

DISERTASI

**POTENSI CANGKANG *Anadara granosa*
SEBAGAI BAHAN GRAF
PADA PROSES OSTEOGENESIS MANDIBULA**

(Penelitian Eksperimental Laboratoris pada *Rattus norvegicus*)



WIDYASTUTI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2018

DISERTASI

**POTENSI CANGKANG *Anadara granosa*
SEBAGAI BAHAN GRAF
PADA PROSES OSTEOGENESIS MANDIBULA**

(Penelitian Eksperimental Laboratoris pada *Rattus norvegicus*)

WIDYASTUTI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018**

**POTENSI CANGKANG *Anadara granosa*
SEBAGAI BAHAN GRAF
PADA PROSES OSTEOGENESIS MANDIBULA**

(Penelitian Eksperimental Laboratoris pada *Rattus norvegicus*)

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Selasa
Tanggal : 10 Juli 2018
Pukul : 10.00 – 12.00 WIB**

Oleh:

**WIDYASTUTI
011217017333**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018**

LEMBAR PENGESAHAN

**POTENSI CANGKANG *ANADARA GRANOSA*
SEBAGAI BAHAN GRAF
PADA PROSES OSTEOGENESIS MANDIBULA**

TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 3 AGUSTUS 2018

Oleh :

Promotor



Prof. Dr. M. Rubianto, drg., M.S., Sp.Perio(K)
NIP. 195009081987021001

Ko-Promotor



Prof. Soetjipto, dr., M.S., PhD
NIP. 195002171978031002

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Tahap I (Tertutup)
pada Tanggal 8 Mei 2018**

Panitia Penguji :

Ketua : 1. Dr. Ernie Maduratna S, drg, M.Kes, Sp.Perio(K)
Anggota : 2. Prof. Dr. Moch. Rubianto, drg, MS., Sp.Perio(K)
3. Prof. Soetjipto, dr, MS., PhD
4. Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg. MS
5. Dr. Hari Basuki, dr, M.Kes
6. Dr. Retno Indrawati R, drg., M.Si
7. Dr. Dian Mulawarmanti, drg, MS
8. Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg, M.Kes

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 134/UN3.1.1/KD/2018
Tanggal 7 Mei 2018

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Alhamdulillahirabbil'alamin, saya ucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, karunia dan petunjuk-Nya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan disertasi ini. Disertasi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dan bimbingan berbagai pihak, sehingga sudah selayaknya penulis dengan tulus ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya.

Disertasi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Tim Promotor, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati perkenankanlah saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Prof. Dr. M. Rubianto, drg., M.S., Sp.Perio(K) sebagai Promotor sekaligus Penasehat Akademik, yang dengan penuh pengertian, perhatian, kesabaran serta keikhlasan telah membimbing, memberi dukungan, meluangkan waktu untuk berdiskusi dan memberi masukan pada penelitian saya. Kepada beliau saya ucapkan terima kasih yang tidak terhingga.

Prof. Soetjipto, dr., M.S., PhD sebagai Ko-Promotor yang dengan penuh perhatian, kesabaran dan keikhlasan telah memberikan arahan, dukungan, semangat, meluangkan waktu untuk konsultasi, masukan dan saran pada penelitian saya. Kepada beliau saya ucapkan terima kasih yang tidak terhingga.

Dengan selesainya disertasi ini, maka saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada : Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak.,CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt., selaku mantan Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K) dan Prof. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD.K-EMD.FINASIM selaku mantan Dekan ; Prof. Dr. David S Perdanakusuma, dr., Sp.BP-RE(K) selaku Wakil Dekan I dan Prof. Dr. Indri Safitri Mukono, dr., MS selaku mantan Wakil Dekan I ; Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG (K) selaku Wakil Dekan II dan Prof. Dr. Djoko Santoso, dr., PhD., Sp.PD, K-GH.FINASIM selaku mantan Wakil Dekan II ; Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., MS, Sp.MK(K) selaku Wakil Dekan III dan Prof. Dr. Kuntaman, dr., MS., Sp.MK(K) selaku mantan Wakil Dekan III beserta seluruh jajarannya, atas kesempatan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., M.Sc., Sp.PD-KR, FINASIM selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A(K)., Sp.JP, FIHA selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan asuhan akademik selama masa studi, saya ucapkan terima kasih.

