

9-10 NOVEMBER 2012



TIP IPAMAGI 2

TEMU ILMIAH & PAMERAN
IKATAN PEMINAT ILMU MATERIAL & ALAT KEDOKTERAN GIGI INDONESIA

BUKU ACARA



**Cataflam**[®]
Kalium Diklofenak[®]
ANALGETIK ANTI INFLAMASI CEPAT & KUAT

NOVARTIS

HOTEL ASTON PRIMERA PASTEUR BANDUNG

Acara

JUMAT, 9 NOVEMBER 2012

WAKTU	GRANADA	IMPERIUM 2	IMPERIUM 3	MERIDIEN 3	MERIDIEN 2	MERIDIEN 1				
08:00-08:30	AU-02			AT-09						
08:30-08:50										
08:50-09:00	SM-01									
09:00-10:00										
10:00-10:05										
10:05-10:25										
10:25-10:30	CI-01	CL-01	CT-01		OR-02	AT-01				
10:30-10:50		CL-02								
10:50-11:10	MAKAN	CL-03	MAKAN							
11:10-11:15		MAKAN								
11:15-11:30		MAKAN								
11:30-12:30	CI-02	CL-04	CT-02					MAKAN		
12:30-12:50		CL-05								
12:50-13:00		CL-06								
13:00-13:10		CL-07								
13:10-13:15	CI-03	CL-08	CT-03							
13:15-13:25		CL-09								
13:25-13:30		CL-10								
13:30-13:50	REHAT KOPI	CL-11	REHAT KOPI	AT-03	OR-02	AT-02				
13:50-13:55		CL-12								
13:55-14:00	CI-04	OR-03	CT-04							
14:00-14:10										
14:10-14:30	CI-05	CT-05								
14:30-15:00										
15:00-15:10										
15:10-15:15						OR-04				
15:15-15:20										
15:20-15:25										
15:25-15:30										
15:30-15:45										
15:45-15:55										
15:55-16:00										
16:00-16:15										
16:15-17:00										
17:00-22:00	OR-06									

SABTU, 10 NOVEMBER 2012

WAKTU	GRANADA	IMPERIUM 2	IMPERIUM 1	MERIDIEN 3	MERIDIEN 2	MERIDIEN 1
08.00-08.40	CI-06	CT-06	CT-07	OR-07	AT-04	AT-05
08.40-08.45						
08.45-09.00	CI-07	REHAT KOPI				
09.00-09.05						
09.05-09.10						
09.10-09.25						
09.25-09.40						
09.40-10.00	REHAT KOPI					
10.00-10.05		CT-08	CT-09			
10.05-10.35	CI-08					
10.35-10.40						
10.40-10.45		CT-10	CT-11			
10.45-11.00	AU-03					
11.00-11.05						
11.05-11.20	CI-09					
11.20-11.25						
11.30-11.45						
11.45-11.50		MAKAN SIANG				
11.50-12.55	AT-07					
12.55-13.00						
13.00-13.40	CI-10	CT-11				
13.40-13.45						
13.45-13.50	CI-11		OR-09	OR-08	AT-06	AT-08
13.50-14.25						
14.25-14.30		CT-13				
14.30-14.35						
14.35-14.40	CI-12					
14.40-14.50						
14.50-15.10						
15.10-15.15						
15.15-15.55	CI-13					
15.55-16.00						

Seminar

	Pembicara	Judul
SM-01	Zaura Anggraeni Arianti Anaya Sumartini Maksum Bambang Sunendar Puraswita	Prospek Pengembangan Material dan Alat Kedokteran Gigi di Indonesia

Ceramah Tunggal

	Pembicara	Judul
CI01	Herri Sastramihardja	The Role NSAID For Acute Dental Pain
CI02	Jason Bedford	Endodontics in General Practice, Tips to Make Easier
CI03	Nina Djustiana	Inovasi pada Perkembangan Ilmu Material dalam Bidang Kedokteran Gigi
CI04	Michael Dieter	Gorgeous Esthetics and Function with Nano-Optimized Resin Restoration
CI05	Yosi Kusuma Eriwati	Bahan dan Teknik Pemutihan Gigi
CI06	Kosterman Usri	Aplikasi Teknologi CAD/CAM dalam Restorasi Gigi
CI07	Yetti Herdiyati	Meraih Motivasi Anak Terhadap Perawatan Gigi Melalui Bahan Tambal Warna-Warni ✓
CI08	Opik Taopik Hidayat	Indikasi Penggunaan Berbagai Macam Tipe Bahan Tambal Resin Komposit ✓
CI09	Alex Iskandar	Invisalign Alat Ortodonti Lepasan Tanpa Kawat
CI10	Harry Huiiz	Penggunaan Laser dalam Praktek Dokter Gigi
CI11	Dudi Aripin	Restorasi Pasca Perawatan Endodontik dengan Pasak Inti Fiber Resin Komposit ✓
CI12	Irman Syiarudin	Teknik Aplikasi Bahan Cetak Generasi Terbaru ✓
CI13	Riani Setiadhi	Gambaran Klinis Rongga Mulut pada Penyakit dan Kelainan Akibat Permasalahan Biokompatibilitas Material

