

TESIS

ANALISIS PERMEABILITAS *SCAFFOLD DECELLULARIZED FREEZE DRIED BOVINE BONE* UNTUK REKAYASA JARINGAN TULANG

(Penelitian laboratoris *in vitro*)



Oleh:

**LULUK YULIANANI
NIM: 01201563151**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

ANALISIS PERMEABILITAS *SCAFFOLD DECELLULARIZED FREEZE DRIED BOVINE BONE* UNTUK REKAYASA JARINGAN TULANG

(Penelitian laboratoris *in vitro*)

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh:

**LULUK YULIANANI
NIM: 01201563151**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 3 JUNI 2022**

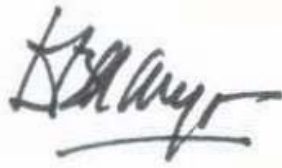
Oleh:

Pembimbing Utama



Andra Rizqiawan, drg., Ph.D., Sp.BM(K)
NIP.198109232005011001

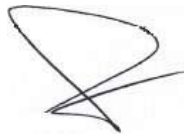
Pembimbing Serta



Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp. BM(K)
NIP. 196502121991031003

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik
Jenjang Magister**



Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K)
NIP.196502271990031010

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Luluk Yulianani

NIM 01201563151

Tanda tangan :



Tanggal: 3 Juni 2022

PANITIA PENGUJI

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Luluk Yulianani
NIM : 01201563151
Program Studi : Ilmu Bedah Mulut dan Maksilofasial
Judul : Analisis Permeabilitas *Scaffold Decellularized Freeze Dried Bovine Bone* Untuk Rekayasa Jaringan Tulang (Penelitian Laboratoris *In Vitro*)

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER

Universitas Airlangga

Hari : Jum'at
Tanggal : 3 Juni 2022

Panitia Penguji :

1. Ketua : Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp. BM(K)
2. Anggota : Andra Rizqiawan, drg., Ph.D., Sp.BM(K)
3. Penguji I : Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU., Sp.BM (K), FICS
4. Penguji II : Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., Sp. BM(K)
5. Penguji III : Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M. Kes.

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Luluk Yulianani
NIM : 01201563151
Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas : Kedokteran
Jenis karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Analisis Permeabilitas *Scaffold Decellularized Freeze Dried Bovine Bone* Untuk Rekayasa Jaringan Tulang (Penelitian Laboratoris *In Vitro*).

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Airlangga berhak menyimpan mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 3 Juni 202
Yang menyatakan



Luluk Yulianani
NIM. 01201563151

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas segala Berkat Nya sehingga Tesis Program Pendidikan Magister Kedokteran Klinik ini dapat diselesaikan. Perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.H M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU, Sp.BM(K)., FICS sebagai Direktur Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut Pendidikan Universitas Airlangga dan selaku penguji yang telah mengijinkan untuk melakukan Pendidikan dan penelitian, serta membimbing dalam berbagai aspek selama penulis menempuh jenjang Pendidikan spesialis..
3. M. Subhan Amir, drg., Ph.D, Sp. BM (K) sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Mulut dan Maksilofasial yang telah memberikan banyak masukan dan bimbingan selama penulisan Karya Tulis Akhir dan selama menempuh Pendidikan.
4. R. Aries Muharram, drg., M.kes., Sp.BM (K) sebagai Kepala Departemen Bedah Mulut dan Maksilofasial Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk menempuh Pendidikan spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial di Universitas Airlangga.

5. Andra Rizqiawan, drg., PhD., Sp.BM(K) selaku pembimbing pertama yang telah mencurahkan pikiran, tenaga dan waktu serta dengan sabar mendorong penulis untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.
6. Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp.BM(K) selaku pembimbing kedua dan pemilik pohon penelitian yang telah mencurahkan pikiran, tenaga dan waktu serta dengan sabar mendorong penulis untuk menyelesaikan tesis ini dengan baik.
7. Senior dan Guru saya di Departemen Bedah Mulut dan Maksilofasial Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Indra Mulyawan, drg., Sp.BM(K)., FICS, Ganendra Anugraha, drg., Sp.BM(K)., FICS, Liska Barus, drg., Sp.BM(K)., M ked.Klin, Reza Al Fessi, drg., Sp.BM(K)., M ked.klin yang telah membimbing dan mengajar saya dengan baik selama menempuh Pendidikan jenjang Spesialis.
8. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga periode 2020 - 2025, yang sudah memberikan kesempatan bagi kami untuk menempuh pendidikan jenjang magister.
9. Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K), selaku Kepala Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya periode 2020 – 2025, yang sudah memberikan kesempatan bagi kami untuk menempuh pendidikan jenjang magister.
10. Ibu saya Isprawanti, almarhum ayah saya bapak Tarmadi, suami saya Anas Afandi, Putri saya Shakila Delisha dan Maritza Rafa Yuwana beserta seluruh keluarga yang telah merestui dan selalu mendukung serta

mendoakan selama menempuh pendidikan dokter gigi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial.

