

LAPORAN PENELITIAN

Bioviabilitas Hidroksiapatit Ekstrak Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) Terhadap Sel Punca Mesenkimal Sebagai Bahan Graft Tulang

(Bioviability Hydroxyapatite Anadara granosa Shell Extract Against Mesenchyme Stem Cell As Bone Graft Material)

Arlita Dewi Nastiti*, Widyastuti**, Fanny M Laihad***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

* Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: One of a bone defect fillers is a hydroxyapatite. Hydroxyapatite can be obtained from *Anadara granosa* shells extract that have high calcium content. The mineral content can be used as a bone filler material for bone grafting. However, the material is not known bioviability to against periodontal tissues so that was needed bioviability testing. This bioviability testing using mesenchymal stem cells as mesenchymal stem cells can differentiate into periodontal tissues. **Purpose:** To determine bioviability *Anadara granosa* shell extract on mesenchymal stem cells. **Materials and Methods:** This study was conducted using post-only control group design. Mesenchymal stem cells in 96 wells were divided into a control group of cells (n=7), media controls (n=7), and treatment (n=7). The treatment group were given various doses of the *Anadara granosa* shell extract with a concentration 54 mg/ml, 27 mg/ml, 13.5 mg/ml and 6.75 mg/ml. The mesenchymal stem cells were incubated for 24 hours before and after treatment. Once given MTT, the optical density is read by ELISA reader and calculated the percentage of viability. The cell viability data were analyzed with Kruskal-Wallis statistical test, Mann-Whitney. **Results:** From the results showed that an increase in cell viability to *Anadara granosa* shell extract. Increased cell viability starting treatment group concentration of 54 mg/ml (23,67%), 27 mg/ml (57,43%), 13,5 mg/ml (68,87%), 6,75 mg / ml (81,92%). The highest cell viability at concentrations of 6,75 mg/ml (81,92%). **Conclusion:** Bioviability extract blood clam *Anadara granosa* shell have the highest concentration of 6,75 mg/ml and bioviabilitas lowest cell at a concentration of 54 mg/ml.

Keywords: Hydroxyapatite, *Anadara granosa* shell, mesenchymal stem cells, bioviability

Correspondence: Widyastuti, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191

ABSTRAK

Latar belakang: Salah satu bahan pengisi suatu defek tulang dapat berupa hidroksiapatit. Hidroksiapatit dapat diperoleh dari ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* yang memiliki kandungan kalsium yang tinggi. Kandungan mineral tersebut dapat dijadikan sebagai bahan pengisi tulang untuk bone grafting. Namun, bahan tersebut belum diketahui bioviabilitasnya terhadap jaringan periodontal sehingga perlu diuji bioviabilitasnya. Pengujian bioviabilitas ini menggunakan sel punca mesenkimal karena sel punca mesenkimal dapat berdiferensiasi menjadi jaringan periodontal. **Tujuan:** Untuk mengetahui bioviabilitas ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* terhadap sel punca mesenkimal. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan post only control group design. Stem sel mesenkimal dalam 96 sumuran dibagi menjadi kelompok kontrol sel ($n=7$), kontrol media ($n=7$), dan perlakuan ($n=7$). Kelompok perlakuan diberi berbagai dosis ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* dengan konsentrasi 54 mg/ml, 27 mg/ml, 13,5 mg/ml dan 6,75 mg/ml. Sel punca mesenkimal tersebut diinkubasi selama 24 jam sebelum dan sesudah perlakuan. Setelah diberi MTT, optical density dibaca dengan ELISA reader dan dihitung persentase viabilitasnya. Data viabilitas sel tersebut dianalisa dengan uji statistik Kruskal-Wallis, Mann-Whitney. **Hasil:** Dari menunjukkan hasil bahwa terjadi peningkatan viabilitas sel terhadap ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa*. Viabilitas sel meningkat dimulai dari kelompok perlakuan konsentrasi 54 mg/ml (23,67%), 27 mg/ml (57,43%), 13,5 mg/ml (68,87%), 6,75 mg/ml (81,92%). Viabilitas sel tertinggi pada konsentrasi 6,75 mg/ml (81,92%). **Simpulan:** Ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* memiliki bioviabilitas sel paling tinggi pada konsentrasi 6,75 mg/ml dan bioviabilitas sel yang paling rendah pada konsentrasi 54 mg/ml.