Ceramah Finalis

	Pembicara	Judul
CL-01	Lina, Titien Hary Agustantina, R. Mohammad Yogiartono	Rasio bubuk polisakarida daun cincau hijau dan material cetak alginat terhadap recovery from deformation
CL-02	Didin Erma Indahyani, Zahreni Hamzah, Pujiana Endah Lestari	Studi Pendahuluan Silika Amorf Sekam Padi Sebagai Scaffold Sintetis Bone Graft, Efeknya Terhadap Aktifitas Sel Osteoblast (In-Vitro)
CL-03	Ellyza Herda, Anna Fitri Fawzia, Andi Soufyan	Pengaruh Penyikatan dengan Pasta Gigi terhadap Kekasaran Permukaan Nano-ionomer dan Semen Ionomer Kaca Modifikasi Resin
CL-04	Hendri Jaya Permana, Putri Kharisma Dewi, Vanda Ayu Kartika Hediana	Inovasi Biomaterial Direct Pulp Capping Menggunakan Kitosan Limbah Udang

CL-05	Mira Andriani, Rasmi Rikmasari, Zulia Hasratiningsih	Penggunaan Bahan Penguat Fiber dan Metal pada Landasan Gigi Tiruan Akrilik
CL-06	Bernadeta Susi, Gantini Subrata, Zulia Hasratiningsih	Cara Praktis Reparasi Intra Oral Fraktur Porselen pada Restorasi Mahkota Porselen
CL-07	Anna Muryani, Opik Taofik Hidayat	Rehabilitasi Intra-Radicular dan Estetika sesudah Apeksifikasi dengan Mineral Trioxide Agregat pada Apeks Blunderbluss
CL-08	Dhona Afriza	Penanganan Pasien dengan Tato Amalgam
CL-09	Tenny Setiani Dewi	Lesi Erosif Mukosa Oral Sebagai Akibat Penggunaan Pasta Gigi Mengandung Sodium Lauryl Sulfate (SLS)

Ceramah Terpadu

	Pembicara	Judul
CT-01	Erna K	Teknik Penanganan Bruxism
	Sularsih, Soeprijanto	The Comparison of Osteoblast Cell Number in Bone Healing Between The Use of Kitosan Gel 1% and 2%
	Ferdinand Hadinata, R.Moh.Yogiartono , Anita Yulianti	Peningkatan Jumlah Makrofag Setelah Aflikasi Kitosan pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Cavia Cobaya
	Denny Nurdin, Angga Hudaya, Bambang Sunendar	Clustering Mikro kapsul Silika-Chlorhexidine 2% Menggunakan Kitosan dan Sodium Alginat
CT-02	Adlina Hasna Munawar, Renny Febrida, Denny Nurdin	Pengaruh Obat Kumur yang Mengandung Alkohol dan Non-Alkohol terhadap Kekerasan Permukaan Bahan Restorasi Komposit <i>Hybrid</i>
	Iin Sundari, Sri Fitriyani, Cut Zaratul Maliyati	Pengaruh Waktu Pemolesan Terhadap Perubahan Warna Resin Komposit Nano Partikel Setelah Perendaman dalam Larutan Obat Kumur
	Rosalina Tjandrawinata, Marcella Harlan	Perbedaan Rengan RES yang Dipengaruhi Obat Kumur Berakohol dan Bebas Alkohol
CT-03	Puguh Bayu Prabowo, Widyasri Prananingrum	Kadar Fosfat Kalsium Gigi Setelah Pengulasan CPP-ACP
	Rima Parwati Sari, Syamsulina Revianti, Puguh Bayu Prabowo	Comparasion diet effect between Anadara granosa cockle shell waste extract, soya milk, and their combination to tooth mineral levels after fracture
CT-04	Niti Matram, Decky J. Indrani	Waktu Pengerasan Material Cetak Alginat dalam Berbagai Suhu
	Elin Karlina	Pengaruh Penggunaan Alginat Jenis Baru Berstabilitas Tinggi Terhadap Keakuratan
	Silvia Nailani	Teknik Mencetak Suprastruktur Implan
	Niken Pristianingrum, Elly Munadzirah, Soebagio	Uji Stabilitas Mikrobiologis Pembersih Gigi Tiruan Dengan Bahan Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis
CT-05	Atia Nur Sidiqa	Biomimetik pada Bahan Kedokteran Gigi
	Kholidina Imanda Harahap, Harry Agoesnar, Sumadhi S.	Identifikasi Elemen-Elemen dengan Energi X-Ray Dipersive (XRD) dan Gambaran Mikrostruktur dengan Scanning Electron Microscope (SEM) dari Resin Komposit Mikrohibrid dan Nanohibrid
CT-06	Ferry Jaya, SitiTriaminingsih, Andi Soufyan S, Yosi Kusuma Eriwati	Pengaruh Tekanan dan Lama Scrubbing terhadap Kuat Rekat Geser Self Adhering Flowable Composite