11. Teman seperjuangan angkatan 18 Astrid Bernadette Ulina Purba, Nicco Marantson, dan Kharisma Nisa yang telah berjuang Bersama selama menempuh Pendidikan Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial.
12. Seluruh rekan PPDGS Bedah Mulut dan Maksilofasial Universitas Airlangga dan pihak-pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang turut membantu dan bekerjasama selama penulis menempuh pendidikan dokter gigi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Surabaya, 3 Juni 2022

Penulis

ABSTRAK

ANALISIS PERMEABILITAS *SCAFFOLD DECELLULARIZED FREEZE DRIED BOVINE BONE* UNTUK REKAYASA JARINGAN TULANG (Penelitian laboratoris *in vitro*)

Latar belakang: Defek pada mandibula dapat menimbulkan deformitas, gangguan fungsi maupun estetika wajah yang menyebabkan menurunnya kualitas hidup seseorang. Hingga saat ini *Autograft* merupakan *gold standart* karena memiliki sifat osteogenik, osteoinduktif, osteokonduktif dan tidak menimbulkan respon imun. Allograf sebagai alternatif pengganti autograft yaitu dengan penggunaan *scaffold*. *Bovine Scaffold* yang umum dan telah banyak diteliti adalah DBBM (*Deproteinized Bovine Bone Material*), FDBB (*Freeze-dried bovine bone xenograft*) dan dc-FDBB (*Decellularized freeze-dried bovine bone xenograft*). Permeabilitas adalah parameter yang mengukur secara kuantitatif kemampuan media berpori mengalirkan cairan dan tergantung pada kombinasi porositas, ukuran pori, distribusi pori dan tortuositas. Viskositas yang tinggi dapat menghasilkan permeabilitas yang lebih tinggi. Porositas pada *decellularized cartilage bovine scaffold* mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan *fresh bovine cartilage*.

Tujuan: Untuk mengetahui apakah tingkat permeabilitas dc-FDBB memenuhi syarat sebagai *scaffold* rekayasa jaringan tulang.

Metodologi: *Scaffold* FDBB, dc-FDBB, DBBM dibagi 2 kelompok yaitu kelompok dengan media akuades dan kelompok dengan media gliserol 30%. Uji permeabilitas dilakukan pada masing-masing kelompok dengan pengukuran debit cairan setiap menit selama 10 menit lalu dilakukan perhitungan nilai permeabilitas. Kemudian dilakukan perbandingan permeabilitas antar *scaffold*.

Hasil: Volume aliran cairan permenit paling banyak didapatkan pada *scaffold* DBBM baik pada media akuades maupun gliserol 30%. Pada kelompok dengan akuades dan kelompok gliserol 30% nilai permeabilitas paling tinggi didapatkan pada kelompok uji *scaffold* DBBM, dan yang terendah pada kelompok uji dc-FDBB. Permeabilitas *scaffold* pada penelitian ini menunjukkan nilai yang masuk ke dalam rentang nilai permeabilitas tulang kanselus manusia

Kesimpulan: *Scaffold* dc-FDBB pada penelitian ini dapat dipergunakan sebagai materi *scaffold* tetapi memerlukan penelitian lebih lanjut agar dapat direkomendasikan sebagai bahan *scaffold* yang dapat diaplikasikan pada manusia.

Kata kunci: Rekayasa jaringan, *Scaffold*, *Bovine*, Permeabilitas, Viskositas

ABSTRACT

**PERMEABILITY ANALYSIS OF SCAFFOLD DECELLULARIZED
FREEZE DRIED BOVINE BONE FOR BONE TISSUE ENGINEERING
(In vitro laboratory research)**

Background: Defects in the mandibles can cause deformities, impaired facial function and aesthetics that cause a decrease in a person's quality of life. Until now, Autograft is a gold standart because it has osteogenic, osteoinductive, osteoconductive properties and does not cause an immune response. Allograph as an alternative to autograft is the use of scaffolds. Common and widely researched Bovine Scaffolds are DBBM (Deproteinized Bovine Bone Material), FDBB (Freeze-dried bovine bone xenograft) and dc-FDBB (Decellularized freeze-dried bovine bone xenograft). Permeability is a parameter that quantitatively measures the ability of a porous medium to drain a liquid and depends on the combination of porosity, pore size, pore distribution and tortuosity. High viscosity can result in higher permeability. Porosity in decellularized cartilage bovine scaffold has increased significantly compared to fresh bovine cartilage.

Purpose: To find out if the permeability level of dc-FDBB qualifies as a bone tissue engineering scaffold.