Laksamana Muda TNI (Purn) Dr. Sudirman, Ir., S.IP., SE., MAP selaku Rektor Universitas Hang Tuah ; Dr. Mochamad Jurianto, SE., MM selaku mantan Rektor Universitas Hang Tuah ; Dr. Dian Mulawarmanti, drg, MS selaku Wakil Rektor I Universitas Hang Tuah dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah ; Laksamana Pertama TNI (Purn) dr. M Hadi Soesilo, Sp.M selaku Wakil Rektor II Universitas Hang Tuah ; Laksamana Pertama TNI (Purn) Ir. Sudyantoro Hadi, M.Si(Han) selaku Wakil Rektor III Universitas Hang Tuah, yang telah memberikan kesempatan dan dukungan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Lita Agustia, drg., M.HKes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Dr. Kristanti Parisihni, drg, MKes selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Dr. Syamsulina Revianti, drg, MKes selaku Wakil Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, serta Dr. Fanny M Laihad, drg., MM., Sp.BM selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah yang telah memberikan kesempatan dan dukungan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada para Penguji Ujian Kualifikasi hingga Ujian Akhir Tahap I yang telah menguji dan memberi masukan yang sangat berharga bagi disertasi ini: Dr. Ernie Maduratna S, drg, M.Kes, Sp.Perio(K), Prof. Dr. Moch. Rubianto, drg, MS., Sp.Perio(K), Prof. Soetjipto, dr, MS., PhD, Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg. MS, Dr. Hari Basuki, dr, M.Kes, Dr. Retno Indrawati R, drg., M.Si, Dr. Dian Mulawarmanti, drg, MS dan Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg, M.Kes.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada sejawat saya di Departemen Periodonsia, Ortodonsia dan Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah: Yoifah Rizka Wedarti, drg., Sp.Perio , Hansen Kurniawan, drg., Sp.Perio, Dianty Saptaswari, drg., Sp.Perio, Novendy Yoyada, drg, Sp.Perio, MM, Arinda Rizkya Wakhida, drg, Sp.Perio, Dr. Arya Brahmanta, drg., Sp.Ort, Dr. Noengki Prameswari, drg., MKes, Endah Wahjuningsih, drg., MKes, Rima Parwati Sari, drg, MKes, Dian Damaiyanti, drg., MKes yang telah memberikan semangat, dorongan dan segala bantuan selama pendidikan ini.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada staf pengajar di Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS., Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., Msi., Prof. Dr. M Zainuddin, Apt., Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS., Prof. Dr. Widodo JP, dr., MPH., Dr. Siti Pariani, dr., MS, MSc., PhD., Dr. Sunaryo, dr., MS., MSc., Dr. Florentina Sustini, dr., MS., Toetik Koesbardiati, Dra., PhD., Dr. Gondo Mastutik, drh., MKes., Prof. Dr. Harijanto JM, dr., AIFM (alm)., Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., MSc., Sp.Par(K)., Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh., MS., Prof. Dr. Rer.Nat H Moch Yuwono, MS.,Apt., yang telah memberikan ilmu pengetahuan dasar dan terapannya yang sangat berharga dan bermanfaat membantu saya dalam menyusun disertasi.

Komite Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, atas masukan yang telah diberikan untuk terlaksananya penelitian dengan baik dan lancar.

Dr. A Retno Pudji Rahayu, drg., MKes dan rekan-rekan di Riset Senter Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, atas bantuan dan waktu yang telah diberikan kepada saya dalam menyelesaikan penelitian disertasi ini.

Bapak Heri Soemantoro dan rekan-rekan di Laboratorium Ilmu Biokimia Unit Hewan Coba dan Ibu Uma di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas bantuan dan waktu yang telah diberikan kepada saya dalam menyelesaikan penelitian disertasi ini.

Terima kasih kepada Dr. Sutopo, drg., MSc., mbak Adhri, bu Asmunah, mbak Fitri, dan semua staf di Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas bantuannya selama saya menempuh pendidikan program doktor ini.

Kepada seluruh teman seperjuangan di Program Doktor Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga angkatan 2012, Herniyati, Rini Riyanti, Astrid, Budi Handayani, Febtarini, Sonny Subiyantoro (alm), Enny Suswanti, Erwin Astha Triyono, Dhelya Widasmara, Abdul Rochim, Sukanto, Hairrudin, Fanny M Laihad, Arya Brahmanta, Syamsulina Revianti, Noengki Prameswari, Arif Wahyono terima kasih telah menjadi sahabat dalam suka dan duka, penyemangat dalam mencapai berbagai hal selama masa studi. Semoga kita selalu menjaga kebersamaan kekeluargaan yang telah terjalin selama ini, sukses selalu untuk kita semua.

