhi berbagai reaksi biomekanik. Mengingat bahwa rasio resorpsi bahan pengganti tulang, berhubungan dengan derajat kelarutannya lebih tinggi dari kalsium fosfat dan biodegradasi yang lebih tinggi dari semen fosfat. Beberapa keunggulan dari kalsium karbonat yaitu materialnya tidak menyebabkan reaksi penolakan dari sistem kekebalan tubuh. Bentuk alami kalsium karbonat memberikan keuntungan biologis karena fase karbonat dibutuhkan pada awal pembentukan tulang. Bahan *bone graft allogenic* dan *alloplastic* membutuhkan transformasi permukaan dari kalsium karbonat menjadi karbonat. Kalsium karbonat mengeliminasi tahap ini sehingga pembentukan tulang baru pada daerah defek lebih cepat terjadi. (*Next-Generation Biomaterials for Bone & periodontal Regeneration*. 1st edn, 2011; Zhao *et al.*, 2021)

Kalsium karbonat cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) yang telah dikalsinasi menghasilkan senyawa kimia CaO dengan intensitas puncak difraktogram yang sangat tinggi memiliki sifat mekanik yang tergantung dari porositas, densitas, sinterabilitas, ukuran kristal dan sebagainya sehingga bahan ini dapat digunakan sebagai bahan *graft* karena sifat biologisnya yang menguntungkan, yang meliputi biokompatibilitas, bioafinitas, bioaktivitas, osteokonduksi, osteointegrasi, osteoinduksi (dalam kondisi tertentu), untuk memperbaiki kerusakan tulang dan memfasilitasi aktivitas sel dalam proses remodeling pada defek tulang. Kalsium karbonat dilaporkan tidak memiliki toksisitas lokal atau sistemik karena mengandung ion kalsium dan fosfat. Kalsium karbonat dengan skala nano telah menarik perhatian dalam regenerasi tulang karena fleksibilitasnya dalam preparasi, biodegradasi, dan osteokonduksi. Sebuah penelitian menyebutkan bahwa nano-kalsium karbonat keramik memiliki rasio degradasi yang tinggi bila dibandingkan dengan bahan sintetis pengganti tulang lainnya, meliputi *nano-β-tricalcium phosphate* dan *nano-hydroxyapatite*, dan dapat mempercepat ekspresi marker osteogenik spesifik.. *Scaffold kalsium karbonat* juga dapat berfungsi sebagai sarana pengiriman sitokin dengan kapasitas untuk mengikat dan mengkonsentrasikan BMP secara *in vivo*. (Kattimani, Kondaka and Lingamaneni, 2016)



...ara (*Pinctada Maxima*)

...ara merupakan salah satu sumber daya laut yang memiliki prospek untuk nilai ekonomis baik secara Nasional maupun Internasional. Organisme ini ... butiran mutiara yang bernilai jual tinggi. Di Indonesia terdapat beberapa jenis ... menghasilkan butiran mutiara. *Pinctada maxima* merupakan salah satu jenis ... ng berukuran besar yang ada di perairan Indonesia. Kerang mutiara jenis

Pinctada maxima di pasaran dunia dikenal dengan nama Mutiara Laut Selatan 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. (Sri Hastuti, Subandiyono, Seto Windarto, 2019).

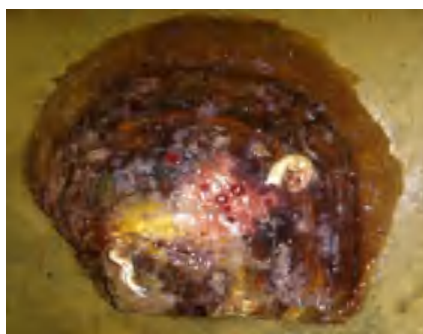
1.2.7.1. Klasifikasi dan Morfologi

Kerang mutiara merupakan hewan bertubuh lunak (mollusca) yang hidup dilaut, tubuhnya dilindungi oleh sepasang cangkang yang tipis dan keras (bivalvia). Kerang mutiara memiliki cangkang yang tidak simetris dan sangat keras, tetapi seluruh organ tubuhnya sama sekali tidak bertulang dan sangat lunak. (Wardana *et al.*, 20AD) Secara ilmiah, kerang mutiara dapat diklasifikasikan sebagai berikut(no date) :

