

RESEARCH ARTICLE

Pengaruh *Bone Graft* Senyawa Kalsium Hasil Sintesis Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan Variasi Waktu Sintering terhadap Proliferasi Sel Fibroblas pada Proses *Socket Healing*

*(The Effect of Calcium Compounds Bone Graft Synthesized from Blood Cockle Shells (*Anadara granosa*) with Sintering Time Variation in Fibroblast Proliferation on Socket Healing Process)*

Firda Dean Yonatasya*, Widyasri Prananingrum**, Meinar Nur Ashrin,***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Material Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

*** Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: *Anadara granosa* shells can be converted into calcium compounds in the form of hydroxyapatite (HA), tricalcium phosphate (TCP), and calcium carbonate (CaCO_3) by hydrothermal method. These calcium compounds have the potential to increase the proliferation of fibroblast cells in the socket healing process. **Purpose:** The aim of this study was to determine the effect of calcium compounds from the synthesis of *Anadara granosa* with variations in sintering time against proliferation of fibroblast cells in socket healing. **Materials and Methods:** 36 Wistar rats were divided into control group (K1, K2), and treatment group (P1a, P1b, P2a, P2b) which was applied by bone graft with the sintering time 6 and 12 hours on the socket incisor of the left mandible. On the 7th and 14th days, the mandibular bone was cut transversely and stained. Observation of the number of fibroblast cells use 400x magnification with 3 visual fields and the mean was calculated. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test. **Results:** The mean number of fibroblast cells in groups K1, K2, P1a, P1b, P2a and P2b respectively is 23.50; 30,16; 28.94; 34.22; 30,16; and 37.50. There were significant differences in all groups, except K2-P1a, K2-P2a, and P1a-P2a. **Conclusion:** Calcium compounds bone graft from the synthesis of *Anadara granosa* with sintering time of 6 and 12 hours affect the proliferation of fibroblast cells in socket healing. Bone graft with a sintering time of 12 hours can increase fibroblast cell proliferation more effectively.

Keywords: Bone graft, calcium compounds, *Anadara granosa*, sintering time, fibroblast, socket healing.

Correspondence: Widyasri Prananingrum, Department of Dental Materials, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Email: widyasri.prananingrum@hangtuah.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dapat dikonversi menjadi senyawa kalsium berupa hidroksiapatit (HA), trikalsium fosfat (TCP), dan kalsium karbonat (CaCO_3) dengan metode hidrotermal. Pada metode hidrotermal, waktu sintering mempengaruhi komposisi HA, TCP, dan CaCO_3 . Senyawa kalsium ini berpotensi meningkatkan proliferasi sel fibroblas pada proses socket healing. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah dengan variasi waktu sintering terhadap proliferasi sel fibroblas pada proses socket healing. **Bahan dan Metode:** 36 tikus wistar dibagi 6 kelompok ($n=6$) yaitu kelompok kontrol (K1, K2), dan kelompok perlakuan (P1a, P1b, P2a, P2b) yang diaplikasikan bone graft senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah dengan waktu sintering 6 dan 12 jam pada soket insisif satu mandibula kiri. Pada hari ke-7 dan ke-14, tulang mandibula dipotong secara transversal dan dilakukan pengecatan HE. Pengamatan jumlah sel fibroblas dilakukan secara mikroskopik perbesaran 400x dengan 3 lapang pandang dan dihitung reratanya. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis. **Hasil:** Rerata jumlah sel fibroblas pada kelompok K1, K2, P1a, P1b, P2a dan P2b secara berurutan adalah 23,50; 30,16; 28,94; 34,22; 30,16; dan 37,50. Terdapat perbedaan signifikan pada semua kelompok, kecuali K2-P1a, K2-P2a, dan P1a-P2a. **Simpulan:** Bone graft senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dengan waktu sintering 6 dan 12 jam berpengaruh terhadap proliferasi sel fibroblas pada socket healing. Bone graft senyawa kalsium dengan waktu sintering 12 jam mampu meningkatkan proliferasi sel fibroblas lebih efektif.

Kata kunci: Bone graft, senyawa kalsium, cangkang kerang darah (*Anadara granosa*), waktu sintering, fibroblas, socket healing.

