

**PERBANDINGAN RASIO RANKL/OPG ANTARA TANDUR OPERKULUM
IKAN MAS DENGAN TANDUR TULANG SAPI TERHADAP
PENYEMBUHAN DEFEK TULANG ORBITA PADA HEWAN KELINCI
*NEW ZEALAND WHITE***

Lohita Cakrawarti Az, Arief S Kartasasmita, R. Angga Kartiwa
Departemen Ilmu Kesehatan Mata
Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran
Pusat Mata Nasional Rumah Sakit Mata Cicendo

ABSTRAK

Latar Belakang : Defek tulang orbita luas karena trauma dapat menyebabkan gangguan penglihatan seperti enoftalmos dan pandangan ganda sehingga rekonstruksi dengan pemasangan tandur diperlukan. Tandur autograft merupakan baku emas terapi defek tulang orbita luas, namun memiliki beberapa kendala yaitu bahan tidak tersedia dan morbiditas pada donor. Tandur alternatif seperti xenograft mudah dibuat dan mempunyai aktifitas metabolik yang baik. Kandungan hidroksiapatit pada xenograft memiliki sifat osteokonduksi untuk pertumbuhan tulang. Rasio RANKL/OPG sebagai indikator yang menentukan kepadatan tulang dan dapat menggambarkan proses penyembuhan tulang pada penggunaan tandur.

Tujuan : Untuk mengetahui perbandingan rasio RANKL/OPG pada defek dasar tulang orbita kelinci yang dilakukan pemasangan tandur operkulum ikan mas dan tandur tulang iga sapi.

Metode : *Cross sectional study* dilakukan untuk melihat perbandingan rasio RANKL/OPG pada kelinci yang dilakukan pemasangan tandur tulang operkulum ikan mas dan tandur tulang iga sapi. Data RT-PCR diambil dari penelitian sebelumnya. Pemeriksaan RT-PCR menggunakan jaringan periosteum setelah 30 hari penanaman tandur pada dua kelompok kelinci. Kelompok pertama dilakukan pemasangan tandur operkulum ikan mas dan kelompok kedua dilakukan pemasangan tandur tulang iga sapi. Tiga puluh hari setelah penanaman tandur, kelinci di eukleasi dan jaringan periosteumnya dibuat sediaan untuk pemeriksaan RT PCR.

Hasil : Rasio RANKL/OPG pada kelompok tulang iga sapi adalah 4.54 ± 6.224 sedangkan pada kelompok tulang operkulum ikan mas adalah 3.75 ± 5.326 , tidak terdapat perbedaan rerata yang signifikan secara statistik antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0,841$ ($p > 0,05$). Rerata ekspresi gen RANKL pada kelompok tulang operkulum ikan mas adalah $6,03 \pm 5,668$, kelompok tandur tulang iga sapi adalah $9,69 \pm 8,003$. Tidak terdapat perbedaan rerata ekspresi gen RANKL yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0,428$ ($p < 0,05$). Rerata ekspresi gen OPG pada kelompok tulang operkulum ikan mas adalah $5,97 \pm 6,356$, kelompok tulang iga sapi adalah $7,28 \pm 6,274$. Tidak terdapat perbedaan ekspresi gen OPG yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0,752$ ($p < 0,05$).

Simpulan : Rasio RANKL/OPG pada defek tulang orbita pasca implantasi tandur tulang operkulum ikan mas sebanding dengan tulang iga sapi.