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

Kerang mutiara mempunyai sepasang cangkang yang disatukan pada bagian punggung dengan engsel untuk melindungi bagian dalam tubuh yang lunak agar terhindar dari benturan atau serangan hewan lain. Kedua belahan cangkang tidak sama bentuknya, cangkang yang satu lebih cembung dibanding lainnya. Sisi sebelah dalam dari cangkang terdapat *nacre* yang dapat membentuk lapisan mutiara dengan penampilan mengkilap (Gambar 3).

Umumnya setelah dewasa, warna cangkang menjadi kuning tua sampai kuning kecoklatan. Warna garis radier biasanya sudah memudar. Cangkang bagian dalam (*nacre*) berkilau dengan warna putih keperakan. Bagian tepi *nacre* (*nacreous-lip*) ada yang berwarna keemasan sehingga sering disebut *gold-lip pearl oyster* sedangkan yang berwarna perak disebut *silver-lip pearl oyster*. Pada bagian luar *nacre* (*non-nacreous border*) berwarna coklat kehitaman. (Kotta, 2018)



3 : Tampilan Luar Kerang Mutiara (Kotta, 2018)

n melintang cangkang tiram mutiara akan menunjukkan tiga lapisan, yaitu lapisan kum yang berada paling atas atau luar, dan lapisan prismatic yang terdapat di bagian Sedangkan lapisan yang agak ke dalam yang berhubungan dengan organ dalam apisan *nacre* atau lapisan Mutiara. (no date; Kotta, 2018)



Tabel 1 : Sintesis Penelitian

No	Penulis	Tahun	Judul	Kesimpulan
1	Heberer dkk(Heberer <i>et al.</i> , 2011)	2011	<i>Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks : a prospective clinical study.</i>	Penyembuhan soket terjadi pada 12 minggu (44% pembentukan tulang)
2	Lindhe dkk(Lindhe <i>et al.</i> , 2012)	2012	<i>The alveolar process of the edentulous maxilla in periodontitis and non-periodontitis subjects.</i>	Waktu penyembuhan soket menunjukkan hasil yang bervariasi (tidak spesifik)
3	Vignoletti dkk(Vignoletti <i>et al.</i> , 2012)	2012	<i>Bone modelling at fresh extraction sockets: Immediate implant placement versus spontaneous healing: An experimental study in the beagle dog.</i>	Waktu penyembuhan 6 minggu (Soket tertutup oleh tulang kortikal)
4	Younis dkk(Younis <i>et al.</i> , 2013)	2013	<i>Molecular events on tooth socket healing in diabetic rabbits</i>	Rata rata waktu penyembuhan soket adalah 4 minggu
5	Nahles dkk(Nahles <i>et al.</i> , 2013)	2013	<i>Bone physiology in human grafted and non-grafted extraction sockets -An immunohistochemical study.</i>	Waktu penyembuhan sekitar 12 minggu (dengan osifikasi lengkap pada beberapa pasien)
6	Scala dkk(Scala <i>et al.</i> , 2014)	2014	<i>Sequential healing of open extraction sockets. An experimental study in monkeys.</i>	Waktu penyembuhan soket adalah 90–180 hari (dengan jaringan yang dominan yaitu Tulang trabekuler dan sumsum tulang)
7	Hassumi dkk(Hassumi <i>et al.</i> , 2018)	2018	<i>Alveolar bone healing in rats: Micro-CT, immunohistochemical and molecular analysis.</i>	Waktu penyembuhan soket adalah 28 hari
8	Sheng F, Li J, Yu Y, Liu X, dkk(Sheng F, Li J, Yu Y, Liu X, 2023)	2023	<i>Denervation delays initial bone healing of rat tooth extraction socket.</i>	Waktu penyembuhan soket adalah 4 minggu



1.3. Rumusan Masalah

Apakah Kalsium karbonat cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) efektif dalam meningkatkan pembentukan *woven bone* pada tindakan *socket preservation*?

