

## DAFTAR ISI

Halaman sampul dalam	i
Lembar pengesahan	ii
Pernyataan keaslian	iii
Ucapan terima kasih	iv
Ringkasan	vi
Abstrak	vii
Daftar isi	ix
Daftar gambar	xv
Daftar tabel	xvii
Daftar singkatan	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
1.1    Latar belakang	1
1.2    Rumusan permasalahan	7
1.3    Batasan masalah	7
1.4    Tujuan penelitian	8
1.4.1    Tujuan umum	8

1.4.2	Tujuan khusus	8
1.5	Manfaat penelitian	9
1.5.1	Manfaat teoritis	9
1.5.2	Manfaat praktis	10
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>		<b>11</b>
2.1	Tulang	11
2.2	Defek tulang	13
2.3	Penyembuhan tulang	15
2.3.1	Fase inflamasi	16
2.3.2	Fase reparatif	16
2.3.3	Fase <i>remodeling</i>	17
2.4	Graf tulang	18
2.4.1	<i>Autograft</i>	19
2.4.2	<i>Allograft</i>	20
2.4.3	<i>Xenograft</i>	20
2.4.4	<i>Bone graft substitutes</i> berbahan keramik	21
2.5	Hidroksiapatit (HA)	21
2.6	Metabolit <i>stem cell</i> / sekretom	24

2.7	Normoksia dan hipoksia	29
2.8	Metode <i>Freeze-drying</i>	32
2.9	<i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	32
2.10	<i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR)	35
2.11	MTT Assay	38
2.12	Uji degradasi	40
2.13	Uji <i>swelling</i>	41
2.14	Uji histopatologi anatomi	42
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		44
3.1	Kerangka konseptual	44
3.2	Hipotesis penelitian	46
BAB 4. MATERI DAN METODE PENELITIAN		47
4.1	Jenis dan rancangan penelitian	47
4.2	Populasi, besar sampel, dan teknik pengambilan sampel	48
4.2.1	Populasi	48
4.2.2	Besar sampel	49
4.2.3	Teknik pengambilan sampel	50
4.3	Variabel penelitian	51

4.3.1	Definisi operasional variabel	51
4.4	Bahan penelitian	52
4.5	Instrumen penelitian	53
4.6	Lokasi dan waktu penelitian	53
4.7	Prosedur pengambilan dan pengumpulan data	54
4.7.1	Prosedur sintesis <i>bone graft</i>	54
4.7.1.1	Sintesis <i>bovine hydroxyapatite</i> (BHA)	54
4.7.1.2	Sintesis sekretom dari sumsum tulang	57
4.7.1.3	Prosedur Sintesis <i>freeze dried</i> BHA+Sekretom normoksia	62
4.7.1.4	Prosedur Sintesis <i>freeze dried</i> BHA+Sekretom hipoksia	63
4.7.2	Prosedur karakterisasi sampel	63
4.7.2.1	Uji morfologi dengan SEM	63
4.7.2.2	Analisa gugus fungsi dengan FTIR	64
4.7.2.3	Uji sitotoksitas dengan MTT Assay	64
4.7.2.4	Uji degradasi	65
4.7.2.5	Uji swelling	66
4.7.3	Prosedur implantasi bone graft pada hewan coba	67
4.7.3.1	Tahap aklimasi	67

4.7.3.2	Tahap pembagian kelompok hewan coba	67
4.7.3.3	Tahap pembiusan	68
4.7.3.4	Tahap perlakuan	68
4.7.3.5	Tahap pengumpulan data	68
4.7.4	Uji histopatologi anatomi	70
4.8	Analisis data	71
4.9	Diagram alir penelitian	73
BAB 5. ANALISIS HASIL PENELITIAN		75
5.1	Sintesis graf tulang	75
5.2	Hasil uji morfologi dengan SEM	77
5.3	Hasil analisa gugus fungsi dengan FTIR	79
5.4	Hasil uji sitotoksisitas dengan MTT <i>assay</i>	83
5.5	Hasil uji degradasi	85
5.6	Hasil uji <i>swelling</i>	86
5.7	Hasil uji histopatologi anatomi	87
5.8	Hasil uji statistika	87
BAB 6. PEMBAHASAN		89
6.1	Uji morfologi dengan SEM	90

6.2	Uji gugus fungsi dengan FTIR	90
6.3	Uji sitotoksitas dengan MTT <i>assay</i>	92
6.4	Uji degradasi	96
6.5	Uji <i>swelling</i>	100
6.6	Uji histopatologi anatomi	101
BAB 7. PENUTUP		104
7.1	Kesimpulan	104
7.2	Saran	105
DAFTAR PUSTAKA		106
LAMPIRAN		115

