

BAB I

PENDAHULUAN

Teknik augmentasi tulang diindikasikan untuk menciptakan kembali tinggi dan volume tulang yang memadai yang sesuai untuk lokasi implan gigi atau pada augmentasi sinus. Hal ini terutama berlaku pada maksila posterior yang sangat atrofi sehingga peninggian atau pengangkatan dasar sinus sering dianggap sebagai prosedur standar. Pada augmentasi sinus maksilaris dapat dilakukan dengan atau tanpa pengraftan biomaterial. Di sini, banyak biomaterial dan pengganti tulang telah diusulkan, terutama untuk menopang ruang yang tersedia. Selain itu, sitokin dan faktor pertumbuhan telah digunakan untuk merangsang angiogenesis, meningkatkan pembentukan tulang serta meningkatkan masa penyembuhan dan pemulihan, baik sebagai bahan pengisi atau dalam kombinasi dengan bahan pengganti tulang(1,2). Daerah posterior maksilaris mulut menghadirkan sejumlah tantangan signifikan, termasuk perubahan anatomi alami seperti pneumatisasi sinus maksilaris. Adanya edentulous juga merupakan masalah kesehatan serius yang melibatkan masalah fungsional, estetika, fonetik, dan psikologis(3). Sehingga persoalan edentulous ini perlu diselesaikan dengan penggunaan gigi tiruan cekat, salah satunya adalah implant. Penerapan implan gigi sebagai strategi rehabilitasi di daerah posterior maksilaris sering kali menemui keterbatasan akibat pneumatisasi sinus maksilaris(4,5)

Sinus maksilaris adalah sinus paranasal pertama yang berkembang dalam kehidupan janin manusia. Sinus maksilaris mencapai perkembangan penuh saat

erupsi gigi permanen antara usia 12 dan 14 tahun. Gigi molar kedua rahang atas berada paling dekat dengan dasar sinus, diikuti secara frekuensi oleh akar molar pertama, molar ketiga, premolar kedua, dan premolar pertama. Dasar sinus maksilaris terdiri dari tulang kortikal yang tebal, tidak memungkinkan penetrasi langsung infeksi odontogenik ke dalam tulang rahang atas. Namun, tulang alveolar rahang atas dapat menjadi lebih tipis dengan bertambahnya usia, meninggalkan lapisan mukoperiosteum antara sinus maksilaris dan rongga mulut. Penempatan implan di rahang atas posterior jauh lebih rumit daripada rahang lain karena kualitas dan kuantitas tulang. Pada defisiensi tulang alveolar, pengangkatan sinus biasanya digunakan untuk memasukkan implan pada rahang atas. Protokol langsung (lateral) dan tidak langsung (krestal) disebutkan untuk pengangkatan sinus karena tingginya sisa tulang alveolar(6)

Tujuan Sinus lifting adalah menambah ketinggian dasar sinus maksilaris untuk memberikan dukungan dan stabilisasi tulang alveolar sehingga menambah retesi saat pemasangan implant sebagai alternatif gigi tiruan yang cekat. Berbagai pilihan bahan untuk sinus lifting adalah Alveolar bone graft (ABG)(7).

ABG (*Alveolar bone graft*) dilakukan dengan cara pengambilan bone graft kemudian disubstitusikan ke dalam jaringan tulang yang mengalami defek. Secara garis besar ada 4 macam bone graft antara lain autograft, xenograft, allograft, dan material sintesis alloplast atau alloimplant. Bone graft harus memiliki 4 fungsi dasar antara lain osteogenesis, osteointegrasi, osteoinduksi dan osteokonduksi.

Kemampuan bahan cangkok untuk berikatan secara kimiawi dengan permukaan tulang tanpa adanya lapisan jaringan fibrosa di antaranya disebut sebagai osseointegrasi. Osteogenesis mengacu pada pembentukan tulang baru melalui osteoblas atau sel progenitor yang ada dalam bahan cangkok, dan osteokonduksi mengacu pada kemampuan bahan cangkok tulang untuk menghasilkan perancah bioaktif tempat sel inang dapat tumbuh. Struktur ini memungkinkan pembuluh, osteoblas, dan sel progenitor inang untuk bermigrasi ke dalam osteomatriks yang saling berhubungan. Osteoinduksi adalah perekrutan sel induk inang ke lokasi cangkok, di mana protein lokal dan faktor lain menginduksi diferensiasi sel induk menjadi osteoblas. Bone graft harus bersifat biokompatibel, yaitu dapat diterima oleh tubuh, memiliki sifat mekanik yang baik(5,8).