1.4. Hipotesa

1. Pemberian kalsium karbonat efektif meningkatkan jumlah pembentukan woven bone pada hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21.
2. Terdapat perbedaan jumlah *woven bone* antara kelompok kalsium karbonat, kelompok *xenograft bovine*, dan kelompok kontrol negatif pada hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21.

1.5. Tujuan Penulisan

1.5.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis efektivitas kalsium karbonat cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) terhadap pembentukan *woven bone* pada tindakan *socket preservation*.

1.5.2. Tujuan Khusus

1. Untuk melihat pembentukan *woven bone* pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi Kalsium karbonat cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) pada hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21.
2. Untuk melihat pembentukan *woven bone* pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi *xenograft bovine* pada hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21..
3. Untuk melihat perbedaan pembentukan *woven bone* antara kelompok Kalsium karbonat cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*), kelompok *xenograft bovine*, dan kelompok kontrol negatif pada hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21.

1.6. Manfaat Penelitian

1.6.1. Manfaat Pengembangan Ilmu

1. Menambah dan memberikan kontribusi pengetahuan ilmiah mengenai potensi kalsium karbonat cangkang kerang mutiara terhadap pembentukan woven bone (*Pinctada Maxima*) pada bidang periodontal.
2. Memberikan informasi tentang pemanfaatan cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang, khususnya pada *socket preservation*.
3. Melalui penelitian ini, cangkang kerang mutiara dapat menjadi alternatif dalam pemilihan bahan graft yang murah, mudah diperoleh, dan efektif untuk regenerasi jaringan tulang.
4. Dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya mengenai penggunaan at cangkang kerang mutiara dalam meregenerasi tulang.