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Organisasi Struktural Hierarki Tulang	12
Gambar 2.2	Jenis-Jenis Defek Tulang Panjang	14
Gambar 2.3	Skema Fase-Fase Penyembuhan Fraktur	18
Gambar 2.4	Sitokin, Kemokin, dan <i>Growth Factors</i> yang Diidentifikasi Dari Sekretom MSC	25
Gambar 2.5	Beberapa Pendekatan <i>In Vitro</i> untuk Meningkatkan Potensi Terapi Sekretom MSC	31
Gambar 2.6	Blok Diagram SEM	34
Gambar 2.7	Pelapisan Logam pada Permukaan Material	34
Gambar 2.8	Hasil Uji SEM untuk Sampel <i>Bovine Hydroxyapatite</i>	35
Gambar 2.9	Skema FTIR	37
Gambar 2.10	Spektrum FTIR dari (a) BHA Bubuk, (b) <i>Freeze dried</i> -sekretom, dan (c) DBM	38
Gambar 2.11	Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan	39
Gambar 2.12	Histologi tulang femur kelinci New Zealand putih yang diberi <i>Bovine Hydroxyapatite</i> . (a) pada minggu pertama dan (b) pada minggu ke-2	43
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual Penelitian	44
Gambar 4.1	Pengelompokkan Sampel Penelitian	48
Gambar 4.2	Skema Sintesis BHA	56
Gambar 4.3	Skema Sintesis Sekretom	62

Gambar 4.4	Skema sintesis <i>freeze dried</i> BHA+Sekretom normoksia	63
Gambar 4.5	Skema sintesis <i>freeze dried</i> BHA+Sekretom hipoksia	63
Gambar 4.6	Skema implantasi <i>bone graft</i> pada hewan coba	69
Gambar 4.7	Skema Uji Histopatologi Anatomi	71
Gambar 4.8	Diagram Alir Penelitian Tahap 1	73
Gambar 4.9	Diagram Alir Penelitian Tahap 2	74
Gambar 5.1	<i>Bovine hydroxyapatite</i> (BHA)	75
Gambar 5.2	Proses Perendaman BHA ke dalam Sekretom	76
Gambar 5.3	Sampel Komposit Freeze-Dried BHA-Sekretom	76
Gambar 5.4	Morfologi BHA kontrol	77
Gambar 5.5	Morfologi komposit <i>freeze dried</i> BHA-sekretom normoksia dengan perbesaran	77
Gambar 5.6	Morfologi Komposit <i>Freeze Dried</i> BHA-Sekretom Hipoksia	78
Gambar 5.7	Hasil Uji FTIR	80
Gambar 5.8	Hasil Uji FTIR <i>Freeze-Dried</i> Sekretom Normoksia	81
Gambar 5.9	Hasil FTIR Komposit Freeze Dried BHA-Sekretom	82
Gambar 5.10	Grafik Hasil Uji Sitotoksisitas	84
Gambar 5.11	Grafik Hasil Uji Degradasi	85
Gambar 5.12	Grafik Hasil Uji <i>Swelling</i>	86
Gambar 6.1	Representasi Skematis	95
Gambar 6.2	Skema Regenerasi Tulang Menggunakan <i>Scaffold</i> yang diberi Tambahan <i>Growth Factors</i>	99



## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Komposisi Bahan Kimia Penyusun Larutan SBF	66
Tabel 5.1	Hasil Uji FTIR	80
Tabel 5.2	Luas <i>Woven Bone</i> Berdasarkan Hasil Uji Histopatologi Anatomi	87

## DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
BDNF	: <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
BHA	: <i>Bovine Hydroxyapatite</i>
BM-MSCs	: <i>Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
BSE	: <i>Backscattered Electrons</i>
CM	: <i>Conditioned Medium</i>
CXCR4	: <i>C-X-X chemokine receptor type 4</i>
DBM	: <i>Demineralized Bone Matrix</i>
DGR	: <i>Dorsal Ganglion Root</i>
DOS	: <i>Derived Osteogenic Secretome</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-Regulated Kinase</i>
EV	: <i>Extracellular Vesicle / Vesikel Ekstraseluler</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FGF 2	: <i>Fibroblast Growth Factor 2</i>

FTIR	: <i>Fourier Transform Infrared</i>
GDNF	: <i>Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor</i>
H&E	: <i>Hematoksilin &amp; Eosin</i>
HAC/CSD	: <i>Nano hydroxyapatite/calcium sulfate dehydrate</i>
hBMSCs	: <i>Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF- $\alpha$	: <i>Hypoxia Inducible Factor-<math>\alpha</math></i>
HO-1	: <i>Heme Oxygenase-1</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
IDO	: <i>Indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
MTT	: <i>(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide)</i>
Ob	: <i>Osteoblasts</i>
Oc	: <i>Osteoclasts</i>
OD	: <i>Optical Density / Densitas Optik</i>
PBS	: <i>Phosphate-Buffered Saline</i>

PCG-1 $\alpha$	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factors</i>
PDSC	: <i>Periosteum Derived Stem Cells</i>
rMSC	: <i>Rat derived Mesenchymal Stem Cells</i>
SBF	: <i>Simulated Body Fluid</i>
SE	: <i>Secondary Electrons</i>
SEM	: <i>Scanning Electron Microscope</i>
SFE	: <i>Sinus Floor Elevation</i>
TCP	: <i>Trikalsium Fosfat</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor--<math>\beta</math></i>
THR	: <i>Total Hip Replacement/Penggantian Pinggul Total</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
Wb	: <i>Woven bone</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factors</i>
$\alpha$ -MEM	: <i><math>\alpha</math>-Modified Eagle's Medium</i>