Kata Kunci : Defek tulang orbita, RANKL, OPG, xenograft, tulang operkulum ikan mas, tulang iga sapi

PENDAHULUAN

Defek orbita merupakan suatu permasalahan kompleks yang dapat ditimbulkan oleh trauma, reseksi tumor, malformasi kongenital, serta proses degeneratif. Defek tulang orbita akibat fraktur dengan kehilangan tulang yang luas tidak dapat sembuh dengan sendirinya sehingga membutuhkan tatalaksana bedah. Baku emas untuk tatalaksana dari defek orbita yang luas yang melebihi *critical size defect* adalah rekonstruksi dengan menggunakan tandur untuk mengisi bagian tulang yang hilang. Secara umum, rekonstruksi orbita terdiri atas proses eksposur defek, pembebasan jaringan di sekitar lokasi defek, dan penggunaan tandur pada daerah defek orbita yang luas. Pemilihan material tandur berpengaruh terhadap keberhasilan rekonstruksi orbita. Baku emas rekonstruksi dengan tandur adalah tandur tulang *autograft* yang berasal dari pasien sendiri, namun penggunaan *autograft* seringkali terkendala oleh beberapa faktor, antara lain ketersediaan bahan, morbiditas pada bagian donor, dan reaksi imunologi. Oleh karena itu, pengembangan biomaterial untuk rekonstruksi defek orbita menjadi sangat penting.¹⁻³

Xenograft merupakan salah satu pilihan tandur alternatif yang dapat dipertimbangkan karena ketersediaan bahan dalam jumlah besar sehingga dapat memenuhi kebutuhan produk tandur. Bahan tandur yang banyak digunakan antara lain tandur dari tulang sapi dan babi. Penelitian oleh Purnomo et al. (2012) menunjukkan bahwa tandur tulang sapi bersifat

osteokonduktif yang dapat mempermudah pertumbuhan sel dan menyatukan fragmen tulang pada kasus kehilangan tulang akibat fraktur.^{4,5} Tulang sapi relatif mahal dari segi biaya, dan apabila tidak diproses dengan baik dapat menimbulkan transmisi penyakit. Penelitian oleh Rodriguez et al. (2018) menunjukkan adanya kemungkinan komplikasi jangka panjang akibat jaringan tandur dari tulang sapi yang tidak dapat didegradasi.⁶

Selain tulang sapi, operkulum ikan mas juga dapat digunakan sebagai tandur karena kandungan kalsium dan fosfat yang menyerupai manusia, yaitu kandungan hidroksiapatit (HAP), yang berfungsi untuk menjembatani proses regenerasi tulang dengan imunogenisitas rendah. HAP dari bahan natural seperti operkulum ikan mas relatif murah, mudah dibuat dan memiliki aktivitas metabolik dan respons dinamik terhadap jaringan yang baik. Studi oleh Yamamoto (2015) melaporkan risiko transmisi penyakit yang rendah dari ikan ke manusia.⁷ Studi Kertiwa pada tahun 2018 menunjukkan kandungan kalsium dan fosfor yang lebih tinggi pada tulang operkulum ikan mas yaitu 0,555% dan 0,171% dibandingkan dengan tulang sapi yaitu 0,080% dan fosfor 0,028%.⁸ Penelitian oleh Mustafa et al. (2015) menunjukkan rasio Ca/P tulang ikan lebih stabil dan hampir sama dengan tulang manusia.⁹ Salah satu keuntungan penggunaan tandur tulang operkulum ikan mas yaitu harga tandur tulang operkulum ikan mas buatan bank jaringan Badan Tenaga Nuklir Nasional

(BATAN) lebih murah dibandingkan dengan tandur dari tulang sapi.

Marker biokimia dapat memperlihatkan perubahan kuantitatif skeletal turn over. Marker biokimia dapat dibagi menjadi tiga yaitu marker resorpsi tulang, protein pengatur osteoklas, dan marker formasi tulang. Keseimbangan RANKL/OPG merupakan indikator penting untuk melihat aktifitas osteoklas, proses penyembuhan dari tandur dan akan menentukan kepadatan densitas tulang. Rasio RANKL/OPG diharapkan dapat menjadi indikator keberhasilan penanaman tandur.

Dengan mempertimbangkan literatur yang tersedia serta potensi tandur operkulum ikan mas sebagai alternatif tandur rekonstruktif pada defek tulang orbita, peneliti bermaksud membandingkan rasio RANKL/OPG pada tandur operkulum ikan mas dan tulang sapi.