aktis

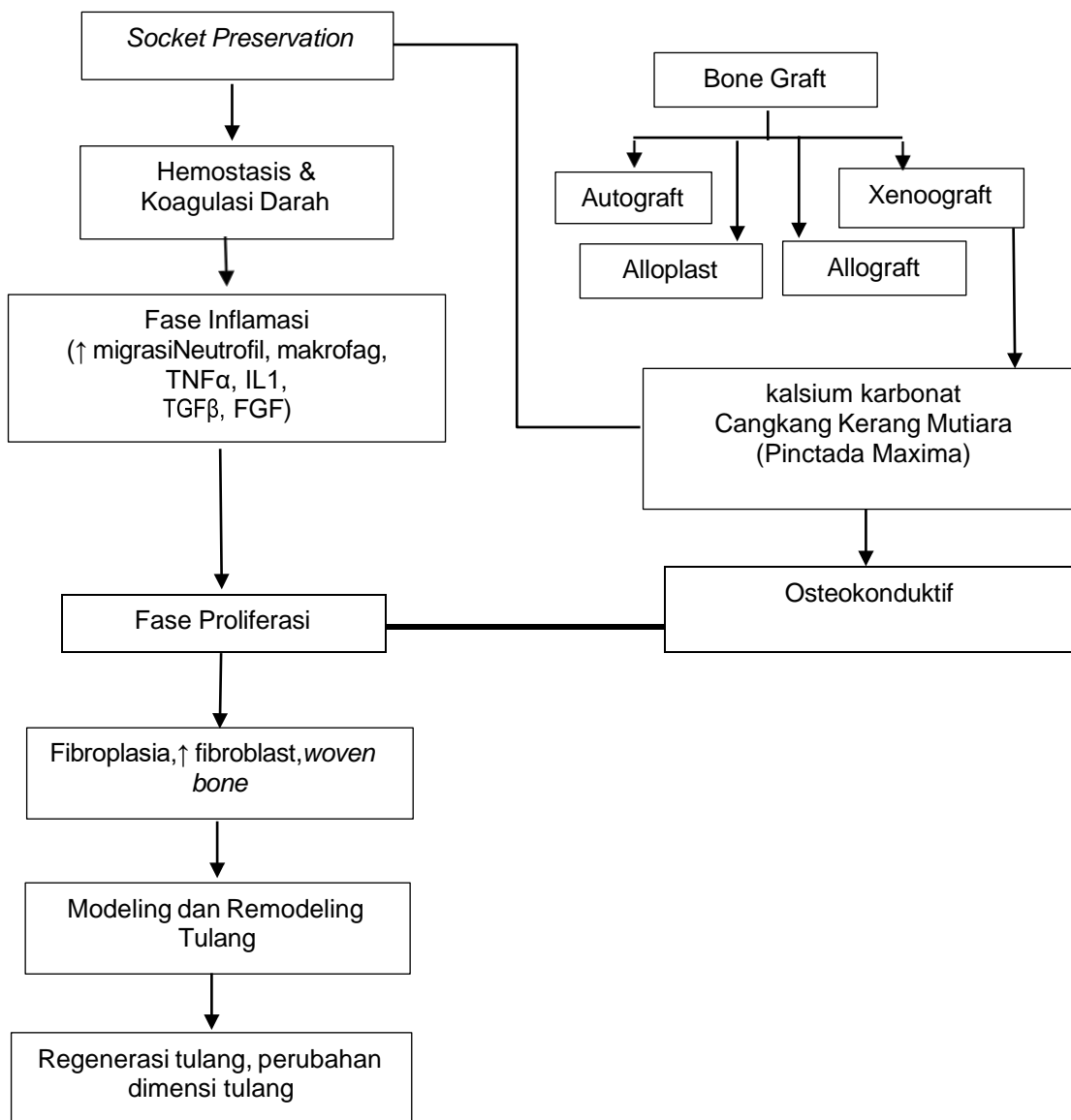
ni dapat memberikan informasi secara ilmiah mengenai efektivitas kalsium ng kerang mutiara (*pinctada maxima*) terhadap pembentukan *woven bone*

pada tindakan *socket preservation* pada perawatan periodontitis dalam meningkatkan regenerasi jaringan.

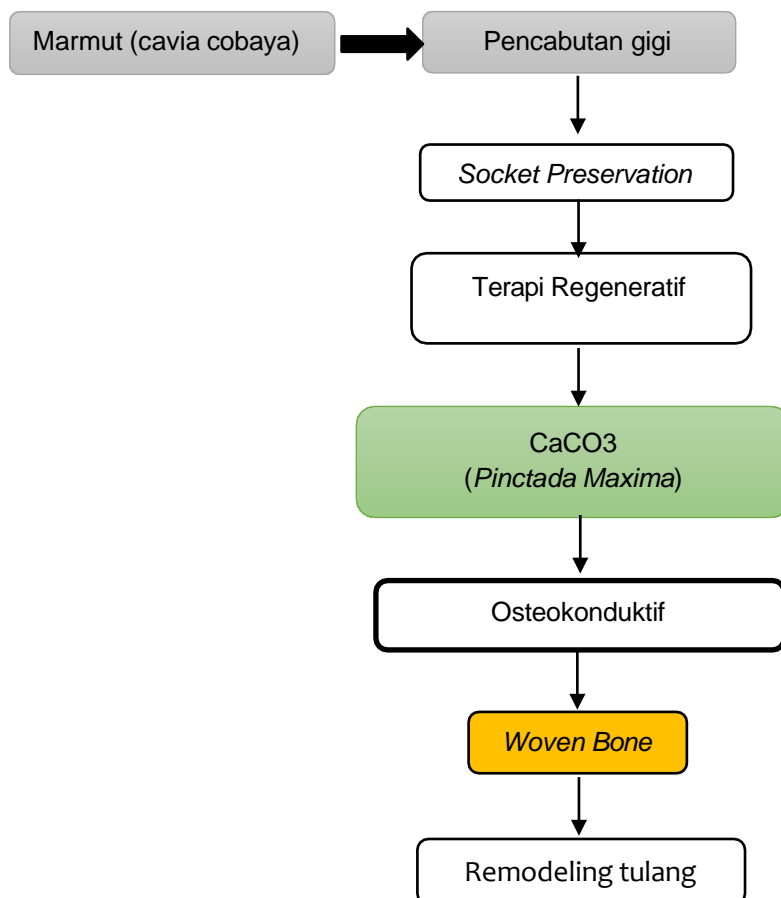
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan alternatif perawatan pada proses regenerasi jaringan periodontal penyakit periodontitis.