Dwi Hariyanto, drg., MKes selaku Direktur RSGM Nala Husada Universitas Hang Tuah dan Aprilia, drg., Sp.KG selaku Wakil Direktur II RSGM Nala Husada Universitas Hang Tuah saya ucapkan terimakasih atas doa, bantuan dan dukungannya dalam menyelesaikan disertasi ini.

Hal yang terutama, pada kesempatan ini, saya sampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada orang tua saya Kolonel (Purn) Soemarno Sastrowidagdo (alm) dan ibunda Sri Hartini (alm) yang telah memberikan cinta kasih, mengasuh, mendidik dan mengayomi serta memberi tauladan bagi saya. Juga terima kasih kepada mertua saya bapak Ruslan (alm) dan ibu Hj. Tarmiyati (alm) atas restu dan doanya.

Kepada suami saya, Himawan Ery Wibisono, ST dan anak-anak : Arindya Fananiar, Arfan Satrioaji yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan untuk menyelesaikan disertasi ini, terima kasih atas cinta dan doa, pengertian dan kesabarannya hingga pendidikan ini dapat terselesaikan.

Kakak saya : Brigjen (Purn) Djoko Subandrio, Susbandono, Brigjen Tri Soewandono, Kombes Ari Subijanto, Hartono Wibowo, AMD beserta dengan keluarga, terimakasih atas doa dan dukungannya.

Terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dan dukungan serta membantu hingga terselesaikannya disertasi ini. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi ini.

Semoga disertasi ini dapat memberi manfaat bagi umat manusia dan untuk kemajuan ilmu pengetahuan kedokteran gigi pada khususnya. Aamiin ya rabbal 'alamin.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

RINGKASAN

**POTENSI CANGKANG *Anadara granosa*
SEBAGAI BAHAN GRAF
PADA PROSES OSTEOGENESIS MANDIBULA**

(Penelitian Eksperimental Laboratoris pada *Rattus norvegicus*)

Widyastuti

Kerusakan tulang alveol yang disebabkan karena periodontitis, defek tulang lain akibat pencabutan gigi maupun patologis lain dapat mengakibatkan kerusakan tulang alveol yang menyebabkan kegoyangan gigi sampai dengan kehilangan gigi.

Berbagai bahan dan teknik digunakan sebagai terapi regeneratif untuk kerusakan tulang alveol seperti graf, *guided tissue regeneration* (GTR), *growth factor* atau bahan yang berperan dalam pertumbuhan, substitusi dan diferensiasi sel periodontal. Penggunaan graf tulang sering digunakan untuk regenerasi kerusakan periodontal, bersifat osteokonduktif dan osteoinduktif, yang terdiri dari beberapa jenis: autograf, allograf, senograf dan alloplas.

Autograf merupakan *gold standard* graf, oleh karena memiliki sifat osteogenik, faktor osteoinduktif dan osteokonduktif, namun memiliki keterbatasan maupun komplikasi yang ditimbulkan yaitu morbiditas di lokasi donor, peningkatan risiko perdarahan, proses lebih lama, rasa sakit setelah tindakan operatif serta ketersediaan terbatas.

Anadara granosa (AG) adalah jenis bivalvia yang hidup pada dasar perairan dan mempunyai komposisi yang hampir sama dengan koral, sehingga dapat digunakan sebagai biomaterial alternatif untuk substitusi tulang pada *defect* tulang berdasar komposisi kandungan mineral. Hasil uji XRD graf cangkang AG yang diproses dengan suhu tinggi mempunyai komposisi yang terdiri dari kalsium karbonat CaCO_3 44%, kalsium hidroksida Ca(OH)_2 33% dan kalsium hidrogen fosfat CaHPO_4 23%. Hasil uji XRF bahan graf cangkang AG memiliki kandungan kalsium sebanyak 98,24 %. Dengan uji SEM didapatkan bahwa graf cangkang AG dengan ukuran 150 μm mempunyai porositas, sehingga memiliki kemampuan yang bersifat osteokonduksi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*. Sebanyak 30 ekor tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* jantan berumur 6 bulan dengan berat badan 250-300 gram dikelompokkan secara random menjadi 6 kelompok masing-masing 5 ekor tikus yang gigi insisif kanan bawahnya diekstraksi, dikuret, irigasi. Kelompok 7 hari terdiri dari: kelompok perlakuan A1, yaitu kelompok perlakuan 1 yaitu dilakukan aplikasi dengan graf cangkang AG, kelompok perlakuan A2 yaitu kelompok perlakuan 2 yaitu dilakukan aplikasi dengan senograf, kelompok kontrol normal K-7 yaitu tidak diberi perlakuan graf. Kelompok 14 hari terdiri dari: kelompok perlakuan B1 yaitu kelompok

