



DENTA

JURNAL KEDOKTERAN GIGI

Vol.12 No.1 February 2018

ISSN : 1907-5987

SUSUNAN REDAKSI

Editor in Chief

Widyasri Prananingrum

Executive Editor

Noengki Prameswari

Duty Editor

Agni Febrina Pargaputri, Dian Damaiyanti, Fitria Rahmitasari,
Widyastuti, Arya Barahmanta, Meinar Nur Ashrin,
Anne Agustina Suwargiani, Anis Irmawati, Nunuk Purwanti

Editorial Staff and Administrator

Carissa Endianasari, Fitri Puji Rahayu

Peer Review

Udijanto Tedjosongko, Son mee kyoung, Eha Renwi Astuti,
Syamsulina Revianti, Rima Parwatisari, Arifzan Razak, Sarianoferni,
Dian Mulawarmanti, Mei Syafriadi, Soetjipto

Jurnal Kedokteran Gigi diterbitkan setiap bulan Februari dan Agustus oleh
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah.

ALAMAT REDAKSI

Cp. Carissa Endianasari

Fakultas Kedokteran Gigi-Universitas Hang Tuah

Jl. Arief Rahman Hakim 150 Surabaya

Telp. 031-5945864, 5945894 psw 219/220 Fax. 031-5946261

E-mail: journal.denta@hangtuah.ac.id / jurnal.denta@gmail.com

<http://journal-denta.hangtuah.ac.id/>

DAFTAR ISI

Susunan Redaksi

Daftar Isi

Effect Of Immersion Resin Acrylic Heat Cured On Sargassum ilicifolium as a Denture Cleanser Towards To Hardness Surface	1
<i>Ajeng Erlinda Muchtar, Widaningsih, Anindita Apsari</i>	
Effectivity of Stichopus hermanii Supplementation to Prevent Oral Candidiasis on Rats	9
<i>Paramita Devi Oktaviani, Endah Wahjuningsih, Dwi Andriani</i>	
Influence Of Brand Attributes to Brand Awareness in Nala Husada Dental Hospital	16
<i>Ghita Hadi Hollanda, Aulia Dwi Maharani</i>	
Inhibition Effect Extract Stolephorus insularis as a Antimicroba in Staphylococcus aereus Bacteria	22
<i>Ayulistya Paramita Sutarto, Yulie Emilda Akhwan</i>	
Osteoblast Number in Tension Area by Giving Propolis Extract As Orthodontic Relaps Prevention	28
<i>Budi Handayani, Arya Brahmanta</i>	
The Comparison of Ostecytein the Pressure area and Tension area on Tooth Movement Because of Hyperbaric Oxygen Therapy	34
<i>Muhammad Faizal Winaris, Arya Brahmanta, Pambudi Raharjo</i>	
The Cytotoxicity of Daruju Mangrove (Acanthus ilicifolius) Leaf Extract as Root Canal Irrigation	44
<i>Ratna Putri, Twi Agnita Cevanti, Henu Sumekar</i>	

DAFTAR ISI

The Difference of Impact Strength in Acrylic Resin Self-Cured with the Addition of Zirconium Dioxide (ZrO₂) Nanoparticles	51
<i>Annete Juwita, Widaningsih, Puguh Bayu Prabowo</i>	
The Effective Difference Application of Chitosan Gel with Different Molecular Weight and Aloe vera on The Density of Collagen Fibers in Wound Healing of Traumatic Ulcer	60
<i>Michelle Suhartono, Sularsih, Nafi'ah</i>	
The Effect of Brown Algae Sargassum sp. Extract Towards The Amount of Macrophages in The Healing Process of Traumatic Ulcer	72
<i>Annisa Rahmawati, Agni Febrina Pargaputri, Isidora Karsini S</i>	

RESEARCH ARTICLE

Pengaruh Perendaman Resin Akrilik Heat Cured dalam Ekstrak *Sargassum ilicifolium* Sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan Terhadap Kekerasan Permukaan

(Effect Of Immersion Resin Acrylic Heat Cured On Sargassum ilicifolium as a Denture Cleanser Towards To Hardness Surface)

Ajeng Erlinda Muchtar*, Widaningsih**, Anindita Apsari**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Heat cured acrylic resin is a material that has been used as a base for dentures. The main recruitment of ideal dentures include esthetic, durable, and also the how hard the surface itself. A dirty denture can lead to smell of the mouth, unesthetic, and inflammatory in the oral cavity. One of the material denture cleanser made of natural can inhibit the growth of fungal contained in *Sargassum ilicifolium* that have content of Mg, Na, Fe, and Fenol. **Purpose:** The aimed of this research is to understand the effect of soaking heat cured acrylic resin as the dentures material in 40% *Sargassum ilicifolium* towards the hardness surface. **Methods:** 20 plates of 65 x 10 x 2,5 mm heat cured acrylic divided into 4 different group as samples. First group soaked for 270 hours in aquades, second group soaked for 630 hours in aquades, third group soaked for 270 hours in 40% *Sargassum ilicifolium* extract, and the fourth group soaked for 630 hours in 40% *Sargassum ilicifolium* extract. The time of the research 270 hours equivalent of the use of the denture for 3 years, 630 hours equivalent of the use of the denture for 7 years. Then, researcher tested the hardness of all four group surface using Vickers Hardness Tester by using 0,20 kg indenter weight. **Result:** The result of Kruskal Wallis parametric description showed that there is a difference number of the surface hardness between Aquades and *Sargassum ilicifolium* 40%. Mann Whitney test result also showed that there are significant number each groups Aquades and *Sargassum ilicifolium*. **Conclusion:** A number of the hardness surface of heat cured acrylic resin were soaked using 40% *Sargassum ilicifolium* extract for 630 hours is lower than compared heat cured acrylic resin were soaked using 40% *Sargassum ilicifolium* extract for 270 hours.

Keywords: Acrylic resin, *Sargassum ilicifolium*, Surface hardness, Vickers Hardness Tester

Correspondence: Widaningsih, Department of Prostodontics, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Email: ningsih2008@yahoo.com

ABSTRAK

LatarBelakang: Resin akrilik heat cured merupakan bahan yang sering digunakan sebagai basis gigi tiruan. Syarat ideal dari suatu bahan basis gigi tiruan antara lain estetik, ketahanan yang tinggi, serta kekerasan permukaan. Gigi tiruan yang tidak bersih dapat menyebabkan bau mulut, estetik yang buruk, dan inflamasi pada mukosa rongga mulut. Salah satu bahan alternatif pembersih gigi tiruan berbahan dasar alami yang dapat menghambat pertumbuhan jamur terdapat pada rumput laut *Sargassum ilicifolium* yang memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman resin akrilik heat cured dalam ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% sebagai bahan pembersih gigi tiruan terhadap kekerasan permukaan. **Metode:** Sebanyak 20 sampel penelitian berupa lempeng resin akrilik berukuran 65 x 10 x 2,5 mm yang dibagi menjadi 4 kelompok berbeda, yaitu kelompok 1 perendaman menggunakan aquades selama 270 jam, kelompok 2 perendaman menggunakan aquades selama 630 jam, kelompok 3 perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% selama 270 jam, kelompok 4 perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% selama 630 jam. Waktu penelitian yang diambil 270 jam setara dengan pemakaian gigi tiruan selama 3 tahun dan 630 jam setara dengan pemakaian gigi tiruan selama 7 tahun. Kemudian seluruh sampel dilakukan uji kekerasan permukaan menggunakan Vickers Hardness Tester menggunakan beban indenter sebesar 0,20 Kg. **Hasil:** Hasil uji parametrik deskriptif Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat perbedaan angka kekerasan permukaan yang bermakna antar kelompok Aquades dan *Sargassum ilicifolium* 40%. Kemudian dari hasil uji post hoc Mann Whitney menunjukkan terdapat adanya perbedaan angka kekerasan permukaan yang bermakna antar tiap kelompok Aquades dan *Sargassum ilicifolium* 40%. **Kesimpulan:** Angka kekerasan permukaan resin akrilik heat cured yang direndam menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* selama 630 jam lebih rendah bila dibandingkan dengan resin akrilik heat cured yang direndam menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* selama 270 jam.

Kata kunci : Resin akrilik, *Sargassum ilicifolium*, Kekerasan permukaan, Vickers Hardness Tester

Korespondensi: Widaningsih, Bagian Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, Email:ningasih2008@yahoo.com

PENDAHULUAN

Gigi tiruan dapat didefinisikan sebagai protesa gigi tiruan yang digunakan untuk menggantikan gigi asli yang hilang dan mengembalikan estetika serta kondisi fungsional pasien.^{1,2} Sifat bahan gigi tiruan yang harus dipertimbangkan salah satunya adalah sifat fisik-kimia.³ Gigi tiruan dapat terbuat dari bahan logam, resin termoplastik, dan resin akrilik.⁴ Syarat-syarat ideal dari suatu bahan basis protesa gigi tiruan antara lain estetik, kekuatan, kekakuan, ketahanan yang

tinggi, serta kekerasan permukaan.³ Kekerasan permukaan seringkali digunakan sebagai petunjuk dari kemampuan suatu bahan menahan abrasi atau pengikisan yang timbul akibat teknik pembersihan gigi tiruan dengan bahan yang bersifat abrasif dan diperlukan untuk mencegah kemungkinan terjadi kepatahan/fraktur pada basis protesa gigi tiruan.^{3,5}

Resin akrilik *heat cured* adalah resin yang teraktivasi dengan panas dan digunakan pada pembuatan basis protesa gigi tiruan. Kelebihan resin akrilik *heat cured* antara lain tidak toksik, tidak

mengiritasi jaringan, memenuhi syarat estetik, stabilitas warna baik, dan perubahan dimensi kecil.^{3,6} Kekurangannya antara lain adanya monomer sisa, mudah menyerap air, porus, serta kurang tahan terhadap goresan dan abrasi.⁶

Persentase berdasar lama pemakaian gigi tiruan yaitu 56,3% untuk jangka waktu pemakaian 0-5 tahun dan 18,8% untuk jangka waktu pemakaian 6-10 tahun.⁷ Dalam penelitian ini dipakai 3 tahun dan 7 tahun yang merupakan median dari kelompok pemakaian 5 dan 10 tahun yang persentase pemakaian masih besar. Gigi tiruan yang tidak bersih dapat menyebabkan bau mulut, estetik yang buruk, dan inflamasi pada mukosa rongga mulut.⁸ Mikroorganisme berpotensi tinggi untuk menempel pada permukaan akrilik.⁹ Gigi tiruan dapat dibersihkan secara mekanis, kimiawi, atau gabungan keduanya.^{10,11} Pembersihan dengan cara mekanis menggunakan sikat gigi dengan atau tanpa bahan abrasif bersifat efektif dalam menghilangkan plak, tetapi jika dilakukan berulang-ulang dapat menyebabkan keausan pada plat gigi tiruan.^{11,12} Pembersihan kimiawi adalah perendaman dengan larutan pembersih, paparan oksigen dengan *air-dying*, dan radiasi *microwave*.¹³ Efektifitas bahan pembersih gigi tiruan ketika digunakan dapat membunuh mikroorganisme mencapai 99% pada perendaman sekitar 10 sampai 20 menit.¹³

Bahan pembersih gigi tiruan yang paling umum digunakan adalah alkaline peroksida yang mengandung asam dan dapat menyebabkan perubahan warna pada plat gigi tiruan.¹⁴ Salah satu bahan alternatif pembersih gigi tiruan berbahan dasar alami yang dapat menghambat

pertumbuhan jamur terdapat pada rumput laut (*Sargassum*). *Sargassum* merupakan salah satu komoditas hasil laut penting, serta tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan laut Indonesia.¹⁵ *Sargassum ilicifolium* atau alga cokelat merupakan salah satu genus *Sargassum* yang termasuk dalam kelas *phaeophyceae*. *Sargassum ilicifolium* memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba.¹⁶ Senyawa aktif sebagai antijamur dari rumput laut *Sargassum* yaitu tanin.^{17,18} Ekstrak *Sargassum ilicifolium* yang diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol dan diencerkan dengan larutan DMSO 1% dengan konsentrasi 400 mg/1 ml mempunyai daya hambat yang lebih efektif terhadap *Candida albicans* bila dibandingkan dengan konsentrasi 100 mg/1 ml dan 200 mg / 1 ml.¹⁹

Resin akrilik dapat berubah dimensi karena bereaksi dengan beberapa bahan kimia.⁶ Bahan bahan tersebut diantaranya adalah fenol, chlorofom, aseton, methanol, etanol, benzena, toluena, monomer dari basis resin dan asam.²⁰ Tanin merupakan senyawa fenol yang merupakan turunan dari alkohol.^{3,21} Pembersihan gigi tiruan secara kimiawi menimbulkan penurunan kekerasan pada resin akrilik sehingga menyebabkan retak dan penurunan kekuatan akrilik.³ Retakan akibat pelarut umumnya berasal dari kontak dengan cairan seperti etil alkohol dalam waktu lama.^{3,21} Basis resin akrilik bila kontak dengan larutan fenol dalam air akan menunjukkan pengaruh kimiawi yang bersifat merusak kekerasan permukaan resin akrilik, karena senyawa tersebut akan masuk ke dalam permukaan resin akrilik dan mengakibatkan permukaan mengembang serta menjadi lunak.²⁰

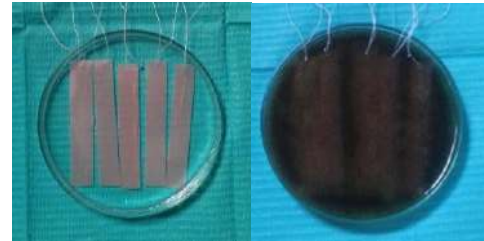
Berdasarkan uraian tersebut diatas, penulis ingin meneliti apakah ada pengaruh perendaman resin akrilik *heat cured* dalam ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% yang setara dengan 400 mg/1 ml sebagai bahan pembersih gigi tiruan terhadap kekerasan permukaan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah lempeng akrilik *heat cured* dengan ukuran 65 x 10 x 2,5 mm.²² Sampel dibagi dalam 4 kelompok yaitu sampel yang direndam menggunakan aquades selama 270 jam (O1a), sampel yang direndam menggunakan aquades selama 630 jam (O1b), sampel yang direndam menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% selama 270 jam (O2a), dan sampel yang direndam menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% selama 630 jam (O2b). Perendaman ini diasumsikan pemakaian gigi tiruan selama 3 tahun dan 7 tahun dengan lama waktu perendaman 15 menit per hari sehingga didapatkan lama waktu perendaman selama 270 jam dan 630 jam.²³

Ekstrak *Sargassum ilicifolium* diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan diencerkan dengan larutan DMSO 1% dengan konsentrasi 400 mg/1 ml yang setara dengan 40%.¹⁹ Perendaman lempeng resin akrilik *heat cured* dilakukan sampai semua bagian lempeng resin akrilik terendam dalam larutan bahan peredaman pada suhu normal 37°C sampai batas waktu yang ditentukan. Kemudian sampel dikeringkan dan dilakukan pengamatan angka kekerasan dilakukan menggunakan alat uji kekerasan

(*Vickers Hardness Tester*) dengan satuan VHN.²⁴



Gambar 1. Perendaman Sampel

HASIL

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

Tabel 1. Hasil rerata angka kekerasan permukaan resin akrilik *heat cured*

Kelompok Deviasi	Rerata±Std.
O1a	23.060±3.1166
O1b	18.400±0.4899
O2a	17.880±0.3701
O2b	16.880±0.5958

Berdasarkan tabel rerata angka kekerasan permukaan yang paling tinggi pada kelompok perendaman aquades selama 270 jam (O1a), sedangkan yang menunjukkan nilai angka kekerasan yang paling rendah kelompok perendaman ekstrak *Sargassum ilicifolium* selama 630 jam (O2b).

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas

Kelompok	Shapiro-Wilk Sig.
O1a	.127
O1b	.563
O2a	.687
O2b	.789

Berdasar tabel 2 hasil uji normalitas semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$).

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas (*Levene Test*)

Variabel	Sig.
Angkakekerasan	.019

Berdasar tabel 3 hasil uji homogenitas dapat disimpulkan bahwa pada semua kelompok memiliki varians yang tidak homogen ($p < 0,05$).

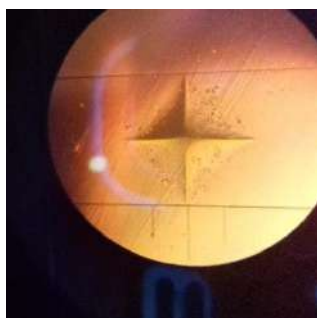
Tabel 4. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Variabel	Sig.
Angkakekerasan	.004

Tabel 5. Hasil Uji *Post-Hoc Mann-Whitney*

Kelompok	P1	P2	P3	P4
O1a		.047*	.036*	
O1b	.047*			
.012*				
O2a	.036*			
.021*				
O2b		.012*	.021*	

* Terdapat perbedaan bermakna



Gambar 2. Gambaran hasil penekanan uji Vickers

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil perhitungan statistik, uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal, dan uji

homogenitas menggunakan *Levene test* menunjukkan variansi data tidak homogen dengan nilai signifikansi $p = 0,019$, karena varians data tidak homogen sehingga tidak memenuhi syarat dilakukan uji parametrik. Maka dilakukan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*. Pada tabel 4 hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai signifikansi $p = 0,004$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan angka kekerasan yang bermakna antar kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang bermakna maka dilakukan analisa post hoc menggunakan uji *Mann-Whitney*. Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* pada tabel 5 didapatkan nilai signifikansi masing-masing kelompok $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antar tiap kelompok.

Nilai kekerasan resin akrilik *heat cured* tanpa dilakukan perendaman sebesar 39,09 VHN.²⁵ Pada penelitian ini didapatkan penurunan kekerasan permukaan pada masing-masing kelompok perendaman. Rerata masing masing kelompok yaitu, Aquades 270 jam sebesar 23,060 VHN ; Aquades 630 jam sebesar 18,400 VHN ; *Sargassum ilicifolium* 270 jam sebesar 17,880 VHN; *Sargassum ilicifolium* 630 jam sebesar 16,800 VHN.

Penurunan kekerasan permukaan ini disebabkan oleh kemampuan absorpsi air dari bahan resin akrilik.²⁶ Bahan resin akrilik mempunyai salah satu sifat yaitu menyerap air secara perlahan-lahan dalam jangka waktu tertentu, mekanisme penyerapan melalui difusi molekul cair sesuai hukum difusi.²⁷ Molekul kecil seperti larutan atau air dapat bertindak sebagai pelemah ikatan rantai polimer yang berdifusi ke dalam ikatan rantai polimer, sehingga

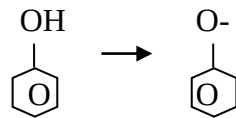
ikatan rantai polimer terganggu dan kemudian menurunkan kekerasan permukaan resin akrilik.^{26,27} Air memegang peranan penting dalam degradasi hidrolitik dan erosi material resin dengan cara merenggangkan filler matriks. Material berbahan dasar polimer dapat menyerap air ke dalam matriks melalui suatu proses difusi terkontrol (secara terus menerus). Penyerapan air yang terjadi menyebabkan partikel larutan akan berpenetrasi dan mempengaruhi ikatan kimia. Semakin lama perendaman maka akan semakin banyak larutan yang dapat berpenetrasi ke ruang mikroporositas. Berdasarkan teori degradasi matriks, resin yang direndam dalam air akan menyerap molekul air dan akan berpenetrasi ke dalam ruang intermolekuler rantai polimer sehingga interaksi polar menurun, jarak antar polimer meningkat, ekspansi matriks, matriks melunak dan akhirnya terjadi penurunan kekuatan resin akrilik.²⁸

Pada kelompok perendaman menggunakan aquades steril baik selama 270 jam maupun 630 jam didapatkan adanya rerata penurunan angka kekerasan permukaan (Tabel 1) dan menurut perhitungan statistik terdapat perbedaan angka kekerasan permukaan yang bermakna (Tabel 5). Hal ini disebabkan karena larutan aquades steril tidak memiliki kandungan zat aktif yang dapat mempercepat pemutusan rantai ikatan polimer. Aquades steril adalah air hasil destilasi atau penyulingan yang memiliki kandungan murni H_2O , berbeda dengan air mineral yang merupakan pelarut universal yang dapat dengan mudah melarutkan berbagai partikel. Aquades tidak memiliki mineral sehingga kurang berpengaruh dalam melarutkan partikel.²

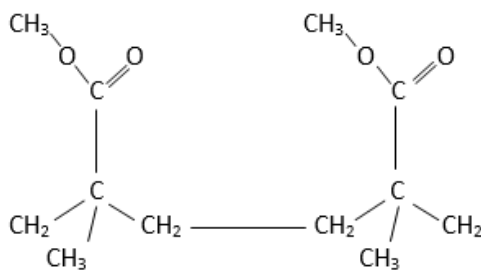
Ekstrak *Sargassum ilicifolium* memiliki kandungan senyawa glikosida, tanin, dan triterpenoid/steroid.¹⁷ Senyawa tanin bekerja dengan cara mengendapkan protein dan dapat merusak membran sel sehingga pertumbuhan jamur terhambat.^{17,18} Tanin merupakan senyawa fenol yang larut dalam air dan memiliki sifat asam lemah.²⁹ Pada penelitian ini ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40% didapatkan nilai pH 5 yang merupakan pH asam. Suatu senyawa dapat dikatakan bersifat asam apabila senyawa tersebut dapat melepaskan proton (H^+) di dalam larutan. Asam kuat merupakan senyawa yang terdisosiasi (terpisah dengan protonnya) secara sempurna sedangkan asam lemah tidak terdisosiasi sempurna. Secara umum, senyawa fenolik merupakan asam lemah.³⁰

Resin akrilik terbentuk melalui proses polimerisasi adisi radikal bebas yang membentuk polimetil metakrilat $(C_5O_2H_8)_n$ dengan kepolaran rendah.³¹ Fenol memiliki rumus kimia C_6H_5OH dan strukturnya memiliki gugus hidroksil ($-OH$). Fenol memiliki sifat cenderung asam, senyawa yang bersifat asam dapat melepaskan ion H^+ dari gugus hidroksilnya didalam air. Pengeluaran ion H^+ menjadikan terbentuknya anion fenoksida ($C_6H_5O^-$). Apabila gugus ester dari resin akrilik bereaksi dengan fenol, maka ion H^+ pada fenol akan lepas dan berikatan dengan CH_3O^- yang terlepas dari gugus ester, sedangkan anion fenoksida ($C_6H_5O^-$) pada fenol akan berikatan dengan gugus fungsi asil (RCO^+) dari ester. Reaksi pertukaran ion ini menyebabkan terjadinya degradasi ikatan polimer sehingga beberapa ikatan akan melepaskan diri dan molekul pelarut yang masuk akan menempati posisi diantara rantai polimer sehingga

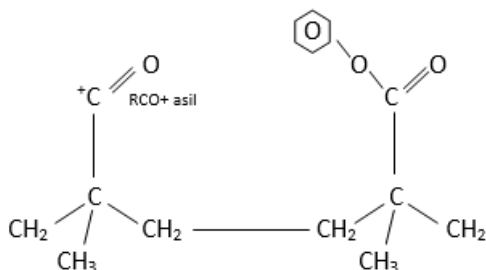
rantai polimer memisah yang menyebabkan ikatan kimiawi resin akrilik tersebut menjadi tidak stabil dan terjadi kerusakan kimiawi pada permukaan bahan basis gigi tiruan resin akrilik.^{28,32}



Gambar 3. Fenol Anion Fenoksida



Gambar 4. Ikatan polimer resin akrilik *heat cured*



Gambar 5. Degradasi rantai ikatan polimer resin akrilik *heat cured*

Pada penelitian ini menunjukkan penurunan rerata kekerasan permukaan serta pada perhitungan statistik menunjukkan adanya perbedaan angka kekerasan permukaan yang bermakna antar kelompok perendaman, baik kelompok perendaman aquades dengan aquades, aquades dengan *Sargassum ilicifolium*, maupun *Sargassum ilicifolium* dengan *Sargassum ilicifolium*

dengan masing-masing lama waktu perendaman 270 jam dan 630 jam.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan tentang perendaman resin akrilik *heat cured* dalam ekstrak *Sargassum ilicifolium* 40%, maka dapat disimpulkan bahwa angka kekerasan permukaan resin akrilik *heat cured* yang direndam menggunakan ekstrak *Sargassum ilcifolium* selama 630 jam lebih rendah bila dibandingkan dengan resin akrilik *heat cured* yang direndam menggunakan ekstrak *Sargassum ilicifolium* selama 270 jam.

DAFTAR PUSTAKA

1. Peracini et al, 2010. Behaviours and hygiene habits of complete denture wearers. *Braz Dent J* 2010. Vol 21(3):247-52.
2. Puspitasari et al, 2016. Perbandingan Kekerasan Resin Akrilik Tipe Heat Cured Pada Perendaman Larutan Desinfektan Alkalin Peroksida Dengan Ekstrak Seledri (*Apium Graveolens* L.) 75%. *Odonto Dental Journal*. Vol.3(1):34-41
3. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR, 2013. *Philips Science of Dental Materials*. 12thed, Philadelphia: W.B Saunders Co, pp 63-5, 107-10
4. Singh K dkk, 2013. Flexible Thermoplastic Denture Base Materials for Aesthetical Removable Partial Denture Framework. *Journal of Clinical and Dagnostic Research*. Vol 7(10); 2372-2373
5. Craig's, 2006. *Restorative Dental Materials* 12th ed. Mosby Elsevier
6. Combe EC. 1992. *Notes on Dental Materials*. 6thed. New York: Churchill, Livingstone.
7. Rahmayani L, Sofya, 2016. Penilaian Tingkat Kebersihan Gigi Tiruan Sebagian Lepas Akrilik Berdasarkan Metode Pembersihan Secara Penyikatan Dan Lama Pemakaian. *Odonto Dental Journal*. Vol 3(1): 1-6
8. Dikbas I, Koksall T, Calikkocaoglu S. *Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital*. *Int J Pros* 2006; 19(3): 294-8.
9. Sahin et al, 2013. Effect of chemical denture clenasers on microorganisms over heat-

- polymerized acrylic resin. Journal of Dentistry. Vol.1(2):006-009.
10. Grant AA, Johnson W. *An introduction to removable denture prosthetics*. London: Churchill Livingstone. 1983: 153.
 11. Sipayung BI, 2012. Kebiasaan Memelihara Kebersihan Gigi Tiruan Pada Masyarakat Pemakai Gigi Itruan Sebagian Lepas Di Kelurahan Tanjung Rejo Kecamatan Medan Sunggal Tahun 2011. Skripsi, Departemen Prosthodontia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, Medan.
 12. Sesma N, Lagana DC, Morimoto S, Gil C. *Effect of denture surface glazing on denture plaque formation*. Braz Dent J 2005; 16(2): 129-33.
 13. Garg, R. Denture hygiene, different strategies. WebmedCentral DENTISTRY 2010; 10(1). WMC00932
 14. Gajwani-Jain S *et al.* 2015. Denture Cleansers: A Review. Journal of dental and Medical Sciences. Vol 14(2); 94-96
 15. Handayani dkk, 2004. Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh. *Bioformasi*. Vol 2(2); 45-52
 16. Bachtiar dkk, 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Journal of Marine and Coastal Science*. Vol 1(1); 53-60
 17. Dewi A, 2011. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Rumput Laut *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh Terhadap Jamur *Candida albicans*. Skripsi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
 18. Fardiaz, S. (1992). Mikrobiologi Pangan. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
 19. Octavin G, 2017. Efektivitas Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum Sp.*) Dengan Berbagai Konsentrasi Sebagai Pembersih Gigi Tiruan Resin Akrilik (Heat Cured) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. Skripsi. Universitas Hang Tuah. Surabaya.
 20. Ashadeni D, 2012. *Kekerasan Permukaan Resin Akrilik Heat Cured Dalam Seduhan Teh Rosella Merah (Hibiscus Sabdariffa, L.) Dan Seduhan Teh Hitam (Camellia Sinensis)*. Skripsi. Universitas Hang Tuah. Surabaya
 21. Mathew M, Shenoy K, Ravishanka KS. Vickers Hardness and Specific Wear Rate of Poly Propylene Reinforced PMMA. International Journal of Scientific Study. 2014;2(3):71-5.
 22. American Dental Association, 1975. Guide of Dental Materials 4th ed. Philadelphia, W.B, Saunders, pp 52-73
 23. Arruda et al, 2015. Effects of Denture Cleansers on Heat-Polymerized Acrylic Resin: A Five-Year-Simulated Period of Use. Brazilia Dental journal. Vol.26(4):404-408
 24. Mazzeto MO, Mesquita MF. Evaluation of Vickers hardness of different types of acrylic denture base resins with and without glass fiber reinforcement. The Gerodontology Society and Jhon Wiley & Sons A/S. 2012;29(e155-e160).
 25. Diatariya M, 2013. Perbedaan Kekerasan Permukaan Resin Akrilik Polimerisasi Panas Terhadap Perendaman Alkalik Peroksida Sebagai Pembersih Gigi Tiruan. Skripsi, Universitas Hang Tuah. Surabaya.
 26. Lira AFD, Consani RLX, Mesquita MF, Paula ABD. 2014. Surface Hardness of Acrylic Resins Exposed to Toothbrushing, Chemical Disinfection and Thermocycling. Journal of Research and Practice in Dentistry. 1-9
 27. Pisani MX, Silva CHLD, Paranhos HDFO, Souza RF, Macedo AP. 2010. The Effect of Experimental Denture Cleanser Solution Ricinus Communis on Acrylic Resin Properties. Material Research. 13(3):369-73
 28. Sundari I, Pocut AS, Millati H. 2016. Studi Kekuatan Fleksural antara Resin Akrilik Heat Cured dan Termoplastik Nilon setelah direndam dalam Minuman Kopi Uleekareng (*Coffea robusta*). *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*. H.51-58.
 29. Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. Jurnal Agribisnis Dan Pengembangan Wilayah. Vol 3(2):46-55
 30. SEAFast Center. 2012. Senyawa Fenolik pada Sayuran Indigenous. H.31-46
 31. Baum L, Philips RW, Lund MR. Buku Ajar Ilmu Konservasi Gigi. Ed 3. Alih Bahasa. Rasinta Tarigan. Jakarta: ECG, 1997.
 32. Erna F, Rostiny, sherman S. 2012. Pengaruh Lama Perendaman Resin Akrilik Heat Cured Dalam Eugenol Minyak Kayu Manis Terhadap Kekuatan Transversa. *Journal of prosthodontics*. Vol 3(1):1-5

RESEARCH ARTICLE

Efektivitas Suplementasi Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) Dalam Mencegah Terjadinya Oral Candidiasis Pada Tikus Wistar

(Effectivity of Stichopus hermanii Supplementation to Prevent Oral Candidiasis on Rats)

Paramita Devi Oktaviani*, Endah Wahjuningsih**, Dwi Andriani**

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: *Candida albicans* is normal flora of oral cavity that can be pathogenic due to predisposition influence so that trigger Oral candidiasis. *Stichopus hermanii* suspected as an Oral candidiasis therapy because it contain antioxidant compound, antitumor and antifungi. **Objective:** Analyzing the effectiveness of *Stichopus hermanii* supplementation as a protective effect of oral candidiasis in Rats exposure to smoke. **Materials and Methods:** This experiment is post test only group control design using 35 male rats divided into 5 groups(X). X1 (negative control), X2 (positive control), X3 (*Stichopus hermanii* powder 0,0225mg/kgBB), X4 (*Stichopus hermanii* powder 0,045mg/kgBB), X5 (*Stichopus hermanii* powder 0,09mg/kgBB). *Candida albicans* induced into the mouth by an oral swab using cotton bud 3 times a week for 8 weeks. Smoke exposure as a predisposition factor be given 3 bars per day for 8 weeks. The rats being killed and tongue biopsies measure the thickness of tongue epithelium. The obtained data analyzation using One Way ANOVA and LSD test. **Result:** There is a significant difference ($p < 0.05$) between X1 and X2, X1 and X3, X1 and X4, X1 and X5, X2 and X3, X2 and X4, X2 and X5, X3 and X5. **Conclusion:** Adduction of *Stichopus hermanii* capable of reducing risk of Oral candidiasis. Supplementation of *Stichopus hermanii* powder 0,09mg/kgBB is the most effective reduce thickness of the tongue epithelium in the group that exposure to smoke and induced of *Candida albicans*.