1.7. Teori Konseptual

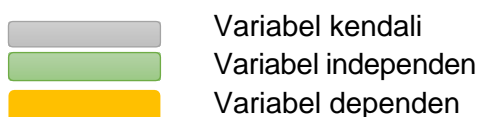
1.7.1. Kerangka Teori



1.7.2. Kerangk Konsep



Keterangan :



1.7.3. Deksripsi Teori Konseptual

Soket pencabutan gigi dapat diterapi dengan menggunakan *bone graft*. Terapi *bone graft* terdiri dari beberapa jenis yaitu *autograft*, *allograft*, *alloplast* dan *xenograft*. *Xenograft* dapat berasal cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) yang memiliki sifat osteokonduktif. Pasca tindakan pencabutan, soket gigi 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 bentuknya *woven bone* ini akan mempengaruhi lingkungan tempat osteoblas dan vaskularisasi tulang, yang kemudian akan mempengaruhi g matur. Proses *modelling* dan *remodelling* tulang dihasilkan dari interaksi ast dan osteoklas, yang ditandai dengan adanya osteoklas pada dinding soket ula marginal pada *woven bone*. Proses inilah yang menyebabkan perubahan lah pencabutan gigi.



BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan eksperimental murni didasarkan pada *pre-post test control grup design*.

2.2. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Teknik Kimia PNUP sebagai tempat pembuatan bubuk Kalsium karbonat dari cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) serta pengujian bahan cangkang kerang (Uji FTIR dan Porositas). Laboratorium mikrostruktur Fakultas Teknik Universitas Muslim Indonesia sebagai tempat untuk pengujian SEM. Klinik Hewan Lacoste sebagai tempat pemeliharaan perlakuan hewan coba *cavia cobaya* (marmut Jantan). Laboratorium Patologi Anatomi RSPTN Universitas Hasanuddin untuk Pembuatan preparate jaringan pewarnaan gram. Laboratorium Biokimia Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang sebagai tempat pembacaan preparate jaringan hewan coba Penelitian.

2.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April hingga September 2024.

2.3. Subjek Penelitian

2.3.1. Kriteria Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah marmut jantan (*Cavia cobaya*) dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

A. Kriteria inklusi

1. Marmut sehat dengan berat 250-300 gram
2. Usia marmut antara 2-3 bulan
3. Jenis kelamin Jantan

B. Kriteria Eksklusi

1. Penurunan berat badan marmut lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
2. Marmut mati atau sakit selama Penelitian



Sumber Data (Penentuan Besar Sampel)

er digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan agar diperoleh data pengulangan ini bisa diartikan dengan jumlah sampel/hewan uji dalam tiap an jumlah sampel menurut Federer :

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan / intervensi

n= jumlah replikasi/ sampel

$$(n-1) \times (3-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 7.5$$

$$n \geq 7.5 + 1$$

$$n \geq 8.5 = 9$$

Berdasarkan perhitungan diatas jumlah sampel minimum sebanyak 9 sampel pada setiap kelompok. Karena ada 3 kelompok perlakuan maka total sampel yang digunakan adalah 27 ekor marmut. Sampel dilebihkan 10 persen sehingga total sampel 30 ekor marmut.