Autograft secara klinis ditandai dengan perombakan total bahan graft dari waktu ke waktu. Namun, penggunaan autograft dibatasi oleh morbiditas yang dialami saat pengadaan dan kemampuan untuk memanen bahan yang cukup. Tulang sapi yang dideproteinasi (DBB) telah digunakan selama beberapa tahun dalam graft dentoalveolar. DBB biasanya diproduksi dari tulang sapi menggunakan kombinasi panas, pelarut organik, dan bahan kimia kuat seperti natrium hipoklorit, dan produk disterilkan menggunakan radiasi gamma dan/atau panas dan tekanan. Pembuangan semua bahan organik penting untuk mengurangi penularan penyakit, khususnya ensefalopati spongiform sapi.

Kolagen adalah protein struktural utama dalam jaringan ikat yang menyusun sekitar 90% matriks organik tulang. Molekul kolagen tersusun dari tiga rantai polipeptida (α -chain) yang membentuk struktur triple helix, memberikan kekuatan tarik tinggi dan fleksibilitas pada jaringan. Di bawah mikroskop elektron, kolagen tampak sebagai fibril berulir yang tersusun sejajar dan saling berikatan membentuk bundel fibril seperti yang terlihat pada gambar (B dan D), menjadi kerangka tempat mineral hidroksiapatit mengendap.

Hidroksiapatit (HA) adalah mineral kalsium fosfat dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, yang merupakan komponen anorganik utama pada tulang dan gigi. Struktur kristalnya berbentuk heksagonal dan terdiri atas ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} , serta OH^- yang tersusun dalam kisi tiga dimensi yang stabil. Dalam kristal tersebut terdapat dua posisi ion kalsium, yaitu Ca(I) dan Ca(II), yang berperan penting dalam menjaga kestabilan dan kekuatan ikatan antaratom di dalam struktur.

Terdapat sejumlah produk xenograft turunan sapi yang digunakan untuk prosedur pengraftan penggantian tulang oral, dengan bukti yang dipublikasikan mendukung penggunaannya dalam model praklinis hewan dan manusia. Bahan berdasar kolagen atau **Bio-Oss** adalah xenograft yang digunakan secara luas dalam praktik klinis, yang datanya telah diterbitkan dalam jumlah cukup banyak jurnal. Bio-Oss diproses menggunakan suhu rendah (sekitar 300°C) dan pelarut organik. Dilaporkan bahwa bahan ini sangat berpori pada tingkat makro dan mikroskopis dan sering digunakan

dalam uji klinis dan dibandingkan dengan produk baru atau serupa. Keuntungan lain menggunakan bahan berdasar kolagen (Bio-Oss) secara klinis termasuk kegunaan untuk hemostasis lokal pada terapi antikoagulan tanpa menghentikan terapi sebelum operasi dan juga untuk lokal hemostasis dalam bedah mikro endodontik. Memiliki kemampuan kerja yang sangat baik, kekuatan pengaturan diri yang tinggi, karakteristik osteokonduksi yang sangat baik, dan kapasitas untuk menginduksi hemostasis dan angiogenesis sebagai pengganti tulang yang menunjukkan kualitas biologis luar biasa(9).

Graft berbahan dasar hidroxyapatit atau dalam hal ini **Bonefill** dipilih sebagai bone graft dengan komposisi yang mirip dengan Autogenous bone (AB). Matriks tulang terdiri dari organik, anorganik dan komponen air, dengan kadar 25%, 65% dan 10%. Komponen organik 90% adalah kolagen, sedangkan komponen anorganik sebagian 7 besar. Keduanya merupakan komponen osteokonduktif alami. Bonefill dengan komposisi yang berasal dari struktur tulang anorganik. Bahan ini mengandung komponen mineral tulang yang didenaturasi dan polimer dengan komposisi 50:50, dengan biomaterial kalsium fosfat untuk bone substitute yang biokompatibel, bioaktif, mudah terurai, mudah diaplikasikan, dan efektif untuk perbaikan tulang dengan mengisi defek tulang dengan mempercepat proses regenerasi jaringan, memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduksi, dan osteogenesis.