Keywords: *Stichopus hermanii*, Oral candidiasis, Tongue, *Candida albicans*, Thickness of Epithelium

Correspondence: Endah Wahjuningsih, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Email: endah1822@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang: *Candida albicans* merupakan flora normal rongga mulut yang dapat menjadi patogen karena pengaruh faktor predisposisi sehingga memicu Oral candidiasis. *Stichopus hermanii* diduga dapat mencegah terjadinya oral candidiasis karena mengandung senyawa antioksidan, antitumor dan antijamur. **Tujuan:** Menganalisis efektivitas suplementasi teripang emas dalam pencegahan oral candidiasis pada tikus wistar yang terpapar asap rokok. **Bahan dan Metode:** Rancangan penelitian ini adalah post test-only control group design menggunakan 35 ekor tikus Wistar jantan dan dibagi menjadi 5 kelompok(X). X1 (kontrol negatif), X2 (kontrol positif), X3 (*Stichopus hermanii* dosis 0,0225mg/kgBB), X4 (*Stichopus hermanii* dosis 0,045mg/kgBB), X5 (*Stichopus hermanii* dosis 0,09mg/kgBB). *Candida albicans* diinduksikan ke dalam mulut dengan oral swab menggunakan cotton bud 3 kali seminggu selama 8 minggu. Paparan asap rokok sebagai faktor predisposisi diberikan sebanyak 3 batang/hari selama 8 minggu. Setelah pengobatan, tikus dikorbankan dan lidah dibiopsi untuk mengukur ketebalan epitel lidah. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA dan LSD. **Hasil:** Ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara X1 dan X2, X1 dan X3, X1 dan X4, X1 dan X5, X2 dan X3, X2 dan X4, X2 dan X5, X3 dan X5. **Simpulan:** Pemberian bubuk teripang emas mampu mengurangi risiko terjadinya oral candidiasis. Dosis *Stichopus hermanii* 0,09mg/kgBB merupakan dosis paling efektif menurunkan ketebalan epitel lidah pada kelompok yang terpapar asap dan diinduksi *Candida albicans*.

Kata Kunci: Teripang emas (*Stichopus hermanii*), Oral candidiasis, Lidah, *Candida albicans*, Ketebalan Epitel.

Korespondensi: Endah Wahjuningsih, Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, Email: endah1822@yahoo.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu dari 5 negara yang terbanyak perokoknya di dunia. Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang memiliki tingkat konsumsi rokok dan produksi rokok yang tinggi.¹ Polutan akibat paparan asap rokok dapat menimbulkan stress oksidatif melalui mekanisme pengerusakan makromolekul seperti protein, asam nukleat dan lipid.² Stress oksidatif memiliki respon terhadap spesies *Candida albicans*, dimana selama perjalanan infeksi, di dalam tubuh terdapat pembentukan ROS yang diproduksi dalam keadaan normal sebagai fagositosis terhadap *Candida albicans* sehingga berubah ke dalam

bentuk hifa yang menyebabkan oral candidiasis.^{3,4,5}

Oral candidiasis dibedakan dalam beberapa tipe yaitu akut pseudomembran kandidiasis, akut atropik kandidiasis, kronik hiperplastik kandidiasis, dan kronik atropik kandidiasis. Kronik hiperplastik kandidiasis atau candidal leukoplakia biasanya ditandai dengan adanya bintik atau lesi putih pada mukosa bukal atau batas lateral dari lidah, lesi ini dihubungkan dengan kebiasaan merokok.⁶ Merokok meningkatkan keratinisasi mukosa rongga mulut, sehingga dapat meningkatkan patogenesitas *Candida albicans* dalam perkembangan kanker dan prakanker dalam rongga mulut yang dapat menyebabkan perubahan ketebalan

epitel. Jika tidak diberi perawatan lesi ini akan berkembang menjadi *Squamous cell carcinoma*.^{7,8,9}

Perkembangan ilmu pengetahuan yang semakin pesat dalam bidang kesehatan gigi memunculkan pemikiran untuk menciptakan suatu bahan dengan memanfaatkan sumber daya alam yang ada. Seperti yang diketahui Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati laut terbesar di dunia salah satunya adalah sumber daya hayati perikanan laut termasuk di dalamnya adalah teripang. Teripang adalah hewan yang berasal dari phylum Echinodermata yang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang cukup potensial.^{10,11}

Pembakaran dalam proses merokok menyebabkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS). ROS adalah oksidan yang kuat, sedangkan antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan.^{12,13} Teripang emas (*Stichopus hermanii*) memiliki peran terhadap antioksidan. Aktivitas antioksidan senyawa *Stichopus hermanii* disebabkan oleh senyawa riboflavin, flavonoid, saponin, tanin, dan omega 3 yang terkandung di dalamnya.¹⁴

Pada penelitian in vitro, 80mg/mL ekstrak metanol teripang emas dapat menurunkan pertumbuhan *Candida albicans*,¹⁵ secara in vivo, 17mg/kgBB ekstrak teripang emas dapat menurunkan ekspresi antibodi anti-*Candida albicans* pada tikus wistar dengan oral candidiasis.¹⁶ Aktivitas antifungi pada teripang emas (*Stichopus hermanii*) disebabkan oleh senyawa flavonoid, tanin dan saponin yang terkandung di dalamnya.^{15,17}

Teripang emas (*Stichopus hermanii*) banyak mengandung glikosida, terutama glikosida triterpen

yang memiliki aktivitas sebagai antitumor. Triterpen mempunyai efek sitotoksitas terhadap sel tumor manusia dan dapat berfungsi sebagai agen antikanker yang potensial karena mempunyai pengaruh yang cukup besar terhadap metastasis. Glikosida triterpen menekan proliferasi sel tumor dan menginduksi apoptosis dari sel tumor.^{18,19,20}

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian *true experimental laboratoris* dengan rancangan penelitian *post test-only control group design*. Adapun parameter yang dilihat pada penelitian ini adalah ketebalan epitel lidah tikus. Sejumlah 35 ekor tikus wistar (*Rattus Norvegicus Strain Wistar*) dibagi menjadi lima kelompok, dimana kriteria yang dipilih adalah jenis kelamin jantan, usia 2 bulan.

Pembuatan Bubuk Teripang Emas²¹

Teripang emas dibersihkan isi perutnya dan dicuci, yang digunakan adalah *bodywall* (dinding tubuh) dari teripang emas. Kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan ditimbang. Selanjutnya, diblender dengan menggunakan *laboratory blender* merk *Waring Commercial Model HGBTWT* hingga menjadi halus dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dengan spatula dan dilakukan pengeringan (*freeze dryer*) pada suhu -85°C dengan tekanan 5 m Torr kurang lebih selama 15 jam. Teripang emas yang telah kering kemudian ditimbang dan diblender kembali dengan menggunakan *laboratory blender* merk 71 *Waring Commercial Model HGBTWT* hingga menjadi serbuk.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dimulai dengan penghitungan berat badan tikus wistar lalu diadaptasi selama tujuh hari. Penimbangan berikutnya dilakukan setiap satu minggu sekali. Pada hari kedelapan dilakukan pembagian tikus wistar menjadi 5 kelompok (X1 yaitu kelompok kontrol(-), X2 sebagai kelompok kontrol(+), X3 sebagai kelompok perlakuan dengan dosis teripang emas 0,0225 mg/kgBB, X4 sebagai kelompok perlakuan dengan dosis teripang emas 0,045 mg/kgBB, X5 sebagai kelompok perlakuan dengan dosis teripang emas 0,09 mg/kgBB), dikandangkan tiap 1 kandang berisi 3 sampai 4 ekor tikus wistar. Tikus Wistar diberi makanan dan minuman setiap hari dengan pakan ternak standar untuk tikus *Wistar* dan minum dengan air *aquadest* yang diberikan secara *ad libitum* melalui *oral*.

Pada hari kesembilan sampai hari keenam puluh lima, kelompok X1 dilakukan pemberian CMC-Na 0,2 % 0,5 mL, saline 0,1 mL, udara segar 120 detik per hari, dan CMC-Na 0,2% 0,1 mL. X2 diberikan tetrasiklin 20 mg/kgBB 0,5 mL, *Candida albicans* 0,1 mL tiga kali seminggu, udara segar, asap rokok 3 batang rokok per ekor setiap hari selama 120 detik, dan CMC-Na 0,2 % 0,1mL. X3 diberikan tetrasiklin 20 mg/kgBB 0,5 mL, *Candida albicans* 0,1 mL tiga kali seminggu, udara segar, asap rokok 3 batang rokok per ekor setiap hari selama 120 detik, dan bubuk teripang emas (*Stichopus hermanni*) 0,0225 mg/kg BB 0,1 mL. X4 diberikan tetrasiklin 20 mg/kgBB 0,5 mL, *Candida albicans* 0,1 mL tiga kali seminggu, udara segar, asap rokok 3 batang rokok per ekor setiap hari selama 120 detik, dan bubuk teripang

emas (*Stichopus hermanni*) 0,045 mg/kg BB 0,2 mL. X5 diberikan tetrasiklin 20 mg/kgBB 0,5 mL, *Candida albicans* 0,1 mL tiga kali seminggu, udara segar, asap rokok 3 batang rokok per ekor setiap hari selama 120 detik, dan bubuk teripang emas (*Stichopus hermanni*) 0,09 mg/kg BB 0,4 mL.

Pada hari ke enam puluh enam tikus Wistar dianestesi, di foto dan dilakukan *oral swab* pada bagian lidah. Lalu di *euthanasia* dengan 10 mg/kg BB 0,2 mL ketamin dan 5 mg/kg BB 0,2 mL diazepam, kemudian dikorbankan untuk diambil bagian lidahnya dan direndam dalam *formalin solution* 10% dan dibuat sediaan histopatologi dengan pewarnaan PAS.^{23,24,25}

Penghitungan ketebalan ketebalan epitel lidah tikus didapat dari spesimen lidah tikus wistar yang telah dikorbankan. Ketebalan epitel difoto menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dengan 1 lapang pandang. Ketebalan epitel lidah tikus dihitung dari startum basale sampai ujung lapisan keratin dengan menggunakan adobe photoshop.²⁶

Data yang diperoleh dilakukan analisis untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas hasil. Kemudian dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan uji statistik parametrik *One-way ANOVA*, kemudian dilanjutkan menggunakan uji *LSD*.

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan menggunakan statistik untuk menguji hipotesis menggunakan SPSS versi 16.0.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku penghitungan ketebalan epitel pada setiap kelompok percobaan dengan satuan mm.

Kelompok	Rerata ± Simpangan Baku
X1	59,273 ± 11,11
X2	115,166 ± 10,57
X3	99,432 ± 10,84
X4	94,777 ± 11,79
X5	86,995 ± 11,09

Keterangan :

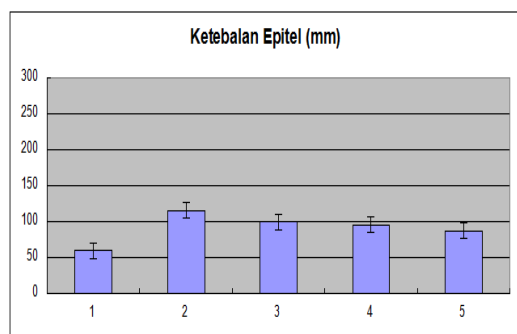
X1 = kelompok kontrol negatif

X2 = kelompok kontrol positif

X3 = kelompok perlakuan 1

X4 = kelompok perlakuan 2,

X5 = kelompok perlakuan 3.



Gambar 1. Ketebalan epitel mukosa lidah tikus wistar dari membran basalis sampai lapisan granular dengan satuan (mm) pada setiap kelompok percobaan.

Masing-masing kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji Statistik Shapiro Wilk (sampel yang digunakan ≤ 50) dan didapatkan hasil uji Shapiro Wilk memiliki nilai

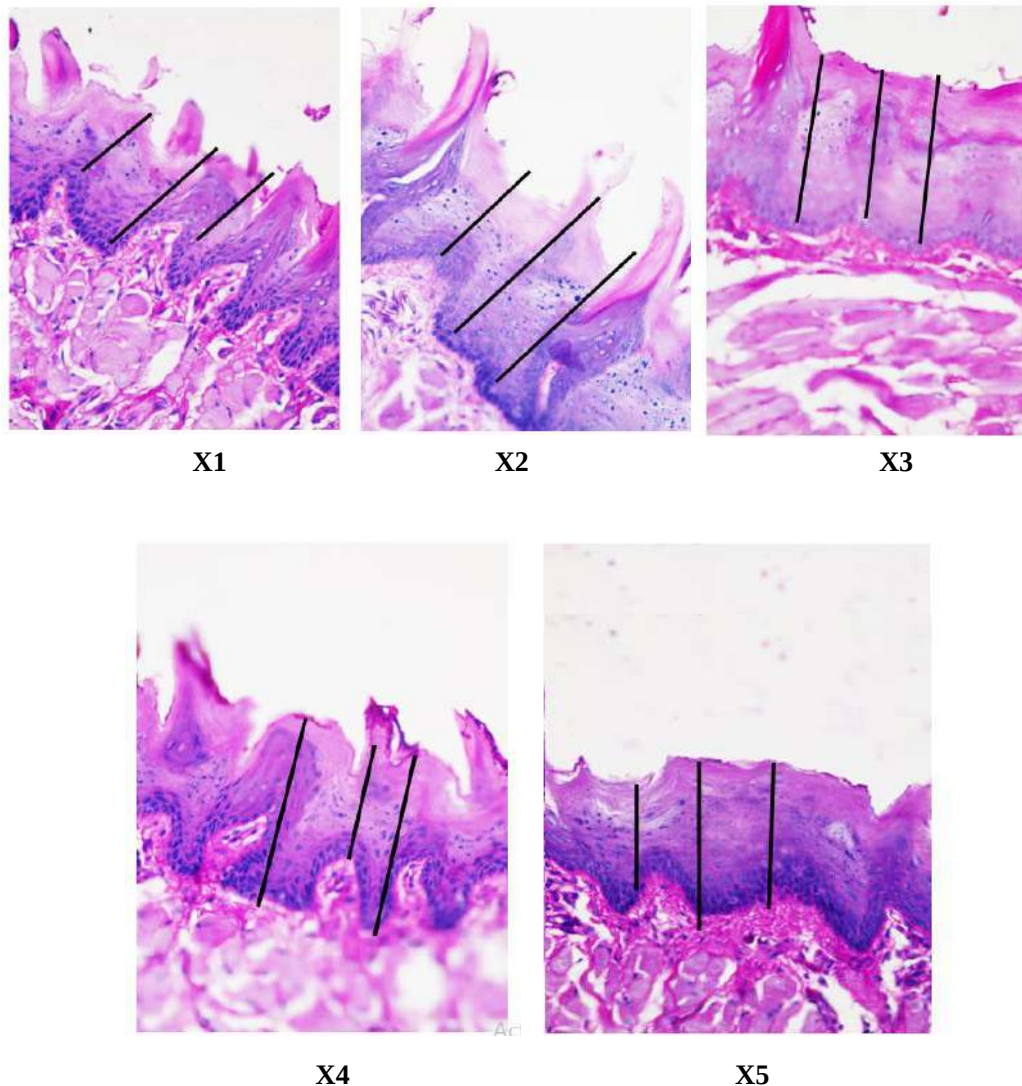
signifikan $p > 0,05$ sehingga didapatkan perbedaan ketebalan epitel lidah tikus wistar pada tiap kelompok terdistribusi normal.

Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi $> 0,05$ sehingga didapatkan data ketebalan epitel lidah tikus wistar antar kelompok adalah homogen.

Data penelitian yang terdistribusi normal dan homogen kemudian dianalisis menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan ketebalan epitel lidah tikus wistar yang bermakna antar kelompok.

Didapatkan hasil signifikansi yaitu 0.000^* ($p < 0.05$) sehingga ada perbedaan ketebalan epitel lidah tikus wistar yang bermakna antara kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan positif dan kelompok perlakuan. Analisis *Post Hoc* dengan uji LSD dilakukan untuk melihat perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok.

Berdasarkan hasil uji LSD dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok X1 dengan X2, X1 dengan X3, X1 dengan X4, X1 dengan X5, X2 dengan X3, X2 dengan X4, X2 dengan X5 dan X3 dengan X5.



Gambar 2. Ketebalan Epitel Lidah Tikus Wistar

Keterangan : X1 = kelompok kontrol negatif, X2 = kelompok kontrol positif, X3 = kelompok perlakuan 1, X4 = kelompok perlakuan 2, X5 = kelompok perlakuan 3.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bahan hidup (in vivo) yang memerlukan hewan percobaan karena mempunyai nilai pada setiap bagian tubuhnya. Jenis hewan coba adalah *Rattus Norvegicus Strain* Wistar, termasuk dalam beberapa strain tikus yang dapat digunakan dalam penelitian

yang memiliki karakteristik tertentu, sifat, struktur anatomi dan zat gizi yang diperlukan relatif serupa dengan manusia, serta mempunyai kesamaan dengan aspek fisiologis metabolis manusia. Penelitian ini menggunakan hewan percobaan yang sehat dan berkualitas sesuai dengan materi penelitian.^{27,28} Tikus wistar yang digunakan adalah jenis kelamin jantan

dengan berat 150-200 gram, umur 2 bulan. Hal ini dikarenakan untuk menghindari adanya pengaruh hormonal dalam proses penyembuhan dan memudahkan penanganan, serta pemeliharaan karena tubuhnya kecil.^{29,30}

Pemeriksaan parameter ketebalan epitel pada kerusakan jaringan tikus wistar yang mengalami *oral candidiasis* dapat diindikasikan pada lidah. Hal ini dikarenakan lidah merupakan organ yang mudah untuk diinduksi *Candida albicans* dan salah satu organ di rongga mulut yang paling peka terhadap perubahan yang terjadi di dalam tubuh³¹. Lidah yang terpapar asap rokok terdapat *Candida albicans* patogen lebih peka dan rentan dalam menyebabkan kerusakan jaringan epitel.

Berdasarkan hasil penelitian yang dapat dilihat pada tabel 5, didapatkan bahwa kelompok tikus yang diinduksi *Candida albicans* dengan konsentrasi akhir 3×10^8 CFU/mL (1 McFarland) sebanyak 0,1 mL selama 3 kali seminggu dalam interval 48 jam selama 8 minggu dengan cara oral swab dan dipapar asap rokok menggunakan rokok kretek 3 batang rokok per hari untuk 1 ekor tikus selama 8 minggu yang dipapar selama 40 detik, 1 kali sehari kelompok tikus yang diinduksi *Candida albicans* dan dipapar asap rokok memiliki ketebalan epitel lidah yang lebih tebal secara signifikan dibandingkan dengan tikus normal ($p < 0.05$).

Hal ini dikarenakan asap rokok mengandung oksidan, radikal bebas dan bahan karsinogenik yang tinggi dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di dalam tubuh mengaktifkan sinyal sel intraseluler pada epitel yang menyebabkan teraktivasi gen inflamasi seperti

Th17, IL-8 dan TNF α . Sekresi mediator inflamasi ini merekrut sel inflamasi kronis. Asap rokok akan memicu respon inflamasi Th17 yang mensekresi IL17A dan IL22.¹² Peningkatan ROS menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif memicu proliferasi sel yang dapat menyebabkan hiperplasia dan displasia pada membran basalis yang menyebabkan perubahan ketebalan epitel.^{32,33}

Pada perokok terjadi penurunan zat kekebalan tubuh (Antibody IgA) yang terdapat di dalam air ludah sehingga keseimbangan rongga mulut terganggu menyebabkan penurunan respon imun bawaan terhadap kolonisasi *Candida albicans*. Asap rokok memberi nutrisi terhadap *Candida albicans* berupa hidrokarbon aromatik yang menyebabkan perubahan *Candida albicans* dari bentuk blastospora ke bentuk hifa. Hifa akan menginvasi dan berpenetrasi ke dalam permukaan epitel rongga mulut sehingga pertumbuhan jamur akan semakin meningkat dan menyebabkan terjadinya infeksi yang disebut *oral candidiasis* yang mengakibatkan kerusakan jaringan.³⁴

Kerusakan jaringan diawali dengan mitosis pada sel basal yang bermigrasi dari stratum basalis, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum korneum. Kemudian terjadi proses inflamasi dan proliferasi sel keratin yang menyebabkan hiperkeratinisasi pada stratum korneum sehingga mengakibatkan perubahan pada ketebalan epitel lidah.^{35,36} Peningkatan invasi *Candida albicans* ke dalam permukaan epitel akan memicu respon berupa hiperplasia epitel, hiperkeratinisasi dan

peningkatan aktivitas mitosis sehingga mengakibatkan perubahan pada ketebalan epitel lidah.⁸

Pada penelitian ini pemberian ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) ternyata sudah mampu menurunkan ketebalan epitel lidah tikus akibat diinduksi *Candida albicans* dan dipapar asap rokok. Terbukti bahwa pada tikus yang diinduksi *Candida albicans*, dipapar asap rokok dan diberi ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan dosis 0.0225 mg/kgBB, 0.045 mg/kgBB dan 0.09 mg/kgBB sudah mampu menurunkan ketebalan epitel lidah tikus secara signifikan dibandingkan dengan tikus yang hanya diinduksi *Candida albicans* dan dipapar asap rokok.

Hal ini dikarenakan teripang emas (*Stichopus hermanii*) memiliki pengaruh terhadap radikal bebas dalam asap rokok yang banyak berperan sebagai antioksidan.³⁷ *Stichopus hermanii* mengandung steroid atau triterpen glikosida, saponin dan fenol. Kedua metabolit sekunder tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat. Saponin mengikat superoksida dengan membentuk hidroperoksida intermediet sehingga mencegah kerusakan biomolekular akibat radikal bebas.³⁸ Fenol bekerja dengan mencegah oksidasi zat yang peka akan oksidasi udara. Fenol bereaksi dengan menghancurkan radikal peroksi (ROO*) dan radikal hidroksi (HO*). Radikal peroksi dan radikal hidroksi mencabut atom hidrogen fenol menghasilkan radikal fenoksi yang lebih stabil.^{39,40} Sehingga radikal bebas yang terbentuk dapat diminimalisir dan stres oksidatif dapat dicegah.

Teripang emas mengandung senyawa triterpen glikosida yang

memiliki kemampuan sebagai antitumor. Triterpen menginduksi apoptosis sel tumor melalui aktivasi jalur kematian sel. Triterpen glikosida mampu meregulasi reseptor seluler dan enzim yang berperan dalam *carcinogenesis*, seperti EFGR (*Ephitelial Growth Factor Receptor*), ERK (*Extracellular signal-regulated kinase*), dan FAK (*Focal Adhesion Kinase*). Triterpen glikosida meregulasi enzim EFGR (*Ephitelial Growth Factor Receptor*) untuk tidak bermutasi, mutasi dari EFGR dapat menyebabkan proliferasi sel epitel. ERK mengatur proses seluler seperti proliferasi dan diferensiasi dan FAK mengatur pertumbuhan sel dan proliferasi sel, sehingga proliferasi sel yang berlebih dapat ditekan.²⁰

Teripang emas (*Stichopus hermanii*) mengandung senyawa anti *Candida* seperti saponin. Saponin berperan meningkatkan respon sel imun dalam tubuh, mampu memutus membran sel *Candida albicans* sehingga menyebabkan kerusakan membran sel jamur dan memiliki peran khusus dalam proses epitelisasi.⁴¹ Teripang emas juga mengandung vitamin seperti riboflavin dan niasin¹⁸. Riboflavin merupakan vitamin B2 sebagai senyawa antioksidan yang melindungi lipid, protein, dan DNA dari kerusakan oksidatif. Riboflavin menyebabkan perubahan dalam reaksi redox melalui *cofactors flavin mononucleotide* (FMN) dan *flavin-adenine dinucleotide* (FAD) sebagai pembawa elektron.⁴² Niasin merupakan vitamin B3 sebagai senyawa antioksidan yang berbentuk koenzim, *nicoti- namide adenine dinucleotide* (NAD) dan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADP). Banyak enzim di dalam tubuh yang memerlukan koenzim niasin,

NAD dan NADP yang berfungsi untuk menerima atau memberi elektron dalam reaksi redoks.⁴³

Teripang emas mengandung protein tinggi yang mampu memperkuat sel untuk mengeluarkan antibodi. Kandungan kolagen yang tinggi menyebabkan teripang disebut imunomodulator.⁴⁴ Teripang emas juga mengandung asam amino yang berfungsi sebagai zat pembangun yang menyediakan bahan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan tubuh. Asam amino sangat diperlukan untuk menjaga fungsi sel tetap normal dan perbaikan luka.^{45,46} Asam amino yang terkandung dalam teripang emas seperti: alanin, arginin, asam aspartat, asam glutamat, dan glisin.¹⁸

Arginin merupakan bagian yang potensial untuk insulin, hormon pertumbuhan, dan prolaktin. Hormon pertumbuhan dapat meningkatkan produksi limfosit-T di timus. Arginin diperlukan untuk proliferasi limfosit-T dalam merespon mitogen dan untuk membunuh sel tumor oleh aktivasi makrofag.⁴⁷ Glisin sangat penting untuk proliferasi dan pertahanan antioksidan dari leukosit. Glisin berperan mengatur produksi sitokin oleh leukosit dan sistem kekebalan tubuh. Di dalam makrofag, glisin meningkatkan konsentrasi intraseluler dan mengurangi masuknya Ca^{2+} sehingga mengurangi produksi superoksida, IL-1 dan $TNF\alpha$. Pengurangan produksi tersebut dapat menurunkan MMP-9 dan dapat meminimalisasi terjadinya hiperkeratinisasi.^{48,49}

Dengan demikian, epitel lidah yang diinduksi *Candida albicans* dan dipaparan asap rokok dapat diproteksi karena diberi ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan dosis

0.09mg/kgBB yang memiliki pengaruh sebagai antioksidan, antijamur dan anti tumor. Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan dosis 0.09 mg/kgBB merupakan pemberian yang paling baik karena paling banyak menurunkan ketebalan epitel lidah tikus wistar. Dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diberikan terapi, teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan dosis 0.0225 mg/kgBB sudah mampu menurunkan ketebalan epitel lidah, namun masih lebih tinggi dibanding dengan kelompok tikus yang diberi teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan dosis 0.045 mg/kgBB. Hal ini dikarenakan pemberian dosis yang lebih sedikit menyebabkan efek farmakologi obat lebih kecil, sehingga pengaruhnya juga lebih sedikit.⁵⁰

SIMPULAN

Pada penelitian ini secara umum dapat disimpulkan bahwa suplementasi ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dosis 0,0225mg/kgBB, 0,045mg/kgBB dan 0,09mg/kgBB tidak efektif dalam mencegah *oral candidiasis* pada tikus wistar. Dosis teripang emas (*Stichopus hermanii*) 0,09mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif dalam mencegah *oral candidiasis* pada tikus wistar. Namun sudah efektif dalam menurunkan ketebalan epitel lidah tikus wistar dengan *oral candidiasis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Djoka RM, Lampus BS, Mintjekungan C. Gambaran Perokok dan Angka Kejadian Lesi Mukosa Mulut di Desa Monsongan Kecamatan Banggai Tengah. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 2013; 1(1): 44-38.
2. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwel VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta. EGC. h.609-612.