METODE

Metode dan Teknik Pengumpulan data

Penelitian ini merupakan penelitian *cross sectional* menggunakan data yang diambil secara retrospektif dari penelitian tahun 2018 dengan nomer etik 01/IACUC-BF/IX/17 keluaran Komisi Kesejahteraan & Penggunaan Hewan Laboratorium PT. BIOFARMA (PERSERO). Penelitian ini menggunakan data RT-PCR yang diambil dari periosteum model kelinci dari penelitian sebelumnya yang diberi perlakuan pemasangan tandur tulang operkulum ikan mas dan tulang iga sapi. Sampel penelitian ini berupa data RT-PCR dari periosteum kelinci setelah 30

hari penanaman tandur tulang operkulum ikan mas dan tulang iga sapi. Sampel minimal yang diperoleh sebanyak 10 yang dibagi atas dua kelompok.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah data RT-PCR dari periosteum kelinci setelah 30 hari penanaman tandur tulang operkulum ikan mas dan tulang iga sapi. Kriteria eksklusi adalah data RNA yang tidak bisa dilakukan pemeriksaan RT-PCR dan data yang tidak lengkap.

Pemeriksaan RT-PCR menggunakan primer OPG Sense 5' AACCCAGAGCGAAATAC, Antisense 5' AAGAAATGCCTCCTCACAC dan RANKL Sense 5' GGTCCATAAAGTGAGTCTGT, Antisense 5' TTAAAAGCCCCAAAGTATG. Analisis hasil RT-PCR dengan software SDS 7000 dan data disajikan dalam *Microsoft Excel Office 2019*.

Analisis Statistik

Uji normalitas data numerik dilakukan sebelum analisis statistik dengan uji Shapiro Wilk. Perbandingan ekspresi RANKL dan OPG dianalisis secara statistik menggunakan uji t tidak berpasangan untuk RANKL dan OPG secara terpisah, serta dengan uji Mann-Whitney untuk perbandingan rasio RANKL/OPG.

HASIL PENELITIAN

Uji normalitas melalui uji Shapiro-Wilk dilakukan sebagai pendahuluan analisis statistik. Hasil uji normalitas rerata ekspresi gen RANKL dan OPG

pada kelompok tandur tulang iga sapi dan operkulum ikan mas dijabarkan dalam Tabel 1.

Tabel 3.1 Uji Normalitas Data Penelitian Ekspresi gen RANKL dan OPG pada Kelompok Tulang Operkulum Ikan Mas dan Tulang Iga Sapi

Variabel	Kelompok	Nilai <i>p</i>	Distribusi Data
Normalitas OPG	Tulang sapi	0,477	Normal
Normalitas RANKL	Tulang sapi	0,802	Normal
Normalitas OPG	Operkulum ikan mas	0,293	Normal
Normalitas RANKL	Operkulum ikan mas	0,405	Normal

Setelah dilakukan pengujian normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk, ditemukan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data normal, dan data yang diperoleh dianalisis dengan uji t tidak

berpasangan untuk ekspresi RANKL dan OPG secara terpisah. Hasil uji t tidak berpasangan untuk ekspresi RANKL dijabarkan dalam Tabel 2.

Tabel 3.2 Perbandingan antara Normalitas RANKL pada kelompok Tulang Iga Sapi dan Tulang Operkulum Ikan Mas

Variabel	Kelompok		<i>p</i>
	Tulang sapi (n = 5)	Operkulum ikan mas (n = 5)	
RANKL			
Mean±Std	9.69±8.003	6.03±5.668	
Median	8.64	5.12	0,428
Range (min-max)	0.95-20.56	0.65-15.26	

Berdasarkan tabel di atas, didapatkan rerata ekspresi gen RANKL pada kelompok tulang iga sapi adalah 9,69±8,003, sedangkan rerata ekspresi gen RANKL pada kelompok tulang operkulum ikan mas adalah 6,03±5,668.