Sedangkan Tulang yang berperan penting dalam proses implant merupakan jaringan ikat khusus dan bersama dengan tulang rawan membentuk endoskeleton

yang kuat dan kaku. Jaringan ini memiliki tiga fungsi utama: perlekatan otot untuk pergerakan, perlindungan untuk organ vital dan jaringan lunak, serta penyimpanan ion untuk seluruh organisme, khususnya kalsium dan fosfat(10). Selain itu tulang adalah jaringan yang berubah secara dinamis yang terus-menerus terdegradasi dan dibangun melalui proses remodeling tulang, dimana proses sel tulang mencapai keseimbangan antara osteoklas dalam proses kerusakan tulang yang diikuti dengan proses pembuatan tulang baru oleh osteoblast. Proses yang berlangsung penting untuk pengelolaan kekuatan pada tulang dan homeostatis pada kalsium(11). Proses remodeling tulang sangat dipengaruhi oleh interaksi antara osteoklas dan osteoblast. Interaksi antar osteoklas dan osteoblast membentuk sinyal dua arah yang bertugas mengatur diferensiasi dan keberlangsungan dari osteoblast dan osteoklas.(12)

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini akan meneliti tentang perbandingan sel osteoblast dan osteoclast pada aplikasi berbahan dasar kolagen (bio-Oss) dan berbahan dasar hidroxyapatit (bonefill) pada hewan tikus dalam model eksperimental dengan menggunakan gambaran Histopatologi pada hewan coba tikus di Lab RS Hewan Unhas. Penelitian ini juga merupakan yang pertama di lakukan di kota Makassar untuk menilai pertumbuhan sel osteoblast dan osteoclast dengan range waktu yang relatif lebih cepat yaitu hari ke 10 dan hari ke 20 .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah sebagai berikut: Bagaimana Perbandingan jumlah sel Osteoblast dan Osteoclast melalui

aplikasi bone graft berbahan dasar hidroksiapatit dan kolagen pada hewan tikus dengan menggunakan gambaran histopatologi pada hari 10 dan hari ke 20?

1.3 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Terdapat perbedaan jumlah sel Osteoblast dan Osteoclast melalui aplikasi bone graft berbahan dasar hidroksiapatit dan kolagen pada hewan tikus dengan menggunakan range waktu lebih singkat yaitu 10 dan 20 hari sehingga diharapkan dapat diketahui bahwa setelah hari ke 10 dan ke 20, proses pertumbuhan sel osteoblast dan osteoclast telah muncul dalam bentuk osteoblast dan osteoclast muda.

1.4 Tujuan

Untuk melihat dan mengetahui Perbandingan sel Osteoblast dan Osteoclast pada melalui aplikasi bone graft berbahan dasar hidroksiapatit dan kolagen pada hewan tikus dengan menggunakan gambaran histopatologi”

1.5 Manfaat

1. Menambah wawasan dan pengetahuan mengenai Perbandingan sel Osteoblast dan Osteoclast melalui aplikasi bone graft berbahan dasar hidroksiapatit dan kolagen pada hewan tikus dengan menggunakan gambaran histopatologi serta dapat menjadi pertimbangan kesehatan dan ekonomi
2. Menambah pengetahuan ilmiah tentang pemanfaatan penilaian histopatologi.
3. Memberikan informasi penilaian preoperatif mengenai pilihan penilaian histopatologi

4. Penelitian ini dapat menambah informasi kepada masyarakat secara umum dan kepada petugas-petugas kesehatan mengenai pentingnya penilaian dibidang kedokteran gigi dan bidang maksilofasial

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories in vivo* pada tikus putih strain wistar . Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan *post test group design*, yaitu kelompok yang diberi perlakuan kemudian dilakukan penilaian.

2.2. Waktu Dan Lokasi Penelitian

2.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni - November 2024. Sampel *Xenograft Bone Fill* dan *Bio-oss* sebagai bahan bone graft.

2.2.2. Lokasi Penelitian

Penelitian pada hewan dan pembuatan preparat jaringan di lakukan di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin dan analisis Histopatologi dilakukan di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin.

2.3. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Penelitian

2.3.1. Identifikasi Variabel Penelitian

- Variabel Bebas : Bone Fill dan Bio-oss
- Variabel Terikat : Osteoblas dan osteoclast yang terbentuk
- Variabel Kendali : Usia, jenis kelamin dan berat badan *strain wistar*

2.3.2. Definisi Operasional

- *Xenograft* dari graft berbahan dasar hidroxyapatit (Bone Fill) dan graft berbahan dasar kolagen (Bio-oss) adalah bahan *bone graft* dari tulang sapi yang saat ini populer digunakan
- Osteoblas dan osteoklast yaitu sel tulang yang diamati dengan pemeriksaan histopatologi pada hari ke 10 dan 20.