3. Abegg MA, Gil APV, Anderson C, Jaqueline H, Boeira ST, Schäfer HF. 2010. Response to Oxidative Stress in Eight Pathogenic Yeast Species of the Genus *Candida*. *Mycopathologia*. 2010; 170: 20-11.
4. Abraham CM. Advances and Emerging Techniques in the Identification, Diagnosis and Treatment of Oral Candidiasis. *The Open Pathology Journal*. 2011;5:1-8.
5. Komariah RS. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*. 2012; XXVIII(1): 47-39.
6. Akpan A, Morgan R. *Oral candidiasis*. *Postgrad Med J*. 78:455–459. 2002 [Cited 12 March 2015]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1742467/pdf/v078p00455.pdf>.
7. Nagao T, Ikeda N, Fukano H, Hashimoto S, Shimazato K, Warnakulasuriya S. Incidence Rates for Oral Leukoplakia and Lichen Planus in A Japanese Population. *Journal of Oral Pathology and Medicine* Vol.34(9), p.532-539. 2005 [Cited July 6 2015]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0714.2005.00349.x/abstract>.
8. Sitheequ MAM, Samaranayake LP. Chronic Hyperplastic Candidosis/ candidiasis (Candidal Leukoplakia). *Critical Reviews In Oral Biology And Medicine*, v. 14 n. 4, p. 253-267. 2003 [13 March 2015]. Available from: <http://www.exodontia.info/files/Critical Reviews In Oral Biology Medicine 2003. Chronic Hyperplastic Candidosis-Candidiasis Candidal Leukoplakia .pdf>.
9. Sanjaya PR, Gokul S, Patil BG, Raju R. *Candida* in Oral Pre-Cancer and Cancer. *Medical Hypotheses* 77. 1125–1128. 2011 [Cited 17 March 2015]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21978967>.
10. Bruckner AW. Proceedings of The CITES Workshop on The Conservation of Sea Cucumbers in the Families Holothuriidae and Stichopodidae. NOAA Technical Memorandum NMFSOPR 34: 20-29. 2006 [15 March 2015]. Available from <http://www.nmfs.noaa.gov/pr/pdfs/nmfsopr34.pdf>.
11. Junus N. 2012. Sistem Hukum Pengelolaan Wilayah Pesisir dan Laut Menurut Undang-Undang Pemerintahan Daerah. *Jurnal Inovasi*. 9(2):1-9. 2012 [March 16, 2015]. Available from: <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/JIN/article/view/718>. Accessed
12. Lee J, Taneja V, Vassallo R. 2012. Cigarette Smoking and Inflammation: Cellular and Molecular Mechanisms. *J Dent Res*. 2012; 91(2):149-142.
13. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J*. 2012; 5(1): 19-9.
14. Hawa I, Zulaikhah M, Jamaludin M, Zainal Abidin AA, Kaswandi MA, Ridzwan BH. The Potensial of The Poelomic Fluid in Sea cucumber as an Antioxidant. *Mal J Nutr*. 1999; 5: 59-55.
15. Parisihni K, Revianti S, Pringgenies D. The Antifungal Effect of *Stichopus hermanii* Extract to *Candida albicans* In Vitro. Prosiding pada Hiroshima Conference on Education Science in Dentistry. 2013: 13-12.
16. Parisihni K, Revianti S, Pringgenies D. Daya Anti Jamur Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap *Candida albicans* In ViVo. Prosiding Simposium Nasional “Peluang dan Tantangan Obat Tradisional dalam Pelavanan Kesehatan Formal”. 2014. h.129-123.
17. Putri DI. Efek Proteksi Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Kadar Malondialhida (MDA) pada Kelenjar Parotis Tikus Wistar Akibat Stresor pada Rongga Mulut [Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya.
18. Bordbar S, Anwar F, Saari N. High Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods-A Review. *Mar Drugs*. 2011; 9: 1805-1761. Available from http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CBB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.mdpi.com%2F1660-3397%2F9%2F10%2F1761%2Fpdf&ei=I0IPVdjdDNC5uATw24DQDQ&usq=AFQjCNETixf7IlxbK5HgaPfbNM8SC4cLJA&sig2=YzCx1Sb1-erCY0hf_82ERA&vm=bv.92885102,d.c2E. Accessed. March 16, 2015
19. Zou Z, Yi Y, Wu H, Wu J, Liaw C, Lee K. 2003. Intercedensides A–C, three new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* Lampert. *J. Nat. Prod*, 66, 1055–1060. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np030064y>. Accessed. April 16, 2015
20. Aminin DL, Menchinskaya ES, Pislugin EA, Silchenko AS, Avilov SA, Kalinin VI. 2015. Anticancer activity of Sea Cucumber Triterpen Glycosides. *Mar Drugs*. 2015 mar 6;13(3):1202-23. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25756523>. Accessed. May 16, 2015.
21. Winarni Dwi, Handono Cipto Dwi, Sugiharto, 2013. Efek Immunostimulatori Beberapa Fraksi Teripang Lokal *Phyllophorus* sp Terhadap Histologi Limfa Mencit (*Mus musculus*) yang

- Diinfeksi Mycobacterium tuberculosis. Media Jurnal Ilmiah Biologi FST Volume: 1-No.1 Terbit: 1: 1-13.
22. Takakura N, Wakabayashi H, Ishibashi H, Teraguchi S, Tamura Y, Yamaguchi H, Abe S. 2003. Oral Lactoferrin treatment of experimental Oral Candidiasis in Mice. *Antimicrobial, Agents and Chemotherapy*. Aug. 2003: 2619-2623. Available from <http://aac.asm.org/content/47/8/2619.full.pdf+html>. Accessed. May 5, 2015.
 23. Reily JS. 2003. Euthanasia of Animals Used for Scientific Purposes. Australian and New Zealand Council for the Care of Animals in Research and Teaching. Australia. p.46.
 24. Taguchi K, Maruyama T, Iwao Y, Sakai H, Kobayashi K, Horinouchi H, Tsuchida E, Kai T, Otagiri M. 2009. Pharmacokinetics of single and repeated injection of hemoglobin-vesicles in hemorrhagic shock rat model. *Journal of Controlled Release Vol. 136, issue 3, 19 June 2009*: 232-239. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19245823>. Accessed May 8, 2015.
 25. Mallon FM. 2013. Investigation and Animal Care Training. Villanova University. p.31.
 26. Carrard VC, Pires AS, Badauy M, Rados PV, Lauxen IS, Fihlo MS. 2008. Effects of Aging on Mouse Tongue Epithelium Focusing on Cell Proliferation Rate and morphological Aspects. *Bull Tokyo Dent Coll* 49(4): 199-205. Available from http://www.researchgate.net/profile/Manoel_Filho2/publication/24406931_Effects_of_aging_on_mouse_tongue_epithelium_focusing_on_cell_proliferation_rate_and_morphological_aspects/links/0c96053760eff9db27000000.pdf. Accessed April 16, 2015
 27. Ridwan E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian. *J Indon Mad Assoc*, Volum : 63, No 3, Maret 2013.
 28. Rukmini A, 2007. Regenerasi Minyak Goreng Bekas Dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. Seminar Nasional Teknologi 2007. ISSN 1978-9777. h. 60.
 29. Suwandi T. 2012. Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosela Menurunkan Malondialdehid pada Tikus yang diberi Minyak Jelantah. Tesis. Universitas Udayana Denpasar. p.89-90.
 30. Inggriani N. 2012. Pemberian Ekstrak Biji Irvingia gobonensis Mencegah Kenaikan Berat Badan dan Berat Lemak Abdominal pada Tikus Jantan yang Diberi Diet Tinggi Karbohidrat dan Lemak. Tesis. Denpasar: Universitas Udayana.
 31. Guyton AC. 2001. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran (Indera Kimia Pencernaan dan Penciuman). Alih Bahasa : Irawati Setiawan. Jakarta. EGC. p.841-6.
 32. Calo LA, Pagnin E, Davis PA, Semplicini A, Nicolai R, Calvani M, Pessina AC. 2006. Antioxidant effect of L-carnitine and its short chain esters: relevance for the protection from oxidative stress related cardiovascular damage. *Int J Cardiol*. 2006 Feb 8;107(1):54-60. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16337498>. Accessed January 15, 2016.
 33. Naderi JN, Semyari H, Elahinia Z. 2015. The Impact of Smoking on Gingiva: a Histopathological Study. *Iranian Journal of Pathology* (2015) 10 (3), 214 - 220. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4539769/>. Accessed February 14, 2016.
 34. Alanazi H, Semlali A, Perraud L, Chmielewski E, Zakrzewski A, Rouabhi A. 2014. Cigarette Smoke-Exposed *Candida albicans* Increased Chitin Production and Modulated Human Fibroblast Cell Responses. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014*, Article ID 963156: 1-11. Available from <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/963156/>. Accessed. March 17, 2015.
 35. Mjor LA and Fejerskov IO. 1991 Embriologi dan Histologi Rongga Mulut (terjemahan). Cetakan I, Widya Medika, Jakarta. p.190-226.
 36. Greenberg MS, Glick M, Ship JA. 2008. *Burket's Oral Medicine* 11th ed. Hamilton: BC Decker Inc. p.79.
 37. Hagerman AE, 2002. Tannin Chemistry. Handbook. Miami University, Oxford. h. 16-18.
 38. Khan MM, Naqvi TS, Naqvi MS. 2012. Identification of Phytosaponins as Novel Biodynamic Agents: An Updated Preview. *Asian J.Exp.Biol.Sci* 3(3) 2012: 459-467. Available from <http://www.ajebs.com/vol3%283%29/1.pdf>. Accessed March 24, 2015.
 39. Mailandari M. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Garcinia kydia Roxb. Dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi yang Aktif. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok. p.9.
 40. Makaryati R. 2014. Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Metode FTC dan DPPH. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. p.4.
 41. Arif T, Bhosale JD, Kumar N, Mandal TK, Bendre RS, Lavekar GS, Dabur R. 2009. Natural Products-Antifungal Agents Derived From Plants. *Journal of Natural Products*

- Research* Vol.11. No.7. July: 621-638. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20183299>. Accessed. March 30, 2015.
42. EFSA. 2010. EFSA Panel on Dietetic Product, Nutrition and Allergic (NDA). *EFSA Journal* 2010; 8 (10): 1814: 1-28.
 43. Riordan HD, Mikirova N, Taylor PR, Feldkamp CA, Casciari JJ. 2012. The effects of a Primary Nutritional Deficiency (Vitamin B Study). *Food and Nutrition Sciences*, 2012,3,1238-1244. Available from <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.39163>. Accessed December 26, 2015.
 44. Widodo A. 2011. *Budidaya Teripang Khasiat dan Cara Olah untuk Pengobatan*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press. p.2-3, 12-22.
 45. Sendih S, Gunawan. 2006. *Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab Dari Laut*. Jakarta: Agromedia Pustaka. p.31.
 46. Maghfiroh A. 2014. *Efektivitas Pemberian Gel Ekstrak Etanol Teripang Emas Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Osteoblas pada Proses Penyembuhan Luka PAsca Ekstraksi Gigi*. Skripsi. Surabaya: Universitas Hang Tuah Surabaya.
 47. Li P, Yin YL, Li D, Kim SW, Wu G. 2007. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition* (2007), 98, 237–252. Available from https://www.researchgate.net/profile/Yulong_Yin/publication/51384857_Amino_acids_and_immune_function/links/09e4151008381cf3a6000000.pdf. Accessed December 12, 2015.
 48. Zhong Z, Wheeler MD, Li XL, Froh M, Schemmer P, Yin M, Bunzendaul H, Bradford B, Lemasters JJ. 2003. Glycine: a novel anti-inflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 6, 229–240. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12589194>. Accessed December 27, 2015
 49. Kim SW, Mateo RD, Yin YL, Wu G. 2007. Functional amino acids and fatty acids for enhancing production performance of sows and piglets. *Asian-Aust J Anim Sci* 20, 295–306. Available from <http://www.ajas.info/upload/pdf/20-40.pdf>. Accessed December 15, 2015.
 50. Jas A. 2009. *Perihal Resep & dosis*. Medan. USU press. p.1-10.

RESEARCH ARTICLE

Pengaruh Atribut Merek Terhadap Brand Awareness di Rumah Sakit Gigi dan Mulut Nala Husada

(Influence Of Brand Attributes to Brand Awareness in Nala Husada Dental Hospital)

Ghita Hadi Hollanda*, Aulia Dwi Maharani**

*Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: The company is able to be the basis of the formation of customer loyalty and fanaticism of the product or service through a strong brand. Having a strong brand is a vital aspect for any company, because the advantage gained diverse. Based on the data in 2014 and 2015, it showed the decreased number of patients at the Nala Husada Dental Hospital from 2014 to 2015 amounted to 949 people (8%), as well as the number of patients in the Polyclinic of Dental Specialists, were 14,6% (348 patients) from ideal capacity (2384 patients). **Purpose:** The aim of this study is to find out the influence of brand attributes to brand awareness in Nala Husada Dental Hospital. **Methods:** This study was an observational study that used 200 responses from the patients population of Nala Husada Dental Hospital. The study was conducted at Nala Husada Dental Hospital from March-April 2018. **Results:** The results showed that the characteristics of patients who seek treatment at the Nala Husada Dental Hospital were majority adults in productive age (25-35 years old), at middle to lower-end of socio-economic class, and had the education level of SLTA grade. Most of respondents had bad perception for the brand attributes of Nala Husada Dental Hospital. Most of them had low brand awareness towards the Nala Husada Dental Hospital. There was a tendency if the brand attributes were good, the brand awareness was getting better.

Keywords: Brand Attributes, Brand Awareness.

Correspondence: Ghita Hadi Hollanda; Department of Dental Public Health; Faculty of Dentistry; Universitas Hang Tuah; Arif Rahman Hakim No. 150, Surabaya; Phone +6231-5912191; Email: gh.hollanda@gmail.com

PENDAHULUAN

Penyelenggaraan pembangunan kesehatan saat ini semakin kompleks sejalan dengan perkembangan demokrasi, desentralisasi, dan globalisasi (Depkes, 2004). Hal tersebut seiring dengan semakin cepatnya perubahan berbagai kebijakan pemerintah, perekonomian, teknologi, dan perilaku pelanggan. Rumah sakit sebagai penyelenggara pelayanan kesehatan semakin berkembang sehingga menyebabkan peningkatan persaingan antar rumah sakit.

Salah satu jasa pelayanan perawatan yang diselenggarakan oleh rumah sakit adalah pelayanan rawat jalan. Pelayanan rawat jalan kini merupakan pelayanan yang menjadi perhatian utama rumah sakit seluruh dunia, karena jumlah pasien rawat jalan jauh lebih besar dari pasien rawat inap (Sholeh, 1993). Jumlah pasien rawat jalan merupakan sumber pangsa pasar yang besar, sehingga diprediksi mampu mengimbangi pendapatan dari pasien rawat inap dimasa mendatang. Hal ini tentunya akan meningkatkan pendapatan finansial rumah sakit.

Rumah Sakit Gigi dan Mulut Nala Husada (selanjutnya disebut RSGM Nala Husada) adalah rumah sakit gigi dan mulut milik Yayasan Nala. Jenis pelayanan kesehatan rawat jalan yang diselenggarakan oleh RSGM adalah Instalasi Gawat Darurat Umum, Instalasi Gawat Darurat Gigi, Poliklinik Medik Spesialis dan Poliklinik Mahasiswa. RSGM UHT memiliki poliklinik Medik Spesialis dengan 4 ruangan pelayanan untuk pasien umum yang didalamnya terdapat masing-masing 1 dental unit.

Dalam satu tahun perhitungan waktu pelayanan Poliklinik Medik

Spesialis untuk tindakan medis bedah minor adalah 23 jam x 48 minggu x 60 menit = 66.240 menit. Sehingga dapat dihitung kapasitas maksimal dalam melakukan tindakan medis bedah minor adalah $66.240 : 50 \text{ menit} = 1.324$ pasien. Sedangkan untuk kapasitas idealnya adalah $80\% \times 1.324 \text{ pasien} = 1.059 \text{ pasien}$.

Dalam satu tahun perhitungan waktu pelayanan Poliklinik Medik Spesialis untuk tindakan medis spesialistik non bedah adalah 23 jam x 48 minggu x 60 menit = 66.240 menit. Sehingga dapat dihitung kapasitas maksimal dalam melakukan tindakan medis spesialistik non bedah adalah $66.240 : 40 \text{ menit} = 1.656 \text{ pasien}$. Sedangkan untuk kapasitas idealnya adalah $80\% \times 1.656 \text{ pasien} = 1.325 \text{ pasien}$.

TINJAUAN PUSTAKA

Rumah Sakit Gigi dan Mulut (selanjutnya disingkat RSGM) adalah sarana pelayanan kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan kesehatan gigi dan mulut perorangan untuk pelayanan pengobatan dan pemulihan tanpa mengabaikan pelayanan peningkatan kesehatan dan pencegahan penyakit yang dilaksanakan melalui pelayanan rawat jalan, gawat darurat dan pelayanan tindakan medis (Permenkes No. 1173, 2004).

Schultz (2004), merek adalah sesuatu yang dapat diidentifikasi oleh pembeli dan penjual sehingga menciptakan nilai bagi keduanya. Sedangkan menurut Susanto dan Wijanarko (2004), merek adalah nama atau simbol yang diasosiasikan dengan produk atau jasa dan menimbulkan arti psikologis atau asosiasi sehingga dapat disimpulkan bahwa *brand* adalah

identifikasi yang berupa nama atau simbol yang mempengaruhi proses pemilihan suatu produk atau jasa yang membedakannya dari produk pesaing serta mempunyai nilai bagi pembeli dan penjualnya. Merek di kategorikan menjadi atribut sebuah *brandname*, *brand mark*, *brand equity*, dan *master brand*. Sementara itu, kekuatan sebuah *brand* terletak pada kemampuannya mempengaruhi perilaku pembeli.

David Aakers, mengatakan bahwa untuk memenangkan persaingan, harus memiliki ekuitas merek yang kokoh. Ekuitas merek dibangun oleh 5 makna yaitu *Brand Awareness*, *Brand Association*, *Perceived Quality*, *Brand Loyalty* dan *Brand Charisma*.

Kesadaran merek (*brand awareness*) adalah kesanggupan seorang calon pembeli untuk mengenali atau mengingat kembali bahwa suatu merek merupakan bagian dari kategori produk tertentu. Peranan *brand awareness* dalam keseluruhan *brand equity* tergantung dari sejauh mana tingkatan kesadaran yang dicapai oleh suatu merek.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi observasional analitik dengan pendekatan kuantitatif dan menggunakan desain *cross sectional*. Lokasi penelitian dilakukan di RSGM Nala Husada. Penelitian berlangsung selama bulan Maret 2018 sampai dengan April 2018.

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien RSGM Nala Husada. Besar sampel dalam penelitian ini berjumlah 200 orang

Variabel penelitian terdiri dari Faktor pasien (Umur, Pendidikan, dan Pendapatan), Faktor rumah sakit

(Sumber Daya Manusia, Sarana dan Prasarana), Persepsi pasien terhadap Atribut merek dan *Brand awareness* pasien.

Instrumen penelitian berupa kuesioner yang sudah dilakukan uji validitas dan reliabilitas, dan diolah (probabilitas korelasi dan konsistensi *cronbach's alpha*).

HASIL

Karakteristik pasien RSGM UHT

Mayoritas pasien yang berobat di RSGM Nala Husada berada pada kategori usia dewasa, yaitu antara 25 tahun hingga < 35 tahun, sebesar 112 pasien. Berdasarkan hasil data tersebut, dapat diartikan bahwa rata-rata usia pasien yang berobat ke RSGM Nala Husada berada pada kategori usia dewasa yang produktif dan potensial.

Berdasarkan tingkat pendidikan pasien, terlihat 128 pasien memiliki tingkat pendidikan SLTA atau sederajat. Tingkat pendidikan tinggi yang dimiliki oleh pasien, memiliki arti bahwa pasien dapat diajak berkomunikasi dengan baik serta dapat memberi masukan yang positif bagi pengembangan dan perbaikan RSGM Nala Husada.

Berdasarkan tingkat pendapatan pembayar biaya perawatan sebanyak 98 pasien memiliki pendapatan dibawah UMR (< Rp 3.045.000). Hal ini berarti kelas ekonomi pasien berada di tingkat menengah ke bawah.

Persepsi pasien tentang atribut merek RSGM Nala Husada

Proses yang terjadi dalam individu pasien dalam menafsirkan, mengorganisasikan, menginterpretasikan, dan memberikan penilaian terhadap merek RSGM Nala Husada. Persepsi

pasien tentang atribut merek RSGM yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Distribusi Persepsi Pasien tentang Atribut Merek RSGM Nala Husada

No	Persepsi	Frekuensi (n)	Persentase (%)
1.	Persepsi Buruk	164	82
2.	Persepsi Baik	36	18
	Total	200	100

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa 82% pasien memiliki persepsi yang buruk terhadap merek RSGM Nala Husada. Hal ini berarti bahwa merek RSGM Nala Husada belum mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi perilakupasien.

Brand Awareness RSGM Nala Husada

Brand awareness adalah kesanggupan seorang pasien untuk mengenali atau mengingat kembali bahwa RSGM Nala Husada merupakan bagian dari kategori produk pelayanan gigi. Penilaiannya adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Distribusi *Brand Awareness* Pasien tentang RSGM Nala Husada

No	<i>Brand Awareness</i>	Frekuensi (n)	Persentase (%)
1	Rendah	148	74
2	Tinggi	52	26
	Total	200	100

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa sebagian besar (74%) pasien memiliki *brand awareness* yang rendah terhadap RSGM Nala Husada. Hal ini berarti bahwa merek RSGM Nala Husada kurang diingat dan dikenali oleh pasien.

Analisis Pengaruh Atribut Merek terhadap Brand Awareness di RSGM Nala Husada

Berikut adalah hasil analisis pengaruh atribut merek terhadap *brand awareness* di RSGM Nala Husada.

Tabel 3. Tabulasi Silang Persepsi Atribut Merek dengan *Brand Awareness* di RSGM Nala Husada

Persepsi Atribut Merek	<i>Brand Awareness</i>				Total	%
	Rendah	%	Tinggi	%		
Persepsi Buruk	139	84,8	25	15,2	164	100
Persepsi Baik	9	25	27	75	36	100
Total	148	74	52	26	200	100

Pada Tabel 3 diketahui terdapat 139 pasien yang mempunyai persepsi buruk terhadap atribut merek dan juga memiliki *brand awareness* yang rendah. Ada kecenderungan jika atribut merek tentang RSGM Nala Husada baik, maka *brand awareness* tentang RSGM Nala Husada juga semakin baik.

PEMBAHASAN

Persepsi Pasien Tentang Atribut Merek RSGM Nala Husada

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar pasien memiliki persepsi yang buruk terhadap atribut merek RSGM Nala Husada. Hal ini berarti bahwa merek RSGM Nala Husada belum mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi perilaku pasien. Drezner (2002) mengungkapkan bahwa konsumen tidak bereaksi terhadap realitas melainkan terhadap apa yang mereka anggap sebagai realitas, sehingga atribut merek dilihat sebagai serangkaian asosiasi yang dilihat dan

dimengerti oleh konsumen, dalam jangka waktu tertentu, sebagai akibat dari pengalaman dengan merek tertentu secara langsung ataupun tidak langsung. Asosiasi ini bisa dengan kualitas fungsional sebuah merek ataupun dengan individu dan acara yang berpengaruh dengan merek tersebut. Meskipun tidak mungkin setiap konsumen memiliki citra yang sama persis akan suatu merek, namun persepsi mereka secara garis besar memiliki bagian-bagian yang serupa.

Atribut merek adalah kesan keseluruhan terhadap posisi merek ditinjau dari persaingannya dengan merek lain yang diketahui konsumen atau apakah merek tersebut dipandang konsumen sebagai merek yang kuat. Sebagian alasan konsumen memilih suatu merek karena mereka ingin memahami diri sendiri dan untuk mengomunikasikan aspek diri mereka ke orang lain. Citra merek ini bisa diukur dengan menanyakan atribut apa dari suatu merek yang merupakan pilihan konsumen dalam satu kategori produk yang membedakannya dengan merek lain, mengapa atribut-atribut itu penting dan mengapa alasan itu penting bagi konsumen.

Dalam meningkatkan persepsi pasien mengenai atribut merek, RSGM Nala Husada juga harus meningkatkan pelayanan yang lebih baik dalam melayani pasien. Hal ini untuk meningkatkan *brand image* yang lebih baik di mata pasien, sehingga pasien tidak merasa jera dan beralih ke rumah sakit lain. Hal ini juga sejalan dengan penelitian Rahmat (2013) yang menyatakan bahwa atribut merek dipengaruhi oleh pelayanan yang diberikan oleh rumah sakit. Masih minimnya kegiatan promosi yang dilakukan RSGM Nala Husada juga mempengaruhi pandangan pasien

mengenai RSGM Nala Husada, selama ini kegiatan promosi RSGM hanya pada pemasangan papan nama di depan RSGM Nala Husada dan pengobatan gratis yang dilakukan setahun sekali yang bekerjasama dengan produk pasta gigi.

Brand Awareness Pasien Tentang RSGM Nala Husada

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *brand awareness* RSGM Nala Husada rendah. Hal ini berarti bahwa merek RSGM Nala Husada kurang diingat oleh pasien. Kesadaran merek (*brand awareness*) dapat didefinisikan sebagai kemampuan pembeli potensial untuk mengenali (*recognize*) atau mengingat kembali (*recall*) suatu merek sebagai bagian dari suatu kategori produk. Menurut Durianto (2004), kesadaran merek (*brand awareness*) adalah kesanggupan seorang calon pembeli untuk mengenali dan mengingat merek sebagai bagian dari suatu produk dengan merek yang dilibatkan. Semakin tinggi tingkat kesadaran merek (*brand awareness*) suatu merek dalam benak konsumen, akan semakin melekat suatu merek dalam benak konsumen, sehingga makin besar kemungkinan merek tersebut dipertimbangkan dalam pembelian dan makin besar pula kemungkinan ia akan dipilih oleh konsumen.

Brand awareness RSGM Nala Husada akan menjadi baik apabila ketika konsumen mendengar kata pengobatan gigi, konsumen langsung ingat dengan RSGM Nala Husada hal ini berarti merek RSGM Nala Husada memberikan jaminan kualitas dan bukan hanya sekedar simbol. Kondisi ini dibuktikan dengan konsumen tidak mengetahui bahwa RSGM Nala Husada sebagai sebuah merek Rumah

Sakit Gigi dan Mulut, hal ini mengindikasikan merek RSGM Nala Husada belum memiliki nilai tinggi yang akan di hargai oleh konsumen sebagai merek yang berkualitas, sehingga dapat mencerminkan siapa pengguna merek tersebut.

Seharusnya ketika konsumen dapat mengingat RSGM Nala Husada, langsung menghubungkannya dengan pengobatan gigi dan mulut, berarti semakin tepat merek RSGM Nala Husada di benak pelanggan maka merek tersebut akan semakin kompetitif. Hal ini sejalan dengan penelitian Hartiningtyas (2010) yang mengungkapkan bahwa dengan adanya *brandawareness* yang meningkat atau menguat sangat berpengaruh terhadap keputusan pembelian, jadi implikasinya semakin meningkat *brand awareness* maka akan semakin meningkat keputusan untuk berobat di RSGM Nala Husada.

Pengaruh Branding Terhadap Brand Awareness di RSGM UHT

Menurut hasil penelitian ada kecenderungan jika atribut merek tentang RSGM Nala Husada baik, maka *brand awareness* tentang RSGM Nala Husada juga semakin baik. Hasil penelitian ini juga dikuatkan oleh hasil penelitian yang lain, bahwa atribut merek mampu meningkatkan kesadaran merek (*brand awareness*) para konsumen terhadap produk. Semakin banyak dan berkualitas kegiatan *advertising* atau promosi yang dilakukan oleh pihak RSGM Nala Husada maka semakin besar pula *brandawareness* yang terbentuk di benak konsumen. Penelitian ini mendukung penelitian Shapiro & Krishnan (2001), Baker, Honea & Russell (2004), Till & Baack (2005).

SIMPULAN DAN SARAN

Karakteristik pasien yang berobat di RSGM UHT mayoritas adalah pasien berusia dewasa produktif (25-35 tahun), berada dalam kelas sosio-ekonomi menengah ke bawah, dan memiliki tingkat pendidikan tamat SLTA. Sebagian besar pasien memiliki persepsi yang buruk tentang atribut merek RSGM Nala Husada. Sebagian besar pasien memiliki *brand awareness* yang rendah tentang RSGM Nala Husada. Ada kecenderungan jika persepsi pasien tentang atribut merek RSGM Nala Husada baik, maka *brand awareness* tentang RSGM UHT juga semakin tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al Ries dan Laura Ries, *The Immutable Laws of Branding*, Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan Hermawan Kartajaya; 1998.
2. Aaker, D. A., *Building Strong Brands*, New York: Free Press; 1996.
3. Baker, J. B., Bazemore, A. W. and Jacobson, C. J., Rappid Assesment of Access To Primary Care in Remote Parts of Developing World. *Fields Methods*. 2008; Volume 3, p. 298. Retrived: Mei 18, 2015, from: http://shouldertoshoulder.org/wp-content/uploads/2013/03/s2s_primary_care_access_assessment.pdf
4. Cromley, E. K. and McLafferty, S. L., *GIS and Public Health*. 2 ed. New York: The Guildford Press; 2012.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Sistem Kesehatan Nasional. Jakarta; 2004.
6. Drezner, W. A *Balanced Perspective on Brands*. Baringstroke : Mc Millan; 2002.
7. Durianto, D., C. Liana. Analisis Efektifitas Iklan Televisi Softener & fresh di Jakarta dan sekitarnya dengan menggunakan Consumer Decision Model. *Jurnal Ekonomi perusahaan*. 2004; 11(1): h. 55-35.
8. Ferrell, O.C., Hartline, M.D. *Marketing Strategy 4th Edition*, USA: Thomson South-Western; 2008.
9. Hasyim, Fatchun. Pengaruh Kegiatan Promosi Terhadap Kesadaran Merek dan Implikasinya Pada Perilaku Pembelian Konsumen Politeknikk Negeri Semarang.