2.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

2.4.1. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (independent) : kalsium karbonat
2. Variabel terikat (dependen) : jumlah pembentukan woven bone
3. Variabel kendali : umur, jenis kelamin dan nutrisi *Cavia cobaya*
4. Variabel Perancuh : stres dan sistemik

2.4.2. Definisi Operasional

1. Aplikasi kalsium karbonat cangkang kerang Mutiara adalah pemberian xenograft dari bahan dasar cangkang kerang mutiara yang diubah menjadi Bubuk kalsium karbonat melalui proses presipitasi kalsium karbonat dengan ukuran 60 mesh ke dalam soket pencabutan gigi insisivus kanan rahang bawah marmut *Cavia Cobaya*
2. *Bovine Hidroksiapatit* adalah *bone graft* sediaan BATAN yang berasal dari tulang sapi dengan sediaan granul.
3. Pembentukan *woven bone* adalah keliling area *woven bone* per bidang pandang dengan satuan mikrometer (μm) yang terlihat sebagai lapisan serabut berwarna merah muda dengan sel biru-keunguan dengan pewarnaan. Haematoksilin-Eosin (HE) pada pemeriksaan histologis sepertiga apikal soket pencabutan gigi marmut setelah hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21, dilihat dengan mikroskop Cahaya dengan pembesaran 200-1000 kali.

2.5. Alat dan Bahan Penelitian

2.5.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Kandang marmut
2. Tempat makanan dan minuman dari GRC tempat minuman plastik khusus yang dibeli dari



3ml, spuit 5 mm
 :ang potong besar, alas kerja
 sar
 uk fiksasi jaringan

7. *Tissue casset*, *laminar flow*, gelas ukur, *erlenmeyer* (Pyrex), *beaker glass*, pengaduk, ose, lampu spiritus, *cutter*, gunting bedah, pinset, botol untuk dekalsifikasi, kuas kecil, *deck glass*, *object glass*.
8. *Refrigerator*
9. Oven, blender, sendok pengaduk, mikropipet dan tip untuk ekstraksi kitosan
10. Mikroskop
11. Sarung tangan (Latex), masker.
12. Alat kondensor *bone graft*
13. Hemostat, ekskavator, *needle holder*, gunting jaringan dan pinset jaringan

2.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

1. Hewan percobaan yaitu marmut Jantan
2. Hidroksiapatit *xenograft bovine* (BATAN)
3. Kerang Mutiara
4. Anestesi ketamine 10%, saline
5. Diazepam ampul @2 ml
6. Betadine
7. Chloroform, formalin buffer 10%
8. Parafin *buffer*
9. Aquades steril
10. Kapas steril, kasa steril
11. Etanol, NaOH, HCl, AgNO₃, Asam asetat, eter
12. Alkohol 70% dan 95%
13. *Suture absorbable* 5-0

2.6. Pelaksanaan Penelitian

2.6.1. Persiapan penelitian

2.6.1.1. Pembuatan bubuk kalsium karbonat (CaCO₃)

Pembuatan bubuk cangkang kerang mutiara (*Pinctada Maxima*) melalui metode presipitasi. Pertama dilakukan dengan membersihkan cangkang. Cangkang disikat hingga bersih., kemudian dikeringkan dengan memanfaatkan panas matahari. Cangkang dipecah menjadi ukuran lebih kecil dan di-furnance selama 2 jam. Hasil sampel kemudian disaring dengan ukuran -60+120 mesh sehingga diperoleh serbuk cangkang kerang mutiara. Serbuk diuji menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) untuk mengetahui kandungan kalsium. Kemudian sampel di furnace 900°C kemudian dikalsinasi untuk memperoleh kandungan kalsium karbonat. (Anggraini and Yusuf, 2019)