Korespondensi: Widyasri Prananingrum, Departemen Material Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim No. 150, Surabaya, Email: widyasri.prananingrum@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Tulang mempunyai kemampuan untuk mengalami proses penyembuhan pasca terjadinya kerusakan.¹ Dalam praktik kedokteran gigi, tindakan pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan yang paling tinggi prevalensinya dan dapat menyebabkan kerusakan tulang alveolar maupun perlukaan jaringan lunak.² Pada beberapa kasus klinis diperlukan tindakan tranplantasi tulang untuk mempercepat penyembuhan luka.³

Salah satu material yang dikembangkan untuk merangsang proses penyembuhan tulang adalah senyawa kalsium yang terdiri dari hidroksiapatit (HA), trikalsium fosfat (TCP), dan kalsium karbonat (CaCO_3). Kandungan kimiawi dari ketiga mineral tersebut

mempunyai hubungan yang erat dengan mineral tulang dan jaringan lunak pada rongga mulut.⁴

Soket yang terbuka akibat tindakan pencabutan akan mengalami proses reparatif yang disebut sebagai *socket healing*.⁵ Proses *socket healing* dibagi menjadi empat tahap, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodelling. Salah satu indikator dimulainya fase *socket healing* pada fase proliferasi adalah proliferasi sel fibroblas.⁶ Pada proses ini, sel utama yang terlibat adalah sel fibroblas yang bertugas untuk menyiapkan dan menghasilkan produk struktur protein yang akan digunakan selama proses perbaikan jaringan.⁷

Fibroblas akan segera bermigrasi ke daerah luka, berproliferasi, dan memproduksi matriks kolagen untuk

memperbaiki jaringan yang rusak. Selain itu fibroblas juga mensintesis jaringan matriks ekstra seluler sehingga terbentuk lapisan epitel baru sehingga luka dapat tertutup.⁸ Dalam proses penyembuhan luka secara alami, sel ini distimulasi oleh *interleukin-1b* (IL-1b), *platelet derived growth factor* (PDGF), dan *fibroblast growth factor* (FGF).⁹

Pada hari ke-3 paska pencabutan gigi, fibroblast mulai terbentuk dan pada hari ke-7 proliferasi sel fibroblas akan mulai meningkat. Pada hari ke-14 hingga ke-20, proliferasi sel fibroblas akan tercapai maksimal dan segera membentuk matriks ekstraseluler pada area perlukaan.¹⁰ Fase proliferasi berakhir dengan dimulainya fase remodeling, yakni proses penggantian jaringan keras dan lunak dengan jaringan sekunder.¹¹

Bone graft merupakan bahan *tissue engineering* yang dapat digunakan pasca tindakan pencabutan gigi. *Bone graft* akan menginduksi pembentukan tulang baru dan membantu penyembuhan luka dengan interaksinya meningkatkan aktivitas makrofag sehingga sintesis *growth factor* meningkat.¹² Tujuan penggunaan *bone graft* adalah untuk meningkatkan kualitas dan memaksimalkan kuantitas dari tulang serta mencegah perubahan bentuk dari tulang alveolar yang dapat mengakibatkan dampak negatif dari rehabilitasi prostetik.¹³

Bahan *bone graft* dibagi menjadi empat jenis yaitu *autograft*, *allograft*, *xenograft* dan *alloplast*. *Autograft* adalah *bone graft* yang berasal dari host itu sendiri. *Allograft* adalah *bone graft* yang berasal dari donor yang spesiesnya sama. *Xenograft* yaitu *bone graft* yang berasal dari donor yang berbeda spesies. Sedangkan *Alloplast* merupakan material yang digunakan merestorasi jaringan tulang yang rusak diproses dan

diperoleh dari bahan sintetik.¹⁴ Bahan *bone graft* ideal harus memiliki sifat-sifat umum seperti osteokonduktif, osteoinduktif, osteointegrasi, dan osteogenesis. *Bone graft* yang digunakan harus memiliki struktur dan sifat yang mirip dengan tulang, sehingga dapat membantu mempercepat proses penyembuhan tulang.¹⁵