STUDI PENDAHULUAN SILIKA AMORF SEKAM PADI SEBAGAI *SCAFFOLD* SINTETIS *BONE GRAFT*: EFEKNYA TERHADAP AKTIVITAS SEL OSTEOLAS (*IN-VITRO*)

Didin Erma Indahyani¹⁾, Zahreni Hamzah²⁾, Pujiana Endah Lestari³⁾

¹⁾Bagian Biologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, ²⁾Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, ³⁾Bagian Oral Medicine Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Correspondensi : Didin Erma Indahyani, email : didinermae@yahoo.com

ABSTRAK

Bahan sintetik *bone graft* dikembangkan sebagai *scaffold* yang berfungsi untuk template pembentukan tulang. *Scaffold* yang ideal adalah harus biodegradable, osteokonduktif dan osteoinduktif. Silika terbukti mendukung dan mempromosikan pertumbuhan tulang. Sekam padi mengandung silika cukup tinggi. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis silika amorf dari limbah sekam padi sebagai bahan sintetik *bone graft* (*scaffold*), khususnya terhadap aktifitas osteoblast secara *in-vitro*.

Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi silika dari sekam padi. Hasil isolasi akan dikondisikan pada media kultur osteoblas primer. Kultur osteoblas primer berasal dari calvaria tikus wistar umur 2 hari, di tumbuhkan dalam *Alpha-Modified Eagle Medium* (α -MEM) (sebagai kontrol negatif), α -MEM yang di kondisikan dengan silika 58S (sebagai kontrol positif) dan α -MEM yang dikondisikan dengan silika dari sekam padi (sebagai kelompok perlakuan). Aktifitas osteoblas diamati dengan menganalisis ekspresi alkaline phosphatase (ALP), menggunakan Alkaline phosphatase Kits pada hari ke 7 dan 14.

Hasil yang diperoleh bahwa silika sekam padi secara bermakna ($p < 0,05$) mempunyai ekspresi alkaline phosphatase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan negatif. Hal ini dapat diartikan bahwa silika amorf sekam padi mempengaruhi peningkatan aktifitas osteoblas secara *in-vitro*.

Disimpulkan bahwa silika sekam padi meningkatkan aktifitas sel osteoblas sehingga bersifat osteoinduktif yang berpotensi sebagai *scaffold* untuk bahan sintetik *bone graft*.

Kata Kunci : bone graft, scaffold, silika, alkaline phosphatase, osteoblas

PRELIMINARY STUDY OF AMORPHOUS SILICA HUSK RICE AS SYNTHETIC BONE GRAFT MATERIAL : THE EFFECT ON OSTEOBLASTS ACTIVITIES (IN-VITRO)

Didin Erma Indahyani¹⁾, Zahreni Hamzah²⁾, Pujiana Endah Lestari³⁾

¹⁾Departement of Oral Biology Faculty of Dentistry University of Jember Kedokteran,
²⁾Departement of Physiology of Faculty of Dentistry, University of Jember, ³⁾Departement of Microbiology, Faculty of Dentistry, University of Jember

Correspondence: Didin Erma Indahyani, email: didinermac@yahoo.com

ABSTRACT

Synthetic bone graft material was developed as a scaffold that serves to template the formation of bone. The ideal scaffold should be biodegradable, osteoinductive, and osteoconductive. Silica proven to support and promote bone growth. Rice husk contains silica is quite high. The purpose of this study is to analyze the amorphous silica from rice husk as synthetic bone graft material (scaffold), particularly on osteoblast activity in vitro.

The research was conducted by isolating silica from rice husk. The results of isolation would be conditioned on the culture medium of primary osteoblasts. Primary osteoblast cultures derived from rat calvaria wistar age of 2 days, growing in Alpha-Modified Eagle Medium (α -MEM) (as a negative control), α -MEM in conditioning with silica 58s (as a positive control) and α -MEM that conditioned with silica from rice husk (as treatment group). Osteoblast activity was observed by analyzing the expression of alkaline phosphatase, using Alkaline phosphatase Kits at days 7 and 14.

The results obtained that the rice husk silica were significantly ($p < 0.05$) has the expression of alkaline phosphatase higher than the control group and positif group. This may imply that the amorphous silica of rice husk affects the increase in osteoblast activity in vitro.

It was concluded that rice husk silica increases osteoblast cell activity that is potentially as scaffold for bone graft synthetic material.