2.6.1.2 Persiapan hewan coba marmut (*Cavia cobaya*)

1. Dua puluh tujuh ekor *Cavia cobaya* jantan dengan berat 250-300 gram dipelihara secara marmut per kandang) dan mengalami adaptasi selama satu minggu sebelum mengkondisikan hewan dalam keadaan sehat.



iberi makanan berupa pellet dan minuman berupa air mineral dalam botol selama masa penyesuaian.

dengan ukuran 90 cm x 60 cm x 60 cm ditempatkan di ruangan terbuka yang kandang diganti 1-3 kali dalam seminggu untuk menjamin kandang selalu

kering dan bebas dari gas amonia sehingga hewan tidak mudah terserang penyakit saluran pernafasan. Peningkatan kadar amonia dalam kandang dapat dicegah dengan ventilasi yang baik, selalu bersih dan hindari penimbungan feses serta urin dalam kandang.

4. Monitoring kesehatan lingkungan dan hewan coba dilakukan setiap hari.

2.6.2. Pelaksanaan Penelitian

A. Pencabutan gigi hewan coba dan prosedur *socket preservation* marmut (*Cavia cobaya*) dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri atas sembilan ekor marmut. Semua hewan coba dianestesi intramuskular dengan ketamin 0,2 cc/50gr BB pada daerah femur. Gigi insisivus kanan mandibula dicabut menggunakan *needle holder*. Soket diirigasi dengan larutan *saline*. Prosedur *socket preservation* dilakukan sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing. Terdapat tiga kelompok :

1. Kelompok I terdiri atas 9 ekor marmut sebagai kontrol positif. Soket pencabutan gigi diisi dengan hidroksiapatit *xenograft bovine* sebanyak 0,1 ml. Dilakukan penjahitan.
2. Kelompok II terdiri atas 9 ekor marmut. Soket pencabutan gigi diisi dengan dengan *bone graft* kalsium karbonat cangkang kerang mutiara sebanyak 0,1 ml. Setelah itu, dilakukan penjahitan.
3. Kelompok III terdiri atas 9 ekor marmut sebagai kontrol negatif. Dimana soket pencabutan tidak diisi dengan bone graft lalu dilakukan penjahitan.

B. Pengambilan jaringan dan pemeriksaan imunohistokimia :

1. Pada hari ke-7, ke-14 dan 21 hewan coba dikorbankan sebanyak 3 ekor dari masing-masing kelompok menggunakan eter pada wadah tertutup.
2. Rahang mandibula *Cavia cobaya* diambil dengan cara dipotong, lalu disimpan dalam larutan formalin buffer 10%.
3. Spesimen tulang rahang dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNHAS untuk dilakukan pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan Haematoksilin-Eosin (HE).
4. Penilaian pembentukan *woven bone* dilakukan pada Laboratorium Biokimia – Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