Berdasarkan hasil pengujian tersebut, tidak terdapat perbedaan rerata ekspresi gen RANKL yang signifikan antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0,428$ ($> 0,05$).

Tabel 3.3 Perbandingan antara Normalitas OPG pada kelompok Tulang Iga Sapi dan Tulang Operkulum Ikan Mas

Variabel	Kelompok		p
	Tulang sapi (n = 5)	Operkulum ikan mas (n = 5)	
OPG			
Mean±Std	7.28±6.274	5.97±6.356	0.434
Median	9.47	3.18	
Range (min-max)	0.99-14.86	0.49-15.33	

Rerata ekspresi gen OPG pada kelompok tulang iga sapi adalah $8,95 \pm 5,026$ sedangkan rerata ekspresi gen OPG pada kelompok tulang operkulum ikan mas adalah $5,97 \pm 6,356$. Berdasarkan hasil pengujian tersebut, tidak terdapat perbedaan rerata ekspresi gen OPG yang signifikan antara kedua

kelompok dengan nilai $p = 0,434 (> 0,05)$. Perbandingan rasio RANKL/OPG antara kedua kelompok diuji dengan tes Mann-Whitney yang dijabarkan dalam Tabel 2.

Tabel 3.4 Perbandingan antara Rasio RANKL/OPG pada kelompok Tulang Iga Sapi dan Operkulum Ikan Mas

Variabel	Kelompok		p
	Tulang sapi (n = 5)	Operkulum ikan mas (n = 5)	
Rasio RANKL/OPG			
Mean±Std	4.54±6.22	3.75±5.32	0.841
Median	1.96	0.70	
Range (min-max)	0.06-15.4	0.20-12.61	

Keterangan: Untuk data numerik, nilai p diuji dengan uji t tidak berpasangan apabila data terdistribusi normal, serta alternatif uji Mann-Whitney apabila data tidak terdistribusi normal. Nilai kemaknaan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Tanda* menunjukkan nilai $p < 0,05$ atau signifikan secara statistik.

Berdasarkan tabel di atas, rasio RANKL/OPG pada kelompok tulang iga sapi adalah 4.54 ± 6.224 , sedangkan pada kelompok tulang operkulum ikan mas sebesar 3.75 ± 5.326 . Uji Mann-Whitney digunakan karena data tidak terdistribusi normal. Hasil tes Mann-Whitney menunjukkan tidak adanya perbedaan rerata yang signifikan secara

statistik antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0,841 (> 0,05)$

DISKUSI

Defek tulang orbita luas karena fraktur yang melebihi *critical size defect* tidak dapat sembuh dengan sendirinya. Defek yang terjadi dapat menyebabkan gangguan penglihatan ganda dan posisi bola mata yang dapat mengganggu kualitas hidup.

Tatalaksana defek orbita yang luas yang melebihi *critical size defect* adalah rekonstruksi dengan menggunakan tandur untuk mengisi bagian tulang yang hilang. Baku emasnya adalah penggunaan tandur tulang autogenus, namun memiliki beberapa kekurangan seperti bahan yang sulit didapat, morbiditas pada bagian donor, dan reaksi imunologi.^{1,3,10} *Xenograft* dari tulang iga sapi dan tulang operkulum ikan mas dengan kandungan kalsium dan fosfat berupa hidroksiapatit dapat digunakan sebagai tandur alternatif. Bahan *xenograft* tersedia dalam jumlah besar, sehingga dapat memenuhi kebutuhan produk tandur. *Xenograft* dari tulang sapi dengan rasio Ca/P 4,8/2,8 banyak digunakan dalam rekonstruksi tulang, khususnya di bidang bedah mulut, karena biodegradasi yang rendah dan kemampuan osteokonduktif yang baik. *Xenograft* lain yang dapat digunakan adalah tulang operkulum ikan mas yang mempunyai rasio Ca/P 1.67.^{4,5,11}