- Tesis. Magister Ilmu Komunikasi. Semarang: Universitas Dipenogoro; 2010.
10. Hooley, G., Piercy, Nigel F. and Nicoulaud, B. *Marketing strategy and competitive positioning*. Harlow; United States: Prentice Hall/Financial Times. ISBN 9780273706977; 2008.
 11. Kartajaya, H., *Marketing in Venus*, Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama; 2004.
 12. Keller, K. L., *Strategic Brand Management: Building, Measuring, and Managing Brand Equity, 2nd edition*, New Jersey: Upper Saddle River, Pearson Education International; 2003.
 13. Knox, S., Maklan, S. *Competing on Value: Bridging the gap between brand and Customer Value*, London: Financial Times Prentice Hall; 1998.
 14. Kotler, P., Armstrong, G., *Dasar-dasar Pemasaran*, Jakarta: Prenhallindo, terjemahan Alexander Sindoro; 2000.
 15. Kotler, P., *Manajemen Pemasaran*, Jakarta: Erlangga. Laksana. Terjemahan Fajar; 2009.
 16. Kotler, P., Keller, K. L. *Marketing Management, 13th edition*, New Jersey: Upper Saddle River. Pearson Prentice Hall. 2009; h. 275-303;
 17. Kotler, P., Keller, K. L. *Manajemen Pemasaran*, Jilid 1, Edisi Ketiga belas. Jakarta : Erlangga; 2010.
 18. Lamb, Hair, Mc-Daniel. *Pemasaran*, Edisi Pertama, Jakarta: Salemba Empat, terjemahan Oetarevia; 2001.
 19. Low, G. S., Jr Lamb. *The measurement and dimensionality of brand associations*, *Journal of Product & Brand Management*. 2000; 9 (6).
 20. Martinez, E, Y. Polo., L.Chernatony. Effect of brand extension strategies on brand image A comparative study of UK and Spanish markets, *International Marketing Review*. 2008; 25(1): h. 137-107.
 21. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 1173 /MENKES/PER/X/2004 tentang Rumah Sakit Gigi dan Mulut.
 22. Rahmat *Good Corporate Governance (ggg) Sebagai prinsip implementasi corporate social responsibility*. Jurnal ilmiah FEB UB; 2013.
 23. Rangkuti Freddy. *The Power of Brands*, Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama; 2004.
 24. Shapiro, Stewart. H. Shanker Krishnan, *Memory Based Measures for Assessing Advertising Effect: A Comparison of Explicit and Implicit Memosy effect*, *Journal of Advertising*. 2001;Vol. XXX (3).
 25. Sholeh, S. *Himpunan Peraturan Kesehatan*, Jakarta: Arema; 1993.
 26. Supriyanto, S., Ernawaty, *Pemasaran Industri Jasa Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Andi; 2010.
 27. Tjiptono, Fandy., *Pemasaran Jasa*, Malang: Bayumedia Publishing; 2006.
 28. Undang-Undang Merek No.15 Tahun 2001 Pasal 1 Ayat 1 tentang Merek.
 29. Yudhiartika, Dian dan Haryanto, Jony Oktavian. Pengaruh Personal Selling, Display, Promosi Penjualan Terhadap Kesadaran Merek Dan Intensi Membeli Pada Produk Kecantikan Pond's. *Buletin StudiEkonomi*. Agustus 2012; 17(2).
 30. Valentina, Dian. *Upaya Peningkatan Pemanfaatan Pelayanan Kesehatan Gigi Dan Mulut Berdasarkan Analisis Positioning-Differentiation-Bran Triangle Di Klinik Redemptor Mundi Surabaya*. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga; 2015.
 31. Zainuddin, M., *Metodologi Penelitian*, Surabaya;2000.

RESEARCH ARTICLE

Daya Hambat Ekstrak *Stolephorus Insularis* Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

*(Inhibition Effect Extract Stolephorus Insularis As A
Antimicroba In Staphylococcus aereus Bacteria)*

Ayulistya Paramita Sutarto, Yulie Emilda Akhwan
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: Untreated caries will continue and microorganisms enter the pulp resulting in an inflammatory response and pulp necrosis. Sterilization is one part of root canal treatment and is important for the success of root canal treatment. *Stolephorus insularis* contains antibacterial substances such as fluor. Previous research showed that extract *Stolephorus insularis* has antibacterial activity in *Streptococcus mutans* bacteria. **Purpose:** This study aims to determine the antibacterial power of *Stolephorus insularis* extract on the growth of *Staphylococcus aereus* bacteria by using 3 concentrations of 18%, 24% and 30%. **Material and Method:** This resesarch use culture of *Staphylococcus aureus* bacteria in MH blood agar, *Stolephorus insularis* extract with various concentrations (18%, 24%, 30%), 7% Na CMC, 1% DMSO solution, agar BHI media. Culture of *Staphylococcus aureus* was taken from liquid BHI media, then rubbed on the entire surface of BHI media using a sterile cotton stick. The antibacterial zone formed is measured. **Result:** Based on the results of the Mann-Whitney test there were significant differences in the inhibitory power of *Staphylococcus aureus* bacteria ($p < 0.05$) in the K + group with groups K-, P1, P2 and P3. Whereas between groups P1 with K-, group P2 with K- and P1, and group P3 with K-, P1 and P2 there were no significant differences because the significant value was greater than 0.05. **Conclusion:** There is no antimicrobial power at concentrations of 18%, 24%, and 30%. Quantitative research needs to be done to determine the decrease in the number of bacterial colonies.

Keywords: Inhibition effect, *Stolephorus insularis*, *Staphylococcus aureus*

Correspondence: Ayulistya Paramita, Department of Paediatric, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Email: ayu.spkga@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Karies yang tidak dirawat akan terus berkembang dan mikroorganisme masuk ke dalam pulpa sehingga terjadi respon inflamasi dan menjadi nekrosis pulpa. Sterilisasi merupakan salah satu bagian perawatan saluran akar dan penting bagi keberhasilan perawatan saluran akar. Ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) mengandung zat antibakteri seperti fluor. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Streptococcus mutans*. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri pada ekstrak *Stolephorus insularis* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan 3 konsentrasi yaitu 18%, 24%, dan 30%. **Bahan dan Metode:** Bahan-bahan yang digunakan adalah biakan bakteri *Staphylococcus aureus* pada MH blood agar, ekstrak *Stolephorus insularis* dengan berbagai konsentrasi (18%, 24%, 30%), Na CMC 7%, larutan DMSO 1%, media BHI agar. Biakan *Staphylococcus aureus* diambil dari media BHI cair, kemudian diusapkan pada seluruh permukaan media BHI agar menggunakan lidi kapas steril. Zona antibakteri yang terbentuk diukur. **Hasil:** Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok K+ dengan kelompok K-, P1, P2 dan P3. Sedangkan antara kelompok P1 dengan K-, kelompok P2 dengan K- dan P1, serta kelompok P3 dengan K-, P1 dan P2 tidak ada perbedaan yang signifikan karena nilai signifikannya lebih besar dari 0,05. **Simpulan:** Tidak terdapat daya antimikroba pada konsentrasi 18%, 24%, dan 30%. Perlu dilakukan penelitian secara kuantitatif untuk mengetahui penurunan jumlah koloni bakteri.

Kata Kunci: Daya hambat, *Stolephorus insularis*, *Staphylococcus aureus*

Korespondensi: Ayulisty Paramita, Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Email: ayu.spkga@gmail.com

PENDAHULUAN

Karies tidak hanya diderita oleh orang dewasa, namun juga sering diderita oleh anak-anak. Infeksi saluran akar sebagian besar merupakan kelanjutan dari proses karies. Karies yang tidak dirawat akan terus berkembang dan menjadi pintu gerbang yang digunakan oleh mikroorganisme untuk masuk ke dalam pulpa sehingga terjadi respon inflamasi dan dapat berlanjut hingga menjadi nekrosis pulpa.¹

Periodontitis apikalis kronis merupakan infeksi polimikroba, yaitu infeksi yang disebabkan oleh berbagai jenis bakteri, yaitu *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *A.faecalis*, *Actinomyces* spp, *Streptococcus* spp,

Porphyromonas spp dan *Eubacterium*. Bakteri *Staphylococcus aureus* ditemukan sebanyak 20% pada saluran akar gigi yang nekrosis. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenic.²

Sterilisasi merupakan salah satu bagian dalam perawatan saluran akar dan penting bagi keberhasilan perawatan saluran akar. Penggunaan bahan sterilisasi saluran akar secara kimia akan membunuh mikroorganisme patogen dalam saluran akar.³

Penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi

3%, 6% dan 12%. Dan pada penelitian tersebut dapat terlihat bahwa kandungan *fluor* yang terdapat di dalam ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*⁴. Hal ini disebabkan karena ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) mengandung zat antibakteri seperti *fluor*. Selain mengandung *fluor*, ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) juga mengandung energi, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, besi, fosfor, vitamin A, vitamin B dan vitamin C.⁵

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri yang terkandung dalam ekstrak *Stolephorus insularis* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan 3 konsentrasi yaitu 18%, 24%, dan 30%.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian ini adalah *the post test only control group design*. Untuk rancangan penelitian, objek kelompok dibagi menjadi 4 kelompok. Rancangan penelitian kelompok 1 (kelompok kontrol negatif) menggunakan DMSO 1%, kelompok 2, 3, dan 4 adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak *Stolephorus insularis* dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 18%, 24%, dan 30%.

Bahan-bahan yang digunakan adalah biakan bakteri *Staphylococcus aureus* pada *MH blood agar*, ekstrak *Stolephorus insularis* dengan berbagai konsentrasi (18%, 24%, 30%), Na CMC 7%, larutan DMSO 1%, media *BHI agar*.

A. Persiapan *Stolephorus insularis*

Sampel didapat dari Dinas Perikanan Sidoarjo. *Stolephorus insularis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan teri segar. Kemudian ikan teri tersebut dioven pada suhu <100°C selama tiga jam dalam lima hari, diblender, lalu diayak sampai kehalusan 100 mesh⁶

B. Ekstraksi *Stolephorus insularis*

Bubuk *Stolephorus insularis* diambil sebanyak 500 gram lalu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan Na CMC 7% hingga terendam selama 3x24 jam (Herawati, 2011). Kemudian maserat tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental⁷ Ekstrak kental *Stolephorus insularis* dengan konsistensi semi solida dibuat tiga konsentrasi (18%, 24%, dan 30%) dengan menggunakan DMSO 1% sebagai pelarut ekstrak

C. Inokulasi *Staphylococcus aureus* pada Media *BHI Agar*

Menyiapkan media *BHI* agar steril untuk 5 sampel penelitian yang masing-masing sampel terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Mengambil biakan *Staphylococcus aureus* dari media *BHI (Brain heart Infusion)* cair yang telah disetarakan kekeruhannya dengan larutan *Mc Farland* 0,5 (suspense bakteri mengandung 1.5×10^8 CFU/ml), kemudian usapkan biakan bakteri tersebut pada seluruh permukaan media *BHI (Brain Heart Infusion)* agar dengan menggunakan lidi kapas steril⁸.

Cara Kerja Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode difusi, dengan tahapan sebagai berikut:

- a) Menyiapkan media agar steril pada *petridish* untuk 4 kelompok penelitian yang masing-masing terdiri dari sampel kontrol yaitu kontrol negatif menggunakan *DMSO* 1%, dan 3 sampel perlakuan menggunakan bahan uji ekstrak *Stolephorus insularis* dengan masing-masing konsentrasi 18%, 24%, dan 30%.
- b) Mengambil suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah disetarakan kekeruhannya dengan larutan *Mc Farland* 0,5. Mengusapkan dan meratakan suspensi bakteri tersebut pada seluruh permukaan agar *BHI* steril dengan menggunakan lidi kapas steril.
- c) Pada kelompok kontrol negatif, *disc* dicelupkan dalam *DMSO* 1% sebanyak 1 ml selama 10 detik. Pada kelompok perlakuan, *disc* dicelupkan dalam ekstrak *Stolephorus insularis* dengan berbagai konsentrasi selama 10 detik, kemudian meletakkan *disc* tersebut pada salah satu zona media *BHI agar* dengan menggunakan pinset steril dan sedikit ditekan.
- d) Memasukkan *petridish* ke dalam *anaerobic jar* bersama gas kit dan indikator anaerob, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 2x24 jam dengan suhu 37°C.
- e) Mengukur diameter zona antibakteri yang terbentuk berupa area jernih (*clear zone*) di sekitar *disc* sebanyak tiga kali dengan menggunakan jangka sorong (dalam satuan mm). Pengukuran tersebut dilakukan dari batas jernih terakhir yang berdekatan dengan koloni di sebelah kiri hingga batas jernih terakhir yang

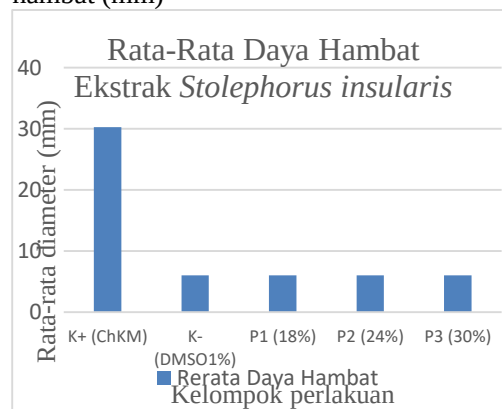
berdekatan dengan koloni di sebelah kanan. Agar mendapatkan data yang lebih valid, maka pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali yaitu diameter terpanjang, menengah, dan terpendek kemudian diambil rata-rata dari ketiga pengukuran panjang diameter tersebut (dalam satuan mm)^{9,10}.

HASIL

Tabel 4.1 Rerata diameter zona hambat dan standar deviasi ekstrak *Stolephorus insularis* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kelompok	Replikasi	Rerata ± Standart Deviasi
K+	5	30,26 ± 1,89
K-	5	6,03 ± 0,01
P1	5	6,03 ± 0,01
P2	5	6,02 ± ,000
P3	5	6,02 ± 0,00
Total	25	

Gambar 4.1 Grafik rerata diameter zona hambat (mm)



Keterangan: K+ (kelompok positif/larutan ChKM) ; K- (kelompok negatif/larutan DMSO 1%); P1 (kelompok ekstrak 18%); P2 (kelompok ekstrak 24%); P3 (kelompok ekstrak 30%).

Berdasarkan Gambar 4.1 dan Tabel 4.1 data hasil penelitian

menunjukkan adanya zona hambat ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok K+, sedangkan pada kelompok K-, P1, P2 dan P3 tidak menunjukkan adanya zona hambat. Perlakuan kemudian diuji signifikansinya dengan tingkat kesalahan 5% ($p=0,05$).

4.2 Hasil Analisis Statistik

Uji Normalitas

Uji normalitas terlebih dahulu dilakukan sebelum uji hipotesis penelitian. Uji normalitas merupakan salah satu syarat uji One Way ANOVA. Selanjutnya hasil penelitian diuji normalitas distribusinya dengan menggunakan Shapiro-Wilk, oleh karena jumlah subyek penelitian kurang dari 50.

Tabel 4.2 Hasil uji *Shapiro-Wilk*

Kelompok	Shapiro-Wilk	Sig.
K+	0,870	0,268
K-	0,987	0,967
P1	0,914	0,492
P2	0,881	0,314
P3	0,881	0,314

Berdasarkan hasil uji normalitas dapat dilihat bahwa variable zona hambat ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) pada setiap kelompok perlakuan terdistribusi normal karena memiliki nilai $p > 0,05$. Maka dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas dan apabila data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$) maka dilakukan transformasi data.

4.3 Uji Homogenitas

Uji Levene	Sig.
6,501	0,002

Tabel 4.3 Hasil uji *Levene*

Dari hasil uji homogenitas (Uji *Levene*) diketahui bahwa nilai signifikansi adalah sebesar 0,002 mempunyai nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), maka disimpulkan bahwa variabel zona hambat ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) pada setiap kelompok perlakuan tidak homogen sehingga dilakukan uji non parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan antara kontrol positif dengan kelompok perlakuan konsentrasi 18%, 24%, dan 30% dari ekstrak *Stolephorus insularis* pada masing-masing sampel.

4.4 Uji Hipotesis

Setelah dilakukan uji normalitas dan diketahui bahwa data tidak homogen, selanjutnya dilakukan uji hipotesis non parametrik *Kruskal-Wallis*.

Tabel 4.4.1 Uji *Kruskal-Wallis* variabel data
Keterangan *ada perbedaan signifikan

Chi-Square	1,586
Df	4
Asymp. Sig	0,013*

Tabel 4.4.1 diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,013 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan makna antara kontrol positif dengan masing-masing kelompok perlakuan yang memiliki konsentrasi berbeda-beda. Berdasarkan hal tersebut maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

4.5 Uji Mann-Whitney

Analisis *Post Hoc* untuk melihat perbedaan yang bermakna pada daya hambat *Stolephorus insularis* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari masing-masing kelompok. Untuk melakukan analisis *Post Hoc* dari uji *Kruskall-Wallis* adalah dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*

Tabel 4.5 Hasil uji Mann-Whitney

	K+	K-	P1	P2	P3
K+		0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
K-			0,669	0,390	0,390
P1				0,827	0,827
P2					1,000
P3					

Keterangan * ada perbedaan signifikan

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok K+ dengan kelompok K-, P1, P2 dan P3. Sedangkan antara kelompok P1 dengan kelompok K-, kelompok P2 dengan kelompok K- dan P1, serta kelompok P3 dengan kelompok K-, P1 dan P2 tidak ada perbedaan yang signifikan karena nilai signifikannya lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Penelitian ini telah membagi bakteri menjadi lima kelompok. Tiap kelompok diberikan perbedaan konsentrasi ekstrak *stolephorus insularis*. Kelompok K+ sebagai kontrol positif diberikan larutan ChKM. Pemberian DMSO 1% pada kelompok K- (kontrol negatif), ekstrak *stolephorus insularis* 18% sebagai kelompok perlakuan pertama (P1), ekstrak *stolephorus insularis* 24%

sebagai kelompok perlakuan kedua (P2), dan ekstrak *stolephorus insularis* 30% sebagai kelompok perlakuan ketiga (P3). Hasil penelitian menunjukkan adanya zona hambat ekstrak ikan teri jengki (*Stolephorus insularis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok K+, sedangkan pada kelompok K-, P1, P2 dan P3 tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini disebabkan karena *stolephorus insularis* mengandung zat antibakteri seperti *fluoride*. *Fluoride* dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme¹¹, *Fluor* pada bakteri bekerja secara bakteristatik, yaitu menghambat perkembangbiakan sel dengan cara menghambat sintesis asam nukleat yang merupakan bagian sangat vital bagi perkembangan sel. Mekanisme kerja *fluor* yaitu dengan mengikat enzim polimerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA¹¹.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada semua kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat signifikansi data dua kelompok. Terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok K+ dengan kelompok K-, P1, P2 dan P3. Sedangkan antara kelompok P1 dengan kelompok K-, kelompok P2 dengan kelompok K- dan P1, serta kelompok P3 dengan kelompok K-, P1 dan P2 tidak ada perbedaan yang signifikan karena nilai signifikannya lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Rata-rata zona antimikroba pada konsentrasi 18% (6,03 mm), 24% (6,02 mm), 30% (6,02 mm), kontrol negatif DMSO 1% (6,03

mm), dan kontrol positif ChKM (30,26 mm).

Penelitian ini masih bersifat kualitatif yaitu untuk menunjukkan perbedaan daya antimikroba ekstrak *stolephorus insularis* terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 18%, 24%, dan 30%, dan merupakan penelitian awal. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tidak ada daya antimikroba pada konsentrasi 18%, 24%, dan 30%. Untuk selanjutnya, perlu dilakukan penelitian secara kuantitatif untuk mengetahui penurunan jumlah koloni bakteri.

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Stolephorus insularis* tidak mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri *staphylococcus aureus* pada konsentrasi 18%, 24%, dan 30%. Konsentrasi terbesar pada penelitian ini (30%) juga tidak memiliki daya antimikroba dan lebih rendah dibandingkan ChKM sebagai kontrol positif

DAFTAR PUSTAKA

1. Yustina AR, Suardita K, W Dian A. Peningkatan jumlah osteoklas pada peradangan periapikal akibat induksi lipopolisakarida *Porphyromonas Gingivalis* (suatu penelitian laboratoris menggunakan tikus). JBP. 2012;14(3): 144-140.
2. Osswald R. The Problem of Endodontis and Managing it Trough Conservative Dentistry. 2015. p 134-144
3. Walton RE, Torabinejad M. Prinsip & praktek ilmu endodonsia. Ed.3. Penerbit buku kedokteran. EGC; 2008. h. 36, 205 230, 324-326.
4. Fa'izah A. Konsentrasi Efektif Ekstrak Ikan Teri Jengki (*Stolephorus insularis*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. Skripsi. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah; 2016. h. 30-41.
5. Daradjatun AN. Pemanfaatan Tepung Kepala Ikan Teri Jengki (*Stolephorus insularis*) sebagai Bahan Substitusi Tepung Ikan dalam Pakan Buatan Ikan Lele Masamo (*Clarias sp.*). Skripsi. Lampung: Fakultas Pertanian Universitas; 2014. h. 7.
6. Gunawan HA. Pengaruh Tingkat pH Larutan Teri terhadap Perubahan Dimensi dan Kelarutan Kristal Apatit. Jurnal Anatomi Indonesia. 2006;01(1): 29-25.
7. Herawati N. Potensi Antioksidan Ekstrak Kloroform Kulit Batang Tumbuhan Mangrove (*Sonneratia alba*). Jurnal Chemica. 2011;12(1): 13-9.
8. Hermawan A. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi disk. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga; 2007. Salemba Medika, h. 3-4.
9. Dammen FQA. Daya Hambat Ekstrak *Holothuria ara* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Skripsi. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah; 2012. h. 34.
10. Bauman RW. Microbiology International Edition. San Fransisco: Pearson Education Inc and Person Benjamin Cummings; 2004. h. 297-299.
11. Karina VN. Perbedaan Daya Antibakteri Bahan Perekat Braket Ortodonsi antara Semen Ionomer Kaca dengan Resin Komposit Berfluor terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; 2012. h. 17-18.

RESEARCH ARTICLE

Jumlah Osteoblas pada Daerah Tarikan dengan Pemberian Ekstrak Propolis Sebagai Pencegahan Relaps Ortodonti

(Osteoblast Number in Tension Area by Giving Propolis Extract As Orthodontic Relaps Prevention)

Budi Handayani*, Arya Brahmanta*

*Department of Orthodontics Faculty of Dentistry Hang Tuah University

ABSTRACT

Background: relapse is often happen after orthodontic treatment finished. Propolis contains flavonoid, saponin and CAPE that known increase the number of osteoblast. Osteoblast have important role in bone remodeling which can prevent relapse. Purpose: to determine increasing number of osteoblast in bone remodeling after the giving 3% and 5% of propolis to prevent relapse after orthodontic treatment. **Materials and metode:** the design of this study was randomized post testonly control group design. 28 guine pig were divided into 4 groups of K- (without treatment), K+ (giving separator rubber), P1(giving separator rubber and 3% propolis), P2 (giving separator rubber and 5% propolis). **Result:** There are increasing number of osteoblast in the tension side of alveolar bone in treatment group. The average number of osteoblast in the tension side of alveolar bone in group K-:26.86; K+:33,29; P1:41.29; P2:48.29. **Conclusion:** giving 5% of propolis is the most effective I increasing the number of osteoblast in tension side of alveolar bone in relapse after orthodontic treatment.

Keywords: Osteoblast, orthodontic, propolis.

Correspondence: Departement of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-594864, Fax 031-5912191, Email: yukira.yaniela@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: Sering dijumpai relaps setelah dilakukan perawatan ortodonti. Ekstak propolis memiliki kandungan aktif flavonoid, saponin dan CAPE dapat meningkatkan jumlah osteoblas. Osteoblas adalah sel yang berperan penting dalam remodeling tulang, dan mencegah terjadinya relaps. **Tujuan:** untuk mengetahui peningkatan jumlah osteoblas dalam remodeling tulang setelah pemberian ekstrak propolis 3% dan 5% terhadap marmut jantan dalam mencegah relaps setelah perawatan ortodonti. **Bahan dan metode:** rancangan penelitian ini menggunakan randomized post test only control group design. 28 marmut jantan dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok K- (tanpa perlakuan), K+ (pemberian separator), P1 (pemberian separator dan propolis 3%), P2 (pemberian separator dan propolis 5%). Hasil : terdapat peningkatan jumlah osteoblast di daerah tarikan tulang alveolar pada kelompok K+, P1, P2. Rata rata jumlah osteoblast di daerah tarikan tulang alveolar pada kelompok K-:26.86; K+:33,29; P1:41.29; P2:48.29. **Kesimpulan:** pemberian propolis 5% paling efektif dalam meningkatkan jumlah osteoblast di daerah tarikan tulang alveolar pada relaps gigi setelah perawatan ortodonti.

Kata kunci: Osteoblas, ortodonti, propolis, relaps.

Korespondensi: Budi Handayani, Bagian Ortodonti, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-594864, Fax: 031-5912191, Email: yukira.yaniela@gmail.com

PENDAHULUAN

Seiring dengan berkembangnya sosial masyarakat, saat ini peminat perawatan ortodonti semakin meningkat pesat. Mayoritas remaja menyadari kerapian gigi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi estetik sehingga menarik perhatian untuk lebih memperbaiki dan melakukan perawatan (Rahardjo, 2012).

Perawatan ortodonti memerlukan adanya pergerakan gigi. Pergerakan ini membutuhkan adanya tekanan dari piranti ortodonti dan ruang. Saat tekanan ortodonti dikenakan pada gigi, ligamen periodontal yang memiliki fibroblas, osteoblas, osteoklas, dan sementoblas akan merespon kekuatan mekanik dan menyebabkan aposisi tulang alveol sehingga gigi dapat bergerak (Rahardjo, 2009; Anggani, 2012).

Aposisi tulang yang terjadi selama pergerakan gigi ortodonti adalah proses biologis yang melibatkan respon inflamasi akut. Penelitian histologis menunjukkan bahwa tahap pertama resorpsi terjadi dalam 3-5 hari diikuti dengan pemulihan dalam 5-7 hari. Hal ini diikuti oleh tahap akhir aposisi tulang antara 7 dan 14 hari. (Husin *et al*, 2012).

Propolis adalah bahan resin kompleks yang dikumpulkan oleh lebah madu berasal dari tunas dan eksudat dari sumber tanaman tertentu di sekitar sarang (Kartika, 2013). Propolis telah digunakan sejak dahulu sebagai obat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa propolis memiliki beberapa aktivitas biologis dan farmakologis, yaitu bersifat antibakteri baik terhadap gram positif dan negative, bersifat antiinflamasi, memiliki aktivitas antijamur, meningkatkan regenerasi jaringan tulang dan kartilago, bersifat

antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas. Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa jumlah osteoklas lebih tinggi pada hewan coba yang diberi *feeding* ekstrak propolis. Peningkatan jumlah osteoklas ini mungkin berhubungan dengan percepatan pergantian tulang dan mungkin dapat efektif dalam pencegahan relaps (Kartika, 2013).

Bahan natural untuk percepatan aposisi tulang pada pergerakan gigi ortodonti masih sedikit diteliti. Propolis diketahui mengandung resin dan banyak bahan bioaktif. Kandungan propolis yang diduga penting untuk pergerakan gigi diantaranya adalah *bioflavonoid*, *artepilin*, *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) yang mempunyai peranan dalam penanggulangan inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antivirus, immunomodulator serta merangsang penyembuhan jaringan (Katircioglu dan Mercan, 2006). Propolis adalah bahan alami tidak beracun dikumpulkan oleh lebah dari berbagai sumber tanaman telah digunakan sejak dahulu kala, di antaranya sebagai obat tradisional, biokosmetik, dan makanan kesehatan (Parolia, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan jumlah sel osteoblas untuk remodeling di daerah tarikan pada perawatan ortodonti dengan pemberian propolis dalam upaya mencegah relaps.

Bahan dan Metode Penelitian

Propolis sebanyak 1 kilogram dan 2 liter etanol 96% sebagai pelarut, dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Maserasi dilakukan dengan pengadukan sebanyak 12 kali selama 15 menit dengan tenggang waktu 5 menit antar pengadukan, kemudian didiamkan selama

24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas ke dalam labu *Erlenmeyer*. Setelah itu dilakukan remaserasi selama 48 jam. Semua filtrat dikumpulkan untuk kemudian diuapkan melalui rotavapor sehingga kandungan etanolnya menguap dan diperoleh ekstrak yang konsistensinya kental. Setelah didapatkan ekstrak propolisnya, kemudian ditambahkan HPMC hingga terbentuk gel ekstrak propolis 3% dan 5%.