Key words: bone graft, scaffold, silica, alkaline phosphatase, osteoblasts

LATAR BELAKANG

Bone graft sering digunakan untuk memberikan support, mengisi celah kosong antara tulang dan implant, juga dapat mempercepat penyembuhan pada kelainan skeletal.¹ Selama ini *bone graft* dikatakan sebagai *gold standart* terapi tulang, akan tetapi secara signifikan bone graft tersebut mempunyai keterbatasan misalnya pada autograft dapat mengakibatkan kematian di daerah donor, jumlahnya yang sedikit sebagai sumber donor dan rasa sakit yang lama serta *cosmetic deformity*.¹ Selain itu, 10-15% penderita komplain *post operative* karena rasa sakit berkepanjangan sedang yang mengalami trauma neural di sekitar daerah donor adalah 10%,² dan juga pembentukan tulang baru pada autograft, sangat tergantung pada usia, dan kesehatan pasien.^{3,4} Pada allograft berpotensi untuk terjadinya resiko transmisi penyakit dan issue reaksi imun.⁵

Prinsip dasar *bone tissue engineering*, mendasari perkembangan bahan sintetik bone graft, bertujuan untuk menghindari keterbatasan treatment konvensional pada transplantasi dan biomaterial implan dan berpotensi untuk mensuplai toleransi artifisial organ secara imunologis dan dapat menumbuhkan jaringan pengganti pada penderita.⁶ Secara khusus bahan *graft* ditujukan untuk memberikan *scaffold* yang porus yang berfungsi untuk template regenerasi tulang dan pembentukan tulang baru.^{4,7} Biomaterial *scaffold* mengganti fungsi biologis dan mekanis dari matriks ekstraseluler jaringan di dalam tubuh dengan bertindak sebagai matriks ekstra seluler artifisial.⁸ Data, dkk⁹ menyatakan bahwa secara *in vivo*, matriks ekstraseluler mempunyai peranan penting dalam mempertahankan dan memediasi fungsi tulang, karena mengandung beberapa faktor osteoinduktif dan osteokonduktif. Oleh karena itu scaffold sintesis harus mempunyai sifat osteoinduktif, osteokonduktif, integritas mekanisnya tinggi, biodegradabilitas, biocompatibilitas (mudah diterima secara imun) dan porositas yang akan menyebabkan pertumbuhan jaringan dalam tulang. Selain itu *scaffold* harus didegradasi ketika jaringan yang rusak telah diregenerasi.¹⁰

Peristiwa seluler yang terjadi pada pembentukan tulang merupakan peristiwa pergerakan prekursor osteoblas ke daerah resorpsi dengan proses kemotaksis, dan juga adanya proliferasi prekursor osteoblas yang diikuti oleh diferensiasi untuk menjadi sel yang matur. Osteoblas matur mampu mensintesis protein tulang yaitu kolagen type I, osteokalsin, osteopontin, alkalin fosfatase, proteoglikan dan komponen-komponen faktor regulasi pertumbuhan yang disimpan dalam matriks tulang termasuk bone sialoprotein juga osteonektin. Komponen-komponen tersebut menyebabkan penumpukan mineralisasi pada matriks tulang.¹¹ Pre osteoblas yang berproliferasi dan osteoblas yang matur akan mengekspresikan alkaline phosphatase (ALP), sehingga dikatakan sebagai enzim marker osteoblas yang aktif.¹²

Silika merupakan bahan semi konduktor terbukti mempengaruhi pembentukan tulang. Defisiensi silika menunjukkan penurunan deposisi matriks ekstraseluler (kolagen) dan mineral tulang (hidroksiapatit).¹³ Makanan yang mengandung silikon dapat menstimulasi sel osteoblas dan osteoblas-like untuk mensekresi kolagen tipe I dan marker biokimia lain pada maturasi sel tulang dan pembentukan tulang.¹⁴ Silika banyak ditemukan dengan konsentrasi yang sangat tinggi pada tulang yang immature. Pada tahap mineralisasi konsentrasi silika menurun, sementara kalsium meningkat pada hidroksiapatit tulang. Hal ini menunjukkan bahwa silika terlibat dalam inisiasi kalsifikasi dengan mempengaruhi matriks preosseous.¹³ Bioactive glass berbasis silika yang digunakan sebagai coating implant menunjukkan percepatan pembentukan tulang baru dengan adanya ekspresi BMP-2 dan komponen-komponen matriks tulang (kolagen tipe I, II dan III, osteokalsin, serta marker-marker resorpsi tulang yaitu katepsin K dan MMP-9).¹⁵ Silikon mudah dilakukan resorpsi setelah pembentukan tulang, sehingga *scaffold* silika akan diganti dengan tulang.¹⁰ Menurut Koh dan Atala⁸ bahwa biomaterial yang ideal harus kompatibel yaitu biodegradable bioresorbable untuk mendukung penggantian jaringan normal tanpa inflamasi. Bahan yang tidak kompatibel lemah pada inflamatori atau respon benda asing tubuh yang akhirnya berperan pada penolakan atau nekrosis. Selain itu hasil degradasi, jika dihasilkan harus dihilangkan dari tubuh melalui jalur metabolisme.