Kata Kunci: Hidroksiapatit, cangkang kerang darah *Anadara granosa*, sel punca mesenkimal, bioviabilitas

Korespondensi: Widyastuti, Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: widyastuti@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan penyakit inflamasi kronis yang disebabkan oleh bakteri yang menyerang periodonsium, yaitu jaringan penyangga gigi.¹ Faktor yang dapat memperparah penyakit periodontal salah satunya adalah resorpsi tulang alveolar. Tulang alveolar merupakan salah faktor yang paling banyak terjadi pada kerusakan daerah perlekatan akibat periodontitis yang menyebabkan tenggelamnya gigi.²

Regenerasi periodontal adalah cara untuk pemulihan jaringan periodontal, meliputi pembentukan

tulang alveolar, serat kolagen, dan pembentukan sementum yang baru.³ Regenerasi tersebut dapat menggunakan suatu bahan berupa *bone graft*. *Graft* adalah prosedur pembedahan untuk menggantikan tulang yang hilang dengan bahan yang diambil dari tubuh pasien sendiri, buatan, sintetis atau pengganti alami.⁴

Menurut Great Britain mengatakan bahwa bahan *xenograft* yang berasal dari tulang sapi *spogiform encephalopathy* menyebabkan transmisi penyakit. Akan tetapi hal ini diabaikan karena komponen tulang organik telah dibuang.⁵ Berdasarkan hal tersebut,

peneliti ingin memakai bahan alternatif lainnya yaitu cangkang kerang darah *Anadara granosa* karena mempunyai kandungan mineral yang cukup banyak. Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan salah satu sumber daya bernilai ekonomis dan merupakan sumber protein.⁶ Keseluruhan mineral yang terkandung di dalam cangkang kerang adalah CaC 98,7%, Mg 0,05%, Na 0,9%, P 0,02% dan yang lain 0,2%. Di dalam Kerang darah *Anadara granosa*, memiliki kandungan Kalsium Karbonat (CaC) yang tinggi sebagai sumber kalsium yang digunakan sebagai sintesis hidroksiapatit (HA) dan memiliki biokompatibilitas yang baik untuk digunakan sebagai bahan biomaterial pembentukan tulang (*bone repair*).⁷ Hidroksiapatit (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ merupakan material keramik bioaktif dengan bioafinitas tinggi, bersifat biokompatibel terhadap tubuh manusia. Hidroksiapatit saat ini menjadi kebutuhan yang mendasar bagi rekonstruksi tulang yang patah atau retak.⁸

Ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* dapat menjadi bahan graft tulang yang telah diujikan dalam kultur sel fibroblas pada konsentrasi 54 mg/ml, 27 mg/ml, 13,5 mg/ml, 6,75 mg/ml, 3,375 mg/ml, 1,6875 mg/ml, 0,8437 mg/ml, 0,4218 mg/ml, 0,2109 mg/ml, menunjukkan hasil terhadap perlakuan *graft* hidroksiapatit cangkang kerang darah tidak memiliki efek toksik pada semua konsentrasi tersebut terhadap kultur sel fibroblas karena memiliki presentase jumlah sel hidup diatas 50%.⁹

Sebuah bahan perlu dikembangkan kembali agar bisa diterima dengan tubuh, adalah dengan melihat suatu viabilitas sel dari ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* terhadap sel punca

mesenkimal (*Mesenchymal Stem Cell*) sebagai bahan *graft* tulang.