Indonesia merupakan negara maritim yang cukup luas dengan komoditas hasil laut yang melimpah. Berdasarkan data dari Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap tahun 2011, produksi kerang di Indonesia pada tahun 2010 mencapai 34.929 ton. Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan salah satu kerang yang paling banyak dihasilkan dengan jumlah produksi mencapai 34.482 ton.¹⁶ Tetapi pemanfaatan kerang darah ini seringkali hanya sebatas untuk dikonsumsi dagingnya sehingga menyisakan cangkangnya yang menjadi limbah. Padahal limbah cangkang kerang memiliki sumber kalsium yang tergolong besar yakni sekitar 98%. Apabila cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dimanfaatkan secara maksimal, maka dapat bernilai ekonomi untuk dikembangkan sebagai sumber protein dan mineral untuk memenuhi kebutuhan masyarakat Indonesia.¹⁷

Sekitar 60% *bone graft* yang tersedia saat ini memiliki bentuk keramik, baik tersendiri atau dalam kombinasi dengan material lain. Keramik mempunyai efek toksik yang sangat rendah pada jaringan. Keramik kalsium fosfat yang didalamnya terkandung hidroksiapatit (HA) atau $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ adalah sejenis komponen mineral alami dari jaringan keras *vertebrate*.¹⁴ Keramik untuk *bone graft* haruslah bersifat biokompatibel agar tidak terjadi

kegagalan karena penolakan oleh *host*, tidak mempunyai pengaruh toksik ataupun menimbulkan jejas terhadap fungsi biologis.¹⁸ Kalsium fosfat dengan kandungan HA bersifat biokompatibel, non-imunogenik, non-karsinogenik, dan merupakan jenis material yang aktif pada permukaan tulang.¹⁹

Hidroksiapatit (HA) merupakan komponen anorganik utama pada tulang dan gigi yang umum digunakan sebagai *bone graft*.¹⁵ Hidroksiapatit memiliki sifat kimia, biologi dan kristalografi yang hampir sama dengan tulang dan gigi,²⁰ namun HA memiliki kelemahan yaitu bersifat rapuh dan sulit untuk di degradasi.²¹

Berbeda dengan trikalsium fosfat (TCP), senyawa ini memiliki sifat *bioresorbable* sehingga mudah diserap oleh tulang.²² Kombinasi HA dan TCP merupakan pilihan yang efektif dengan sifat osteokonduksi, osteoinduksi dan resorabilitasnya.²³ Kombinasi ini merupakan paduan yang sempurna untuk mengatasi kelemahan dari HA dan TCP.

Senyawa kalsium lain yang sering dimanfaatkan sebagai *bone graft* adalah kalsium karbonat (CaCO_3). Penambahan kalsium karbonat pada hidroksiapatit dapat meningkatkan kelarutan, penurunan kristalinitas dan perubahan morfologi kristal.²⁴ Kalsium karbonat berpotensi menginduksi pembentukan tulang baru dengan cepat.²⁵ Kombinasi senyawa kalsium berupa HA, TCP dan CaCO_3 dalam suatu *bone graft* diharapkan dapat membantu mempercepat proses *socket healing*.

Pratama (2017) dan Resaldi (2017) dari hasil penelitiannya menyatakan bahan kalsium karbonat, kalsium fosfat, dan HA dapat berhasil disintesis dari cangkang kerang darah

dengan metode *hydrothermal*.^{26,27}

Metode *hydrothermal* adalah sebagai proses mineralisasi di bawah tekanan tinggi dan temperatur tertentu, agar terbentuk kristal yang relatif tidak larut di bawah kondisi normal (Sari, 2010).²⁸ Pratama (2017), dalam penelitiannya mengamati karakteristik *bone graft* senyawa kalsium menyatakan bahwa pada metode *hydrothermal* dengan waktu sintering 6 dan 12 jam dapat dihasilkan HA dan TCP dengan komposisi yang berbeda. Kandungan *hydroxyapatite* yang didapat pada waktu sintering 6 jam adalah 81.80%, kandungan TCP (*Tricalcium phosphate*) 14.10%, dan *calcite* 4%. Sedangkan pada waktu sintering 12 jam terdapat kandungan *hydroxyapatite* 72%, TCP (*Tricalcium Phosphate*) 21%, dan *calcite* 7%.²⁶ Dengan perbedaan komposisi dari HA dan TCP tersebut, dimungkinkan untuk mendapatkan hasil yang berbeda dari pengamatan pengaruh *bone graft* senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dengan variasi waktu sintering terhadap proliferasi sel fibroblas pada proses *socket healing*.

Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *bone graft* senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah dengan variasi waktu sintering terhadap jumlah sel fibroblas pada proses *socket healing* secara *in vivo*.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah *true eksperimental laboratoris*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (n=36) yang dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan dan

diamati pada hari ke-7 (K1) dan ke-14 (K2), kelompok yang diberi senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah dengan waktu sintering 6 jam yang diamati pada hari ke-7 (P1a) dan ke-14 (P2a) dan kelompok yang diberi senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah dengan waktu sintering 12 jam yang diamati pada hari ke-7 (P1b) dan ke-14 (P2b).

Persiapan pembuatan sampel

Bahan baku sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) yang berasal dari limbah di pesisir Probolinggo. Cangkang kerang darah ditumbuk dan dikonversi menjadi bubuk senyawa kalsium melalui metode hidrotermal pada suhu 200° C dengan variasi waktu *sintering* 6 dan 12 jam yang meliputi proses kalsinasi, *sintering*, pembilasan methanol PA dan pengeringan.

Cangkang kerang darah direbus, dibersihkan dan disaring dengan mesh ukuran 100 (0,149 mm). Bubuk yang telah disaring dikalsinasi pada suhu 100° selama 3 jam dalam *oven furnace*. Pada proses hidrotermal, bubuk cangkang kerang darah (CaCO_3 1 M) dicampur dengan Ammonium Dihidrogen Fosfat ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,6 M) dan dipanaskan pada suhu 200° dalam *oven furnace* dengan variasi waktu *sintering* 6 dan 12 jam.

Bubuk hasil proses hidrotermal dibilas dengan aquades 100 ml hingga pH mencapai ± 7 dan dilakukan pembilasan akhir dengan methanol PA. Bubuk dipanaskan kembali dengan oven elektrik pada suhu 50° selama 4 jam dan dilanjutkan pemanasan akhir dengan suhu 900° selama 3 jam. Bubuk senyawa kalsium disaring dengan saringan 200 mesh untuk mendapatkan ukuran bubuk <74 μm .

Pembuatan larutan senyawa kalsium 25% dilakukan dengan mencampurkan 2,5 gram bubuk senyawa kalsium pada 10 ml aquades. Pembuatan *bone graft* dilakukan dengan mencampurkan bubuk senyawa kalsium 25% dengan gelatin 10% (wt%) (1:1). Hasil pencampuran tersebut dimasukkan ke dalam *well plates* berdiameter 6 mm dengan tinggi 10 mm.

Pembuatan *bone graft* dilakukan dengan menggunakan metode *freeze-drying* yang terdiri atas dua proses, yaitu pembekuan sampel pada *well plates* pada suhu -80° C selama 5 jam, lalu sampel pengeringan selama 30 jam dalam alat *vacuum*. *Bone graft* disetrisasi di Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN) Jakarta dengan suhu 35-37°C dengan iradiasi sinar gamma dosis 25 KGy.

Aplikasi sampel secara *in vivo*

Tikus yang telah diadaptasi dan dibagi berdasarkan kelompok, dianastesi dengan menggunakan *ketamine* 0,1 mL dan *xylazine* 0,01 mL yang dicampur dan diinjeksikan dengan dosis 0,11 mL/100 gr BB secara *intramuscular* pada *femur dextra*.

Pencabutan insisif satu dilakukan pada rahang bawah kiri dan diaplikasikan *bone graft* senyawa kalsium pada kelompok perlakuan. Pengorbanan hewan coba dilakukan pada hari ke-17 (K1, P1a, P2a) dan ke-21 (K2, P1b, P2b) dan dilakukan pengambilan jaringan di rahang bawah kiri untuk pembuatan preparat HPA pewarnaan HE.

Perhitungan jumlah sel fibroblas

Pengamatan dilakukan secara HPA dengan membuat foto dari preparat HPA dengan pembesaran 400x dan dilakukan perhitungan jumlah sel fibroblas menggunakan

image raster (optilab) pada daerah soket gigi insisif pertama rahang bawah kiri. Kemudian dilakukan tabulasi dan analisis data.

HASIL

Data dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif untuk mendapatkan gambaran distribusi dan ringkasan data guna memperjelas penyajian hasil penelitian.