2.4. Populasi Dan Teknik Sampel

- Populasi penelitian: dilakukan pada hewan tikus jenis *Strain Wistar* yang dipelihara di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin Makassar.
- Sampel Penelitian : Tikus *Strain Wistar* yang diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi pada penelitian ini
- Kriteria Inklusi:
 - a. *Strain wistar* jantan dengan berat 180 – 200 gram
 - b. Jenis kelamin jantan dan betina
 - c. Sehat (Bulu tidak kusam, rontok dan gerak aktif, konsumsi pakan lancar)
- Kriteria Eksklusi
 - a. Sakit, mati, stress atau tidak mau makan saat penelitian.
 - b. Tikus tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan penelitian

2.5. Besar Sampel Penelitian

Sebagai penelitian experimental laboratoris, jumlah sampel penelitian ini

dihitung berdasarkan rumus Federer.

Cara menghitung sampel: $(n-1) \times (t-1) \geq 15$

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

$$(n-1) \times (2-1) \geq 15$$

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

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 16 = 16$$

Keterangan: n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan perhitungan diatas jumlah sampel minimum sebanyak 16 sampel. Karena ada 2 kelompok perlakuan maka total sampel yang digunakan adalah 8 ekor *Strain Wistar* per kelompok. Sampel dilebihkan 1 sehingga total sampel 18 ekor *Strain wistar*.

3.6. Persiapan Dan Tahapan Penelitian

3.6.1. Persiapan Penelitian

3.6.1.1. Alat dan Bahan

Alat & bahan untuk pemeliharaan *Strain Wistar* jantan

- a. Kandang *Strain wistar* dengan dinding *Glassfibre Reinforced Concrete* (GRC), lantai dan atap bedding kawat,
- b. Tempat makanan dari *Glassfibre Reinforced Concrete* (GRC) tempat minuman plastik khusus tikus yang dibeli dari *petshop*.

Alat dan bahan untuk *Bovine xenograft*:

Bahan jadi berupa produk *Bio-oss* dan *Bone fill* dibeli dari supplier

Alat & bahan untuk Perlakuan Hewan coba:

- a. Alat & Bahan anastesi ketamin 20 mg/kg
- b. *Xylazine* 10 mg/kg
- c. Spoit 3 cc untuk anastesi
- d. Mikromotor
- e. Round bur diamond diameter dan kedalaman 3 mm
- f. Hand piece *Low speed*
- g. Alat kondensor *bone graft*
- h. Blade 15
- i. Jarum dan benang blue nylon 5.0 dan vycril 5.0
- j. Kapas dan kasa
- k. Alcohol 70%
- l. sarung tangan
- m. masker
- n. periostel alevator
- o. gunting
- p. Needle holder
- q. Botol steril
- r. Betadin solution

2.6.1.2. Pemeliharaan Hewan Coba

Sebelum perlakuan, semua *Strain wistar* diadaptasikan dan dipelihara, 1-4 *Strain wistar* per kandang di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin Makassar, masing- masing *Strain wistar* dipisahkan dengan jaring kawat untuk mengkondisikan hewan dalam keadaan sehat selama 7 hari. Makanan berupa pakan komersil. Minuman berupa air mineral dalam botol khusus. Temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran alamiah.

2.6.2. Tahapan Penelitian

2.6.2.1. Implantasi

- a.** Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin Makassar oleh dokter hewan dan asisten. Sebelum masuk dalam tahap operasi bedah penempatan bahan bone graft dilakukan pemilihan *Strain wistar* yang sudah di adaptasikan selama 7 hari dan berat badan ditimbang 200-270 gram.
- b.** *Strain wistar* di disinfeksi jaringan menggunakan alkohol 70% lalu dilakukan anestesi menggunakan obat ketamin 50mg/kg dan Xylazine 5 mg/kg yang di campur dan diinjeksikan secara intramuskular.
- c.** Selanjutnya dilanjutkan pelepasan membran schneideran dari dasar tulang sinus.
- d.** Lalu bahan bone graft dimasukkan dan perdarahan dihentikan dengan kasa steril dengan penutupan flap jaringan lunak

- e. Secara acak *Strain wistar* dibagi menjadi 2 kelompok. kelompok A yaitu pemberian bone graft Bone fill , Kelompok B yaitu pemberian bone graft Bio-oss
- f. 8 ekor *Strain wistar* dilakukan implemementasi *bone graft Bone fill* dan 8 ekor strain *wistar* dilakukan implemementasi *bone graft Bio-oss*, kemudian diberi label A1-10,A2-10,A1-20,A2-20,B1-10,B2-10,B1-20,B2-20
- g. Dilakukan penjahitan. dengan benang absorbable (vicryl 5.0) pada kulit dan otot dengan teknik *interrupted suture*.