Uji Bioviabilitas

Uji bioviabilitas sel merupakan bagian dari uji toksisitas yang digunakan untuk mengevaluasi secara biologi efek suatu material dan juga untuk mengukur suatu derajat efek suatu senyawa yang di berikan kepada hewan uji coba ataupun kultur sel dan diberi perlakuan. Penelitian ini sebagai langkah awal sebelum diaplikasikan menjadi bahan pengobatan dari penyakit periodontal.^{10,11} Pada umumnya uji sitotoksitas untuk mengukur efek bahan dalam hal yaitu jumlah dan pertumbuhan sel, integritas membran sel, aktivitas biokimia, bahan genetik dari sel.¹²

Salah satu metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan adalah dengan uji enzimatik menggunakan pereaksi 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (*MTT*). Dasar uji enzimatik *MTT* adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji ini banyak digunakan untuk mengukur proliferasi seluler secara kuantitatif atau untuk mengukur jumlah sel yang hidup.¹³

MTT adalah molekul larut berwarna kuning yang dapat digunakan untuk menilai aktifitas enzimatik seluler. Uji ini menghitung aktifitas dehidrogenase selular, mengubah bahan kimia yang disebut *MTT*, sejumlah bahan reduksi selular menjadi senyawa biru, formazan yang tidak larut. Konsentrasi *MTT* yang digunakan semua sama yaitu melarutkan larutan kuning *MTT* 5mg/ml dalam PBS. Reaksi warna biru

keunguan digunakan sebagai ukuran dari jumlah sel hidup. Jumlah sel hidup dapat diukur pada panjang gelombang 570-590 nm.¹⁴

Sel Punca Mesenkimal

Sel punca merupakan sel yang belum memiliki bentuk dan fungsi yang spesifik layaknya sel lainnya pada organ tubuh. Sel punca belum memiliki fungsi khusus seperti berdenyut, menghantarkan impuls, dan menghasilkan hormon. Sel punca dapat melakukan replikasi dan menghasilkan sel-sel berkarakteristik sama dengan sel induknya. Kemampuan ini tidak dimiliki oleh sel lainnya seperti sel jantung, sel otak maupun sel pankreas. Sel punca yang belum berdiferensiasi tersebut dapat berdiferensiasi menjadi sel yang dibutuhkan.¹⁵

Berdasarkan tingkat maturasi tubuh yang menjadi sumber keberadaannya, sel punca mesenkimal dibagi menjadi dua yaitu sel punca embrionik (*embryonic stem cell*) dan sel punca dewasa (*adult stem cell*). Sel punca embrionik adalah sel punca yang didapatkan saat perkembangan individu masih didalam tahap embrio. Terbentuk saat embrio berusia tiga sampai lima hari.¹⁵ Sel punca dewasa (*adult stem cell*), yaitu sel yang berasal dari jaringan dewasa yang dapat berpoliferasi dalam periode yang panjang untuk memperbarui diri, serta dapat berdiferensiasi untuk menghasilkan sel-sel khusus yang mempunyai karakteristik morfologi dan fungsi yang spesifik.¹⁶

Sumber sel punca pada rongga mulut berasal dari jaringan pulpa gigi, karena dapat berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel, tidak hanya dapat

menjadi sel yang mirip odontoblas, tetapi juga dapat menjadi sel yang mirip adiposit dan sel syaraf.¹⁷ Sel punca yang berasal dari jaringan periodontal akan berdiferensiasi menjadi berbagai tipe sel yang terbentuk dari mesenkim dimana salah satu diantaranya adalah sel ligamen periodontal dan di dalam perkembangan *tissue engineering* pada terapi reparatif dan regeneratif dapat memanfaatkan sel punca mesenkimal yaitu dari *Bone Marrow Stem Cells* (BMSCs) dan *Periodontal Ligamen Stem Cells* (PDLCS).¹⁸ Sel punca juga bisa berasal dari gingiva. Sel ini dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas, adiposit dan kondrosit dengan kondisi yang berbeda dari *in vitro* yang spesifik.¹⁹