HASIL PENELITIAN

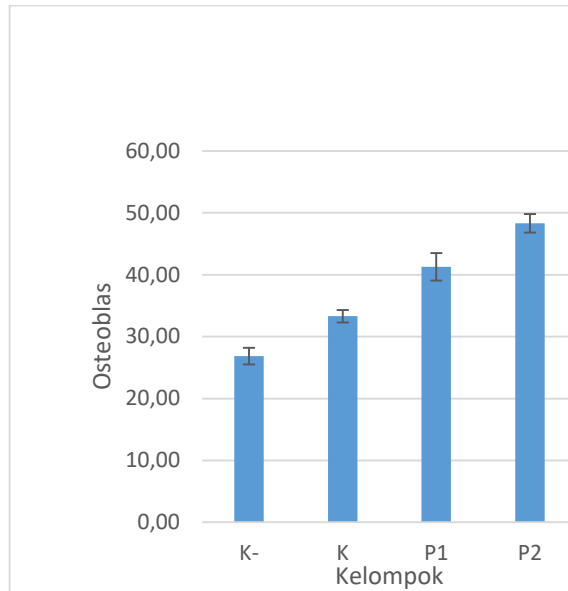
Tabel 1. Nilai rerata dan simpangan baku Osteoblas di daerah tarikan pada masing masing kelompok penelitian.

Kelompok	n	Osteoblas				P
		$\bar{x}$	SD	Min	Maks	
K-	7	26.86 ^a	1.35	25	29	0.000*
K	7	33.29 ^b	1.80	31	36	
P1	7	41.29 ^c	2.22	39	45	
P2	7	48.29 ^d	1.50	46	50	

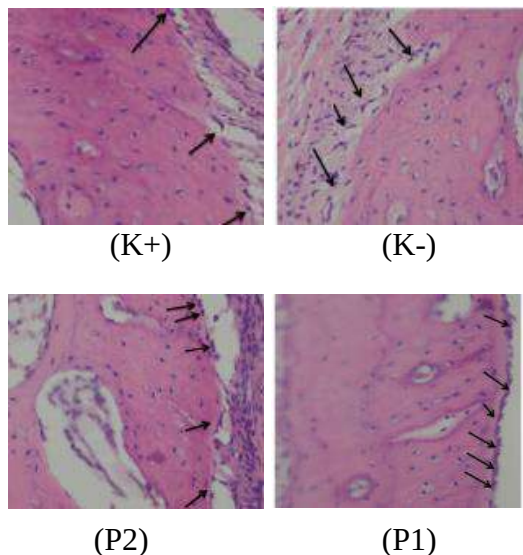
Keterangan :

* *signifikan* pada $\alpha=0,05$ (*Oneway Anova*).

^{abcd} *superscript* yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (*Multiple comparisons LSD*).



Gambar 1. Rerata Osteoblas pada masing masing kelompok penelitian.



Gambar 2. Gambaran histologi osteoblas kelompok K-, K+, P1 dan P2 pada daerah tarikan. Tanda panah menunjukkan osteoblas. K- adalah kelompok kontrol negatif, K+ adalah kelompok kontrol positif, P1 adalah kelompok perlakuan dengan propolis 3% dan P2 adalah kelompok perlakuan dengan propolis 5%. Dengan pembesaran 400x.

Tabel 1 dan gambar 1 menggambarkan deskripsi data dalam bentuk rerata (mean) dan *standart deviasi* (SD) hasil pengamatan dan pemeriksaan osteoblas . Data osteoblas pada daerah tarikan selama proses relaps gigi pada rerata masing masing kelompok penelitian di daerah tarikan menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p < 0.05$). Selanjutnya dilakukan uji LSD

PEMBAHASAN

Terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah osteoblas antara kelompok K- dengan kelompok K+. Rata-rata jumlah osteoblas kelompok K+ lebih banyak daripada kelompok K-. Perbedaan jumlah osteoblas disebabkan oleh perlakuan yang diberikan pada sampel yaitu pemberian karet separator untuk menggerakkan gigi. Pada saat gigi diberi karet separator, gigi akan bergerak dan menimbulkan adanya daerah tarikan dan tekanan. Pada daerah tarikan, ruang ligamen periodontal akan melebar, vaskularisasi meningkat, replikasi sel dan produksi serat kolagen juga meningkat (Krishnan dan Davidovitch, 2006; Iskandar, 2012). Mekanisme propolis antiinflamasi dapat mengurangi terjadinya peradangan karena adanya kandungan CAPE dan quertecin yang menekan aktivitas sel T. CAPE menghambat *Nuclear Transcription Factor Kappa B* (*NF- κ B*) dan stimulan IL-2 yang memacu proliferasi dari sel T itu sendiri, sedangkan quertecin mempengaruhi jalur siklooksigenase. Kedua senyawa tersebut berperan sebagai anti inflamasi untuk menghalangi lipooksigenase dan siklooksigenase, sehingga dapat

mengaktifkan jumlah osteoblas. (Sabir, 2005). Flavonoid merupakan golongan fenol yang terbesar terdapat hampir di semua spesies bunga. Kandungan kimia flavonoid dalam propolis berbeda dengan flavonoid dari bunga karena adanya proses yang dilakukan lebah. Flavonoid dan turunan (hidroksil) asam sinamat telah dianggap sebagai senyawa biologis aktif utama pada propolis (Burdock, 1998). Saponin menginduksi proliferasi, diferensiasi, dan maturasi osteoblas (Niu *et al.*, 2011). Saponin mengaktifkan TGF- β . Saponin meningkatkan TGF- β pada reseptor fibroblas. TGF- β akan menstimulasi migrasi dan proliferasi fibroblas (Putra *et al.*, 2013)

Osteoblas menghasilkan kolagen, proteoglikan, dan glikoprotein untuk pembuatan dan pertumbuhan tulang (Ott, 2002). Sel osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor jaringan mesenkim berasal dari sumsum tulang yang diferensiasinya dipengaruhi oleh *parathyroid hormone* (PTH), dengan memproduksi *osteocalcin*, *bone sialoprotein* dan *extracellular matrix proteins* spesifik untuk tulang. Sel osteoprogenitor distimulasi oleh *bone morphogenetic protein* (BMP), yaitu non kolagenus glikoprotein yang berada di dalam tulang dan juga oleh beberapa mediator kimiawi berupa sitokin yaitu *platelet derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor- β* (TGF- β), zat morfogenik dan zat-zat eicosanoid seperti prostaglandin (PGE₂). Pada proses pembentukan tulang, osteoblas akan berubah menjadi osteosit dan sebagian yang lainnya akan berada di permukaan periosteal atau endosteal tulang dengan karakteristik berbentuk pipih dan beberapa sel osteoblas berbentuk persegi

panjang (Ardhiyanto, 2012; Buckwalter, 1992).

Propolis mengandung flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Terapi antioksidan telah banyak diteliti efeknya pada metabolisme tulang melalui penghambatan aktivitas osteoklas dan peningkatan aktivitas osteoblas. Dalam penelitiannya, Guney *et al.* (2011) meneliti efek propolis pada sistem antioksidan dan penyembuhan fraktur. Flavonoid berperan dalam pembentukan tulang baru, dengan merangsang pematangan osteoblas. Flavonoid berperan pada ekspresi osterix dan RUNX-2, selanjutnya merangsang diferensiasi osteoblast (Darmadi, 2016).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini ekstrak propolis berpengaruh pada peningkatan jumlah osteoblas di daerah tarikan pada pergerakan gigi ortodonti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anggraeni Y, Hendradi E, Purwanti T, Karakteristik Sediaan Dan Pelepasan Natrium Diklofenak Dalam Sistem Niosom Dengan Basis Gel Carbomer 940. *Pharma Scientia* 2012; 1 (1):15-1.
2. Burdock GA, *Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food and chemical toxicology.* 1998; 36: 363-347.
3. Darmadi D, Mustamir E, The effect of propolis on increasing the number of osteoblasts and chondrocytes, and decreasing the number of osteoclasts in wistar rats (*Rattus norvegicus*) with femoral bone fracture. *IOSR journal of dental and medical sciences (IOSR-JDMS)* , e-ISSN: 2279-0853, p-ISSN: 2279-0861. 2016; 15 (12) Ver.II : 95-90.
4. Husin E, Tjandrawinata R, Juliani M, Roeslan BO. *Orthodontic Force Application in*

- Correlation with Salivary LactateDehydrogenase Activity. Journal of Dentistry Indonesia. 2012; 19(1) :13-10.
5. Iskandar, P. Aspek Biologis Pergerakan Gigi Ortodontik. Makassar Dental Journal. 2012; 1(3): 2.
 6. Kartika KA, Narmada IB, Ardani IG.A W. Efek propolis terhadap Aktivitas Osteoblas pada pergerakan Gigi dengan Hiperglikemi. *Orthodontic Dental Journal*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. 2013; 4 (1): 14.
 7. Krishnan V, Davidovitch Z. 2006. Cellular, Molecular, and Tissue-Level Reactions to Orthodontic Force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. Vol. 129 No. 4. p. 469.e1-469.e32.
 8. Krishnan, 2009. On a path to unfolding the biological mechanism orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 88 (7), p 597-608.
 9. Niu Y, Li Y, Huang H, Kong X, Zhang R, Liu L, Sun Y, Wang T, Mei Q. 2011. Asperosaponin VI, a saponin component from *Dipsacus asper* wall, induces osteoblast differentiation through bone morphogenetic protein-2/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway. *Phytotherapy Research*. Vol. 25. No. 11. P. 1700-1706.
 10. Putra , Aldian Tri Wahyuda ; Wiwit Ade Fw2, M. Yulis Hamidy3. 2013. Tingkat Kepadatan Fibroblas Pada Luka Sayat Mencit Dengan Pemberian Gel Lidah Buaya (*Aloe Chinensis Baker*). Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru Available at <http://repository.unri.ac.id/bitstream/123456789/1590/1/TINGKAT%20KEPADATAN%20FIBROBLAS%20PADA%20LUKA%20SAYAT%20MENCIT%20DENGAN%20PE.pdf>. Accessed at June 28, 2013.
 11. Rahardjo P. 2012. *Ortodonti Dasar*. Edisi Kedua. Surabaya: Airlangga University Press. h. 46-60.
 12. Rahardjo P. 2012. *Ortodonti Dasar*. Edisi Kedua. Surabaya: Airlangga University Press. h. 46-60.
 13. Rahardjo P. 2009. *Ortodonti dasar*. Airlangga university Press. Surabaya p.144-153
 14. Rahardjo P. 2016. *Ortodonti Dasar*. Surabaya: Airlangga University Press. h. 2, 3, 46-60, 145, 156-158.
 15. Sabir, Ardo. 2005. Respons Inflamasi pada Pulpa Gigi Tikus setelah Aplikasi Ekstrak Etanol Propolis. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. h.1-2.
 16. Sartika N, Narmada IB, Sjamsudin J, 2013. Efek Ekstrak Propolis terhadap Jumlah Osteoblas Tulang Alveolar *Cavia cobaya* pada Pergerakan Gigi Ortodonti. *Orthodontic Dental Journal*. Vol. 4 No. 1. P 5-9
 17. Ott SM, Oleksik A ,Lu Y, Harper K, Lips P. Bone histomorphometric and biochemical marker result of a 2 year placebo controlled trial of raloxifene in post menopausal women. *J Bone Miner Res*; 17:pp 341-348
 18. Parolia A, Thomas MS, Kundabala M, Mohan M. 2010 Propolis and its potential uses in oral health. *Int. J. Med. and Medical Sci.*; 2(7): 210-215.)

RESEARCH ARTICLE

Perbedaan Jumlah Osteosit Antara Daerah Tekanan Dan Tarikan Pada Proses Pergerakan Gigi Akibat Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik

(The Comparison of Osteocyte in the Pressure area and Tension area on Tooth Movement Because of Hyperbaric Oxygen Therapy)

Muhammad Faizal Winaris*, Arya Brahmanta**, Pambudi Raharjo**

* Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

** Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: Orthodontic tooth movement is a interaction process of resorption and deposition of bone remodeling. Orthodontic tooth movement by mechanical strength causes changes in alveolar bone. Osteocyte is an essential cell to respond bone remodelling. Hyperbaric Oxygen Therapy affects production of osteocyte because it can release Reactive Oxygen Species (ROS) and Nitrid Oxide (NO). **Purpose:** To determine the difference number of osteocyte in pressure and tension area during tooth movement by adjuvant of Hyperbaric Oxygen 2,4 ATA during 7 days starting on day 8 to day 14. **Materials and Methods:** This research used Completery Randomized Control Group Post Test Only Design. 36 cavia cobaya (male) were divided into 3 groups randomly : the negative control groups, positive control group, and treatment group. Preparat staining used Hematoxylin Eosin (HE) and calculated on microscop 1000x with 20 field of view. Data analyses used one way ANOVA and LSD test then compared each area by using paired T test. **Result:** The data showed that the treatment group ($P=10,67$) tension area has the highest number of osteocyte than negative control group ($K-=3,67$), positive control ($K+=7,42$). In the pressure area showed that negative control group ($K-=5,00$) has the highest than positive control group ($K+=3,83$) and treatment ($P=3,25$). **Conclusion:** Therapy HBO 2,4 ATA 7 days starting on day 8 to day 14 is could increase osteocyte in the tissue to stimulate process of bone remodelling.

Keywords: Hyperbaric Oxygen, Tooth movement, Bone remodeling, Osteocyte

Correspondence: Arya Brahmanta, Department of Orthodonty, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Email: arya.brahmanta@hangtuah.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Pergerakan gigi ortodonti merupakan kombinasi proses resorpsi dan aposisi sehingga dapat terjadi remodeling tulang. Selama proses pergerakan gigi diberi kekuatan mekanis terjadi perubahan pada tulang alveolar. Osteosit merupakan sel yang penting untuk merespon remodeling tulang. Terapi oksigen hiperbarik dapat mempengaruhi produksi osteosit. Karen melepaskan Reactive Oxygen Species (ROS) dan nitrit oxide (NO). **Tujuan:** Mengetahui adanya perbedaan jumlah Osteosit daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi akibat pemberian terapi oksigen hiperbarik selama 7 hari yang dimulai pada hari ke 8 sampai hari ke 14. **Bahan dan metode:** Rancangan penelitian ini menggunakan post test only control group design. 36 marmut jantan dibagi menjadi 3 kelompok secara acak: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan. Pewarnaan preparat menggunakan hematoxylin eosin (HE) dan dihitung berdasarkan rata-rata lapang pandang mikroskopis 1000x dengan 20 lapang pandang. Data jumlah sel dianalisis dengan one way ANOVA dan LSD kemudian dibandingkan setiap daerah menggunakan uji paired T test. **Hasil:** perlakuan ($P = 10,67$) daerah tarikan memiliki jumlah osteosit terbanyak dibandingkan kelompok kontrol negatif ($K^- = 3,67$), kontrol positif ($K^+ = 7,42$). Pada daerah tekanan didapatkan kelompok negatif ($K^- = 5,00$) terbanyak dibandingkan dengan kontrol positif ($K^+ = 3,83$) dan perlakuan ($P = 3,25$). **Simpulan:** pemberian terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA selama 7 hari pada hari ke 8-14 relatif lebih baik dalam meningkatkan osteosit dalam jaringan sehingga merangsang proses remodeling tulang.

Kata kunci: Oksigen Hiperbarik, Pergerakan gigi ortodonti, remodeling tulang alveolar, Osteosit.

Korespondensi: Arya Brahmanta, Bagian Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, Email: arya.brahmanta@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Maloklusi merupakan masalah yang sering dihadapi di kedokteran gigi, yaitu keadaan menyimpang dari oklusi normal, hal ini terjadi karena tidak sesuainya antara lengkung gigi dan lengkung rahang. Keadaan ini terjadi pada rahang atas maupun rahang bawah. Gambaran klinisnya berupa berdesakan, protrusi, gigitan silang baik anterior maupun posterior⁸. Perawatan ortodonti adalah salah satu jenis perawatan di bidang kedokteran gigi bertujuan untuk mengoreksi maloklusi, sehingga didapatkan penampilan dentofasial menyenangkan secara estetika yaitu dengan menghilangkan susunan gigi berjejal, mengoreksi penyimpangan rotasional

dan apikal dari gigi-geligi, mengoreksi hubungan antar insisal serta menciptakan hubungan oklusi baik.⁵

Perawatan ortodonti hampir selalu menggunakan tekanan untuk menggerakkan gigi yang akan dibetulkan letaknya. Pergerakan gigi selalu disertai dengan adanya perubahan jaringan sekitar gigi. Jaringan sekitar gigi yang mengalami perubahan akibat pergerakan gigi meliputi jaringan periodontal, tulang alveolaris, sementum dan gingiva²⁰. Perawatan ortodonti tidak lepas dari kekuatan dikenakan pada gigi, maka akan timbul daerah tekanan dan daerah tarikan. Pada daerah tekanan akan mengalami resorpsi sedangkan pada

daerah tarikan akan mengalami aposisi.²

Osteosit berasal dari osteoblas dan terletak di dalam lakuna. Osteosit memiliki tonjolan dari sel-sel yang berdekatan saling berkontak melalui *gap junction* dan molekul-molekul berjalan dari struktur ini dari sel ke sel. Sel-sel ini secara aktif terlibat untuk mempertahankan matriks tulang, dan kematiannya diikuti oleh resorpsi matriks tersebut¹⁴. Osteosit berhubungan satu dengan yang lain lewat perpanjangan sitoplasmik yang berada pada kanalikuli tulang dan diperkirakan bertanggung jawab mendeteksi adanya kekuatan yang mengenai tulang.¹⁸ Osteosit memiliki peranan penting dalam tulang dan metabolisme mineral. Osteosit yang terdapat pada tulang diketahui mengatur homeostasis tulang dengan cara meregulasi osteoblas untuk pembentukan tulang, maupun osteoklas untuk meresorpsi tulang.¹⁷ Proses terbentuknya osteosit, deposit kalsium fosfat ke dalam osteoid, dan sel osteoblas tadi menjadi osteosit. Jadi osteoblas itu yang membentuk tulang dan osteosit adalah sel tulang.²⁰

Selama perawatan ortodonti pada tulang sekitar gigi mengalami remodeling tulang, remodeling tulang merupakan suatu proses yang kompleks yang melibatkan resorpsi tulang yang diikuti dengan pembentukan tulang baru. Remodeling tulang ditujukan untuk pengaturan homeostasis kalsium, memperbaiki jaringan yang rusak akibat pergerakan fisik, kerusakan minor karena faktor stres dan pembentukan kerangka pada masa pertumbuhan.¹⁵ Remodeling tulang memerlukan proses yang lama dan tidak jarang terjadi komplikasi bila tekanan yang diberikan terlampaui kuat

sehingga menyebabkan pembuluh darah tertutup dan apabila suplai nutrisi tidak ada, maka terjadi perubahan ke arah kemunduran jaringan (regresi), sel-sel dan serabut-serabut periodontium akan menghilang dan mengalami degenerasi hialin sehingga resorpsi tidak langsung terjadi.¹⁰

Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) adalah suatu metode pengobatan dengan menghirup oksigen murni (100%) secara terus menerus pada tubuh dengan tekanan lebih besar dari tekanan normal. Pengobatan oksigen hiperbarik ini berpengaruh pada pengiriman oksigen yang mengalami peningkatan dua sampai tiga kali lebih besar dari pada atmosfer normal. Terapi oksigen hiperbarik mulai digunakan di bidang kedokteran sejak 300 tahun yang lalu. Pertama kali digunakan oleh Henshaw tahun 1662, tahun 1775 Prestley menemukan zat oksigen ini pertama kalinya. Kemudian dikembangkan di daratan Eropa, pada tahun 1830, khususnya di Perancis dan sangat populer dengan istilah *compressed air bath* yang digunakan untuk penyakit-penyakit gawat.²⁰ Teori Bien mengatakan bahwa pembuluh darah memberikan gelembung-gelembung oksigen dan nutrisi yang sangat diperlukan untuk aktifitas sel.²

Oksigen didalam kondisi hiperbarik mempunyai efek untuk mengurangi radikal bebas setelah pergerakan gigi (fase hematoma) sehingga kematian jaringan dapat dikurangi, menstimulasi tumbuh kembalinya pembuluh darah yang rusak (neovaskularisasi), meningkatkan aktifitas osteoblas dalam pembentukan tulang (osteogenesis), terjadi vasokonstriksi pembuluh darah (kecil) pada fase

inflamasi disertai tingginya kadar oksigen jaringan, sehingga mencegah terjadinya pembengkakan, dan menyebabkan angiogenesis pada proses remodeling.¹⁰

Berdasarkan studi pustaka dan penelitian terdahulu tentang manfaat terapi oksigen hiperbarik, serta melihat terbatasnya penelitian yang meneliti terapi oksigen hiperbarik sebagai terapi tambahan yang mempercepat pergerakan gigi pada perawatan ortodonti, maka penulis tertarik untuk meneliti dan mengetahui pengaruh terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA, 90 menit sehari (3x30 menit) interval 5 menit bernafas dengan udara biasa, selama 7 hari terhadap jumlah osteosit antara daerah tekanan dan tarikan saat pergerakan gigi ortodonti.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *completely randomized control group post test only design*.

Adapun parameter yang dilihat pada penelitian ini adalah perbedaan jumlah osteosit antara daerah tekanan dan tarikan. Sejumlah 36 ekor marmut (*CaviaCobaya*) dibagi menjadi tiga kelompok, dimana kriteria yang dipilih adalah jenis kelamin jantan, usia 3-4 bulan dengan berat badan 400-500 gram.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah chamber jenis animal chamber, kandang anyaman kawat ukuran 60x40x34 cm, kandang plastik ukuran 60 x 40 x 20 cm, spuit 2 cc, *force module separator*, scalpel dan handle steril, gunting bedah, gelasreaksi, timbangan, *rotary microtome*, *caliper/jangka sorong*,

autograph, mikroskop. Selain itu bahan yang digunakan adalah oksigen murni 100% dalam *hyperbaric chamber*, karet separator, obat anastesi Ketamin 10%, betadine solution, kapas, sekam, makanan marmut, dan aquades.

Prosedur penelitian ini dimulai dengan pembagian marmut menjadi 3 kelompok (K- yaitu kelompok kontrol(-), K+ sebagai kelompok kontrol(+) dan P sebagai kelompok perlakuan), dikandangkan tiap 1 kandang berisi 8 ekor marmut (ukuran kandang 60x40x34 cm), diberi sekam dan ditutup dengan anyaman kawat. Marmut diberi makanan yang banyak mengandung serat kasar, umbi-umbian jagung, serta hijau-hijauan yang lain secara *adlibitum*. Kandang ditempatkan pada suhu kamar, tidak langsung terkena sinar matahari, di tempat yang tidak bising, penerangan yang cukup. Diadaptasikan selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan.

Kelompok (K+) dan kelompok P dilakukan pemasangan karet separator pada gigi insisif rahang atas. Pada kelompok (K+) selama 14hari. Karet separator dengan kekuatan 0,29gr/cm² digunakan sampai hari ke-2 kemudian hari selanjutnya diganti menggunakan karet separator dengan kekuatan 0,48gr/cm².

Pada kelompok P setelah pemasangan karet separator dengan kekuatan 0,29gr/cm² sampai hari ke-2 kemudian hari selanjutnya diganti menggunakan karet separator dengan kekuatan 0,48gr/cm² selama 14 hari dan dilakukan pemberian oksigen hiperbarik (dalam *animal chamber*) selama 7 hari untuk kelompok P tanpa melepaskan karet separator pada hewan coba.

Setelah kelompok P dimasukkan ke *animal chamber*, kemudian dilakukan peningkatan tekanan dalam *chamber* sampai 2,4 ATA, dan dialirkan oksigen murni (100%) selama 90 menit (3x30 menit), 5 menit bernafas dengan udara biasa (normobarik) setelah itu dihentikan dan diturunkan sampai ke kondisi semula (1 ATA). Marmut tersebut dikeluarkan dari *chamber* dan dibawa ke kandang semula. Perlakuan tersebut dilakukan pada hari ke 8 sampai hari ke 14 untuk kelompok P.

Pada hari ke-14 setelah pemberian oksigen hiperbarik, Kelompok (-) 14 hari, Kelompok (+) 14 hari dan Kelompok P sebelumnya dianastesis sampai lethal dose (*Overdose of Chemical Anesthetics*) lalu didekapitasi untuk diambil maksilanya. Kemudian maksilanya difiksasi dalam larutan buffered formalin dan EDTA. Hewan coba yang telah dilakukan dekapitasi lalu dikuburkan, selanjutnya dilakukan pengambilan maksila *cavia cobaya* beserta giginya. Fiksasi jaringan dengan larutan buffer formalin 10% dan dilakukan dekalsifikasi dilakukan selama 21 hari dengan larutan EDTA 10% (suhu kamar) yang diganti setiap hari hingga jaringan lunak. Selanjutnya dilakukan pengolahan jaringan dan pengecatan dengan *Hematosilin Eosin (HE)* lalu diamati dengan menggunakan mikroskop Olympus P21CX dan difoto dengan menggunakan kamera Panasonic GMCD3 dan, dihitung jumlah sel osteoklas yang terlihat pada mikroskop dengan pembesaran 1000x. Satu preparat dihitung sebanyak 20x lapangan pandang.

Data yang diperoleh dilakukan analisis untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna

memperjelas hasil. Kemudian dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan uji statistik parametrik *One-way ANOVA*, kemudian dilanjutkan menggunakan *LSD* dan analisis statistik *Paired T test*. Kemudian hasil perhitungan dibandingkan (membandingkan jumlah sel osteosit pada 2 daerah yaitu antara daerah tekanan dan tarikan).

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan taraf kemaknaan 95% ($p=0,05$) dan diolah dengan program SPSS Versi 22.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku osteosit daerah tekanan dan daerah tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*)

Kelompok	Tekanan		Tarikan	
	Rerata	Standart Deviasi	Rerata	Standart Deviasi
K-	5,00	±1,651	3,67	±1,231
K+	3,83	±1,467	7,42	±1,564
P	3,25	±1,055	10,67	±2,387

Sebelum dilakukan uji hipotesis antara kelompok negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan, terlebih dahulu masing-masing kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji statistik *Shapiro-Wilk* (karena sampel yang digunakan ≤ 50) dan didapatkan hasil uji *Shapiro-Wilk* memiliki nilai signifikan $p > 0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa perbedaan jumlah sel osteosit yang diberi dan tidak diberi terapi oksigen

hiperbarik selama 7 hari antara daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*) terdistribusi normal.

Tabel 2. Hasil uji normalitas jumlah sel osteosit antara daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*).

Kelompok		Shapiro-Wilk	
K-	Statistic	Tekanan ,973	Tarikan ,931
	df	12	12
	Sig.	,936	,386
K+	Statistic	,907	,884
	df	12	12
	Sig.	,197	,100
P	Statistic	,872	,959
	df	12	12
	Sig.	,069	,774

Data kemudian di uji homogenitasnya menggunakan uji *Levene's Test*.

Tabel 3. Hasil uji homogenitas jumlah sel osteosit antara daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*)

Levene's Test		
Statistic	Tekanan ,663	Tarikan 2,059
df 1	2	2
df 2	33	33
Sig	,144	,522

Didapatkan nilai signifikansi daerah Tekanan 0.144 dan daerah Tarikan 0.522 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen.

Data penelitian yang terdistribusi normal dan variansnya homogen kemudian dianalisis dengan menggunakan uji parametrik yaitu *one way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah osteosit yang diberi terapi oksigen hiperbarik dan tidak diberi hiperbarik selama 7 hari antara daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*)

Tabel 4. Hasil uji *one way ANOVA* jumlah osteosit daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*)

Sumber Keragaman	Sig.	
	Tekanan	Tarikan
Antar Perlakuan	0,000*	0,000*
Dalam Perlakuan		
Total		

Pada tabel diatas diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok negatif dan kelompok positif dengan masing-masing kelompok perlakuan yang memiliki perlakuan yang berbeda-beda. Berdasarkan hal tersebut maka dilanjutkan dengan uji *LSD* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan, apabila nilai signifikan hasil uji *LSD* lebih kecil dari tingkat kesalahan penelitian sebesar 0,05 (5%), sebaliknya bila nilai signifikan uji *LSD* lebih besar dari 0,05 (5%) maka antar dua perlakuan tersebut tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Tabel 5. LSD (Daerah Tekanan)

Rerata Kelompok	K- (5,00)	K+ (3,83)	P (3,25)
K- (5,00)		0,051	0,005*
K+ (3,83)			0,319
P (3,25)			

Tabel 6. LSD (Daerah Tarikan)

Rerata Kelompok	K- (3,670)	K+ (7,420)	P (10,67)
K- (3,670)		0,000*	0,000*
K+ (7,420)			0,000*
P (10,67)			

Keterangan: *ada perbedaan bermakna

Dari hasil uji LSD diatas didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah K(-) dengan Perlakuan $p=0,005$ ($p<0,05$) jumlah osteosit tekanan K(-) lebih banyak dari pada Perlakuan, sedangkan K(-) dengan K(+) tidak signifikan $p=0,051$ ($p>0,05$), K(+) dengan Perlakuan tidak signifikan $p=0,319$ ($p>0,05$).osteosit tarikan pada K(-) dengan K(+) $p=0,000$ ($p<0,05$) jumlah osteosit tarikan K(+) lebih banyak dari pada K(-), K(-) dengan Perlakuan $p=0,000$ ($p<0,05$) jumlah osteosit tarikan Perlakuan lebih banyak dari pada K(-) lebih dan K(+) dengan Perlakuan $p=0,000$ ($p<0,05$) jumlah osteosit tarikan Perlakuan lebih banyak dari pada K(+).

Kemudian dilanjutkan dengan analisis uji *Paired T Test* yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata antara dua kelompok sampel yang berpasangan (berhubungan) antara (K- Tekanan dengan K- Tarikan), (K+ Tekanan dengan K+ Tarikan), (P Tekanan dengan P Tarikan).