2.6.2.2. Pengambilan Jaringan Tulang

Proses pengambilan blok tulang adalah sebagai berikut:

- a. 8 ekor *Strain wistar* akan di sacrificed pada hari ke-10 dan, 20 setelah implantasi untuk pengambilan jaringan serta pembuatan dan pengamatan preparat untuk pemeriksaaan histopatologi jaringan.
- b. *Strain wistar* A1-10,A2-10, dan B1-10,B2-10 di sacrificed pada hari ke 10.
- c. *Strain wistar* A1-20,A2-20,dan B1-20,B2-20, di sacrificed pada hari ke 20
- d. *Strain wistar* dilakukan *euthanasia* menggunakan ether yang dimasukkan pada toples
- e. Pengambilan spesimen dilakukan dengan menggunakan alat bedah minor steril.
- f. Jaringan ditempatkan dalam pot steril yang berisi formalin 10 % dan diberi label, kemudian spesimen tulang dibawa ke Laboratorium PA RS Hewan Universitas Hasanuddin untuk pembuatan slide.

2.6.2.3. Pengamatan Histopatologis Jaringan

Pengamatan spesimen diamati dengan melihat sel osteoblas dan osteoclast yang terbentuk dengan menggunakan pewarnaan dengan Hematoksilin dan Eosin.

Tahap Dekalsifikasi Tulang:

Proses Dekalsifikasi dilakukan dengan menggunakan Larutan Aluminium Klorida, HCl pekat 37%, dan asam format dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan. Tulang direndam dalam larutan dekalsifikasi tersebut sampai lunak (dapat ditusuk jaram). Kemudian potongan tulang dimasukkan dalam tissue cassette, selanjutnya dilakukan proses histopatologi.

Prosedur pemeriksaan Histopatologi:

1. Proses histopatologi dimulai dengan dehidrasi bertingkat menggunakan Alkohol 70%, 80%, 90%, 95% (masing-masing 24 jam) dan Alkohol 100% I, II, III (masing-masing selama 1 jam).
2. Kemudian dilakukan proses clearing dengan xylol sebanyak 3 kali dengan Xylol I selama satu jam, Xylol II selama 30 menit dan Xylol III selama 30 menit (15 menit pertama dibiarkan disuhu ruang, 15 menit berikutnya di dalam inkubator) dengan suhu 56°.
3. Perendaman parafin dan embedding.
4. Pembedakan dengan menggunakan microtom.

Prosedur Pewarnaan Hematoksilin Eosin:

1. Deparafinisasi preparat yang telah kering dalam xylol
2. Masukkan ke dalam alkohol 100%, 95%, 90%, 80%, 70%
3. Masukkan ke dalam cat hematoksilin selama 10 menit.
4. Cuci dengan aquades.
5. Masukkan ke dalam cat eosin selama 10-20 menit.
6. Cuci dengan aquades.
7. Masukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%
8. Rendam di dalam Xylol 2 kali, Xylol I dan Xylol II (masing-masing 6 menit)
9. Tutup dengan cover glass menggunakan Entellan

2.7. Analisis Data

Analisa data : Dalam penelitian ini data diuji menggunakan uji Anova dan uji t independent. Kedua uji statistik ini menggunakan data dengan skala ratio atau interval. Sebelum menentukan uji statistik yang akan digunakan, sebelumnya data diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wills* (Karena data pengamatan < 50 sampel) jika hasil uji statistik nilai $p > 0.05$ maka data berdistribusi normal atau sebaliknya.

Data yang berdistribusi normal selanjutnya akan diuji menggunakan uji t independen atau uji t berpasangan. Uji t independen digunakan untuk membandingkan dua kelompok yang berdiri sendiri atau tidak berhubungan sedangkan uji t berpasangan digunakan untuk membandingkan dua pengamatan yang saling berhubungan.

Hasil analisis dinyatakan signifikan atau terdapat perbedaan jika nilai $p < 0.05$

2.8. Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapat ijin dari Badan Etika Penelitian Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

2.9. Alur Penelitian