Tabel 1 Hasil Rerata Jumlah Sel Fibroblas pada Proses *Socket Healing*

Kelompok	Rerata±Std. Deviasi
K1	23,50±1,242
K2	30,16±1,735
P1a	28,94±2,123
P1b	34,22±1,088
P2a	30,16±2,073
P2b	37,50±1,894

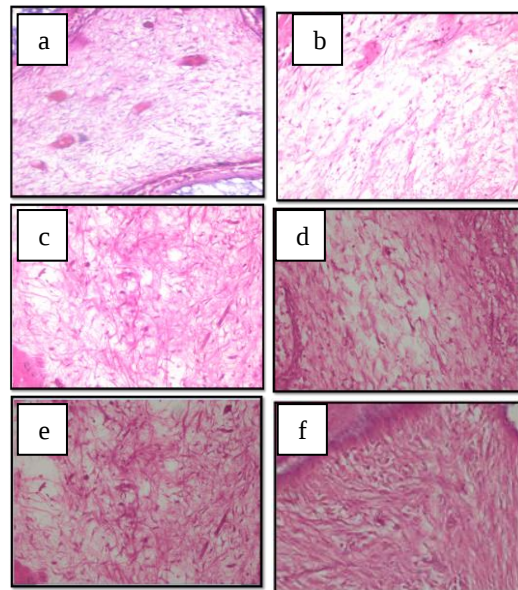
Tabel 2. Hasil Uji *Mann Whitney*

	K2	P1a	P1b	P2a	P2b
K1	.003*		.004*	.004*	.004*
K2		.004*	.180	.005*	.806
P1a			.002*	.394	.002*
P1b				.001*	.020*
P2a					.004*

* $p < 0,05$ = terdapat perbedaan yang signifikan

Pada Tabel 1 menunjukkan nilai rerata tertinggi jumlah sel fibroblas ditunjukkan pada kelompok P2b (37,50) dan nilai rerata terendah ditunjukkan pada kelompok P1a (28,94).

Hasil uji *Mann Whitney* pada Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas yang signifikan pada semua kelompok kecuali pada K2-P1a; K2-P2a; dan P1a-P2a.



Gambar 1. Gambaran HPA Jumlah Sel Fibroblas dengan pewarnaan HE perbesaran 400x. (a) K1 (b) K2 (c) P1a (d) P1b (e) P2a (f) P2b

PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *bone graft* dari senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dengan variasi waktu sintering terhadap proliferasi sel fibroblas. Hal ini dapat ditinjau dari ada atau tidaknya peningkatan jumlah sel fibroblas setelah aplikasi bahan *bone graft* dengan metode hidrotermal dan variasi waktu sintering 6 dan 12 jam pada proses *socket healing* pasca pencabutan gigi. Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan hewan coba berjenis tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar*. Alasan pemilihan hewan coba ini karena mempunyai respon cepat, memberikan gambaran yang mungkin terjadi pada manusia, harganya relatif murah, mudah dikelola di laboratorium, hewan yang relatif sehat

dan cocok untuk berbagai penelitian.^{29,30}

Terdapat perbedaan jumlah sel fibroblast yang signifikan antara kelompok K1 dengan kelompok K2. Pada tabel 5.1 terlihat bahwa rerata kelompok kontrol hari ke-14 (K2) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol hari ke-7 (K1). Hal ini dikarenakan pada hari ke-7 pasca pencabutan, terdapat sel fibrosit. Sel ini merupakan sel fibroblas yang pasif dan secara morfologis aktivitasnya berbeda dengan fibroblas normal.¹³ Bila terdapat rangsangan yang kuat pada jaringan pasca pencabutan, maka fibrosit berubah menjadi fibroblas dan aktivitas sintesisnya menjadi aktif.³¹ Nanci (2008) menyatakan bahwa proliferasi fibroblas secara maksimal terjadi pada hari ke-14 sampai hari ke-20 untuk membentuk degradasi matriks ekstraselular.¹⁰ Pada masa ini fibroblas sudah sepenuhnya bermigrasi dan aktif pada jaringan parut.¹³

Kelompok perlakuan P1a dan P1b menunjukkan perbedaan jumlah sel fibroblas yang signifikan, dan menunjukkan rerata yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini dapat disebabkan karena *bone graft* senyawa kalsium dengan waktu sintering 6 jam dapat mempengaruhi proses proliferasi yang secara signifikan teregulasi dalam pertumbuhan sel ke dalam pori-pori *bone graft*. Hasil induksi angiogenik pada proses ini memiliki efek pada neovaskularisasi sel-sel sehingga dapat menstimulasi sel fibroblas pada hari ke-7, dan meningkat pada hari ke-14.³²