Tabel 7. Hasil *Paired T Test* osteosit daerah tekanan dan tarikan pada proses pergerakan gigi marmut jantan (*cavia cobaya*)

Kelompok	Tekanan >> Tarikan
Kontrol (-)	0,035*
Kontrol (+)	0,000*
Perlakuan	0,000*

Keterangan : *ada perbedaan bermakna

Dari hasil uji *Paired T Test* semua kelompok diperoleh nilai signifikan sebesar K(-) $p=0,035$ ($p>0,05$) daerah tekanan lebih banyak dari pada daerah tarikan , K(+) $p=0,000$ ($p<0,05$) daerah tarikan lebih banyak dari pada tekanan, dan perlakuan $p=0,000$ ($p<0,05$) daerah tarikan lebih banyak dari pada tekanan. Sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan bermakna antara tarikan dan tekanan semua kelompok.

PEMBAHASAN

Osteosit memiliki peranan penting dalam tulang dan metabolisme mineral. Osteosit yang terdapat pada tulang diketahui mengatur homeostasis tulang dengan cara meregulasi osteoblas untuk pembentukan tulang, maupun osteoklas untuk meresorpsi tulang¹⁷. Pada penelitian menunjukan jumlah rerata osteosit kelompok perlakuan (P= 10,67) daerah tarikan memiliki jumlah osteosit terbanyak dibandingkan kelompok kontrol negatif (K- = 3,67), kontrol positif (K+ = 7,42). Pada daerah tekanan didapatkan kelompok negatif (K- = 5,00) terbanyak dibandingkan dengan kontrol positif (K+ = 3,83) dan perlakuan (P = 3,25). Pada daerah tarikan Osteosit juga memproduksi antagonis RANKL, yaitu OPG, yang meningkat saat terjadi gaya tekanan mekanis⁷. Osteoprotegrin (OPG)

merupakan pecahan dari TNF *receptor-like molecule* dengan bertindak sebagai perangkap dan memblokir ikatan RANKL dan RANK mencegah osteoklastogenesis.⁴

Pada sisi tekanan terjadi penyempitan pembuluh darah sehingga terjadi, iskemia dan hipoksia sebagai hasil dari penurunan suplai darah. *Remodelling* matriks ekstraseluler yang terjadi akibat iskemia dan hipoksia menginduksi osteosit untuk memproduksi HIF-1¹⁶. HIF-1 menghalangi sinyaling Wnt pada osteoblas. Hal ini selain dapat mengganggu penyembuhan luka apabila berlebih, juga dapat menyebabkan penurunan formasi tulang.^{25,17}

Terapi HBO dapat melepas oksigen konsentrasi tinggi pada area *injury*, dan meningkatkan tekanan parsial oksigen kemudian larut dalam darah, sehingga memengaruhi proses *remodelling* tulang, angiogenesis, dan suplai darah.⁹ Pada terapi HBO oksigen dalam darah diangkut dalam bentuk cairan plasma dan bentuk ikatan dengan hemoglobin, ikatan oksigen dalam bentuk cairan plasma amat penting dalam terapi HBO ini, agar oksigen lebih mudah diterima jaringan.¹³

Tabel LSD 5 menunjukan perbedaan jumlah osteosit pada daerah tarikan masing-masing kelompok. (K-) dengan K(+) $p=0,000$ ($p<0,05$) dengan rerata (K-) 3,67 dan (K+) 7,42. Hal ini dikarenakan pembentukan tulang pada sisi apopsisi atau tarikan merupakan kombinasi sintesis matriks ekstraseluler dan mineralisasi. Pada tarikan juga meningkatkan produksi alkaline phosphatase, osteocalcin dan matrix protein lainnya yang menyebabkan aktifitas osteoblas sehingga menyebabkan terbentuknya

osteosit.¹⁵ Selanjutnya Antara (K-) dengan Perlakuan $p= 0,000$ ($p<0,05$) dengan rerata (K-) 3,67 dan perlakuan 10,67. Penelitian Alghamdi (2011) ditemukan dominasi osteosit pada tulang yang diberi terapi hiperbarik oksigen.¹ Hal ini menunjukkan bahwa pemberian oksigen hiperbarik merangsang terbentuknya pembuluh darah baru sehingga merangsang proses remodeling yang dapat meningkatkan osteogenesis dan terbentuknya osteosit. Antara (K+) dengan perlakuan $p= 0,000$ ($p<0,05$) dengan rerata (K+) 7,42). Karena pemberian HBOT lebih banyak memproduksi *Nitric oxide* (NO) merupakan regulator penting dari respon tulang terhadap stres mekanik berperan dalam pembentukan tulang adaptif, melindungi osteosit dari apoptosis.³

Tabel LSD 6 menunjukan perbedaan jumlah osteosit pada daerah tekanan masing-masing kelompok. . (K-) dengan K(+) $p=0,051$ ($p>0,05$) tidak signifikan karena, dengan rerata (K-) 5,00 dan (K+) 3,83. Studi terkini menyatakan pentingnya osteosit dalam osteoklastogenesis. Nakashima (2011) menyatakan bahwa osteosit adalah sumber besar RANKL pada *remodelling* tulang¹⁷. RANKL yang disintesis oleh osteosit memainkan peran penting pada proses osteoklastogenesis dengan berikatan dengan RANK pada osteoklas²². Antara (K-) dengan perlakuan $p=0,005$ ($p<0,05$) hasilnya signifikan dengan rerata (K-) 5,00 dan perlakuan 3,25. Tekanan mekanis dari separator yang menyebabkan terjadinya resorpsi tulang di daerah tekanan, sehingga menunjukkan dengan adanya pemberian separator atau gaya ortodonti akan mengakibatkan kerusakan tulang alveolar

selosteositnya juga mengalami kematian¹¹. Antara (K+) dengan perlakuan $p=0,319$ ($p>0,05$) hasilnya tidak signifikan dengan rerata (K+) 3,83 dan perlakuan 3,25. Hal ini disebabkan karena Terapi hiperbarik juga dapat meningkatkan regulasi *Osteopontin* (OPN)²⁴. Dengan meningkatnya OPN pada osteosit, terjadi peningkatan jumlah osteoklas pada daerah tekanan pada tulang alveolar selama pergerakan gigi²³. Menurut penelitian Huang (2004) OPN member efek penghambat proses osteogenesis dengan menghambat proliferasi dan diferensiasi *pre-osteoblastic cells*. Sehingga selosteosit tidak terbentuk oleh sel osteoblas¹².

Tabel 7 menunjukan bahwa control negatif (K-) daerah tekanan dan tarikan, kontrol positif (K+) daerah tekanan dan tarikan, serta kelompok perlakuan (P) daerah tekanan dan tarikan, ada perbedaan yang bermakna jumlah osteosit. Kontrol negatif (K- = 5,00) daerah tekanan > Kontrol negatif (K- = 3,67) daerah tarikan, Kontrol positif (K+ = 3,83) daerah tekanan < kontrol positif (K+ = 7,42) daerah tarikan, sedangkan kelompok perlakuan (P=3,25) daerah tekanan < kelompok perlakuan (P=10,67) daerah tarikan. Menurut penelitian Bakker *et al* (2004) tekanan mekanis mengakibatkan pergerakan cairan kanalikuli yang meneruskan sinyal kematian sel osteosit dan memicu aktifitas osteoklas⁶. Di daerah tekanan juga muncul sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-11, IL-7, TNF- α , LIF, prostaglandin yang menghambat kerja osteoblast dan menurunkan jumlah osteosit yang dibentuk oleh sel osteoblas tersebut⁴. Kerusakan matrix tulang yang disebabkan oleh daerah tekanan juga penyebab apoptosis osteosit, setelah

apoptosis osteosit menyebabkan aktivasi osteoklas untuk meresopsi daerah tersebut^{19,21}.

Pada daerah tarikan jumlah osteosit meningkat karena sel-sel osteoprogenin mengadakan diferensiasi menjadi osteoblas membentuk jaringan osteoid. Setelah itu osteoid menjadi jaringan keras tulang atau bertrabekula²⁰. Terbentuknya trabekula ini juga menandai bertambahnya sel osteosit yang terbentuk dari osteoblas. Penggunaan terapi oksigen hiperbarik dapat memengaruhi perbedaan jumlah osteosit dibandingkan dengan yang tidak diberi terapi oksigen hiperbarik. Pemberian terapi oksigen hiperbarik menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah osteosit pada daerah tarikan dan penurunan jumlah osteosit daerah tekanan, sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa pada penelitian ini terjawab. Ada perbedaan jumlah osteosit antara daerah tekanan dan daerah tarikan pada proses pergerakan gigi antara yang tidak diberi dan diberi terapi oksigen hiperbarik selama 7 hari dimulai pada hari ke 8 sampai hari ke 14.

SIMPULAN

Pada penelitian ini secara umum dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh terapi oksigen hiperbarik terhadap peningkatan jumlah osteosit pada daerah tarikan dan penurunan jumlah osteosit pada daerah tekanan selama pergerakan gigi pada marmut jantan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alghamdi MYM. The Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy on Bone Distant From Sites of Surgery [Thesis]. Canada: University of Toronto; 2011. h.3.

2. Ardhana Wayan. Materi kuliah Ortodonsia I Prosedur Pemeriksaan Ortodonti. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2009. h.3.
3. Ariffin SH, Yamamoto Z, Abidin IZZ, Wahab RMA, Ariffin ZZ. Cellular and Molecular Changes in Orthodontic Tooth Movement. *The Scientific World Journal*. 2011;11.1803-1788.
4. Ayu Virtika Ketut. Pemberian minyak biji rami (linum usitatissimum) peroral meningkatkan jumlah osteoblas dan kepadatan tulang pada tikus putih jantan (rattus norvegicus) galur spraguedawley dengan periodontitis. Bali: Udayana; 2014. h.41.
5. Bahirrah S. Pergerakan Gigi Dalam Bidang Ortodonsia Dengan Alat Cekat. E-jurnal. Sumatra: Universitas Sumatra Utara; 2014. h.1.
6. Bakker A, Jenneke Klein-Nulend, dan Elisabeth Burger. Shear Stress Inhibits While Disuse Promotes Osteocyte Apoptosis. Amsterdam : Academic Centre for Dentistry Amsterdam-Vrije Universiteit; 2004. p.1165.
7. Bonewald F Lynda. The Amazing Osteocyte. *Journal of bone and Mineral Research*. 2011; 26: 9.
8. Deddy DD, Thalca Hamid and Mieke Sylvia. The use of Index of Orthodontic Treatment Need (IOTN) as an evaluation of treatment with removable appliances. *Orthodontic Dental Journal*. 2011;2: 45.
9. Gill AL dan Bell CN. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *Q J Med*. 2004;97:395-385.
10. Gocke S, A. Osman Bengib, Erol Akinc, Seniz Karacayd, Deniz Sagdicc, Mehmet Kurkcue, et al. Effects of Hyperbaric Oxygen during Experimental Tooth Movement. *The Angle Orthodontist*. 2008; 78(2):304-5.
11. Graber TM. Orthodontics Current Principal and Techniques. 2nd ed. The CV Mosby Company; 2000. p.96-234.
12. Huang W. et al. Osteopontin is a negative regulator of proliferation and differentiation in MCT3T3-E1 pre-osteoblastic cells. Elsevier. 2004;34(5):808-799.
13. HudaN. Pengaruh Hiperbarik Oksigen Terhadap Perfusi Perifer Luka Gangren Pada Penderita DM di RSAL Dr. Ramelan Surabaya [Tesis]. Jakarta: Fakultas Ilmu Keperawatan Universitas Indonesia; 2010. h. 23.
14. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Histologi Dasar*, 10th ed. Jakarta: EGC; 2007. p.121.
15. Kusumadewy W. 2012. Perbandingan Kadar Interleukin 1-0 Dalam Cairan Krevikular Gingiva Anterior Mandibula Pasien pada Tahap Awal Perawatan Ortodonti Menggunakan Braket Self-Ligating Pasif dengan Braket Konvensional Pre-Adjust MBT. Thesis. Universitas Indonesia. p.1.
16. Lekic PC. Effect of Surface Conditioning and Resin Cements on the Adhesion of Fiber Posts. *J Dent Oral Health*. 2013; 1:6-1.
17. Nakashima T. Evidence for Osteocyte Regulation of Bone Homeostasis through RANKL Expression. *Nature Medicine*. 2011;17(10):1231-34.
18. Rahardjo P. Ortodonti Dasar. Airlangga University Press. Surabaya; 2009. h. 82-83, 144-153.
19. Raggatt Liza J dan Nicola C. partridge. Cellularand Molecular Mechanisms Of Bone Remodeling. The University of Queensland Centre for Clinical Research. Australia. 2011. p. 25103.
20. Sutomo S, Pambudi Rahardjodan Achmad Sjafei. The effect of Hyperbaric Oxygen in increasing the amount of Osteoblast cells on Remodeling process during tooth movement on male adult Cavia Cobaya. *Orthodontic Dental Journal*. 2012; 3(1): p. 32-22.
21. Verborgt Olivier, Grary J Gibson dan Mitchell B. Loss of Osteocyte Integrity in Association with Microdamage and Bone Remodeling After Fatigue In Vivo. America: American Society for Bone and Mineral Research; 2000.p.65.
22. Yamaghuci M. RANK/RANKL/OPG during orthodontic tooth movement. Japan: Nihon university; 2009. p. 114.
23. Yamamoto Teruko Takano. Osteocyte function under compressive mechanical force. Division of Orthodontics and

- Dentofacial Orthopedics; 2013. p. 32. [cited 2 Januari 2016]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1882761613000641>
24. Yuxing H.. Effect of hyperbaric oxygen preconditioning on osteopontin expression in MCAO rats. Journal of Third Military Medical University; 2013. p.1. [cited 3 Januari 2016] Available from http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-DSDX201301008.htm.
 25. Zhang Q, Chang Q, Cox RA, Gong X, Gould LJ. Hyperbaric Oxygen Attenuates Apoptosis and Decreases Inflammation in an Ischemic Wound Model. Journal of Investigative Dermatology. 2008;128: 2112–2102.

Sitotoksisitas Ekstrak Daun Mangrove Daruju (*Acanthus Ilicifolius*) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar

(The Cytotoxicity of Daruju Mangrove (*Acanthus ilicifolius*)
Leaf Extract as Root Canal Irrigation)

Ratna Putri*, Twi Agnita Cevanti**, Henu Sumekar**

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

** Departemen Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: The cleaning and shaping of the root canal are important stages in root canal treatment. The irrigation solution needed in those stages to clean the canal from residual necrotic tissue, dentine particles, and microorganism. Irrigation solution must fulfill some criteria among others, able to solute the debris or tissue residual, has low surface tension and not toxic. Mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) has potency to be an alternative of the usual irrigation solution because has antibacterial effect. **Purpose:** The aim of this study was to examine the cytotoxicity of Daruju mangrove (*Acanthus ilicifolius*) as root canal irrigation against the fibroblast cell (BHK-21) culture. **Materials and Methods:** The samples used was fibroblast cells (BHK-21) using culture method. These samples were treated with *Acanthus ilicifolius* chloroform extract with several concentration. Samples were divided into 1: cell control, 2: media control, 3: 40mg/ml, 4: 50mg/ml, 5: 60mg/ml, 6: 70mg/ml, 80mg/ml, 7: control. MTT was added, 3 minutes after that incubated for 4 hours. DMSO solution was added and then shaken, the samples were analyzed using ELISA reader with a 620 wavelength. The cytotoxicity was expressed by cell viability. If it is > 50%, it is declared as non toxic. Data analyzed using non parametric test (Kruskal-Wallis) followed by Mann Whitney test. **Results:** The Kruskal-Wallis test proved that there were significant differences in the cell viability among the treated groups. The average difference among the treated groups which were tested with Mann-Whitney test, showed a significant difference between group 1 and 5, also group 2 and group 5. **Conclusions:** *Acanthus ilicifolius* leaf chloroform extract has no cytotoxicity effect on concentration fibroblast cell (BHK-21) culture.

Keywords: *Acanthus ilicifolius*, root canal irrigation, fibroblast cell

Correspondence: Twi Agnita Cevanti Bagian Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah,, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Email:

ABSTRAK

Latar belakang: Pembersihan dan pembentukan saluran akar merupakan tahapan penting pada perawatan saluran akar. Bahan irigasi diperlukan pada tahapan tersebut untuk membersihkan jaringan nekrotik, partikel dentin dan mikroorganisme. Syarat bahan irigasi saluran akar antara lain mampu melarutkan debris atau sisa jaringan, memiliki tegangan permukaan rendah, dan tidak bersifat toksik. Mangrove daruju (*Acanthus ilicifolius*) memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar karena memiliki efektivitas antibakteri. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sitotoksitas ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* terhadap kultur sel fibroblas BHK-21. **Bahan dan Metode:** Sampel yang digunakan adalah sel fibroblas (BHK-21) dengan metode kultur, diberi perlakuan ekstrak kloroform daun *Acanthus ilicifolius* dengan berbagai konsentrasi. Sampel dibagi menjadi 7 kelompok, 1: kontrol sel, 2: kontrol media, 3: 40mg/ml, 4: 50mg/ml, 5: 60mg/ml, 6: 70mg/ml, 7: 80mg/ml. Kemudian larutan MTT ditambahkan, 3 menit kemudian dilakukan inkubasi selama 4 jam. Larutan DMSO ditambahkan kemudian dikocok, sampel diperiksa menggunakan Elisa reader panjang gelombang 620. Sitotoksitas dinyatakan dengan viabilitas sel, apabila >50%, maka tidak toksik. Data dianalisa menggunakan uji non parametrik (Kruskal-Wallis) dilanjutkan uji Mann-Whitney. **Hasil:** Uji Kruskal-Wallis membuktikan bahwa terdapat perbedaan viabilitas sel yang bermakna antar kelompok perlakuan. Beda rerata antar kelompok diuji dengan Mann-Whitney memperlihatkan perbedaan bermakna pada kelompok 1 dengan 5 dan kelompok 2 dengan 5. **Simpulan:** Ekstrak kloroform daun *Acanthus ilicifolius* tidak bersifat toksik terhadap kultur sel fibroblas BHK-21.

Kata Kunci: *Acanthus ilicifolius*, irigasi saluran akar, sel fibroblas

Korespondensi: Twi Agnita Cevanti, Bagian Konservasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email:

PENDAHULUAN

Perawatan saluran akar merupakan perawatan yang bertujuan mengembalikan keadaan serta mempertahankan agar gigi tetap berfungsi.¹ Pembersihan dan pembentukan saluran akar merupakan tahapan yang penting. Pada tahap tersebut, diperlukan bahan irigasi untuk membersihkan sisa jaringan nekrotik, partikel dentin, mikroorganisme dan sebagai irigasi untuk menghaluskan preparasi saluran akar. Jika prosedur tersebut tidak dilakukan, maka akan menyebabkan sisa debris sebanyak 70% pada dinding dan ujung saluran akar.² Syarat bahan irigasi antara lain mampu melarutkan debris atau sisa jaringan, memiliki

tegangan permukaan rendah, membantu pelumasan, mampu membuang *smear layer* dan tidak bersifat toksik.³

Bahan irigasi yang paling populer adalah Sodium Hipoklorit (NaOCl) yang merupakan agen antimikroba yang baik. Larutan ini tidak mahal, mudah diperoleh dan mudah digunakan.³ Konsentrasi yang umum digunakan berkisar antara 0,5% hingga 5,25%.⁶ NaOCl memiliki kemampuan melarutkan sisa-sisa jaringan nekrotik, komponen organik dentin dan *smear layer*.⁴

NaOCl memiliki kelemahan utama yaitu menurut penelitian O'Hoy *et al*⁵, NaOCl 1% dapat menyebabkan korosi alat endodontik dari baja karbon apabila direndam dalam semalam.

Menurut Marion *et al*⁶, pada konsentrasi 1%; 2,5% dan 4,8% dapat menyebabkan toksisitas pada jaringan vital dengan intensitas tergantung dari konsentrasi serta memiliki bau tidak enak.⁷ Kebocoran larutan ini selama prosedur perawatan saluran akar dapat menyebabkan gejala seperti nyeri, bengkak, serta memar dan mati rasa.^{3,6} Melihat kelemahan bahan irigasi NaOCl, maka diperlukan upaya mendapatkan alternatif bahan baku irigasi saluran akar yang memiliki khasiat lebih baik, toksisitas lebih rendah, biokompatibel, harga murah dan mudah didapat.

Salah satu ekosistem potensial pada daerah pesisir adalah tanaman mangrove yang memiliki keunikan biokimiawi sehingga mampu menghasilkan berbagai produk alami yang baru.⁸ Substansi yang terkandung dalam mangrove telah lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat-obatan berbagai penyakit.⁹ Ekstrak *Acanthus ilicifolius* telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati rematik, neuralgia, batuk, asma dan infeksi bakteri.¹⁰

Hasil fitokimia ekstrak daun mangrove daruju (*Acanthus ilicifolius*) menunjukkan kandungan saponin, alkaloid, terpenoid dan tannin yang berpotensi sebagai antimikroba.⁹ Ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* menggunakan konsentrasi 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml dan 80 mg/ml berdasarkan penelitian sebelumnya.¹¹

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian *true experimental laboratoris* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian

dilakukan di PUSVETMA (Pusat Veteriner Farma) Surabaya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana tertutup, kertas saring, botol *roux*, vortex, mikroskop cahaya, *multichannel* pipet 25µl, corong *Buchner*, labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, *microwell plate* 96 lubang, inkubator CO₂, mikropipet, pipet tetes, pipet volume, sentrifugator, *shaker*, timbangan, autoklaf, *laminar flow*, *ELISA reader*, *water bath*, *mechanical blender*, *hemocytometer*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak daun mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) yang digunakan berupa ekstrak *kloroform* daun dengan konsentrasi 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, kultur sel fibroblas BHK-21 (*Baby Hamster Kidney*), media kultur alpha MEM, *trypsin versene*, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, *Phosphat Buffer Solution* (PBS), DMSO (*dimethyl sulfoxide*), kloroform, etil asetat, aquades steril, MTT.

Tahapan pembuatan ekstrak adalah sebagai berikut, daun dikeringkan di tempat teduh tidak terpapar matahari selama 7 hari sampai cukup kering, kemudian dijadikan bubuk dengan menggunakan *mechanical blender*. Sebanyak 500 gram serbuk dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan pelarut kloroform, kemudian di goyang selama 1 jam untuk mendapat kondisi homogen dalam *water bath* dengan kecepatan 120 rpm (*rotary per minutes*). Kemudian larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, larutan difiltrasi menggunakan penyaring *Buchner* sehingga menghasilkan residu penyaringan. Kemudian residu penyaringan di angin anginkan dan

dilakukan maserasi ulang selama 24 jam. Maserasi diulang hingga 3 kali. Kemudian seluruh hasil saringan dicampur menjadi satu dan dipekatkan menggunakan *rotary vaccum evaporator* pada suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak inti. Setelah proses pengekstrakan selesai, ekstrak dilarutkan dengan pelarut DMSO 1% hingga didapatkan konsentrasi 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml.

Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT assay. Kultur BHK-21 dalam bentuk monolayer dengan media *eagles* dan Fetal Bovine Serum 10% ditanam dalam botol *roux*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sel yang telah penuh dipanen, kemudian dicuci menggunakan *Phospat buffer saline* (PBS) sebanyak 2 kali untuk membuang sisa serum yang tersisa. Kemudian ditambahkan *Versene trypsin* untuk melepaskan sel dari dinding botol dan memisahkan ikatan. Sel fibroblas BHK-21 yang telah didistribusikan dalam sumuran dibagi menjadi kelompok perlakuan yaitu kelompok 1: kontrol sel, kelompok 2: kontrol media, kelompok 3: 40 mg/ml, kelompok 4: 50 mg/ml, kelompok 5: 60 mg/ml, kelompok 6: 70 mg/ml, kelompok 7: 80 mg/ml. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam microplates 96 well sebanyak 100µl. Untuk melakukan pembacaan media dibuang dan dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali kemudian ditambahkan dengan media *eagles* dan *fetal bovine serum* 10%. MTT ditambahkan pada *plate* yang berisi medium kultur sebanyak 10 µl, kemudian diinkubasi kembali selama 2-4 jam pada suhu 37°C. Seluruh media dalam sumuran dan bahan uji diambil. Kemudian, setiap sumuran

ditambahkan DMSO (*Dimethylsulfoxide*) sebanyak 50 µl. *Plate* diaduk secara mekanis dengan *Plate Shaker* selama 5 menit sampai kristal formazan terlarut. Sel fibroblas yang hidup akan terwarnai dengan formazan menjadi biru, sedangkan yang mati tidak terbentuk warna biru.

Nilai *optical density* formazan dibaca secara spektrofotometri dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 620 nm. Persentase sel hidup dihitung dengan rumus:²²

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{perlakuan} + \text{kontrol media}}{\text{sel} + \text{media}} \times 100\%$$

Keterangan:

% sel hidup : persentase jumlah sel hidup setelah pengujian

Perlakuan : nilai densitas OD (*optical density*) formazan pada setiap sampel setelah pengujian

Media : nilai densitas OD (*optical density*) formazan pada kontrol media

Sel : nilai densitas OD (*optical density*) formazan pada kontrol sel

HASIL PENELITIAN

Hasil uji sitotoksitas dengan menghitung jumlah sel fibroblas yang hidup dihitung menggunakan uji statistik Kruskal-Wallis dengan taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) pada program SPSS versi 20.0.

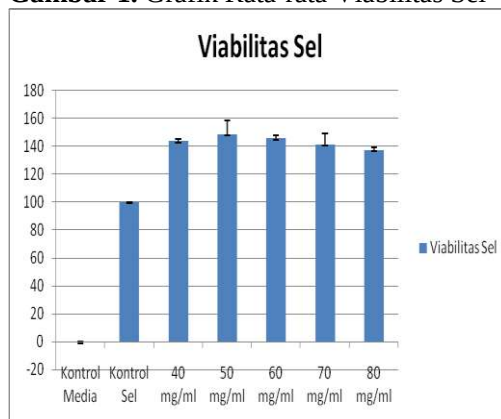
Tabel 1. Rata-rata dan Standar Deviasi Viabilitas Sel Fibroblas

Kelompok Perlakuan	Rata-rata	Standar Deviasi
P ₁	143,843	1,500
P ₂	148,918	9,427
P ₃	145,771	1,984
P ₄	141,286	7,985
P ₅	137,568	1,841

Keterangan :

Kelompok perlakuan P₁ : 40 mg/ml
 Kelompok perlakuan P₂ : 50 mg/ml
 Kelompok perlakuan P₃ : 60 mg/ml
 Kelompok perlakuan P₄ : 70 mg/ml
 Kelompok perlakuan P₅ : 80 mg/ml

Data hasil penelitian menunjukkan viabilitas sel tertinggi adalah kelompok sel dengan perlakuan P₂, yaitu kelompok sel dengan pemberian ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* 50 mg/ml. Sedangkan viabilitas terendah terjadi pada kelompok perlakuan P₅, yaitu kelompok sel yang diberi perlakuan ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* 80 mg/ml (gambar 1).

Gambar 1. Grafik Rata-rata Viabilitas Sel

Berdasarkan tabel hasil uji Mann-Whitney diketahui bahwa perbedaan viabilitas sel yang bermakna terjadi antara kontrol sel dengan semua kelompok perlakuan, perlakuan 40 mg/ml dengan perlakuan 80 mg/ml ($p=0,004$), dan perlakuan 50 mg/ml dengan perlakuan 80 mg/ml ($p=0,037$).

Tabel 2. Hasil Uji Mann-Whitney Antar Kelompok Perlakuan

	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
K	0,002*	0,002*	0,002*	0,002*	0,002*
P ₁		0,337	0,092	0,337	0,004*
P ₂			0,337	0,262	0,037*
P ₃				0,337	0,372
P ₄					0,200

PEMBAHASAN

Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml karena, pada penelitian yang dilakukan Rachmawati¹¹ menunjukkan pada konsentrasi tersebut ekstrak daun mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis* yang merupakan salah satu bakteri yang umum ditemukan pada saluran akar. Pada penelitian ekstrak daun mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap kultur sel fibroblas BHK-21 menunjukkan hasil >50% hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) tidak bersifat toksik bahkan terjadi peningkatan diatas 100%. Perbedaan yang signifikan terjadi antara kelompok perlakuan 40 mg/ml dengan 80 mg/ml ($p=0,004$) dan kelompok perlakuan 50 mg/ml dengan 80 mg/ml ($p=0,037$).

Berdasarkan hasil penelitian Gayathri *et al*¹², ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* mengandung alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, tannin, terpenoid, karbohidrat. Beberapa diantara kandungan tersebut bersifat sitotoksik yaitu saponin, tanin, alkaloid dan terpenoid. Peningkatan viabilitas sel fibroblast BHK-21 diduga karena selain terdapat kandungan yang bersifat toksik, terdapat pula kandungan yang memicu proliferasi sel antara lain flavonoid, karbohidrat, dan fenol.