Sekam padi adalah bagian terluar dari butir padi, yang merupakan hasil sampingan saat proses penggilingan padi dilakukan. Kandungan silika dari abu sekam adalah 94 - 96 % dan atau mendekati di bawah 90%. Silika yang terdapat dalam sekam dalam bentuk amorf terhidrat. Tapi jika pembakaran dilakukan secara terus menerus pada suhu di atas 650°C akan menaikkan kristalinitasnya dan akhirnya akan terbentuk fasa kristobalit dan tridimit dari silika sekam.¹⁶ Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis silika amorf dari limbah sekam padi sebagai bahan sintesis *bone graft (scaffold)*, khususnya terhadap aktifitas osteoblast secara *in-vitro*.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan penelitian ini adalah silika sekam padi, *Alkaline Phosphatase Assay Kit (Catalog #K412-500 (Biovision))*, FBS, penisilin-streptomisin (100 U/mL), 2mM L-glutamin, askorbat -2 fosfat (50 µg/mL) dan 10mM β -glycerophosphate. phosphate buffer saline (PBS) , kolagenase, *Fetal bovine serum (FBS)*, sentrifuse, *basic medium culture (α -modified Eagle's medium (α -MEM))*, penisilin G (50U/mL), streptomisin (50µg/mL), cultur dish, *plate 96 well*, mitomycin C (100 µg/mL), *human recombinant basic fibroblast growth factors (bFGF, 10ng/mL)*, Elisa Reader.

Pertama kali dilakukan ekstraksi silika, yang diperoleh dengan melakukan proses pengabuan. Abu sekam padi dimurnikan dengan cara pengasaman, kemudian diuapkan dan diberi akuades dan HCL untuk dipanaskan kembali. Hasilnya disaring dan dicuci 4 sampai 5 kali dengan akuades panas. Hasil penyaringan berupa residu padat beserta kertas saringnya dipanaskan hingga kertas saring menjadi arang. Kemudian dilanjutkan dengan memanaskan pada suhu 600°C hingga yang tersisa hanya endapan silika (SiO₂) berwarna putih.¹⁶ Identifikasi dilakukan dengan menggunakan Gravimetri.

Persiapan pengkondisian medium kultur dilakukan dengan cara silika amorf sekam padi (60%) ditambahkan CaO (36%) dan P₂O (54%), sedangkan 58S *bioactive glass* (60% SiO₂, CaO (36%) dan P₂O (54%), dalam mol persen) disiapkan sebagai kontrol. Bahan tersebut masing-masing digiling (dihaluskan) dalam wadah dan diayak untuk mendapatkan ukuran partikel antara 90-710µm. Medium yang belum disuplemen akan dikondisikan dalam silika amorf dari sekam padi dan 58S *bioactive glass*, disiapkan dengan perendaman partikel silika amorf dan juga 58S *bioactive glass* (antara 0,1 dan 0,5 g/100mL) selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Ekstraks tersebut kemudian disterilisasi dengan *vacum filtration* menggunakan membran nilon dengan ukuran pori-pori 0,2- µm. Medium yang telah dikondisikan tersebut, kemudian disuplemen dengan 10-15% FBS, penisilin-streptomisin (100 U/mL), 2mM L- glutamin, askorbat -2 fosfat (50 µg/mL) dan 10mM *β-glycerophosphate*.¹⁷

Pembuatan kultur primer osteoblas dari kalvaria tikus umur 2 hari, diambil dan dicuci dengan *phosphate buffer saline* (PBS) dan dipotong-potong kecil dengan gunting, kemudian dihancurkan 5 kali dengan kolagenase selama 10 menit pada suhu 37⁰C. Masing-masing hasil pematangan diambil supernatannya dan dipindahkan dalam *Fetal bovine serum* (FBS). Kumpulan dari ke 3,4 dan 5 supernatan tersebut, dikumpulkan dan disentrifuse pada 1500 rpm selama 5 menit, kemudian diresuspensi dalam *basic medium culture (α-modified Eagle's medium (α-MEM)* dengan 15% FBS, penisilin G (50U/mL) dan streptomisin (50µg/mL). Sel dipertahankan dalam *basic medium* dan *passaged* 3 kali sebelum digunakan untuk eksperimen dalam medium yang diberi suplemen

Sel-sel ditumbuhkan dalam *plate 96 well* selama 7 dan 14 hari, dalam medium yang dikondisikan dengan silika, glas dan pada medium yang tidak dikondisikan. Sel-sel disuplai dengan mitomycin C (100 µg/mL) atau *human recombinant basic fibroblast growth factors* (bFGF, 10ng/mL). Sel primer osteoblas yang diperoleh melalui kultur sel, ditreatment dengan mengkondisikan medium kultur dengan bahan silika dan juga silika yang berasal dari sekam

padi. Sebagai kontrol digunakan α -MEM sebagai mediumnya.¹⁷ Aktifitas osteoblas diamati menggunakan ALP Kit. Hasil yang diperoleh berdasarkan nilai absorbansi yang dilakukan dengan pengukuran 405 nm. Nilai absorbansi diinterpolasikan dengan kurva standar. Data dianalisa statistik dengan uji Anova satu arah.