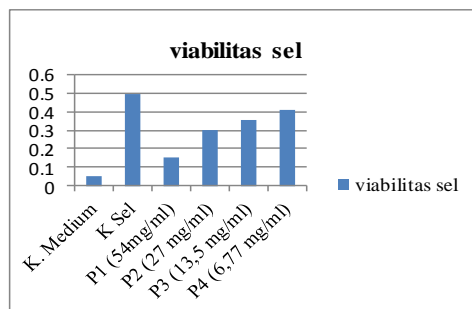
BAHAN DAN METODE

Ekstrak hidroksiapatit cangkang kerang darah *Anadara granosa* diproduksi dari limbah cangkang kerang darah yang diproses di Bank Jaringan RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan ukuran 350 µm-710 µm yang selanjutnya diendapkan kedalam larutan Alpha MEM. Kemudian larutan tersebut diaplikasikan ke dalam sumuran *microplate* sel punca mesenkimal dan terdiri dari konsentrasi 54 mg/ml, 27 mg/ml, 13,5 mg/ml, 6,75 mg/ml.²⁰ Ekstrak hidroksiapatit cangkang kerang darah *Anadara granosa* diencerkan dalam 2ml menggunakan pelarut medium Alpha MEM untuk mendapatkan kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan uji sitotoksitas dan dibacakan nilai sorbansinya secara spektrofotometri menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 620 nm. Hitung rata-rata persentase

kehidupan sel dari nilai *Optical density* (absorbansi) masing-masing sampel pada setiap konsentrasi terhadap nilai kontrol.

HASIL

Data viabilitas sel ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* terhadap stem sel mesenkimal berdistribusi tidak normal (uji *Shapiro-Wilk* didapatkan $p > 0.05$) dan antar kelompok memiliki variansi yang tidak homogen (*Levene's test* $p = 0.029$).



Gambar 1. Grafik rata-rata kematian sel

Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan bahwa semua hasil data $p < 0.05$ sehingga hasil data menunjukkan signifikansi yang menyatakan perbedaan viabilitas sel yang bermakna antar kelompok perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan viabilitas sel masing-masing kelompok digunakan uji *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan $p < 0.05$ didapatkan rincian yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok medium dengan kelompok sel, kelompok medium dengan P1, kelompok medium dengan P2, kelompok medium dengan P3, kelompok medium dengan P4, kelompok sel dengan P1, kelompok sel P2, kelompok sel dengan P3, kelompok sel dengan P4, P1 dengan P2, P1 dengan

P3, P1 dengan P4, P2 dengan P3, P2 dengan P4, P3 dengan P4. Hal ini dikarenakan nilai signifikansi kurang dari 0,05.

PEMBAHASAN

Hasil perhitungan *Elisa Reader* menunjukkan terdapat peningkatan viabilitas sel pada kelompok perlakuan. Persentase jumlah viabilitas sel dapat terlihat pada konsentrasi 54 mg/ml, 27 mg/ml, 13,5 mg/ml, 6,75 mg/ml dimana menunjukkan terjadinya peningkatan viabilitas sel dengan persentase hasil yaitu 23,57%, 57,43%, 68,87%, 81,92%.

Meningkatnya viabilitas sel punca mesenkimal pada ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* menunjukkan bahwa *Anadara granosa* dapat menyebabkan toksik apabila dosis yang diberikan terlalu besar. Berdasarkan hal tersebut tingginya konsentrasi menyebabkan sel lebih banyak menerima kalsium sehingga sel dapat melakukan proliferasi dan apoptosis secara bersamaan. Sedangkan pada kelompok yang di beri ekstrak sebanyak 6,75 mg/ml mendapatkan viabilitas sel tertinggi karena mengandung konsentrasi bahan uji yang paling rendah. Rendahnya konsentrasi kalsium yang masuk ke dalam sel tersebut dapat membuat sel memiliki kemampuan untuk melakukan pertahanan dan proliferasi sel.

Anadara granosa memiliki kandungan terbanyak adalah kalsium. Kalsium adalah salah satu *second messenger* yang memediasi respon seluler untuk berbagai macam stimuli seperti proliferasi, pergerakan, sekresi dan neurotransmisi sel. Kalsium juga menjadi pemicu terjadinya apoptosis

pada fisiologis dan patofisiologis.²¹ Pentingnya kalsium karena ada banyaknya molekul dan struktur subseluler yang terlibat. Salah satu cara masuknya kalsium masuk kedalam sel melalui difusi melalui *channel* kalsium pada membran plasma. Difusi kalsium adalah pergerakan ion dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. *Channel* kalsium tersebut membuka dan menutup secara acak. Ion kalsium yang mengalir melalui *channel* yang terbuka dengan perbedaan konsentrasi.