Penelitian oleh Kartiwa et al. (2017) merupakan studi awal yang meneliti morfologi operkulum ikan mas dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Pemeriksaan *xenograft* tulang iga sapi digunakan sebagai perbandingan. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa tulang operkulum ikan mas dapat digunakan sebagai tandur alternatif untuk memperbaiki defek tulang orbita. Tulang operkulum ikan mas mempunyai pori-pori besar > 200 mikron dan pori-pori kecil < 10 mikron yang merupakan karakteristik yang baik untuk *scaffold*. Kandungan kalsium dan fosfat pada tulang ikan

operkulum ikan mas lebih tinggi dibandingkan tulang sapi dan memiliki rasio yang lebih stabil yaitu sekitar 1.67. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekspresi RANKL sebagai penanda resorpsi tulang pada kelompok tulang operkulum ikan mas lebih rendah dibandingkan dengan tulang sapi.⁸ Hal ini dapat menunjukkan tingkat biodegradasi yang rendah pada tulang sapi dibandingkan tulang operkulum ikan mas, sesuai penelitian oleh Sundaram Dkk.^{5, 11, 12} Penelitian sebelumnya dilakukan dengan membuat defek orbita yang luas melebihi *critical size defect* pada model kelinci. Model kelinci digunakan karena *bone turnover* yang cepat serta kandungan mineral yang hampir sama dengan manusia. Pemeriksaan ekspresi gen RANKL dan OPG dilakukan setelah 30 hari pasca implantasi tandur pada defek orbita dengan menggunakan RT-PCR. *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) merupakan pemeriksaan yang sensitif dan dapat menghitung perubahan yang kecil pada ekspresi gen. RT-PCR mudah dilakukan dan dapat menghasilkan perhitungan gen yang cepat dan akurat.^{13, 14}

Penelitian ini menggunakan data normalisasi dari sampel penelitian sebelumnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi RANKL dan OPG pada kelompok tulang operkulum ikan mas lebih rendah dari tulang iga sapi namun tidak ada perbedaan rerata yang signifikan secara statistik, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekspresi RANKL dan OPG pada defek tulang orbita dengan pemasangan tandur operkulum tulang ikan mas

setara dengan tandur tulang iga sapi dengan nilai $p = 0,428$; $p = 0,434$. *Remodelling* tulang terjadi secara terus menerus pada keadaan fisiologis maupun patologis. Proses penyembuhan tulang dengan tandur terjadi melalui proses *remodeling* yang terdiri dari *osteoclastogenesis*, di mana tandur didegradasi oleh osteoklas dan dilanjutkan dengan *osteoblastogenesis*, yaitu deposisi tulang baru oleh sel osteoblas. Studi histologis menunjukkan bahwa penggunaan biomaterial pada defek tulang akan menginduksi reaksi benda asing dan mengaktifasi sel osteoklas. Aktivitas osteoklas berlangsung selama 3-9 bulan yang akan menggantikan tandur dengan tulang baru. Resorpsi tulang oleh osteoklas dipengaruhi oleh sinyal dari sistem RANKL-RANK-OPG. Dalam beberapa tahun terakhir, RANKL dan OPG dianggap sebagai sinyal penting untuk diferensiasi osteoklas yang berperan penting dalam proses remodeling dan pertumbuhan sel tulang. RANKL merupakan protein homotrimerik tipe 2 yang dihasilkan oleh osteoblast. Hasil penelitian ini menunjukkan ekspresi RANKL lebih tinggi pada tulang sapi yang berarti proses resorpsi tandur lebih tinggi tulang sapi yang bisa disebabkan karena kandungan mineral yang lebih banyak pada tulang sapi.