perlakuan 1 yaitu dilakukan aplikasi dengan graf cangkang AG, kelompok perlakuan B2 yaitu kelompok perlakuan 2 yaitu dilakukan aplikasi dengan senograf, kelompok perlakuan K-14 yaitu tidak diberi perlakuan graf. Satu minggu setelah perlakuan pada kelompok A1, A2 dan K7, tikus Wistar dikorbankan untuk diambil mandibulanya untuk dilakukan pemeriksaan histologi osteoblas, osteoklas dan imunohistologi FGF-2, VEGF, OPG. Dua minggu setelah perlakuan pada kelompok B1, B2 dan K14, tikus Wistar dikorbankan untuk diambil mandibulanya untuk dilakukan pemeriksaan histologi osteoblas, osteoklas dan imunohistologi BMP-2, OCN.

Graf cangkang AG pada minggu pertama mampu meningkatkan ekspresi FGF-2, VEGF secara signifikan, kecenderungan peningkatan ekspresi OPG, penurunan osteoblas dan peningkatan osteoklas. Pada minggu kedua mampu meningkatkan ekspresi BMP-2, OCN, osteoblas serta penurunan osteoklas.

Temuan baru dari penelitian ini adalah bahan graf cangkang *Anadara granosa* (AG) memiliki komposisi kalsium karbonat CaCO_3 44%, kalsium hidroksida Ca(OH)_2 33% dan kalsium hidrogen fosfat CaHPO_4 23%. Graf cangkang AG mempunyai potensi osteogenesis dalam proses osteogenesis dengan meningkatkan osteoblas, menurunkan osteoklas serta meningkatkan OCN melalui BMP-2.

Hasil temuan penelitian ini nantinya dapat digunakan sebagai alternatif bahan graf yang kompatibel, bersifat osteokonduksi, murah serta mampu mempercepat dan meningkatkan osteogenesis pada cacat tulang alveol.

SUMMARY

THE POTENTIAL OF *Anadara granosa* SHELL AS A GRAFT MATERIAL IN THE MANDIBLE BONE HEALING PROCESS

(Experimental Laboratory Study on *Rattus norvegicus*)

Widyastuti

Alveolar bone damage caused by periodontitis, other bone defects resulting from tooth extraction and other pathologies can result in damage to the alveolar bone causing mobility tooth until tooth loss.

Various of the materials and techniques are used as regenerative therapy for alveolar bone destruction such as graft, guided tissue regeneration (GTR), growth factor or materials that contribute to growth, substitution and periodontal cell differentiation. The use of bone graft is often used for the regeneration of periodontal, osteoconductive and osteoinductive, consisting of several types: autograft, allograft, xenograft and alloplast.

Autograft is a gold standard for any transplantation, because it has osteogenic character, osteoinductive and osteoconductive factors that are essential for new bone growth. Autograft has limitations and complications of donor morbidity, increased risk of bleeding, prolonged processing, post operative pain and limited availability.

Anadara granosa (AG) is a bivalve species that lives on a water base and has a composition similar to that of a coral, so it can be used as an alternative biomaterial for bone substitution on bone defects based on mineral content composition. The result of XRD test of high temperature processed AG shell graft has a composition consisted of CaCO_3 44% calcium carbonate, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 33% calcium hydroxide and CaHPO_4 23% calcium hydrogen phosphate. The result of XRF test of AG shell graft has a calcium content of 98,24%. With SEM test founded that AG shell graft is porous with size 150 μm , and has osteoconductibility.

This research is a laboratory experimental research with post test only control group design. Total of 30 rats of male Wistar *Rattus norvegicus* strain aged 6 months with body weight 250-300 grams, were divided randomly into 6 groups with 5 rats each group whose lower right incisive teeth were extracted, curettage and irrigation. The 7th days group consisted of: treatment group A1, application with AG shell graft, treatment group A2, application with xenograft, normal group K-7, untreated graft. The 14th days group consisted of: treatment group B1, application with AG shell graft, treatment group B2, application with xenograft, normal group K-14, untreated graft. One week after the treatment in groups A1, A2 and K7, rats were sacrificed and tested for osteoblast, osteoclast histology mandible and immunohistology FGF-2, VEGF, OPG. Two weeks after

the treatment in groups B1, B2 and K14, rats were sacrificed and tested for osteoblast, osteoclast histology mandible and immunohistology BMP-2, OCN.