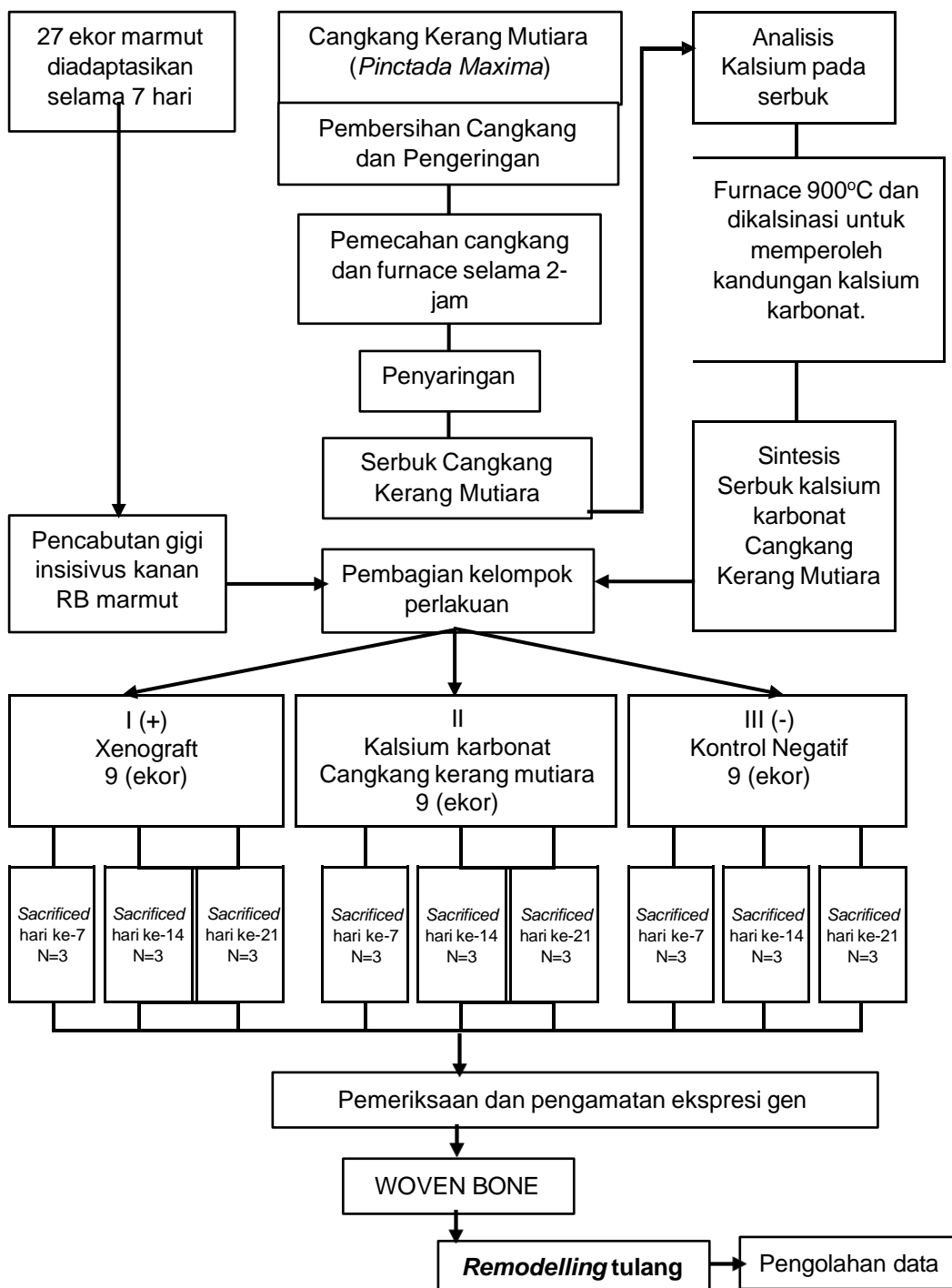
2.7. Analisis Data

Dalam penelitian ini, data diuji menggunakan uji ANOVA atau Kruskal Wallis. Kedua uji statistik ini menggunakan data dengan skala ratio atau interval. Sebelum menentukan uji statistik yang akan digunakan, data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah subjek penelitian kurang dari 50 subjek. Jika hasil uji normalitas $>0,05$, maka data berdistribusi normal, begitu pula sebaliknya.

Data yang berdistribusi normal selanjutnya akan diuji menggunakan ANOVA, sedangkan data yang tidak berdistribusi normal akan diuji menggunakan Kruskal-Wallis. Jika pada uji ANOVA $>0,05$, data kemudian akan diuji varian nya menggunakan uji Levene. Jika tidak signifikan uji posthoc Tukey. Jika varian beda, dilanjutkan dengan uji Tamhane's. Jenis data yang digunakan adalah data primer, pengolahan data menggunakan IBM SPSS dan penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik



2.8. Alur Penelitian



litian

ii telah mendapat izin dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran sanuddin dengan Nomor : 005/KEPK FKG-RSGMP UH/EA/X/2024