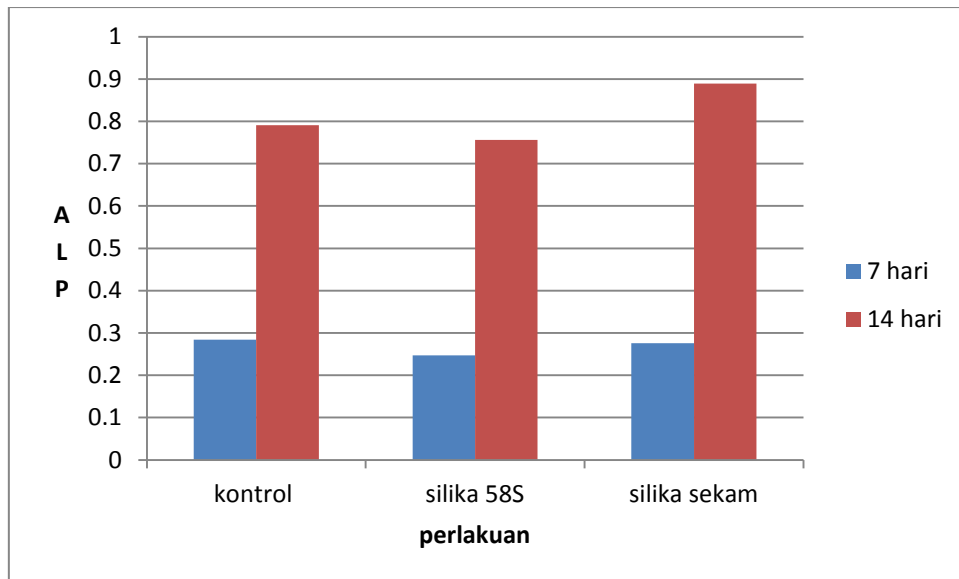
HASIL

Pada penelitian ini, medium kultur di kondisikan dengan silika amorf dari sekam dan silika 58S serta medium yang tidak dikondisikan sebagai kontrol. Medium yang dikondisikan mengandung 1 gram/100 ml dari masing-masing silika yang diameternya <200 μ l. Pertumbuhan osteoblas yang baik, akan di tandai dengan adanya diferensiasi, proliferasi dan maturasi. Pertumbuhan osteoblas selalu disertai dengan adanya aktivitas sel itu sendiri. Untuk melakukan aktivitasnya, osteoblas mensekresi alkalin fosfatase dengan nilai yang cukup tinggi, sehingga ekspresi alkalin phosphatase digunakan sebagai penanda terjadinya aktivitas osteoblas. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata nilai alkalin phosphatase (ALP)

	Kelompok perlakuan	Rerata ALP hari 7 (μ mol)		Rerata ALP hari 14 (μ mol)	
		Jumlah	Rerata	Jumlah	Rerata
1.	Kontrol	3,557	0,284	9,891	0,791
2	Silika	3,088	0,247	9,453	0,756
3	Silika sekam	3,369	0,0276	11,124	0,889

Secara histogram dapat di lihat sebagai berikut.



Gambar 1. Derajat ekspresi ALP pada kultur osteoblas

Bedasarkan data yang telah dianalisis menggunakan Anova satu arah, diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,005$), antar seluruh kelompok. Data ini kemudian dilakukan uji menggunakan LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok penelitian dan hasilnya secara bermakna dari ketiga kelompok menunjukkan perbedaan yang berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) yaitu rerata dari masing-masing kelompok baik yang 7 hari maupun yang 14 hari terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Ini berarti bahwa rerata jumlah alkaline phosphatase pada kelompok sekam secara bermakna ($p < 0,05$) mempunyai nilai paling tinggi dari kelompok yang lain, sedangkan kelompok silika 58S secara bermakna ($p < 0,05$) mempunyai jumlah yang paling rendah.

PEMBAHASAN

Osteogenesis adalah proses yang kompleks yang melibatkan diferensiasi sel mesensimal di dalam pre osteoblas maupun osteoblas yang berperan penting pada sintesis dan deposisi protein matriks tulang.¹⁸ Osteoblas secara spesifik mensekresi dan memineralisasi matriks tulang. Matriks ekstra seluler terutama terdiri dari kolagen tipe I tetapi ada sejumlah

kecil osteocalcin (OC), matrix gla protein, osteopontin (OPN), bone sialoprotein (BSP), BMPs, TGF- β , dan inorganic mineral hydroxylapatite. Osteoblas berdiferensiasi secara in vivo dan in vitro yang dapat di kharakteristikkan dengan 3 tahap yaitu proliferasi sel, maturasi matriks dan mineralisasi matriks.¹⁹ Maturasi matriks dan mineralisasi biasanya di pertinggi dengan pertumbuhan sel menjadi sempurna dan dengan adanya beberapa penambahan faktor-faktor osteogenik yang spesifik. Selama proliferasi beberapa protein matriks ekstra seluler terdeteksi dan juga ditandai dengan adanya ekspresi alkaline phosphatase, pada saat mulai mineralisasi gen-gen protein non kolagen termasuk OC, BSP, and OPN di ekspresikan dan mineralisasi akan menjadi sempurna.^{20,21} Menurut Dana, dkk,¹² menyatakan bahwa aktivitas alkaline phosphatase merupakan marker efektif pada tahap proliferasi dan juga maturasi pada kultur primer osteoblas tikus.