In the first week AG shell graft, was able to significantly FGF-2, VEGF expression increased, increased tendency of OPG expression, whereas osteoblast decreased and osteoclast increased. In the second week it increased the expression of BMP-2, OCN, osteoblast and osteoclasts decreased.

The new finding of this research is *Anadara granosa* (AG) shell graft with composition: calcium carbonate CaCO_3 44%, calcium hydroxide Ca(OH)_2 33% and calcium hydrogen phosphate CaHPO_4 23%. AG shell graft has potential in osteogenesis process by increasing osteoblast, OCN through BMP-2 and decreasing osteoclast.

The findings of this study can later be used as an alternative materials graft because of its compatibility, osteoconductivity, cheap and able to accelerate and increase osteogenesis in alveolar bone defects.

ABSTRACT

THE POTENTIAL OF *Anadara granosa* SHELL AS A GRAFT MATERIAL IN THE MANDIBLE OSTEOGENESIS PROCESS

(Experimental Laboratory Study on *Rattus norvegicus*)

Widyastuti

Introduction. Alveolar bone defects which caused by periodontal disease, another pathologic disease requiring regenerative therapy using bone grafts. *Anadara granosa* shell graft (AG) has osteoconductivity so it can be a scaffold to attract pluripotent cells that support bone healing process.

Purpose. To investigate the new graft material using *Anadara granosa* shell and mechanism to accelerate and increase osteogenesis in mandible.

Methods : Total of 30 male rats *Rattus norvegicus* aged 6 months with body weight 250-300 grams were randomly divided into 6 groups with 5 rats each group. All samples got it's mandibular right incisors extracted, curettage and irrigation.

The group consist of : treatment group with AG, treatment group with xenograft, control group untreated graft, after one week rats were sacrificed for osteoblast, osteoclast, FGF-2, VEGF, OPG analyzed. Treatment group with AG, treatment group with xenograft, control group untreated graft, after two weeks rats were sacrificed for osteoblast, osteoclast, BMP-2, OCN analyzed.

Result : AG shell graft containing 44% calcium carbonate, 33% calcium hydroxide and 23% calcium phosphate could increase the expression of FGF-2, VEGF, OPG, osteoclast and reduced osteoblast at 7th days. It could increase the expression of BMP-2, OCN, osteoblast cells and reduced of osteoclast at 14th days.

Conclusion : AG shell graft has potential as a graft material in the mandible osteogenesis process with increased osteoblasts, decreased osteoclasts and increased OCN via BMP-2.

Keywords : *Anadara granosa*, graft, bone defect, osteogenesis, bone healing

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PRASYARAT GELAR.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PANITIA PENUJI	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN.....	ix
SUMMARY.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
DAFTAR SINGKATAN.....	xxii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan Penelitian	11
1.3.1 Tujuan Umum	
1.3.2 Tujuan Khusus	
1.4 Manfaat Penelitian.....	12
1.4.1 Manfaat Teoritis	
1.4.2 Manfaat Praktis	

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Resorpsi Tulang Alveol.....	14
2.2 Graf Tulang.....	15
2.2.1 Autograf.....	16
2.2.2 Allograf.....	17
2.2.3 Senograf.....	18
2.2.4 Alloplas.....	20
2.3 Osteogenesis.....	20
2.3.1 Osteoinduksi.....	21
2.3.2 Osteokonduksi.....	22
2.4 Angiogenesis.....	22
2.5 Graf Tulang.....	23
2.6 Bone Healing	24

2.6.1 Fase inflamasi.....	24
2.6.2 Fase reparatif / prolifерatif.....	26
2.6.3 Fase remodelling.....	27
2.7 Prinsip Graft Tulang.....	27
2.7.1 Infeksi.....	28
2.7.2 Daerah resipien.....	28
2.7.3 Imobilisasi.....	28
2.7.4 Ukuran dan porositas bahan graf.....	28
2.8 <i>Anadara granosa</i>	29
2.8.1 Morfologi AG.....	30
2.8.2 Taksonomi dan habitat AG.....	31
2.8.3 Komposisi AG.....	32
2.9 Komposisi graf	33
2.9.1 Kalsium karbonat.....	35
2.9.2 Kalsium hidroksit.....	36
2.9.3 Kalsium dihidroksil fosfat.....	37
2.9.4 Hidroksiapatit.....	37
2.10 Sitokin Dan Mediator Proses Penyembuhan Tulang.....	38
2.11 Parameter proses angiogenesis dan osteogenesis.....	42
2.11.1 VEGF	42
2.11.2 FGF-2	45
2.11.3 Osteoprotegerin	45
2.11.4 Osteokalsin.....	48
2.11.5 BMP-2.....	49
2.11.6 Osteoblas	50
2.11.7 Osteoklas.....	52
2.12 Macam Uji Graf Tulang.....	52
2.12.1 Uji <i>scanning electron microscopy</i> (SEM).....	53
2.12.2 Uji <i>X-ray diffraction</i> (XRD)	53
2.12.3 Uji <i>X-ray fluorosence</i> (XRF)	54