Methodologies: Scaffold FDBB, dc-FDBB, DBBM divided into 2 groups, namely the group with aqueous media and the group with 30% glycerol media. The permeability test is carried out in each group by measuring the liquid discharge every minute for 10 minutes and then calculating the permeability value. Then a permeability comparison between scaffolds is carried out.

Result: The volume of candy liquid flow is most commonly obtained in DBBM scaffolds in both aqueous media and 30% glycerol. In the group with aqueous and glycerol groups, 30% of the highest permeability value was obtained in the DBBM scaffold test group, and the lowest in the dc-FDBB test group. The permeability of the scaffold in this study shows the value that falls into the range of values permeability of the human cancellor bone

Conclusion: Scaffold dc-FDBB in this study can be used as scaffold material but requires further research in order to be recommended as a scaffold material that can be applied to humans.

Keywords: Tissue engineering, Scaffold, Bovine, Permeability, Viscosity

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN SYARAT	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PANITIA PENGUJI.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	x
ABSTRCT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB 1.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat	6
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	6

1.4.2 Manfaat Praktisi	6
BAB 2.....	8
TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tulang	8
2.1.1 Struktur Tulang	8
2.1.2 Komposisi Tulang	11
2.1.3 Permeabilitas Tulang	12
2.1.4 Defek dan regenerasi tulang	13
2.2 Rekayasa Jaringan	18
2.2.1 <i>Scaffold</i>	19
2.2.1.1 Jenis <i>scaffold</i>	22
2.2.2 <i>Growth factor</i>	23
2.2.3 Sel	26
2.3 <i>Bovine Scaffold</i>	26
2.3.1 <i>Bovine hydroxyapatite</i> (BHA)	27
2.3.2 <i>Deproteinized Bovine Bone Material</i> (DBBM)	28
2.3.3 <i>Freeze dried bovine bone</i> (FDBB)	29
2.3.3.1 <i>Decellularization Freeze dried bovine bone</i> (dc-FDBB)	32
2.3.4 <i>Demineralized freeze dried bovine bone xenograft</i> (DFDBBX)	34
2.4 Permeabilitas <i>Scaffold</i>	36
2.4.1 Macam Pengukuran Permeabilitas <i>Scaffold</i>	41
2.4.1.1 Metode <i>Pump-Based</i>	41
2.4.1.2 Metode <i>Gravity-Based</i>	43
2.4.1.2.1 Metode <i>Constant head</i>	43

2.4.1.2.2 Metode <i>Falling head</i>	45
2.5 Gliserol.....	47
BAB 3.....	49
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	49
3.1 Kerangka Konseptual	49
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	50
3.3 Hipotesis penelitian	52
BAB 4.....	53
METODE PENELITIAN	53
4.1 Jenis Penelitian	53
4.2 Rancangan Penelitian.....	53
4.3 Sampel Penelitian	54
4.4 Variabel Penelitian	54
4.4.1 Variabel Bebas	54
4.4.2 Variabel Terikat	54
4.4.3 Variabel Terkendali.....	54
4.5 Definisi Operasional	55
4.6 Waktu dan Tempat Penelitian	56
4.7 Tahapan Penelitian	57
4.7.1 Kelaikan Etik	57
4.7.2 Pembuatan FDBB	57
4.7.2.1 Alat dan Bahan	57
4.7.2.2 Proses pembuatan FDBB	57
4.7.3 Pembuatan DBBM.....	58

4.7.3.1 Alat dan Bahan	58
4.7.3.2 Proses pembuatan DBBM	59
4.7.4 Pengukuran Permeabilitas	59
4.7.4.1 Alat dan Bahan	59
4.7.4.2 Proses pengukuran permeabilitas	60
4.8 Analisis Statistik	63
4.9 Kerangka Operasional	63
BAB 5	65
HASIL PENELITIAN	65
5.1 Hasil pembuatan <i>scaffold</i>	63
5.2 Hasil uji permeabilitas <i>scaffold</i>	63
5.2.1 Rerata volume cairan permenit	66
5.2.2 Hasil uji permeabilitas <i>scaffold</i> dc-FDBB, FDBB dan DBBM dengan akuades	68
5.2.3 Hasil uji permeabilitas <i>scaffold</i> dc-FDBB, FDBB dan DBBM dengan gliserol 30%	69
5.2.4 Hasil perbandingan uji permeabilitas <i>scaffold</i> dc-FDBB, FDBB dan DBBM dengan akuades dan gliserol 30%	69
5.3 Hasil uji analisa data	70
BAB 6	73
PEMBAHASAN	73
BAB 7	81
KESIMPULAN DAN SARAN	81
7.1 Kesimpulan	81