Kelompok perlakuan P2a dan P2b yang menggunakan *bone graft* senyawa kalsium waktu sintering 12 jam menunjukkan gambaran jumlah fibroblas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan

menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat disebabkan kandungan senyawa kalsium dengan waktu sintering 12 jam dapat menstimulasi sel fibroblas pada area bekas pencabutan gigi pada hari ke-7, dan lebih meningkat pada hari ke-14. Menurut penelitian Ferdynanto *et al.* (2018), komposisi senyawa kalsium dengan metode hidrotermal waktu sintering 6 jam mengandung HA 54,5%, TCP 9,1%, dan CaCO₃ 22,2% sedangkan senyawa kalsium dengan metode hidrotermal waktu sintering 12 jam mengandung HA 51,5%, TCP 16,8%, dan CaCO₃ 20,8%.³³

HA yang dihasilkan pada waktu sintering 6 jam sedikit lebih tinggi daripada 12 jam, tetapi TCP yang dihasilkan dengan waktu sintering 12 jam lebih tinggi dibandingkan 6 jam. Maka dapat diasumsikan bahwa TCP paling berpengaruh untuk berinteraksi dan menstimulasi proliferasi sel fibroblas daripada HA dan CaCO₃. Pemberian CaCO₃ mempengaruhi pembentukan platelet serta memicu munculnya makrofag pada jaringan.³⁴ Sedangkan, pemberian HA meningkatkan aktivitas *growth factor* terutama VEGF dan FGF di daerah luka.³⁵ TCP mempengaruhi makrofag dengan menstimulasi *growth factor* pada daerah perlukaan beserta sel-sel radang sehingga membantu memperkuat proses angiogenesis pada daerah luka, meningkatkan migrasi sel-sel endothelial, hingga akhirnya ketiga senyawa kalsium ini merangsang pembentukan fibroblas melalui integrasinya dalam merangsang FGF.^{36,37,38}

Terdapat perbedaan jumlah sel fibroblast yang tidak signifikan pada kelompok perlakuan P1a dan P2a pada hari ke-7, walaupun rerata jumlah sel

fibroblast kelompok P2a lebih tinggi dibandingkan kelompok P1a. Hal ini dimungkinkan karena kandungan senyawa kalsium dengan waktu sintering 6 jam yaitu, HA 54,5%, TCP 9,1%, CaCO_3 22,2% dan senyawa kalsium dengan waktu sintering 12 jam mengandung HA 51,5%, TCP 16,8%, CaCO_3 20,8% mampu memicu proliferasi fibroblas pada hari ke-7.

Kelompok perlakuan P1b dan P2b menunjukkan perbedaan rerata jumlah sel fibroblas yang signifikan dan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hal ini dimungkinkan karena kandungan TCP pada waktu sintering 12 jam pada hari ke-14 mampu meningkatkan proliferasi sel fibroblas. Selain itu ditinjau dari karakteristiknya, *bone graft* senyawa kalsium dengan waktu sintering 12 jam menghasilkan porositas, dan ukuran pori yang sesuai untuk melekatnya sel-sel dalam proses perbaikan jaringan dibandingkan waktu sintering 6 jam.³⁹ Porositas yang tinggi memungkinkan pertumbuhan pembuluh darah baru dan pembentukan matriks ekstraseluler sehingga proses pembentukan jaringan baru berjalan lebih cepat.³³

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *bone graft* dari senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dengan variasi waktu sintering berpengaruh dalam peningkatan proliferasi sel fibroblas pada proses *socket healing* pasca pencabutan gigi hari ke-7 dan ke-14. Hasil produk dengan waktu sintering 12 jam menghasilkan komposisi HA, TCP, dan CaCO_3 yang mampu memicu dan meningkatkan proliferasi sel fibroblas sehingga menunjukkan hasil rerata jumlah sel fibroblast yang paling tinggi diantara semua kelompok