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual.....	55
3.2 Keterangan Kerangka Konseptual.....	56
3.3 Hipotesis Penelitian.....	58

BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian.....	60
4.2 Rancangan Penelitian.....	60

4.3 Unit eksperimental, Replikasi, Randomisasi	61
4.3.1 Unit eksperimental.....	61
4.3.2 Replikasi	62
4.3.3 Randomisasi	64
4.3.4 Pembagian kelompok sampel.....	64
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel.....	65
4.4.1 Variabel penelitian.....	65
4.4.2 Definisi operasional variabel.....	66
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	68
4.5.1 Alat penelitian	68
4.5.2 Bahan penelitian	68
4.6 Lokasi Penelitian.....	69
4.7 Penanganan Hewan Coba setelah dekaputasi.....	69
4.8 Prosedur Pelaksanaan Penelitian.....	70
4.8.1 Prosedur pemrosesan bubuk graf cangkang AG.....	70
4.8.2 Identifikasi bahan bubuk graf cangkang AG	72
4.8.2.1 Uji SEM	72
4.8.2.2 Uji XRD	73
4.8.2.3 Uji XRF	73
4.8.3 Prosedur persiapan sampel penelitian	74
4.8.4 Prosedur perlakuan pada hewan coba & teknik aplikasi..	74
4.8.5 Pengambilan sediaan dan euthanasia hewan coba.....	75
4.8.6 Pembuatan preparat HPA.....	76
4.8.7 Pemeriksaan ekspresi VEGF, FGF-2, OPG, osteokalsin, BMP-2 dengan IHC.....	79
4.8.8 Metode penghitungan terhadap hasil pemeriksaan Imunohistologi dan HPA.....	80
4.9 Analisis Data	81
4.10 Etik Penelitian	81
4.11 Kerangka Analisis	82
4.12 Alur Pelaksanaan Penelitian	83

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS

5.1 Deskripsi Analisis Graf Cangkang AG	84
5.1.1 Hasil pemeriksaan SEM.....	84
5.1.2 Hasil pemeriksaan XRD	85
5.1.3 Hasil pemeriksaan XRF	86
5.2 Deskripsi Data Hasil Penelitian.....	88
5.3 Hasil Pemeriksaan immunohistokimia ekspresi FGF-2.....	89
5.4 Hasil Pemeriksaan immunohistokimia ekspresi VEGF.....	92
5.5 Hasil Pemeriksaan immunohistokimia ekspresi OPG.....	94

5.6 Hasil Pemeriksaan histopatologi osteoblas hari ke-7.....	96
5.7 Hasil Pemeriksaan histopatologi osteoklas hari ke-7.....	98
5.8 Hasil Pemeriksaan immunohistokimia ekspresi BMP.....	100
5.9 Hasil Pemeriksaan immunohistokimia ekspresi OCN.....	102
5.10 Hasil Pemeriksaan histopatologi osteoblas hari ke-14.....	104
5.11 Hasil Pemeriksaan histopatologi osteoklas hari ke-14.....	106
5.12 Rangkuman Nilai Rerata dan Standar Deviasi Variabel.....	108
5.13 Hubungan Kausalistik Antar Variabel yang Diteliti	109

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Graf Cangkang <i>Anadara granosa</i>	113
6.2 Uji toksisitas	116
6.3 <i>Scaffold</i> Graf Cangkang <i>Anadara granosa</i>	116
6.4 Aplikasi Pemberian Graf Cangkang <i>Anadara granosa</i> Sebagai Upaya Proses <i>Bone Healing</i> Dengan Meregulasi FGF-2, VEGF, OPG, BMP-2, osteoblas, osteoklas dan OCN.....	118
6.5 Aplikasi Pemberian Graf Cangkang AG pada hari ke-7.....	123
6.6 Aplikasi Pemberian Graf Cangkang <i>Anadara granosa</i> pada hari ke-14 Sebagai Bahan Grafting Dalam Upaya Pembentukan Osteoblas, OCN dan Penurunan Osteoklas Sebagai Penanda Akhir Terjadinya <i>Bone Healing</i>	126
6.7 Temuan Baru.....	129
6.8 Keterbatasan Penelitian.....	129