Penelitian ini menunjukkan bahwa kultur primer osteoblast yang dikondisikan dalam medium bioactive glass (58S) dan silica yang berasal dari sekam padi terdeteksi ekspresi ALP lebih tinggi. Hal ini diakibatkan karena sel sedang mengalami proliferasi. Dasar mekanisme terjadinya proliferasi osteoblas tersebut adalah adanya reaksi permukaan yang melepaskan spesies ionic yang terlarut dengan cepat dari glass dalam larutan interfasi (medium). Silica terhidrat yang tinggi di daerah permukaan, dan polycrystalline hydroxyl carbonate apatit (HCA) bilayer terbentuk beberapa jam. Lapisan-sapiasn tersebut mempertinggi adsorpsi dan desorpsi faktor pertumbuhan. Perlekatan sel, proliferasi dan diferensiasi secara cepat terjadi pada permukaan bahan bioaktif. Pada saat itu juga di mulai memproduksi factor-faktor pertumbuhan yang menstimulasi divisi sel, mitosis dan produksi protein matriks ekstra selular.²² Peranan aktif dari ion-ion yang terlepas pada sel osteoblas adalah mengaktifkan gen-gen yang berhubungan dengan perlekatan, proliferasi dll.²² Gen-gen tersebut mengontrol siklus sel osteoblas, mitosis dan diferensiasi yang menyebabkan peningkatan regenerasi tulang dengan cepat. Selain itu diperlukan untuk sel progenitor

mengalami mitosis dan menerima stimuli kimia yang benar dari lingkungan lokalnya yang menginstruksikannya untuk memasuki segmen aktif pada siklus sel, yang berperan untuk mitosis sel.²³ Oleh karena itu pada penelitian ini ekspresi ALP menandai terjadinya proliferasi kultur osteoblas pada medium silica. Medium silica yang berasal dari sekam padi mempunyai jumlah ALP yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan bahwa sekam padi berasal dari bahan alami yang lebih sesuai dengan kultur sel osteoblas.

Selain itu, diduga bahwa peristiwa siklus sel yang baru dimulai setelah sel selesai mitosis sempurna juga bisa menyebabkan ekspresi ALP meningkat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kontrol siklus sel osteoblas dicapai dengan mengontrol pelepasan produk ionic yang terlarut dari bahan bioaktif. Sel-sel tersebut berkoloni di permukaan bioactive glass. Konsentrasi Si yang terlarut dan ion Ca pada interface larutan sel penting untuk mengontrol siklus sel. Pada tahap pertama siklus sel (G1), sel tumbuh dan melakukan metabolisme normalnya. Selama fase G1 osteoblas mensintesis produk selular yang spesifik termasuk alkaline phosphatase (ALP), yaitu sebuah enzim yang dapat digunakan sebagai marker diferensiasi osteoblas.²² Pada penelitian ini diketahui bahwa kultur yang dikondisikan dalam medium silica baik yang berasal dari sekam padi maupun 58s, mempunyai level ALP yang tinggi. Dalam medium silica yang berasal dari sekam padi, level ALP nampak lebih tinggi dari yang lain. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Riley,²⁴ yang menyatakan bahwa bioactive glass menstimulasi produksi ALP oleh osteoblas dalam kultur yang dikondisikan dengan bioactive glass. Selain itu selama fase G1 tersebut osteoblas juga memproduksi osteokalsin, tropocollagen macromolecule yang menyusun dirinya sendiri menjadi kolagen tipe I. Kolagen tipe I merupakan molekul kolagen yang paling banyak dalam matriks tulang.

SIMPULAN

Disimpulkan bahwa silika mentimulasi terjadinya maturasi dan aktivitas sel osteoblas primer, dengan ditandai peningkatan ekspresi ALP pada medium kultur yang dikondisikan dengan silika. Akan tetapi silika amorf sekam padi, menunjukkan ekspresi ALP yang lebih tinggi. Proses pembuatan silika yang menggunakan pemanasan sederhana mencegah terjadinya kristalisasi silika yang bisa terjadi pada produk silika dari bebatuan yang diproduksi pabrik.

Ucapan Terima Kasih

Disampaikan banyak terimakasih kepada Kementerian Riset dan teknologi yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah penelitian dasar riset tahun 2010.

DAFTAR PUSTAKA

1. Parikh, SN., 2002. Bone graft substitutes: past, present, future. *JPGM*, 48 (2) : 142-8 (www.jpgmonline.com), Tanggal akses 5 Desember 2010
2. Chou, D., Storm, PB., Campbell, JN., 2004. Vulnerability of the subcostal nerve to injury during bone graft harvesting from the iliac crest, *J Neurosurg (Spine 1)*, 1:87–89
3. Saki, M., Narbat, M.K., Samadikuchaksaraei, A., Ghafouri, HB., Gorjipour, F., 2009. Biocompatibility Study of a Hydroxyapatite-Alumina, and Silicon Carbide Composite Scaffold for Bone Tissue Engineering, *Yakhteh Medical J.*, 11 : 55-60
4. Meijer, GJ., de Bruijn, JD., Koole, R., van Blitterswijk, CA., 2007. Cell-Based Bone Tissue Engineering, *PLoS Medicine*, (www.plosmedicine.org), Tanggal akses 5 Desember 2010
5. Laurencin, CT., and Khan Y., 2006. Bone Graft Substitute Materials, <http://www.emedicine.medscape.com/public/about>, Tanggal akses 3 Maret 2011
6. Patrick CW, Mikos AG, McIntire LV.,1998. *Prospects of tissue engineering*. In: *Frontiers in Tissue Engineering*, , eds. Elsevier Science Ltd, Oxford. pp. 3-11.
7. Sachlos, E dan Czernuszka, JT., 2003. Making Tissue Engineering Scaffolds Work Review on The Application of Solid Freeform Fabrication Technology to The