Konsentrasi kalsium yang rendah menyebabkan sedikitnya *channel* kalsium yang terbuka. Sebaliknya jika konsentrasi kalsium yang tinggi menyebabkan banyaknya *channel* kalsium yang terbuka.²² Regulasi kadar kalsium intraseluler merupakan suatu proses yang kompleks dimana melibatkan berbagai jalur masuk dan keluarnya kalsium melalui sitoplasma. Secara umum kalsium masuk kedalam sitoplasma setelah dilepas reticulum endoplasma (SER) melalui *channel* SER pelepasan kalsium atau dari masuknya kalsium melalui membran plasma melewati *channel* kalsium permeabel.²³

Peningkatan konsentrasi kalsium mengaktifkan sejumlah enzim dengan efek seluler yang berpotensi merusak. Enzim ini termasuk phospholipases, protease, endonuklease dan triphosphatases adenosin. Meningkatnya tingkat kalsium juga dapat menginduksi apoptosis, dengan aktivasi langsung kaspase dan dengan meningkatkan permeabilitas mitokondria.²⁴ Berdasarkan penjelasan tersebut dapat menjelaskan bahwa perubahan konsentrasi kalsium intraseluler memiliki berbagai macam peran seperti proliferasi, pengembangan, kontraksi atau sekresi.

Apabila konsentrasi melebihi batas normal atau berlebihan dapat mengakibatkan kematian sel baik nekrosis maupun apoptosis. Dimana fungsi dari kalsium memberikan peran dalam kelangsungan hidup sel melalui regulasi ekspresi gen.²⁵

SIMPULAN

Ekstrak cangkang kerang darah *Anadara granosa* memiliki bioviabilitas sel paling tinggi pada konsentrasi 6,75 mg/ml dan bioviabilitas sel yang paling rendah pada konsentrasi 54 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tanjaya Justine dan Auerkari Elza Ibrahim. 2011 . IL-1 β Genetic Polimorphism in Menopause Women as Periodontal Disease Risk Factor. Available from <http://www.jdentistry.ui.ac.id/index.php/JDI/article/viewFile/52/46>. Diakses 7 April 2014.
2. Safitri RD. 2012. Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Dan Vitamin C Terhadap Resorpsi Tulang Alveolar Pada Tikus Wistar Jantan Yang Mengalami Periodontitis. Skripsi, Universitas Jember, Indonesia. Available from http://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/21267/21%20%2895%29processed_1.pdf?sequence=1. Diakses 3 April 2014.
3. Pandit Nympha, Malik R dan Philips D. 2011. Tissue engineering: A New Vista In Periodontal Regeneration. J Indian Soc Periodontol, 15(4): 337-328.
4. Kumar P, Vinitha B dan Fathima G. 2013. Bone Graft in Dentistry. *Journal Pharm Bioallied Sci* (Suppl 1), 5. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3722694/>. Diakses 10 Agustus 2014.
5. Riani. 2012. Evaluasi Radiografistinggi dan Densitas Tulang Alveolar Pada Terapi Periodontitis Dengan Allograft (DFDBA) Dibandingkan Xenograft. Tesis, Universitas Indonesia. Jakarta. H.