perlakuan, sehingga dapat disimpulkan bahwa produk ini dapat dijadikan sebagai kandidat *bone graft* untuk mempercepat *socket healing*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian *bone graft* senyawa kalsium hasil sintesis cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dengan variasi waktu sintering 6 dan 12 jam berpengaruh terhadap proliferasi sel fibroblas pada proses *socket healing* pasca pencabutan gigi pada hari ke-7 dan ke-14. *Bone graft* dengan waktu sintering 12 jam menunjukkan hasil rerata jumlah sel fibroblas yang paling tinggi diantara semua kelompok perlakuan, sehingga dapat disimpulkan bahwa produk ini dapat dijadikan sebagai kandidat *bone graft* untuk mempercepat *socket healing*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Stiers PJ, Van GN, Carmeliet G. Targeting the hypoxic response in bone tissue engineering: a balance between supply and consumption to improve bone regeneration. *Molecular and cellular endocrinology*. 2016. p. 432, 96-105.
2. Chappuis V, Araújo MG, Buser D. Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction in esthetic sites. *Periodontology*. 2017; 73(1): 83-73.
3. Farina R, Trombelli L. Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics*. 2011;25(1); 43-16.
4. Prabakaran K, Balamurugan A, Rajeswari S. Development of calcium phosphate based apatite from hen's eggshell. *Bulletin of Materials Science*. 2005;28(2): 119-115.
5. Corbella S, Taschieri S, Francetti L, Weinstein R, Del Fabbro M. Histomorphometric Results After Post extraction Socket Healing with Biomaterials. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2017; 32(5).
6. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: An Overview of

- The Cellular and Molecular Mechanism. *The Journal of International Medical Research*. 2009;37(5): 1528-42,
7. Guo S, Di Pietro LA. Factors Affecting Wound Healing. *J. Dent Res*. 2010; 89(3):229-219.
 8. Sjamsuhidajat R, Wim De Jong. Buku Ajar Ilmu Bedah. Jakarta: EGC; 2004. p. 80-81.
 9. Sumbayak EM. Fibroblas: Struktur dan Peranannya dalam Penyembuhan Luka. Jakarta: FK Universitas Kristen Krida; 2015:21(57).
 10. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure, and Function. 7th ed. St Louis: Mosby Elsevier; 2008. p 380.
 11. Gutierrez-Fernandez AM, Inada M, Balbin A, Fueyo ASP. Increased inflammation delays wound healing in mice deficient in collagenase-2 (MMP-8). *FASEB J*. 2007;21: 2591-2580.
 12. Ardhiyanto HB. Peran Hidroksiapatit Sebagai Material Bone Graft Dalam Menstimulasi Kepadatan Kolagen Tipe I Pada Proses Penyembuhan Tulang. *Stomatognathic (J.K.G Unej)*. 2012; 9(1):18-16.
 13. Larjava H. Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management, 1st ed. UK: Willey-Blackwell; 2012. p. 195.
 14. Br Regar NH. Keramik Sebagai Bahan Bone Graft. Skripsi: FKG Universitas Sumatera Utara; 2009. p. 51-49.
 15. Ardhiyanto HB. Peran Hidroksiapatit Sebagai Bone Graft Dalam Proses Penyembuhan Tulang. *Stomatognathic (J.K.G Unej)*. 2011;8(2):118-21.
 16. Affandi A, Amri A, Zultinir Z. Sintesis Hidroksiapatit Dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan Proses Hidrotermal Variasi Rasio Mol Ca/P dan Suhu Sintesis. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Teknik dan Sains*. 2015;2(1):1-8.
 17. Muntamah. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Limbah Cangkang Kerang Darah. Tesis. Bogor: IPB. 2011. p. 80.
 18. Wirjokusumo S. Bone Graft Dalam Perawatan Kedokteran Gigi. *Jurnal Ilmiah Universitas Airlangga*. 2008;(6): 20-18.
 19. Amin A, Ulfah M. Sintesis Dan Karakterisasi Komposit Hidroksiapatit Dari Tulang Ikan Lamuru (*Sardinella longiceps*)-Kitosan Sebagai Bone Filler. *Jurnal Farmasi Uin Alauddin Makassar*. 2017; 5(1): 15-9.
 20. Sunarintyas S. Karakteristik Toksisitas Hidroksiapatit yang Disintesis dari Kalsit Terhadap *Rattus norvegicus*. *Jurnal Teknosains*. 2012;2(1): 50-49.
 21. Warastuti Y, Abbas B. Sintesis dan Karakterisasi Pasta Injectable Bone Substitut Iradiasi Berbasis Hidroksiapatit. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 2011;7(2): 74.
 22. Nahar UK, Shovon B, Chandra RD, Shukanta B, Chandra SP. Characterization of Beta-Tricalcium Phosphate (β -TCP) Produced at Different Process Conditions. *J Bioengineer & Biomedical Sci*. 2017; 7(221):2.
 23. Kumar P, Vinitha B, Fathima G. Bone grafts in dentistry. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 2013;5(1): S125.
 24. Aufan MR, Daulay AH, Indriani D, Nuruddin A, Purwasasmita BS. Sintesis Scaffold Alginat-Kitosan-Karbonat Apatit Sebagai Bone Graft Menggunakan Metode Freeze Drying. *Jurnal Biofisika*. 2012;8(1):2-1.
 25. Sheikh Z, Sima C, Glogauer M. Bone Replacement Material and Techniques Used For Achieving Vertical Alveolar Bone Augmentation. *Journal Materials*. 2015. p.2963-8.
 26. Pratama AF. Karakteristik Hidroksiapatit Hasil Sintesis Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) menggunakan Metode Hydrothermal dengan Variasi Waktu Sintering. Skripsi. Surabaya: FKG Universitas Hang Tuah; 2018. p. 32-35.
 27. Resaldi MF. Karakteristik CaCO_3 dari Hasil Sintesis Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) pada Variasi Suhu Kalsinasi. Skripsi. Surabaya: FKG Universitas Hang Tuah Surabaya. 2018. p. 20.
 28. Sari SN. Keragaman Morfometrik Kerang Darah (*Anadara granosa*) di Perairan Pesisir Banten. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012. p. 18.
 29. Kharisma H. Pengaruh ekstrak air teripang pasir (*holothuria scabra*) terhadap kolesterol total pada tikus hiperlipidemia. Doctoral dissertation. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2012. p.53-58.
 30. Setiorini Y. Deteksi secara Imunohistokimia Imunoglobulin A (IgA) pada Usus Halus Tikus yang Diberi Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Enteropathogenic *Escherichia Coli* (EPEC). Fakultas Kedokteran Hewan; Institut Pertanian Bogor. 2012. p.27-28.
 31. Mescher, Anthony L. Junqueira Basic Histology Text & Atlas, 13th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2013. p. 1-4. p.102. p. 189-90.
 32. Chen Y, Wang J, Zhu XD, Tang ZR, Yang X, Tan YF, Fan YJ, Zhang XD. Enhanced