7.2 Saran	82
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Stuktur mikroskopik tulang kortikal	10
Gambar 2.2. Penyembuhan tulang sekunder pada fraktur tulang dan penyembuhan tulang pada rekayasa jaringan.....	14
Gambar 2.3. Komponen rekayasa jaringan	18
Gambar 2.4. Biomaterial untuk scaffold	22
Gambar 2.5. Alat pengukur permeabilitas	32
Gambar 2.6. Skema Metode Berbasis Gravitasi (a) Constant Head. (b) Falling Head.....	42
Gambar 2.7. Viskositas darah berdasarkan suhu... ..	43
Gambar 2.8. Viskositas air berdasarkan suhu.....	48
Gambar 3.1. Kerangka konseptual.....	49
Gambar 4.1 Skema penelitian.....	53
Gambar 4.2. Alat potong Scaffold... ..	61
Gambar 4.3. Chamber akrilik... ..	62
Gambar 4.4. Permeameter dengan metode <i>constant head</i>	64
Gambar 4.5. Alur penelitian... ..	64
Gambar 5.1. <i>Scaffold</i> DBBM, FDBB dan dc-FDBB	65
Gambar 5,2. Grafik perbandingan rerata jumlah cairan per menit pada media akuades	66
Gambar 5,3. Grafik perbandingan rerata jumlah cairan per menit pada media akuades dan gliserol 30%	66
Gambar 5,4. Grafik perbandingan rerata jumlah total volume cairan dalam 10 menit	67

Gambar 5,5. Grafik rerata nilai uji permeabilitas pada <i>scaffold</i> FDBB, dc-FDBB dan DBBM akuades.....	66
Gambar 5,6. Grafik rerata nilai uji permeabilitas pada <i>scaffold</i> FDBB, dc-FDBB dan DBBM dengan gliserol 30%.....	69
Gambar 5,7. Grafik perbandingan rerata nilai uji permeabilitas pada <i>scaffold</i> FDBB, dc-FDBB dan DBBM dengan viskositas berbeda.....	69

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Nilai uji permeabilitas pada <i>scaffold</i> FDBB, dc-FDBB dan DBBM dengan akuades	68
Tabel 5.2. Nilai uji permeabilitas pada <i>scaffold</i> FDBB, dc-FDBB dan DBBM dengan gliserol 30%.....	69
Tabel 5.3. Perbandingan nilai uji permeabilitas pada <i>scaffold</i> FDBB, dc-FDBB dan DBBM	70
Tabel 5.4. Hasil uji normalitas data nilai permeabilitas <i>scaffold</i>	70
Tabel 5.5. Hasil uji homogenitas data nilai permeabilitas <i>scaffold</i>	70
Tabel 5.6. Hasil uji ANOVA pada uji nilai permeabilitas <i>scaffold</i>	71
Tabel 5.7. Hasil uji <i>Post-Hoc Games-Howell</i> pada uji nilai permeabilitas <i>scaffold</i>	71

DAFTAR SINGKATAN

ASTM	: <i>american society for testing materials</i>
BHA	: <i>bovine hydroxiapatite</i>
BM-MSCs	: <i>bone marrow stem cell</i>
BMPs	: <i>bone morphogenetic protein</i>
CSD	: <i>critical size defect</i>
DBBM	: <i>deproteinized bovine bone matrix</i>
DFDBBX	: <i>demineralized freeze dried bovine bone xenograft</i>
dc-FDBB	: <i>decellularized freezed dried bovine bone</i>
ECM	: <i>extracellular matrix</i>
FDBB	: <i>freezed dried bovine bone</i>
FGF	: <i>fibroblast growth factor</i>
HA	: <i>hydroxyapatite</i>
H ₂ O ₂	: <i>hidrogen peroksida</i>
HO-1	: <i>heme oxygenase-1</i>
IAPWS	: <i>the international association for the properties of water and steam</i>
MSCs	: <i>mesenchymal stemcell</i>
IGF	: <i>insuline-like growth factor</i>
IL-6	: <i>interleukin-6</i>
IL-10	: <i>interleukin-10</i>
IL-24	: <i>interleukin-24</i>
OPD	: <i>osteoprotegerin</i>
OPN	: <i>osteopontin</i>
OSC	: <i>osteocalcin</i>
PDGF	: <i>platelet derived growth factor</i>
PTH	: <i>hormone paratiroid</i>
PLA	: <i>poly-lactic acids</i>
PGA	: <i>polyglycolide</i>
PLGA	: <i>polylactic coglycolic acid</i>
PBS	: <i>phosphate buffered saline</i>
TCP	: <i>tricalcium fosfat</i>
TGF- β	: <i>transforming growth factor-β</i>
PRF	: <i>platelet rich fibrin</i>
PRP	: <i>platelet rich plasma</i>
RANKL	: <i>receptor activator of nuclear factor kappa-β ligand</i>
RNA	: <i>ribonucleic acid</i>
SDS	: <i>sodium dodecyl sulfate</i>