- Production of Tissue Engineering Scaffolds, *EE.u Sroapchealons Caenldls J a.Tn.d C Mzeartneruisazlksa*, 5: 29 – 40
8. Koh, CJ. dan Atala, A., 2004. Tissue Engineering, Stem Cells, and Cloning: Opportunities for Regenerative Medicine, *J Am Soc Nephrol*, 15: 1113–1125, 2004
 9. Datta, N., Pham, QP., Sharma, U., Sikavitsas, VI., Jansen, JA., Mikos, AG, 2005, In vitro generated extracellular matrix and fluid shear stress synergistically enhance 3D osteoblastic differentiation, *PNAS*, 21(103): 82488–2493 (www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0505661103), Tanggal akses 3 Maret 2011.
 10. Sun, W., 2007. Porous Silicon Based Biomaterials for Bone Tissue Engineering, *Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Doctor of Philosophy*. Department of Biomedical Engineering The College School of Engineering and Applied Science University of Rochester Rochester, New York , Hal : 2-25
 11. Mundy, R., 1991. Inflammatory Mediator and The Destruction of Bone, *J. Periodont Res.*, 26: 213-217
 12. Dana, M., Daniel, G., Georgeta, S., Suzana, V., Carmina, B., Roxana, C., Constantin, D., 2004. Alkaline phosphatase - biochemical and histochemical marker for primary osteoblast in proliferative phase. *Romanian journal of endocrinology*,. vol. 42, (1-4) : 29-36
 13. Waked, W., Grauer, J., 2008. Silicates and Bone Fusion, *Orthopedics*, 31:591 (<http://www.orthosupersite.com/>), tanggal akses.....
 14. Reffitt DM, Ogston N, Jugdaohsingh R, et al., 2003. Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone*. 32(2):127-135.
 15. Valimaki, Ville-Valtteri, BM., Yrjans, JJ., Vuorio, EI., Aro, HT., 2005. Molecular Biological Evaluation of Bioactive Glass Microspheres and Adjunct Bone Morphogenetic Protein 2 Gene Transfer in the Enhancement of New Bone Formation, 11(3/4) :1
 16. Harsono, H., 2002. Pembuatan Silika Amorf dari Limbah Sekam Padi, *J. Ilmu Dasar*, 3(2):98-103 98
 17. Bielby RC., Christodoulo IS., Pryce RS., Radford WJP., Hench LL., Polak JM., 2004. Time-and Concentration-Dependent Effects of Dissolution Products of 58S Sol-Gel Bioactive Glass on Proliferation and Differentiation of Murine and Human Osteoblasts. *Tissue Engineering*, 10(7/8): 200
 18. Sila-Asna, M., Bunyaratvej, A., Maeda, S., Kitaguchi, H., Bunyaratavej, N., 2007. Osteoblast Differentiation and Bone Formation Gene Expression in Strontium-inducing Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell. *Kobe J. Med. Sci.*, Vol. 53 , No. 1: 25-35

19. Stein, GS., and Lian, JB., 1993. Molecular mechanisms mediating developmental and hormone-regulated expression of genes in osteoblasts: an integrated relationship of cell growth and differentiation. In: Noda M, editor. *Cellular and molecular biology of bone*. Tokyo: Academic Press. p 47–95, 1993.
20. Kasperk C, Wergedal J, Strong D, Farley J, Wangerin K, Gropp H, Ziegler R, Baylink DJ. 1995. Human bone cell phenotypes differ depending on their skeletal site of origin. *J Clin Endocrinol Metab*. Aug;80(8): 2511-7
21. Kostenuik PJ, Bernard P, Halloran, Emily R, Morey-Holton, Daniel DB. 1997. Skeletal unloading inhibits the in vitro proliferation and Differentiation of rat osteoprogenitor cells. *Am. J. Physiol*. 273, E1133.
22. Hench LL., Polak JM., 2008, A Genetic Basis for Design of Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration. *Key Engineer Mater*, 377: 151-166
23. Gerhardt Lutz-Christian, Boccaccini AD., 2010, Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Materials*, 3: 3867-3910
24. Riley, GC., Radin S., Chen AT., Ducheyne P., 2007, Differential Alkaline Phosphatase responses of rat and human bone marrow derived mesenchymal stem cells to 45S5 bioactive Glass, doi: 10.1016. *J. Biomaterials*, 05.038. : 4091–4097, www.elsevier.com/locate/biomaterials,