- effect of β -tricalcium phosphate phase on neovascularization of porous calcium phosphate ceramics: in vitro and in vivo evidence. *Acta biomaterialia*. 2015; 11, pp.435-448.
33. Ferdynanto RA, Dharmayanti PES, Dewi PTK. Porositas Scaffolds HA-TCP Pada Berbagai Variasi Persentase Bubuk HA-TCP Hasil Sintesis Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*). *Dental Journal Majalah Kedokteran Gigi*. 2018; 51(3): 118-114.
 34. Walsh J. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Journal Surgery-Oxford International Edition*. 2018; 36(1): 6-1.
 35. Quinlan E, López-Noriega A, Thompson EM, Hibbitts A, Cryan SA, O'Brien FJ. Controlled release of vascular endothelial growth factor from spray-dried alginate microparticles in collagen-hydroxyapatite scaffolds for promoting vascularization and bone repair. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2017;11(4): 1109-1097.
 36. Arbez B, Libouban H. Behavior of macrophage and osteoblast cell lines in contact with the β -TCP biomaterial (beta-tricalcium phosphate). *Morphologie*. 2017; 101(334):163-154.
 37. Chen Y, Wang J, Zhu XD, Tang ZR, Yang X, Tan YF, Fan YJ, Zhang XD. Enhanced effect of β -tricalcium phosphate phase on neovascularization of porous calcium phosphate ceramics: in vitro and in vivo evidence. *Acta biomaterialia*. 2015; 11(1): 448-435.
 38. Tabata Y. Tissue regeneration based on growth factor release. *Tissue engineering*. 2003;9(4, Supplement 1): 15-5.
 39. Ari DPS, Yonatasya FD, Saftiriarini G. Hubungan Porositas Scaffolds HA-TCP Hasil Sintesis Cangkang Kerang Darah dengan Kombinasi Berbagai Variasi Persentase Gelatin. *Dental Journal Majalah Kedokteran Gigi*. 2018; 51(4): 163-158.