Flavonoid dalam jumlah kecil dapat memicu efek antiapoptosis melalui supresi *peroxide-induced JNK-c-Jun/AP-1 pathway*. Flavonoid dapat menghambat *MAP* kinase, *cAMP-dependent kinase*, protein kinase C, dan beberapa kinase lain. Terhambatnya *MAP* kinase ini menyebabkan supresi *JNK-c-Jun/AP1 pathway*.¹³ Flavonoid juga bertindak sebagai antioksidan intraseluler yang mengembalikan sistem antioksidan intraseluler untuk melindungi dari kerusakan akibat ROS.¹⁴

Fenol diketahui sebagai antioksidan yang dapat melawan spesies oksigen aktif yang berbahaya. Fenol bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan elektron kepada guaiacol peroksidase (GuPXS) untuk detoksifikasi. Beberapa literatur menyebutkan bahwa fenol dapat menghambat prooksidan dan sifat sitotoksik dalam beberapa kondisi.¹⁵

Ekstrak daun *Acanthus ilicifolius* memiliki kandungan karbohidrat yang merupakan sumber energi yang penting untuk reaksi-reaksi biokimia. Karbohidrat berperan sebagai nutrisi yang dimetabolisme untuk menghasilkan *ATP*. *ATP* akan digunakan untuk proses persiapan sintesis DNA pada fase *G₁* menuju ke

fase S pada siklus sel. Pada fase *G₁* sel memerlukan *ATP* untuk sintesis mRNA, Jika pada fase *G₁* nutrisi tidak mencukupi, maka sel akan masuk ke fase S untuk memulai replikasi DNA.^{16,17,18}

Penurunan viabilitas yang terjadi pada kelompok perlakuan 60 mg/ml, 70 mg/ml dan 80 mg/ml dapat disebabkan karena pembentukan formazan ungu oleh garam tetrazolium mengacu pada sel yang aktif secara metabolik. Aktivitas metabolik tiap sel berbeda. Terkadang dijumpai sel yang hidup dan menunjukkan aktivitas metabolik tetapi hanya sedikit atau bahkan tidak berproliferasi.¹⁹

Selain tergantung dari aktivitas metabolik sel terhadap formazan, ketidaksesuaian hasil pembacaan juga dapat disebabkan kandungan dari bahan uji. Bahan uji dapat berkontak secara langsung dengan *MTT*. Contohnya asam askorbat dan polifenol yang dapat mereduksi *MTT* walaupun tidak ada sel yang hidup.²⁰ Selain itu, bahan uji juga dapat mempengaruhi pembacaan. Bahan uji yang diperoleh pada percobaan ini berbentuk larutan keruh. Hal ini membuat proses pembacaan menggunakan *ELISA reader* terganggu karena terjadinya penghamburan cahaya sehingga diduga akan terjadi *false negatif*.²¹

SIMPULAN

Pada penelitian ini secara umum dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) tidak bersifat toksik terhadap kultur sel fibroblas BHK-21.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedjono P, Mooduto L, Setyowati L. 2009. Penutupan Apeks Pada Pengisian Saluran Akar Dengan Bahan Kalsium Oksida Lebih Baik Dibanding Kalsium Hidroksida. *Jurnal Persatuan Dokter Gigi Indonesia*, 58(2):1-5
2. Rochyani L, Aprilia. 2010. Sitotoksitas Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigela Sativa*) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar. P. 1.
3. Torabinejad M, Walton RE. 2008. Prinsip & Praktik Ilmu Endodonsia. Ed.3. Jakarta : Penerbit buku kedokteran EGC, pp 243-44.
4. Schäfer E. 2007. Irrigation of the root canal. *Endo*, 1(1): 15
5. O'Hoy PY, Messer HH, Palamara JE. 2003. The effect of cleaning procedures on fracture properties and corrosion of NiTi files. *Int Endod J*, 36(11): 724-732.
6. Marion JJC, Manhaes FC, Bajo H, Duque TM. 2012. Efficiency of different concentrations of sodium hypochlorite during endodontic treatment. Literature review. *Dental Press Endod*, 2(4): 32-37
7. Spencer HR, Ike V, Brennan PA. 2007. Review: The Use of Sodium Hypochlorite in Endodontics – Potential Complications
8. Rondonuwu A, Wantasen A, Ontorael R. 2012. Kondisi Ekologi dan Pemanfaatan Sumber Daya Mangrove di Desa Tarohan Selatan Kecamatan Beo Selatan Kabupaten Kepulauan Talaud. *Jurnal Ilmiah Platax* 1(1): 3
9. Govindasamy C, Arulpriya M. 2013. Antimicrobial activity in *Acanthus ilicifolius* extracted from the mangroves of Karwar coast Karnataka. *Recent Rest Sci Technol*, (2): 98-9
10. Khajure V, Rathod JL. 2010. Antimicrobial activity of extracts of *Acanthus ilicifolius* extracted from the mangroves of Karwar coast Karnataka. *Recent Res Sci Technol*, (2): 98-9
11. Rachmawati H. 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove *Acanthus ilicifolius* Terhadap Biofilm *Enterococcus faecalis*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Skripsi. Surabaya, p 26
12. Gayathri GA, Mahalingam G, Nathiya R. 2015. Quantitative Phytochemical Analysis, In vitro Reducing Power and anti-oxidant Activity of Methanol Leaf Extract of *Acanthus ilicifolius*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(1):181-6
13. Ishikawa Y, Kitamura M. 2000. Anti-apoptotic effect of quercetin: intervention in the JNK- and ERK- mediated apoptotic pathways. *Kidney International*, 2000(58):1078-1087
14. Tang X, Zhang Cm Zeng Wm Mi Y, Liu H. 2006. Proliferating effects of the flavonoids daidzain and quercetin on cultured chicken primordial germ cells through antioxidant action. *Cell Biology International*, 30(2006): 445-51
15. Sahikama Y, Cohen FM, Grace SC, Yamasaki H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals plants. *Toxicology*, 177:67-80
16. Foster YA, Yellen P, Xu L, Saqcena M. 2010. Regulation of G₁ Cell Cycle Progression. *Genes Cancer*, 1(11): 1124-31
17. Sholl-Franco A, Fragel-Madeira L, Macama Ada C, Linden R, Ventura AL. 2009. ATP controls cell cycle and induces proliferation in the mouse developing retina. *Int J Dev Neurosci*, 28(1): 63-73
18. Mc Kee T, Mc Kee J. 2011. *Biochemistry: The Molecular Basis of Life*, 5th Ed. Inggris: Oxford University Press, pp. 47-58
19. Buch K, Peters T, Noworth T, Sanger M, Schmidberger H, Langguth P. 2012. Determination of Cell Survival After Irradiation Via Clonogenic Assay versus Multiple MTT Assay-a Comparative Study. *Radiation Oncology*, 2012(7):1
20. Jaszczysyn A & Gasiorowski K. 2008. Limitations of the MTT Assay in Cell Viability Testing. *Adv Clin Exp Med* 17(5):525-29
21. Siregar SN. 2011. Sitotoksitas Ekstrak Lerak (*Sapindus rarak DC*) Terhadap Sel Fibroblas Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Secara *In Vitro*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. Skripsi. Medan, p.19

RESEARCH ARTICLE

Perbedaan Kekuatan Impak Pada Bahan Resin Akrilik Self Cured dengan Penambahan Zirconium Dioxide (ZrO_2) Nanopartikel

(The Difference of Impact Strength in Acrylic Resin Self-Cured with the Addition of Zirconium Dioxide (ZrO_2) Nanoparticles)

Annete Juwita*, Widaningsih**, Puguh Bayu Prabowo***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Self-cured acrylic resin is a material used for repairing broken and fractured dentures. Zirconium dioxide (ZrO_2) is a reinforcing material that is being developed as an additive to the acrylic resin. **Purpose:** to determine the effect of zirconium dioxide (ZrO_2) addition on self-cured acrylic resin on impact strength. **Material and Methods:** This study was a true experimental laboratory study with the design of a post-test only control group design, using 24 pieces of self-cured acrylic resin measuring 65 x 10 x 2.5 mm divided into 4 groups with and without zirconium addition dioxide (ZrO_2) nanoparticles. Zirconium dioxide (ZrO_2) nanoparticles were silanized first by mixing the silane coupling agent. Furthermore, the impact strength was tested on the plate. The data obtained were analyzed using the One Way ANOVA test. **Results:** there were significant differences in the impact strength between the groups with a significance value of 0,000 ($p < 0.05$). **Conclusion:** there was a difference in the increase of impact strength in acrylic resin self-cured with the addition of ZrO_2 nanoparticles concentrations of 3%, 5%, and 7%.

Key words: Self cured acrylic resin, zirconium dioxide, impact strength

Correspondence: Widaningsih, Department of Prosthodonti, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Phone 0818312757, Email: widaningsih2008@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang : Resin akrilik self cured merupakan bahan yang digunakan untuk reparasi gigi tiruan yang mengalami patah dan fraktur. Zirconium dioxide (ZrO_2) merupakan bahan penguat yang sedang dikembangkan sebagai bahan tambahan pada resin akrilik. **Tujuan :** untuk mengetahui pengaruh penambahan zirconium dioxide (ZrO_2) pada bahan resin akrilik self cured terhadap kekuatan impak. **Bahan dan Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian true eksperimental laboratoris dengan rancangan the post test only control group design, dengan menggunakan lempeng resin akrilik self cured sebanyak 24 buah berukuran $65 \times 10 \times 2,5$ mm yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan dan tanpa penambahan zirconium dioxide (ZrO_2) nanopartikel. Zirconium dioxide (ZrO_2) nanopartikel dilakukan silanisasi terlebih dahulu dengan mencampurkan silane coupling agent. Selanjutnya dilakukan uji kekuatan impak pada lempeng tersebut. Data yang didapatkan dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA. **Hasil :** terdapat perbedaan kekuatan impak yang signifikan antar kelompok dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). **Simpulan :** terdapat perbedaan peningkatan kekuatan impak pada bahan resin akrilik self cured dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 3%, 5%, dan 7%.

Kata kunci: Resin akrilik self cured, zirconium dioxide, kekuatan impak

Korespondensi: Widaningsih, Departemen Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Telp 0818312757, Email: widaningsih2008@yahoo.com

PENDAHULUAN

Gigi tiruan merupakan alat pengganti gigi yang hilang dalam memperbaiki fungsi pengunyahan, berbicara, estetika, menjaga kesehatan jaringan periodontal, serta mencegah kerusakan struktur dalam rongga mulut. Basis gigi tiruan adalah bagian gigi tiruan yang berkontak langsung dengan jaringan lunak baik rahang atas maupun rahang bawah dan tempat melekatnya elemen gigi.^{1,2}

Bahan gigi tiruan 95% terbuat dari bahan resin akrilik. Dalam bidang kedokteran gigi, resin akrilik memiliki dua kelompok yaitu turunan asam akrilik dan asam metakrilik yang berpolimerisasi tambahan dengan cara yang sama. Pembentukan resin akrilik terjadi ketika tercampurnya monomer dan polimer serta terjadinya proses polimerisasi sampai terbentuk PMMA. PMMA yang tersusun dari *methyl*

metacrylate (MMA) monomer akan terhubung dan membentuk ikatan panjang polimer.

Berdasarkan cara polimerisasinya, resin akrilik terbagi menjadi 4 yaitu resin akrilik *heat cured*, resin akrilik *self cured*, resin akrilik *visible light cured*, dan resin akrilik *microwave cured*. Resin akrilik sebagai bahan basis gigi tiruan memiliki kelebihan dan kekurangan.^{3,4,5}

Kekurangan dari resin akrilik seperti porositas dan tingkat kekasaran permukaan yang tinggi dapat menyebabkan fraktur pada gigi tiruan. Fraktur pada gigi tiruan sering terjadi pada bagian *midline* plat gigi tiruan rahang atas dan pada bagian sambungan bahan gigi tiruan yang baru dan lama.^{6,7}

Fraktur gigi tiruan juga dapat disebabkan oleh kesalahan operator dalam pembuatan dan manipulasi resin akrilik. Ratio fraktur antara gigi tiruan

rahang atas dan rahang bawah adalah 2:1. Bahan resin akrilik *self cured* adalah bahan yang sering digunakan untuk memperbaiki fraktur atau patah gigi tiruan, karena membutuhkan waktu yang singkat dan dalam sekali kunjungan. Kriteria perbaikan protesa yang baik adalah kekuatan yang memadai, warna yang sama dengan bahan asal, akurasi dimensi yang baik, dan mengembalikan kekuatan asal protesa agar tidak fraktur di kemudian hari.^{8,9}

Resin akrilik *self cured* juga dapat digunakan sebagai bahan dalam pembuatan sendok cetak khusus dan peranti ortodonti lepasan karena sifatnya yang biokompatibel dan mudah dimanipulasi. Keunggulan dari resin akrilik *self cured* adalah keakuratan dimensi yang baik, bentuk yang stabil, *working time* yang singkat, sifat konsistensi yang optimum dan mudah dilakukan deflasking. Kekurangan dari resin akrilik *self cured* adalah kestabilan warna yang kurang, derajat polimerisasi yang tidak sempurna, besar molekul material yang lebih rendah, porositas yang besar dan besarnya jumlah monomer sisa. Sehingga menyebabkan resin akrilik *self cured* mudah patah kembali apabila digunakan sebagai bahan reparasi.^{4,10,11,12}

Zirconium dioxide (ZrO_2) merupakan bahan yang sedang dikembangkan sebagai bahan tambahan pada resin akrilik. Serbuk nanopartikel ZrO_2 dipilih untuk memperbaiki kekurangan yang dimiliki resin akrilik, sehingga menjadi bahan biokompatibel yang memiliki ketahanan terhadap fraktur yang tinggi. Selain itu ZrO_2 memiliki kelebihan lain dibandingkan bahan penguat lainnya yaitu tahan terhadap abrasi, tidak memiliki sifat toksik, tidak menghantarkan listrik,

konduktifitas termal yang rendah, kekuatan termal yang baik, dan tahan korosi.

Nanopartikel ZrO_2 memiliki sifat hidrofilik, sedangkan polimer resin akrilik bersifat hidrofobik. Hal ini dapat mengakibatkan tidak menyatunya partikel-partikel karena terdapat perbedaan energi permukaan. Bahan *silane coupling agent* dibutuhkan untuk menyatukan kedua bahan. *Silane coupling agent* dapat merubah permukaan penguat menjadi bersifat hidrofobik sehingga dapat menyatu dengan baik pada polimer.^{13,14,15}

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin melakukan penelitian ini yang dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh penambahan ZrO_2 nanopartikel yang sudah disilanisasi dengan *silane coupling agent* terhadap kekuatan impak bahan resin akrilik *self cured*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang digunakan adalah penelitian *trues experimental laboratoris* dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*. Unit eksperimen pada penelitian ini adalah lempeng akrilik jenis *self cured* dengan ukuran 65 mm x 10 mm x 2,5 mm dengan kriteria sampel permukaan halus dan rata, tidak porus, dan ukuran lempeng sama.

Subyek dalam penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol tanpa penambahan ZrO_2 nanopartikel, kelompok perlakuan 1 penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 3%, kelompok perlakuan 2 penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 5%, dan kelompok perlakuan 3 penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 7%.

Nanopartikel ZrO_2 terlebih dahulu dilakukan silanisasi untuk meningkatkan adhesi antara nanopartikel ZrO_2 dengan resin akrilik *self cured* dengan cara 30 gr nanopartikel ZrO_2 dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang berisi 200 ml etanol murni yang digunakan sebagai pelarut. Selanjutnya tabung erlenmeyer dimasukkan ke dalam sonikator pada temperatur ruang selama 20 menit.

Kemudian digetarkan selama 20 menit pada suhu ruang menggunakan *magnetic stirrer* sehingga nanopartikel ZrO_2 dan etanol tercampur homogen. Setelah itu, larutan ditambahkan *silane coupling agent* sebanyak 1,5 ml (5% dari nanopartikel ZrO_2) ke dalam campuran nanopartikel ZrO_2 dan etanol menggunakan *syringe* steril kemudian getarkan dengan getaran 250 rpm selama 60 menit.

Campuran dituangkan dalam wadah tertutup dan dibiarkan selama 2 hari pada suhu ruang agar zat yang dilarutkan *silane coupling agent* dapat meresap sempurna pada permukaan ZrO_2 . Etanol yang tercampur pada nanopartikel ZrO_2 diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C dan kecepatan 150 rpm selama 30 menit untuk memisahkan pelarut etanol dan campuran *silane coupling agent* yang telah menyatu dengan ZrO_2 .

Kemudian digunakan alat *vacuum buchner* untuk menghilangkan sisa etanol dan *silane coupling agent* yang tersisa. Selanjutnya nanopartikel ZrO_2 yang sudah di silanisasi dikeringkan di dalam oven suhu 60°C selama 20 jam, kemudian dikeluarkan dari oven. Selanjutnya nanopartikel ZrO_2 diproses menggunakan alat sonikator dengan kecepatan 250 rpm

selama 3 menit untuk memecah partikel yang menggumpal.

Pembuatan sampel diawali dengan menyiapkan mold berukuran 65 mm x 10 mm x 2,5 mm didalam kuvet. Pada pembuatan sampel resin akrilik *self cured* tanpa penambahan ZrO_2 , dilakukan pengukuran polimer dan monomer resin akrilik *self cured* dengan perbandingan 12 gr : 6 ml. Lalu memasukkan polimer dan monomer kedalam pot porselen. Kemudian polimer dan monomer diaduk hingga homogen, ditunggu hingga fase dough stage.

Pada pembuatan sampel resin akrilik *self cured* dengan penambahan nanopartikel ZrO_2 konsentrasi 3%, nanopartikel ZrO_2 yang telah disilanisasi ditimbang sebanyak 0,54 gr untuk 1 buah kuvet yang terdiri dari 3 mold sampel kekuatan impak. Perhitungan tersebut setara dengan 3% dari total berat polimer dan monomer. Maka perbandingan ZrO_2 : polimer : monomer untuk pengisian 3 mold adalah 0,54 gr : 11,46 gr : 6 ml. Nanopartikel ZrO_2 , polimer dan monomer diaduk pada pot porselen hingga homogen.

Pada pembuatan sampel resin akrilik *self cured* dengan penambahan nanopartikel ZrO_2 konsentrasi 5%, nanopartikel ZrO_2 yang telah disilanisasi ditimbang sebanyak 0,9 gr untuk 1 buah kuvet yang terdiri dari 3 mold sampel kekuatan impak. Perhitungan tersebut setara dengan 5% dari total berat polimer dan monomer. Maka perbandingan ZrO_2 : polimer : monomer untuk pengisian 3 mold adalah 0,9 gr : 11,1 gr : 6 ml. Nanopartikel ZrO_2 , polimer dan monomer diaduk pada pot porselen hingga homogen.

Pada pembuatan resin akrilik *self cured* dengan penambahan

nanopartikel ZrO_2 konsentrasi 7%, nanopartikel ZrO_2 yang telah disilanisasi ditimbang sebanyak 1,26 gr untuk 1 buah kuvet yang terdiri dari 3 mold sampel kekuatan impak. Perhitungan tersebut setara dengan 7% dari total berat polimer dan monomer. Maka perbandingan ZrO_2 : polimer : monomer untuk pengisian 3 mold adalah 1,26 gr : 10,74 gr : 6 ml.

Nanopartikel ZrO_2 , polimer dan monomer diaduk pada pot porselen hingga homogen.

Kemudian ditunggu hingga fase dough stage, lalu memasukkan adonan resin akrilik *self cured* kedalam mold. Meletakkan plastik *cellophane* yang sudah diberi air diatas kuvet bawah lalu menutup dengan kuvet atas. Kuvet dipres selama 5 menit, kemudian mengeluarkan kuvet dari press kuvet. Kuvet dibuka dan sampel dikeluarkan dari kuvet.

Bagian sampel resin akrilik *self cured* yang tajam dirapikan dengan menggunakan bur *fraser* kemudian dihaluskan dengan menggunakan kertas pasir secara berurutan dari nomer 100 dilanjutkan nomer 500 kemudian nomer 1500. Pemolesan dilakukan dengan menggunakan bur *feltcone* yang diberi pumice dan bur *brush* yang diberi kryet.

Pengukuran kekuatan impak dilakukan dengan menggunakan alat *mini impact tester type KRY* pada suhu ruang 25°C. Metode yang digunakan merupakan gabungan antara metode Charpy dan Izod yaitu dengan meletakkan bahan uji secara horizontal dengan arah pukulan searah bahan uji dengan salah satu ujungnya di cengkram.

Sampel akrilik diletakkan pada dasar (anvil), bandul atau beban diletakkan setinggi h atau sebesar sudut α (sudut α diambil 90°). Kemudian atur

posisi jarum petunjuk skala pada posisi nol. Bandul dilepas, sehingga memukul sampel akrilik. Setelah memukul sampel akrilik, bandul masih akan berayun setinggi h_1 atau sebesar sudut β (amati dan catat sudut β).

Hasil perhitungan kekuatan impak dilanjutkan dengan analisi data menggunakan SPSS 25.0.

HASIL

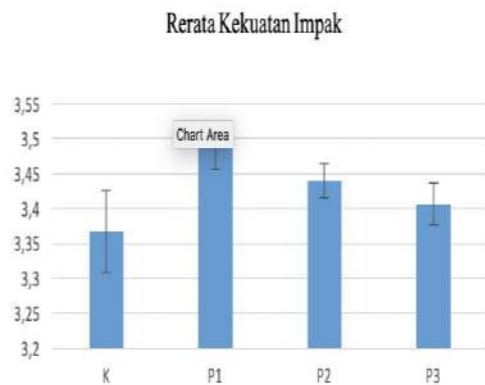
Data yang diperoleh dari hasil penelitian dan dianalisis secara deskriptis.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi uji kekuatan impak pada setiap kelompok perlakuan.

Kelompok	N	Rerata $\pm$ Standar Deviasi
K	6	3,3667 $\pm$ 0,05888
P1	6	3,4867 $\pm$ 0,03011
P2	6	3,4400 $\pm$ 0,02530
P3	6	3,4067 $\pm$ 0,03011

Gambar 1. Grafik rerata perhitungan kekuatan impak pada setiap kelompok perlakuan

Menunjukkan bahwa kelompok P1 yaitu kelompok perlakuan penambahan ZrO_2 konsentrasi 3% pada resin akrilik *self cured* memiliki kekuatan impak yang paling besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan penambahan ZrO_2 konsentrasi 5% dan 7%.



Tabel 2. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk*

Kelompok	N	Shapiro-Wilk	Sig
K	6	0,958	0,804
P1	6	0,866	0,212
P2	6	0,827	0,101
P3	6	0,866	0,212

Keterangan : $p > 0,05$

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* didapatkan distribusi data dari semua kelompok data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik untuk menguji kekuatan impak pada bahan resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel yaitu dengan uji *One Way Anova*.

Tabel 3. Hasil Homogenitas varians dengan *Levene Test*

Uji Levene	Sig
2,600	0,081

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa signifikansi semua kelompok lebih dari 0,05 sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji beda kekuatan impak resin akrilik *self cured* dengan dan

tanpa penambahan ZrO_2 menggunakan uji *One Way Anova*.

Tabel 4. Hasil uji statistik *One Way ANOVA*

	F	Sig
Kekuatan Impak	10,495	0,000

Hasil uji statistik *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikan adalah 0,000 yang berarti lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kekuatan impak yang bermakna antar kelompok. Untuk melihat perbedaan kekuatan impak antar kelompok maka dilanjutkan dengan uji *LSD*.

Tabel 5. Hasil uji *LSD*

Kelompok	P1	P2	P3
K	0,000	0,004	0,087
P1		0,049	0,002
P2			0,149

Hasil uji *LSD* dapat diketahui bahwa kelompok K dengan kelompok P1 dan kelompok P2, serta kelompok P1 dengan kelompok P2 dan kelompok P3 memiliki perbedaan bermakna. Namun kelompok yang paling memiliki perbedaan kekuatan impak dengan dan tanpa penambahan ZrO_2 pada resin akrilik *self cured* adalah kelompok K dengan kelompok P1.

PEMBAHASAN

Penelitian ini meneliti tentang kekuatan impak resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel. ZrO_2 nanopartikel dalam penelitian ini dilakukan silanisasi terlebih dahulu dengan *silane coupling agent* agar ZrO_2 dapat menyatu dengan resin akrilik *self cured*.¹⁵

Penelitian dilakukan menggunakan sampel plat akrilik dari resin akrilik *self cured* tanpa diberi tambahan ZrO_2 nanopartikel (kelompok kontrol) dan resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel. Konsentrasi ZrO_2 nanopartikel yang ditambahkan pada resin akrilik *self cured* adalah 3%, 5% dan 7% sesuai dengan penelitian Hameed dkk (2015). Pada penelitian tersebut digunakan resin akrilik *heat cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 3%, 5% dan 7%.

Pada penelitian ini didapatkan hasil analisis statistik pada tabel 1. menunjukkan rerata dan standar deviasi kekuatan impak semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi ZrO_2 yang di tambahkan. Rerata kekuatan impak pada resin akrilik *self cured* tanpa penambahan ZrO_2 memiliki nilai rerata terendah dibandingkan dengan resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 3%, 5% dan 7%. Sedangkan nilai rerata kekuatan impak tertinggi terdapat pada resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 konsentrasi 3%, sedangkan yang paling rendah adalah resin akrilik *self cured* tanpa penambahan ZrO_2 .

Pada penelitian ini, antara kelompok K dengan P1 dan P2 memiliki perbedaan bermakna disebabkan karena transfer beban antara ZrO_2 nanopartikel dengan matriks polimer saat dilakukan aplikasi beban. Kekuatan pergeseran permukaan yang tinggi antara ZrO_2 nanopartikel dan matriks polimer yang disebabkan pembentukan *cross-link* atau ikatan supra molekuler yang menutupi ZrO_2 nanopartikel sehingga dapat mencegah perluasan.^{16,17}

Pada penelitian ini, antara kelompok P1 dengan P2 dan P3 memiliki perbedaan bermakna disebabkan karena penambahan ZrO_2 menyebabkan distribusi dari ZrO_2 nanopartikel tersebut memasuki dan mengisi ruang antara rantai makromolekul linear dari polimer resin akrilik *self cured*. Pergerakan segmental makromolekul juga menjadi terbatas sehingga distribusi ZrO_2 nanopartikel menjadi lebih efektif dan akhirnya kekuatan dan kekakuan bahan menjadi meningkat dan tidak mudah patah atau fraktur.^{16,17,18}

Pada tabel 5. terdapat kelompok yang tidak memiliki perbedaan kekuatan impak yang bermakna yaitu antara kelompok resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 7% (Kelompok P3) dengan kelompok resin akrilik *self cured* tanpa penambahan ZrO_2 (Kelompok K) dan kelompok resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO_2 nanopartikel konsentrasi 5% (Kelompok P2). Hal ini disebabkan karena penambahan ZrO_2 nanopartikel yang terlalu banyak dapat menyebabkan defek pada bahan sehingga menurunkan kekuatan dari bahan tersebut. Pengendapan partikel-partikel ZrO_2 pada matriks polimer dan penambahan ZrO_2 nanopartikel yang berlebih ketika mencapai titik jenuh dalam matriks dapat menyebabkan gangguan dalam kontinuitas pada matriks resin.^{14,16,19}

Penurunan kekuatan juga dapat disebabkan karena efek dari transformasi fase tetragonal-ke-monoklinik dari ZrO_2 yang terjadi pada saat fase transisi martensit akibat dari induksi termal atau aplikasi stress. Perluasan volume ZrO_2 pada fase transformasi ini menyebabkan terjadinya *cracking* pada permukaan polimer. Fase transisi martensit

memiliki sifat yang lunak dan ulet sehingga saat terjadi induksi sehingga dapat terjadi suatu kecacatan atau defek.^{20,21}

Hal lain yang juga dapat mempengaruhi kekuatan impak adalah pengadukan polimer dan monomer yang dilakukan secara manual dapat menyebabkan perbedaan kecepatan pengadukan. Teknik pengadukan yang dilakukan secara manual dapat menyebabkan udara terperangkap didalam matriks resin akrilik sehingga dapat terjadi penurunan kekuatan impak akibat terjadinya porus pada resin akrilik.²²

Penelitian Gad dkk (2016) mengatakan bahwa penambahan ZrO₂ nanopartikel konsentrasi 7% dalam resin akrilik *self cured* memiliki kekuatan flexural yang paling tinggi dibandingkan dengan penambahan ZrO₂ nanopartikel konsentrasi 3% dan 5%. Hal ini membuktikan bahwa penambahan ZrO₂ nanopartikel konsentrasi 7% memiliki sifat *resilient* yang baik sehingga saat *denture* digunakan oleh penderita dapat mengurangi kemungkinan terjadinya resorpsi tulang.

Pada penelitian ini penambahan ZrO₂ nanopartikel dapat meningkatkan kekuatan impak resin akrilik *self cured*. Pada penambahan ZrO₂ nanopartikel konsentrasi 3% pada resin akrilik *self cured* memperoleh hasil peningkatan kekuatan impak tertinggi. Sehingga dengan penambahan konsentrasi 3% ZrO₂ nanopartikel dapat meningkatkan daya tahan dari bahan reparasi resin akrilik *self cured* terhadap terjadinya fraktur atau patah.

SIMPULAN

Ada perbedaan peningkatan kekuatan impak pada bahan resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO₂ nanopartikel konsentrasi 3%, 5%, dan 7%. Kekuatan impak paling tinggi adalah resin akrilik *self cured* dengan penambahan ZrO₂ nanopartikel konsentrasi 3%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dama C, Soelioangan S, Tumewu E. Pengaruh Perendaman Plat Resin Akrilik dalam Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Jumlah Blastospora *Candida Albicans*. Jurnal e-Gigi (eG). 2013;1(2):5-1.
2. Anusavice KJ, Shen C, dan Rawls HR. Phillips Science of Dental Material, 12th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.;2013. p. 43-724.
3. Craig GR. *Dental Materials: Properties and Manipulation*. 8th Ed; 2004. p. 186-200.
4. Anusavice KJ. Phillips' Science of Dental Materials. 10th Ed. New Delhi: Elsevier; 2004. p. 9-75, 85-92, 62-155, 6-164, 6-734.
5. Hatrick CD, Eakle WS, Bird WF. Dental Material Clinical Applications for Dental Assistants and Dental Hygienist, 2nd ed. Missouri: Elsevier, Saunders; 2011. p. 23-217.
6. Irfandy, Dharmautama M, Damayanti I. Stabilitas Warna Basis Akrilik Gigi Tiruan Lepas setelah Pembersihan dengan Ekstrak dan Infusa Bunga Rosella. Journal of Dentomaxillofacial. 2014; 13(1):38-42.
7. Budiharjo A, Wahyuningtyas E, Sugiatno E. Pengaruh Lama Pemanasan Pasca Polimerisasi dengan *Microwave* terhadap Monomer Sisa dan Kekuatan Transversa pada Reparasi Plat Gigi Tiruan Resin Akrilik. J Ked Gi. 2014;5(2): 13-1.
8. Agarwal M, Nayak A, Hallikerimath RB. A Study to Evaluate the Transverse Strength of Repaired Acrylic Denture Resins with Conventional Heat-Cured, Autopolymerizing and Microwave-Cured Resins: An in vitro study. J Indian Prosthodont Soc. 2008;8: 41-36.
9. Arundati R, Patil NP. An Investigation into the Transverse and Impact Strength of a New Indegenious High-Impact Denture Base Resin, DPI-tuff and its Comparison with Most Commonly Used Two Denture Base Resins. J Indian Prosthodont Soc. 2006;6(3):133-8.