- 12-10,17-15. Available from <http://lontar.ui.ac.id/file?file=digital/20313350-T%2031725-Evaluasi%20radiografistinggi-full%20text.pdf>. Diakses 8 Mei 2014.
6. Yonvitner, Setyobudiandi I, Ekawati Y. 2011. Pertumbuhan dan Reproduksi Kerang Darah (*Anadara granosa* Linn,1758) Di Perairan Teluk Lada, Labuan, Banten. Jurnal Moluska Indonesia, 2(1): 22-15.
 7. Awang-Hazmi AJ, Zuki ABS, Noordin MM, Jalila A, Norimah Y. 2007. Mineral Composition of the Cockle (*Anadara granosa*) Shells of West Coast of Peninsular Malaysia and It's Potential as Biomaterial for Use in Bone Repair. Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(5): 594-591.
 8. Saryati, Sulitio GS, Handayani A, Supardi, Untoro P dan Sugeng B. 2012. Hidroksiapatit Berpori Dari Kulit Kerang. Pusat Teknologi Bahan Industri Nuklir (PTBIN)-BATAN. Available from http://jusami.batan.go.id/dokumen/materi/26Apr13_162414_%20Saryati.pdf. Diakses April 2014.
 9. Kartono GS. 2012. Biokompatibilitas Hidroksiapatit Graft Dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) Terhadap Kultur Sel Fibroblas. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Surabaya. H. 50, 27, 26, 20.
 10. Sulastry Feni. 2009. Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD₅₀ Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Mencit BALB/C. Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. H. 11
 11. Yuliati A. 2005. Viabilitas sel fibroblas BHK-21 Pada Permukaan Resin Akrilik Rapid Heat Cured. Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.), 38(2): 72-68. Available from journal.unair.ac.id/filerPDF/DENTJ-38-2-06.pdf. Diakses Mei 2014.
 12. Agustantina TH. 2002. Pengaruh Tegangan Listrik dan Lama Penyinaran Pada Semen Ionomer Gelas Modifikasi Resin Terhadap Kekerasan Permukaan dan Sitotoksitas. Tesis, Universitas Airlangga, Indonesia. H. 24.
 13. Meizarini A. 2005. Sitotoksitas Bahan Restorasi Cyanoacrylate pada Variasi Perbandingan Powder dan Liquid Menggunakan MTT Assay. Dental Journal, 38(1): 21-20. Available from <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/DENTJ-38-1-06.pdf>. Diakses 24 Maret 2014.
 14. Rianti Devi. 2008. Uji Sitotoksitas Ekstrak dan Infusa *Coleus Amboinicus* Lour Menggunakan Essei MTT. Skripsi, Universitas Airlangga, Indonesia. H. 28.
 15. Halim D, Murti H, Sandra F, Boediono A, Djuwantono T, Setiawan B. 2010. Stem Cell Dasar Teori & Aplikasi Klinis. 1st ed. Jakarta: Erlangga. H. 11, 9, 8, 5.
 16. Hakim RF, Fatma D dan Niniarty ZD. 2008. Prospek Sel Stem Sebagai Terapi Pada Bidang Kedokteran Gigi. Dentika Dental Journal, 13(2); 2008: 192-186.
 17. Sofan LK. 2010. Peran Sel Punca Di Bidang Kedokteran Gigi. Skripsi, Universitas Sumatera, Indonesia. H. 15, 14, 2.
 18. Wedarti YR. 2010. Peranan Stem Cells Dalam Regenerasi Periodontal. Denta Jurnal Kedokteran Gigi FKG-UHT, 5(1).
 19. Zhang Q, Nguyen AL, Shi S, Hill C, Wilder-Smith P, Krasieva TB, et al. 2012. Three-Dimensional Spheroid Culture of Human Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells Enhances Mitigation of Chemotherapy-Induced Oral Mucositis. Stem Cells and Development, 21(6).
 20. Takamori RE, Figueira EA, Taga R, Sogayar MC, Granjeiro Jm. 2007. Evaluation of The Cytocompatibility of Mixed Bovine Bone. Braz. Dent. J, 18(3):184-179.
 21. Camandola S, dkk. 2005. Supression of Calcium Release from Inositol 1,4,5 Trisphosphatesensitive Stores Mediates the Anti-apoptotic Function of Nuclear Factor-kB. The Journal of Biological Chemistry, 280(23).
 22. Blackwell KT. 2005. Modeling Calcium Concentration and Biochemical Reactions. School of Computational Sciences and Krasnow Institute for Advanced Study, 1: 13-9.
 23. O'neil RG and Brown RC. 2003. The Vanilloid Receptor Family of Calcium-Permeable Channels: Molecular Integrators of Microenvironmental Stimuli. Department of Integrative Biology and Pharmacology, The University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, Texas 77030. News Physiol Sci, 18.
 24. Kumar V, Abbas AK, Ater JC. 2004. Robbins and Cotran : Pathologic Basis of Disease 9th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. P. 14,13,6.
 25. Apati A, dkk. 2003. Calcium Induces Cell Survival and Proliferation through the Activation of the MAPK Pathway in a Human Hormone-dependent Leukemia Cell Line, TF-1. The Journal of Biological Chemistry, 278(11): 9235.