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	130
7.2 Saran	131

DAFTAR PUSTAKA	132
LAMPIRAN	145

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Keuntungan dan kerugian tiga jenis graf tulang.....	20
Tabel 2.2	Analisis Kimia Cangkang AG	33
Tabel 5.1	Identifikasi bubuk graf cangkang AG	85
Tabel 5.2	Identifikasi bubuk senograf	86
Tabel 5.3	Analisis Kimia Cangkang AG menggunakan XRF	86
Tabel 5.4	Analisis Kimia senograf menggunakan XRF	87
Tabel 5.5	Uji beda ekspresi FGF-2 antar kelompok hari ke-7.....	91
Tabel 5.6	Uji beda ekspresi VEGF antar kelompok hari ke-7.....	93
Tabel 5.7	Uji beda ekspresi OPG antar kelompok hari ke-7.....	95
Tabel 5.8	Uji beda sel osteoblas antar kelompok hari ke-7.....	97
Tabel 5.9	Uji beda sel osteoklas antar kelompok hari ke-7.....	99
Tabel 5.10	Uji beda ekspresi BMP-2 antar kelompok hari ke-14.....	101
Tabel 5.11	Uji beda ekspresi OCN antar kelompok hari ke-14.....	103
Tabel 5.12	Uji beda sel osteoblas antar kelompok hari ke-14.....	105
Tabel 5.13	Uji beda sel osteoklas antar kelompok hari ke-14.....	107
Tabel 5.14	Nilai rerata dan standar deviasi (SD) variabel tergantung pada masing-masing kelompok.....	108
Tabel 5.15	Hubungan kausalistik, nilai <i>standardized coefficient</i> dan signifikansi antar variabel pada analisis jalur awal mekanisme pemberian graf cangkang AG hari ke-7.....	110
Tabel 5.16	Hubungan kausalistik, nilai <i>standardized coefficient</i> dan signifikansi antar variabel pada analisis jalur awal mekanisme pemberian graf cangkang AG hari ke-14.....	110

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Perbedaan peran bioinorganik pada berbagai mekanisme yang terlibat dalam pembentukan tulang dan remodeling termasuk osteoblastogenesis, osteoklastogenesis dan angiogenesis	21
Gambar 2.2	Cangkang Anadara granosa	29
Gambar 2.3	Fase normal penyembuhan. Setiap fase memiliki sel spesifik, yang melepas mediator untuk melaksanakan fungsi biologis spesifik	39
Gambar 2.4	Peran makrofag pada penyembuhan luka	40
Gambar 2.5	Regulasi pembentukan osteoklas	41
Gambar 2.6	Skema efek VEGF pada angiogenesis dan osteogenesis.....	43
Gambar 2.7	Efek VEGF pada remodeling tulang	44
Gambar 2.8	Aktifasi osteoklastogenesis	46
Gambar 2.9	Keseimbangan RANKL / OPG merupakan faktor penting dalam mengatur resorpsi tulang di lingkungan periodontal dan periapikal	47
Gambar 2.10	Marker biokimia bone remodelling	49
Gambar 2.11	Evolusi osteoblas dan osteoklas pada proses pembentukan tulang	51
Gambar 2.12	Proses remodeling dasar untuk pembaharuan tulang	52
Gambar 4.1	Skema rancangan penelitian	60
Gambar 4.2	Hubungan kausatik antar variabel	82
Gambar 4.3	Alur pelaksanaan penelitian	83
Gambar 5.1	Pemeriksaan bubuk graf cangkang AG dengan SEM pembesaran 5000x (a) dan 10.000x (b).....	84
Gambar 5.2	Diagram Pie bubuk graf cangkang AG dengan uji XRD.....	85
Gambar 5.3	Analisis unsur graf cangkang AG.....	87
Gambar 5.4	Analisis unsur senograf	88
Gambar 5.5	Foto mikroskop ekspresi FGF-2	90
Gambar 5.6	Rerata ekspresi FGF-2 pada hari ke-7	91