Ekspresi OPG pada tulang operkulum ikan mas lebih rendah dibandingkan tulang sapi, namun hal ini mungkin dikarenakan respon untuk mengkompensasi RANKL yang berfungsi untuk menyeimbangkan resorpsi dan formasi tulang. Keseimbangan dari RANKL/OPG akan

menentukan kepadatan dari massa tulang, kecepatan resorpsi dan formasi tulang. Rasio RANKL/OPG >1 mengindikasikan resorpsi tulang sedangkan apabila rasio < 1 mengindikasikan formasi tulang. Keadaan yang diinginkan adalah keseimbangan antara RANKL dan OPG. Penggunaan biomaterial yang berbeda akan mempengaruhi pola regenerasi dari tulang. Pada penelitian ini, rasio RANKL/OPG pada kelompok tulang operkulum ikan mas lebih rendah dibandingkan tulang iga sapi pada minggu ke 4 (Mean \pm std, 3.75 ± 5.326 ; 4.54 ± 6.224). Hal ini dapat dihubungkan dengan kandungan kalsium dan fosfat yang lebih tinggi pada tulang operkulum ikan mas dengan rasio Ca/P yang lebih stabil dibandingkan tulang iga sapi, sehingga pada minggu ke-4 proses resorpsi dan formasi tulang pada kelompok tulang operkulum ikan mas lebih mendekati keseimbangan dibandingkan dengan kelompok tulang iga sapi.^{13, 15-18} Penelitian oleh Kartiwa membandingkan ekspresi *matrix metalloproteinase-2* (MMP-2) yang merupakan enzim untuk degradasi matriks ekstraselular pada tandur tulang operkulum ikan mas dan tulang iga sapi. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa rerata ekspresi MMP-2 tidak berbeda secara statistik, yang berarti implantasi tandur operkulum ikan mas sebanding dengan tandur tulang iga sapi. Ekspresi RANKL sebagai marker dari aktivitas osteoklas pada kedua kelompok penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Kartiwa, yang berarti

proses resorpsi pada kedua kelompok sebanding.¹⁹

Penelitian ini melihat ekspresi gen RANKL dan OPG antara tandur tulang operkulum ikan mas dan tulang iga sapi. Ekspresi RANKL dan OPG diharapkan dapat menggambarkan proses *remodeling* tulang yang penting dalam penyembuhan tandur tulang. Rasio RANKL/OPG diharapkan dapat menggambarkan proses resorpsi dan formasi tulang yang terjadi pada penyembuhan tandur. Keterbatasan penelitian ini adalah terbatasnya sampel serta ekspresi RANKL dan OPG yang hanya diperiksa pada satu waktu, sehingga rasio RANKL/OPG hanya dapat menggambarkan proses *remodeling* pada satu waktu. Formasi tulang baru yang terbentuk pada area defek, partikel tandur *xenograft* terdegradasi, serta reaksi penolakan terhadap tandur belum dapat dievaluasi.

KESIMPULAN

Rasio RANKL/OPG pada defek tulang orbita pasca implantasi tandur tulang operkulum ikan mas sebanding dengan tulang iga sapi.

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian secara prospektif dan pemeriksaan histologi juga histomorfometrik untuk menilai pembentukan tulang baru dan evaluasi adanya reaksi penolakan *xenograft* tulang operkulum ikan mas dan tulang sapi.

REFERENSI

1. Totir M, Ciuluvica R, Dinu I, Careba I, Gradinaru S. Biomaterials for orbital fractures repair. *J Med Life*. 2014;7 . 4(1):62–4.
2. Amrith S, Almousa R, Wong W, Sundar G. Blowout Fractures: Surgical Outcome in Relation to Age, Time of Intervention, and Other Preoperative Risk Factors. *Craniofacial Trauma Reconstr*. 2010;3(03):131–6.4. Jimi E, Hirata S, Osawa K, Terashita M, Kitamura C, Fukushima H. The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects. *Int J Dent*. 2012;2012:1–8.
3. Purnomo, Agus., Adji D. Ekspresi Bone Morphogenetic Protein-2 untuk Mengukur Efektivitas Biomaterial Freeze Dried Bovine Bone Xenograft (FDBBX) sebagai Bahan Penyambung Tulang. *Sain Vet*. 2012;
4. Kangwannaronkul T, Subbalekha K, Vivatbutsiri P, Suwanwela J. Gene Expression and Microcomputed Tomography Analysis of Grafted Bone Using Deproteinized Bovine Bone and Freeze-Dried Human Bone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018;541–8
5. Sundaram G, Ramakrishnan T, Parthasarathy H, Raja M, Raj S. The Long-Term Risk and Complication of Bovine -derived Xenografts : A Case Series. 2018;(May):113–8.
6. Yamamoto K, Yoshizawa Y, Yanagiguchi K, Ikeda T, Yamada S, Hayashi Y. The Characterization of Fish (Tilapia) Collagen Sponge as a Biomaterial. *Int J Polym Sci*. 2015;2015.
7. Sandra, L., Kartiwa A. Perbandingan Analisis Ekspresi

- VEGF dan FGF-2 Sebagai penanda Keberhasilan Aplikasi Tandur pada Defek Tulang Orbita menggunakan Operkulum ikan mas dan Tulang Iga Sapi. Departemen Ilmu kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran Pusat mata Nasional Rumah Sakit Mata Cicendo Bandung 2019.
8. Mustafa N, Ibrahim MHI, Asmawi R, Amin AM. Hydroxyapatite Extracted from Waste Fish Bones and Scales via Calcination Method. *Appl Mech Mater.* 2015;773–774(July):287–90.
 9. Avashia YJ, Sastry A, Fan KL, Mir HS, Thaller SR. Materials used for reconstruction after orbital floor fracture. *J Craniofac Surg.* 2012;23(7 SUPPL.1):1991–7.
 10. Kane SN, Mishra A, Dutta AK. Preface: International Conference on Recent Trends in Physics (ICRTP 2016). *J Phys Conf Ser.* 2016;755(1).
 11. Efnaldi R., B., Iqbal, Karakterisasi Hidroksiapatit Tulang Sapi-Borosilikat dengan Temperatur Sintering 800C Gaya Cetakan 15 kN untuk Graft Tulang Manusia. 2018, Universitas Bung Hatta.
 12. Canciani E, Dellavia C, Marazzi MG, Augusti D, Carmagnola D, Vianello E, et al. RNA isolation from alveolar bone and gene expression analysis of RANK, RANKL and OPG: A new tool to monitor bone remodeling and healing in different bone substitutes used for prosthetic rehabilitation. *Arch Oral Biol.*
 13. Pfaffl MW, Hageleit M. Validities of mRNA quantification using recombinant RNA and recombinant DNA external calibration curves in real-time RT-PCR. *Biotechnol Lett.* 2001;23(4):275–82.
 14. Wright HL, McCarthy HS, Middleton J, Marshall MJ. RANK, RANKL and osteoprotegerin in bone biology and disease. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2009;2(1):56–64.
 15. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 2008;473(2):139–46.
 16. Listari, Khusnul Munika., Ruhadi, Iwan., Ulfa N. Ekspresi RANKL pada Defek Tulang dengan Pemberian Xenograftdibandingkan dengan Xenograftdan PRF. 2019;3(1):216–24.
 17. Li B, Zhang YH, Wang LX, Li X, Zhang XD. rabbit periodontium under orthodontic force Experimental animals. 2015;14(4):19382–8.
 18. Raden Angga Kartiwa M. Perbandingan Respon Biomaterial Tandur Operkulum Ikan MAs dan Tulang Iga Sapi terhadap Penyembuhan Defek Tulang Dasar Orbita Melalui Ekspresi Runx2, MMP-2 dan Osteokalsin pada Hewan Kelinci New Zealand White. Universitas Padjajaran; 2018.