Gambar 5.7	Foto mikroskop ekspresi VEGF	92
Gambar 5.8	Rerata ekspresi VEGF pada hari ke-7	93
Gambar 5.9	Foto mikroskopis ekspresi OPG	94
Gambar 5.10	Rerata ekspresi OPG pada hari ke-7	95
Gambar 5.11	Foto mikroskopis sel osteoblas hari ke-7	96
Gambar 5.12	Rerata sel osteoblas pada hari ke-7	97
Gambar 5.13	Foto mikroskopis sel osteoklas hari ke-7	98
Gambar 5.14	Rerata sel osteoklas pada hari ke-7	99
Gambar 5.15	Foto mikroskopis ekspresi BMP-2	100
Gambar 5.16	Rerata ekspresi BMP-2 pada hari ke-14	101
Gambar 5.17	Foto mikroskopis ekspresi OCN	102
Gambar 5.18	Rerata ekspresi OCN pada hari ke-14	103
Gambar 5.19	Foto mikroskopis sel osteoblas hari ke-14.....	103
Gambar 5.20	Rerata sel osteoblas pada hari ke-14	105
Gambar 5.21	Foto mikroskopis sel osteoklas hari ke-14.....	106
Gambar 5.22	Rerata sel osteoklas pada hari ke-14	107
Gambar 5.23	Nilai rerata variabel tergantung pada masing2 kelompok.....	109
Gambar 5.24	Analisis jalur pemberian graf cangkang AG terhadap ekspresi FGF-2, VEGF, OPG, osteoblas dan osteoklas.....	111
Gambar 5.25	Analisis jalur pemberian graf cangkang AG terhadap ekspresi BMP-2, OCN, osteoblas dan osteoklas.....	111

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1 Keterangan Kelaikan Etik.....	145
Lampiran 2 Surat Keterangan Pemeriksaan Hewan	146
Lampiran 3 Pemberitahuan Permohonan Paten Telah Diumumkan	147
Lampiran 4 Foto Lokasi Perlakuan Hewan Coba	149
Lampiran 5 Pemeriksaan SEM graf cangkang AG	150
Lampiran 6 Uji XRD	151
Lampiran 7 Uji XRF	154
Lampiran 8 Analisis Statistik	156

DAFTAR SINGKATAN

AG	: <i>Anadara granosa</i>
BMP	: <i>bone morphogenetic factor</i>
BSE	: <i>bovine spongiform encephalopathy</i>
CCL	: <i>chemokine ligands</i>
CCR	: <i>chemokine receptors</i>
CD	: <i>cluster of differentiation</i>
CTGF	: <i>connective tissue growth factor</i>
DAMPs	: <i>damage-associated molecular patterns</i>
DFDBA	: <i>demineralized fried-dried bone allograft</i>
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
ELISA	: <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
FGF-2	: <i>fibroblast growth factors-2</i>
FTIR	: <i>fourier-transform infrared spectroscopy</i>
GCF	: <i>gingival crevicular fluid</i>
GTR	: <i>guided tissue regeneration</i>
HA	: hidroksiapatit
HE	: <i>hematoxylin eosin</i>
HGF	: <i>hepatocyte growth factor</i>
HMGB-1	: <i>high mobility grup box-1</i>
hMSC	: <i>human mesenchymal stem cells</i>
IFN	: <i>interferon</i>
IGF	: <i>insulin like growth factor</i>
IL	: interleukin
MCSF	: <i>macrophage colony stimulating factor</i>
MMPs	: <i>matrix metalloproteinases</i>
MPDL	: <i>mouse periodontal ligament cell line</i>
OCN	: <i>osteocalcin</i>
OPG	: <i>osteoprotegerin</i>
PAMPs	: <i>pathogen associated molecular patterns</i>
PDGF	: <i>platelet-derived growth factor</i>

PERVs	: <i>porcine endogenous retrovirus</i>
PMNs	: <i>polymorphonuclear cells</i>
PRRs	: <i>pattern recognition receptors</i>
RAGE	: <i>Receptor for advanced glycation end product</i>
RANK	: <i>osteoclast cell-surface receptor that binds to RANKL</i>
RANKL	: <i>receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
SEM	: <i>scanning electron microscopy</i>
TGF β	: <i>transforming growth factor β</i>
Th	: <i>T-helper</i>
TLR	: <i>toll like receptor</i>
TNF	: <i>tumor necrotic factor</i>
VEGF	: <i>vascular endothelial growth factor</i>
XRD	: <i>X-ray diffraction</i>
XRF	: <i>X-ray fluorescence</i>