10. Powers JM, Wataha JC. Dental Materials Properties and Manipulation. 9th Ed. Missouri: Mosby Elsevier;2008. p. 93-286, 299-300.
11. Manappalil JJ. Basic Dental Materials. 2nd Ed. India: Jaypee Brothers Medical Pub Ltd.;2010. p. 399-400.
12. Noort RV. Introduction to Dental Materials. 3rd Ed. China : Mosby Elsevier; 2007. p. 211-214.
13. Ahmed MA, Ebrahim MI. Effect of Zirconium Oxide Nano-Fillers Addition on the Flexural Strength, Fracture Toughness, and Hardness of Heat-Polymerized Acrylic Resin. World Journal of Nano Science and Engineering. 2014;4:57-50.
14. Dahar E, Handayani S. Pengaruh Penambahan Zirkonium Oksida pada Bahan Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas terhadap Kekuatan Impak dan Transversal. Jurnal Ilmiah PANNMED. 2017;12(2): 194-9.
15. Dahar E, Laily AN. Pengaruh Penambahan Zirkonium Oksida dan Serat Kaca pada Bahan Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas terhadap Kekuatan Impak dan Transversal. Jurnal Ilmiah PANNMED. 2017;12(2):160-154.
16. Ihab NS, Moudhaffar MA. Evaluation the Effect of Modified Nano-fillers Addition on Some Properties of Heat Cured Acrylic Denture Base Material. J Bagh College Dent. 2011;23(3):29-23.
17. Hameed HK, Rahman HA. The effect of Addition Nano Particle ZrO₂ on Some Properties of Autoclave Processed Heat Cure Acrylic Denture Base Material. J Bagh College Dent. 2015;27(1): 39-32.
18. Alla RK, Sajjan S, Alluri VR. Influence of Fiber Reinforcement on the Properties of Denture Base Resins. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2013;4: 91-7.
19. Salman TA, Khalaf HA. The Influence of Adding of Modified ZrO₂-TiO₂ Nanoparticles on Certain Physical and Mechanical Properties of Heat Polymerized Acrylics Resin. J Bagh College Dent. 2015;27(3):33-9.
20. Ergun G, Sahin Z, Ataol AS. The Effects of Adding Various Ratios of Zirconium Oxide Nanoparticles to Poly(Methyl Methacrylate) on Physical and Mechanical Properties. Journal of Oral Science. 2018;60(2): 304-15.
21. Nindha TGT. Biomimetik, Biomaterial, Teknologi Manufaktur Printing 3D. Diklat Teknik Mesin Denpasar: Universitas Udayana. 2017; p.635.
22. Ferasima R. Pengaruh Penambahan Serat Kaca dan Serat Polietilen terhadap Kekuatan Impak dan Transversal pada Bahan Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas. IDJ. 2013;2(1): 36-27.
23. Gad MM, Rahoma A, Thobity AM , ArRejaie AS. Influence of Incorporation of ZrO₂ nanoparticles on the Repair Strength of Polymethyl Methacrylate Denture Base. International Journal of Nanomedicine. 2016;11:5633-43.

RESEARCH ARTICLE

Perbedaan Pengaruh Aplikasi Gel Kombinasi Kitosan Berat Molekul Tinggi dan Rendah dengan Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Kepadatan Kolagen pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus

(The Effective Difference Application of Chitosan Gel with Different Molecular Weight and Aloe vera on The Density of Collagen Fibers in Wound Healing of Traumatic Ulcer)

Michelle Suhartono*, Sularsih**, Nafi'ah***

*Sarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Ilmu Biomaterial Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Traumatic ulcer is one of the most common oral wounds. Chitosan has mucoadhesive characteristic while Aloe vera containing lignin which is able to penetrate the skin. It is expected that the combined gel of chitosan and Aloe vera will function as wound healing accelerator in traumatic ulcer. Molecular weight is one of the characteristics of chitosan quality. **Purpose:** the aim of this experiment was to know the density of collagen fibers in wound healing of traumatic ulcer using the combined gel of chitosan with different molecular weight and Aloe vera. **Materials and Methods:** 30 Male Rattus Norvegicus were divided into 3 groups. Group I was control group (without chitosan and Aloe vera), group II was given low molecular weight chitosan and Aloe vera, group III was given high molecular weight chitosan and Aloe vera. The groups were given traumatic ulcer making with 4 mm diameter and 2 mm depth. Rats were sacrificed by decapitation on day 3 and 7 then they were examined histopatologically to see the density of collagen fibers. **Result:** Statistical analysis with Kruskal Wallis and Mann-Whitney U test showed that there were significant difference $p < 0,05$ between high and low molecular weight chitosan with Aloe vera group on day 3 and 7. **Conclusion:** Chitosan with high molecular weight and Aloe vera were more effective in wound healing of traumatic ulcer because they increase the density of collagen fibers.

Keywords: Combined gel of chitosan and Aloe vera, density of collagen fibers, wound healing.

Correspondence: Sularsih, Dental Biomaterial Science, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Telepon 031-5912191.

ABSTRAK

Latar Belakang: Ulkus traumatikus merupakan salah satu luka paling umum yang ditemukan pada rongga mulut. Kitosan memiliki sifat mukoadhesif sedangkan Aloe vera memiliki kandungan lignin yang mempunyai kemampuan menembus ke dalam kulit. Sehingga diharapkan gel kombinasi kitosan dan Aloe vera dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus traumatikus. Berat molekul merupakan salah satu karakteristik utama penentu kualitas kitosan. **Tujuan:** Mengetahui pengaruh aplikasi gel kombinasi kitosan berat molekul tinggi dan rendah dengan ekstrak lidah buaya (Aloe Vera) terhadap kepadatan serabut kolagen pada proses penyembuhan ulkus traumatikus. **Bahan dan Metode:** 30 *Rattus norvegicus* jantan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I adalah kelompok kontrol (tanpa kitosan dan Aloe vera), kelompok II adalah diberi kitosan berat molekul rendah dan Aloe vera, kelompok III diberi kitosan berat molekul tinggi dan Aloe vera. Terhadap tiga kelompok tersebut dilakukan pembuatan ulkus traumatikus dengan diameter 4 mm dan kedalaman 2 mm. Dilakukan pengamatan pada hari ke-3 dan ke-7. Tikus didekaputasi dan mukosa labial diambil kemudian dibuat sediaan histopatologi untuk melihat kepadatan serabut kolagen. **Hasil:** Analisa statistik Kruskal Wallis dan Mann-Whitney U dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kitosan berat molekul tinggi dan rendah pada pengamatan hari ke-3 dan ke-7. **Simpulan:** Kitosan berat molekul tinggi dan Aloe vera lebih efektif terhadap peningkatan kepadatan serabut kolagen pada proses penyembuhan ulkus traumatikus.

Kata kunci: Gel kombinasi kitosan dan Aloe vera, kepadatan serabut kolagen, penyembuhan luka

Korespondensi: Sularsih, Bagian Ilmu Biomaterial Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Telepon 031-5912191.

PENDAHULUAN

Ulkus traumatikus pada umumnya disebabkan oleh trauma fisik seperti pipi dan lidah yang tergigit, iritasi basis akrilik, sikat gigi yang terlalu kuat, iritasi karena gigi yang patah, dan kesalahan penggunaan alat kedokteran gigi, trauma kimia dan trauma suhu.¹ Hampir setiap orang pernah mengalami insidensi ulkus traumatikus pada mukosa rongga mulut (83,6%), dan tidak ada perbedaan bermakna yang terjadi baik antara pria dan wanita. Biasanya pada pria berkisar 81,4% dan pada wanita biasanya berkisar 85%.² Ulkus traumatikus menyebabkan rasa nyeri dan seringkali mengakibatkan kesulitan saat berbicara, makan maupun menelan.³ Terapi pada ulkus traumatikus yang

dilakukan bersifat simptomatis, eliminasi faktor penyebab, dan mempercepat penyembuhan.⁴

Proses penyembuhan luka pada dasarnya melibatkan reaksi seluler, molekuler, dan biokimia yang kompleks, dimana kontribusi setiap sel untuk penyembuhan luka berperan dalam fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi atau *remodelling*.⁵ Kolagen adalah komponen kunci dari faktor penyembuhan luka. Sintesis kolagen dimulai hari ke-3 setelah luka dan berlangsung cepat sekitar minggu ke 2-4.⁶ Adanya serabut kolagen yang semakin padat menunjukkan bahwa jaringan yang mengalami luka telah sembuh.⁷

Kitosan merupakan biomaterial yang telah teruji dapat menunjang

proses penyembuhan luka.⁸ Kitosan merupakan biopolimer karbohidrat alami hasil dari deasetilisasi dari chitin, komponen utama dari cangkang *Crustasea sp.* seperti kepiting, udang, dan *crawfish* yang banyak didapat dari limbah seafood.⁹ Berat molekul merupakan salah satu faktor yang menentukan sifat mukoadhesif (perlekatan bahan dengan mukosa) suatu polimer dalam proses penyembuhan luka.¹⁰ Kitosan dengan berat molekul tinggi memiliki sifat mukoadhesif yang baik dalam menutup luka.¹¹ Kitosan dengan berat molekul rendah memiliki sifat antibakteri yang baik.¹² Kitosan menstimulasi sel makrofag menunjukkan peningkatan *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF β 1), PDGF dan FGF-2.¹³ Peran TGF β 1 dalam proses penyembuhan luka adalah meningkatkan matriks ekstraseluler dan meningkatkan kolagenasi.⁶

Lidah buaya memiliki khasiat pengobatan antara lain penyembuhan luka. Kandungan *glukomannan*, *mannose-rich polysaccharide* dan *gibberellin*, hormon pertumbuhan, berinteraksi dengan reseptor faktor pertumbuhan fibroblas, oleh karena menstimulasi aktivitas dan proliferasi fibroblas, dimana meningkatkan secara signifikan sintesis kolagen setelah pemberian topikal dan oral gel *Aloe vera*.¹⁴

Kombinasi kitosan dan *Aloe vera* dapat digunakan sebagai membran dasar untuk aplikasi biomedis pada penyembuhan luka.¹⁵ Kitosan memiliki sifat mukoadhesif yang menyebabkan pelepasan dan perlekatan obat lebih lama dalam rongga mulut.¹⁶ Kitosan memiliki keterbatasan yaitu sifat mukoadhesif berkurang apabila diaplikasikan pada pH netral atau lebih dari pH 6,5.¹⁷ *Aloe vera* memiliki

kandungan *lignin* yang mempunyai kemampuan untuk menembus dan meresap ke dalam kulit dan menahan hilangnya cairan tubuh dari permukaan kulit sehingga kulit tidak cepat kering serta menjaga kelembaban kulit.¹⁸ Sehingga diharapkan kombinasi kitosan dan *Aloe vera* yang memiliki sifat mukoadhesif dan penetrasi lebih dalam ke kulit dapat mempercepat penyembuhan luka.

Berdasarkan penjelasan penelitian di atas, maka peneliti ingin mengetahui pengaruh aplikasi gel kombinasi kitosan berat molekul tinggi dan rendah dengan ekstrak gel lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan ulkus traumatikus.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian true eksperimental design karena dalam penelitian, peneliti dapat mengontrol kemungkinan munculnya semua variabel luar yang dapat mempengaruhi proses dan hasil penelitian.¹⁹ Rancangan penelitian post test only control group design untuk pengamat yang ditunjukkan pada 6 kelompok yang masing-masing dipilih secara random.²⁰

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus *wistar*, *amalgam stopper*, *spiritus burner*, *handscone*, *cotton pellet*, pinset anatomi, *cotton bud*, toples tempat sampel, sarung tangan, masker, kaliper digital, dari label, kaca preparat, *cover glass*, dan mikroskop cahaya.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kitosan cangkang kepiting Sigma-Aldrich *low molecular weight*, kitosan cangkang kepiting Sigma-Aldrich *high molecular weight*,

CMC Na sebagai *gelling agent*, DMSO, asam asetat 1%, pakan tikus, NaOH 1,25%, alkohol 70% untuk sterilisasi alat, *ketamin hydrochloride* dan *xylazine hydrochloride*, lidah buaya, *etanol* 70%, akuades, bahan-bahan untuk membuat sediaan histopatologis beserta bahan pewarnaan *Masson's trichrom*.

Waktu penelitian mulai dari bulan September 2015 - Desember 2015. Tempat penelitian pada penelitian ini adalah Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala, Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr Soetomo, dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Airlangga Surabaya.

Pembuatan gel kombinasi kitosan dan *Aloe vera* dengan cara mencampur 25 ml gel kitosan 1% dan 25 ml ekstrak gel *Aloe vera* 50% secara manual dan dilanjutkan dengan menggunakan *stirrer magnetic*. Gel kombinasi tersebut memiliki pH yang asam sehingga perlu dinetralkan dengan menambah larutan NaOH hingga didapat pH 6,5-7,0 agar sediaan tidak menyebabkan ulserasi, iritasi, dan nekrosis mukosa.^{21,22,23}

Selanjutnya mempersiapkan tikus *Wistar* sesuai dengan kriteria sampel sebanyak 30 ekor tikus. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompok berisi 5 tikus yaitu K1.1 (kelompok yang diberi perlakuan ulkus traumatikus dan hanya diberi pakan standart dan akuades pada pengamatan selama 3 hari), K2.1 (kelompok yang diberi perlakuan ulkus traumatikus, diberi pakan standart dan akuades, dan diberi gel kombinasi kitosan 1% berat molekul rendah dan *Aloe vera* 50% pada pengamatan

selama 3 hari), K3.1 (kelompok yang diberi perlakuan ulkus traumatikus, diberi pakan standart dan akuades, dan diberi gel kombinasi kitosan 1% berat molekul tinggi dan *Aloe vera* 50% pada pengamatan selama 3 hari), K1.2 (kelompok yang diberi perlakuan ulkus traumatikus dan hanya diberi pakan standart dan akuades pada pengamatan selama 7 hari), K2.2 ((kelompok yang diberi perlakuan ulkus traumatikus, diberi pakan standart dan akuades, dan diberi gel kombinasi kitosan 1% berat molekul rendah dan *Aloe vera* 50% pada pengamatan selama 7 hari), K3.2 (kelompok yang diberi perlakuan ulkus traumatikus, diberi pakan standart dan akuades, dan diberi gel kombinasi kitosan 1% berat molekul tinggi dan *Aloe vera* 50% pada pengamatan selama 7 hari). Tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Pada hari ke-8, dilakukan pembuatan ulkus traumatikus pada daerah mukosa labial bawah tikus *Wistar* dibawah anestesi dengan kombinasi *ketamine* 2% 1ml dan *xylazine* 2% 0,5 ml dan disuntikkan dengan dosis 0,5 ml/100 gr BB *femur dextra* secara *intramuscular*^{23,24} (dibawah persetujuan Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah). Pada hari ke-9, dilakukan pengamatan apakah sudah terbentuk ulkus atau tidak. Apabila ulkus sudah terbentuk, tikus diberikan perlakuan sehari dua kali selama 7 hari. Pada hari ke-16 tikus dikorbankan dengan biopsi eksisi pada bibir bawah (diameter 4 mm, kedalaman 2mm). Selanjutnya di buatkan preparat dan dilakukan pengecatan *Masson's Trichrom* untuk melihat kepadatan kolagen.

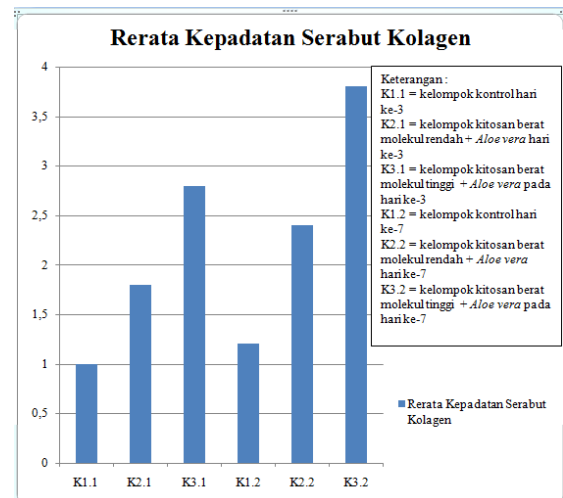
HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi gel kombinasi kitosan berat molekul tinggi dan rendah dengan *Aloe vera* terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan ulkus traumatikus. Data hasil pemeriksaan kepadatan kolagen merupakan data dengan skala ordinal sehingga dilakukan uji hipotesis nonparametrik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji beda *Mann-Whitney U*. Batas derajat kemaknaan apabila $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%. Analisis data dilakukan dengan program komputer SPSS 16.

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peningkatan data guna memperjelas penyajian hasil. Data hasil penelitian yang dilakukan, didapatkan rerata dan simpang baku kepadatan kolagen pada setiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang terdapat pada tabel dan gambar 1.

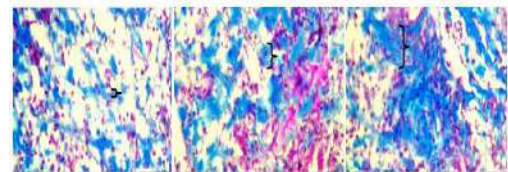
Tabel 1. Rerata dan Simpang Baku Kepadatan Kolagen dalam Penyembuhan Ulkus Traumatikus

Kelompok	Rerata $\pm$ Simpang Baku
K1.1	1 $\pm$ 0
K2.1	1,80 $\pm$ 0,447
K3.1	2,80 $\pm$ 0,447
K1.2	1,20 $\pm$ 0,447
K2.2	2,40 $\pm$ 0,548
K3.2	3,80 $\pm$ 0,447



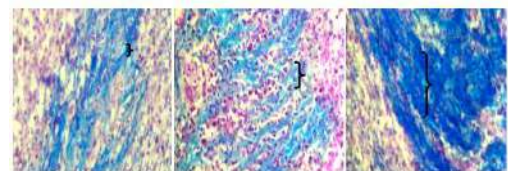
Gambar 1. Grafik perbandingan kepadatan serabut kolagen pada masing-masing kelompok baik kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Pengamatan hari ke-3



Kontrol Kitosan BM↓+AV Kitosan BM↑+AV

Pengamatan hari ke-7



Kontrol Kitosan BM↓+AV Kitosan BM↑+AV

Gambar 2. Gambar sediaan histopatologi anatomi kepadatan serabut kolagen pada mukosa labial pada hari ke-3 dan ke-7 (pembesaran 400x).

Pada gambar 2 menunjukkan kepadatan serabut kolagen paling padat pada penyembuhan ulkus traumatikus pada kelompok perlakuan kombinasi gel kitosan berat molekul tinggi dan *Aloe vera* pada pengamatan hari ke-7.

Tabel 2. Hasil Analisis *Kruskal-Wallis*

Variabel	Asymp. Sig.
Kepadatan kolagen	0,000

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh hasil 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U*.

Tabel 3. Hasil uji beda dengan *Mann-Whitney U*

	K1.1	K1.2	K2.1	K2.2	K3.1	K3.2
K1.1		0,317	0,014*	0,005*	0,004*	0,004*
K1.2			0,072	0,014*	0,007*	0,005*
K2.1				0,093	0,015*	0,005*
K2.2					0,221	0,011*
K3.1						0,015*
K3.2						

Keterangan :



: Tidak dibandingkan antara dua kelompok

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kepadatan serabut kolagen pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pemberian kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan tinggi dengan *Aloe vera* dan antara kelompok perlakuan pemberian kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan *Aloe vera* dengan kelompok perlakuan pemberian kombinasi gel kitosan berat molekul tinggi dan *Aloe vera* pada hari ke-3 dan ke-7.

PEMBAHASAN

Ulkus traumatikus berbentuk luka pada mukosa rongga mulut disebabkan karena adanya jejas maupun paparan trauma pada jaringan lunak rongga mulut dan merupakan salah satu lesi yang sering terjadi.^{25,26} Ulkus traumatikus menyebabkan rasa

nyeri bahkan seringkali mengakibatkan kesulitan saat berbicara, makan maupun menelan.³ Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase terintegrasi yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan.²⁷ Pada proses penyembuhan luka, akan terbentuk proliferasi jaringan fibroblas yang diikuti dengan pembentukan dan deposisi kolagen. Pada proses penyembuhan luka, keberadaan serabut kolagen sangat diperlukan.²⁸

Kitosan merupakan biomaterial alam yang terbukti dapat menunjang penyembuhan luka.²⁹ Kitosan merupakan β -1,4 polimer terkait glukosamin (2-amino-2-deoksi- β -D-glukosa) yang berasal dari kerang *crustacean* seperti kepiting, udang, dan lobster.³⁰ Kitosan memiliki sifat antimikroba, tidak toksik, biokompatibel, *biodegradable*, dan hemostatik sehingga banyak digunakan sebagai topikal dressing pada manajemen luka. Selain itu kitosan memiliki kemampuan memodulasi fungsi dari sel-sel inflamasi seperti sel PMN, makrofag, dan sel limfosit serta mendukung proses granulasi dan organisasi luka.^{29,31} Dalam proses pembuatannya, kitosan terbagi menjadi kitosan berat molekul rendah dan tinggi.³² Parameter yang berpengaruh pada sifat kitosan adalah berat molekul (BM) dan derajat deasetilasi (DD).²³ Semakin tinggi berat molekul zat terlarut maka akan semakin berkurang kelarutan suatu senyawa. Karena semakin tinggi berat molekul maka ukuran partikelnya semakin besar sehingga luas permukaannya kecil, jadi proses pelarutan pun semakin lambat.^{33,34}

Lidah buaya mengandung banyak zat-zat aktif yang sangat bermanfaat dalam mempercepat

penyembuhan luka karena mengandung antara lain *glukomannan*, *lignin*, vitamin A, vitamin C, enzim-enzim, serta asam amino yang sangat penting untuk regenerasi sel-sel. Lidah buaya menstimulasi faktor pertumbuhan epidermis, meningkatkan fungsi fibroblas, dan pembentukan pembuluh darah baru sehingga dapat mempercepat penyembuhan dan penutupan luka.³⁵ Sel fibroblas merupakan sel utama sintesis kolagen.³⁶

Membran dasar kombinasi kitosan dan *Aloe vera* dapat digunakan sebagai aplikasi biomedis pada penyembuhan luka.¹⁵ Kitosan memiliki sifat mukoadhesif yang menyebabkan pelepasan dan perlekatan obat lebih lama dalam rongga mulut.¹⁶ Kitosan memiliki keterbatasan yaitu sifat mukoadhesif berkurang apabila di aplikasikan pada pH netral atau lebih dari pH 6,5.¹⁷ *Aloe vera* memiliki kandungan *lignin* yang mempunyai kemampuan untuk menembus dan meresap ke dalam kulit dan menahan hilangnya cairan tubuh dari permukaan kulit sehingga kulit tidak cepat kering serta menjaga kelembaban kulit.¹⁸ Pada *collagen-chitosan scaffold* yang dikombinasikan dengan *Aloe vera* menunjukkan pertumbuhan proliferasi fibroblas yang lebih besar sehingga dapat menjadi aplikasi *tissue engineering* (jaringan rekayasa) yang potensial.³⁷

Dari hasil penelitian diketahui pada kelompok kontrol hari ke-3 dan kelompok kontrol hari ke-7 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol tidak diberi pengobatan sehingga memungkinkan ulser menjadi semakin parah dan serabut kolagen yang ditemukan sedikit dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang

meningkatkan glikosaminoglikan sehingga serabut kolagen makin padat. Hal ini sesuai pada penelitian (Setiawan, 2009) mengenai uji efektifitas aplikasi topikal ekstrak daun *Mangrove Avicennia Marina* terhadap kepadatan serabut kolagen pada proses penyembuhan ulkus traumatikus yang menyatakan pada kelompok kontrol menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada kepadatan serabut kolagen hari ke-3 dan ke-7.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui pada kelompok kontrol hari ke-7 dan kelompok kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan *Aloe vera* pada hari ke-3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini disebabkan oleh *host factor* (*genetic factor*) dari masing-masing tikus yang berbeda dalam hal kemampuan stimulasi *growth factor* dan *cytokines* merespon adanya stimulasi luka.⁶

Berdasarkan hasil penelitian diketahui pada kelompok kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan *Aloe vera* pada hari ke-3 dan pada hari ke-7 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Faktor penyebabnya kemungkinan dipengaruhi oleh sumber kitosan yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari cangkang kepiting. Menurut Tania, 2009, kandungan amida dalam cangkang kepiting hanya sedikit sehingga kurang reaktif.³⁹

Dari hasil penelitian didapatkan pada kelompok kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan *Aloe vera* pada hari ke-7 dan kelompok kombinasi gel kitosan berat molekul tinggi dan *Aloe vera* pada hari ke-3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini disebabkan karena derajat deasetilasi > 75 tergolong tinggi sehingga dapat menyebabkan biodegradabilitas kitosan lebih rendah menyebabkan kurangnya peranan

kitosan dalam proses metabolisme *host* sehingga kurang berpengaruh pada penyembuhan luka pencabutan gigi *Cavia cobaya*. Aranaz, 2009 mengungkapkan bahwa kitosan telah menginduksi respon inflamasi akut bila derajat deasetilasinya rendah. Derajat deasetilasi yang tinggi menimbulkan respon yang minim karena tingkat degradasinya kecil. Biodegradabilitas kitosan berbanding terbalik dengan derajat deasetilasinya. Kitosan dengan derajat deasetilasi rendah didegradasi lebih cepat oleh enzim lisozim yang terdapat dalam tubuh.⁸

Dari hasil penelitian didapatkan kepadatan serabut kolagen pada hari ke-3 dan ke-7 meningkat secara signifikan pada kelompok perlakuan pemberian kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan berat molekul tinggi dengan *Aloe vera* dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan pemberian kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan tinggi dan *Aloe vera*. Hal ini sesuai dengan pernyataan⁴⁰ yang menyatakan bahwa kepadatan serabut kolagen terlihat pada hari ke-3 setelah diaplikasikan membran kitosan-gelatin pada ulkus labial karena terdapat fibroblas yang mensintesis serabut kolagen. Kepadatan kolagen mencapai puncaknya pada hari ke-7 dan menurun pada hari ke-9 karena terdapat degradasi kolagen untuk memecah produksi kolagen yang berlebihan dengan enzim kolagenase. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kepadatan serabut kolagen terlihat lebih tinggi pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol.

Pada fase inflamasi, sel fagosit seperti PMN dan makrofag mengeluarkan enzim lisozim yang akan mendegradasi kitosan menjadi N-asetil-D-glukosamin dimer aktif dan molekul-

molekul yang lebih kecil (monomer).^{41,42} Kitosan berat molekul tinggi terdiri dari rantai N-acetyl-D-glucosamine polimer yang panjang, sehingga ketika terjadi biodegradasi kitosan oleh enzim lisozim, kitosan berat molekul tinggi akan menghasilkan N-acetyl-D-glucosamine dimer yang lebih banyak jika dibandingkan dengan kitosan berat molekul rendah.⁴³ Monomer N-asetil glukosamin berikatan dengan reseptor utama pada makrofag untuk kitosan yaitu *mannose reseptor*, setelah itu kitosan di internalisasi oleh sel makrofag dan memicu migrasi dan proliferasi sel makrofag. Sel makrofag yang teraktivasi menghasilkan peningkatan aktivitas metabolik, sekresi growth factor seperti VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), FGF (*Fibroblast Growth Factor*), TGF- β 1 (*Transforming Growth Factor*), dan Angiopoietin (menstimulasi angiogenesis).^{43,44} TGF- β 1 akan memicu aktifitas sel fibroblas sehingga terjadi peningkatan produk kolagen yang berperan dalam proses remodeling.⁴⁵ Pada fase remodelling, kolagen saling menyatu dan terjadi reorganisasi sehingga luka akan menutup.²⁹ Kitosan berat molekul tinggi mengaktivasi mekanisme makrofag dan meningkatkan sekresi *growth factors* TGF- β 1 dan PDGF pada pengkulturan fibroblas tikus secara *in vitro*.¹³ Kitosan dengan derajat deasetilasi yang lebih tinggi akan mengaktivasi lebih banyak fibroblast.⁴² Fibroblas berfungsi untuk memproduksi kolagen untuk perbaikan jaringan luka.⁴⁶

Pada penelitian yang dilakukan oleh⁴⁷ mengenai peran topikal ekstrak gel *Aloe vera* pada penyembuhan luka bakar derajat dalam pada tikus menunjukkan pengamatan hari ke-3

tampak ketebalan kolagen pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol karena pola hasil dari jumlah makrofag dan jumlah fibroblas yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Lidah buaya kaya akan kandungan polisakarida seperti *acemannan*, *glukomannan*, dan *mannose-6-phosphate* yang merupakan komponen utama karbohidrat utama dalam gel lidah buaya.⁴⁸ *Acemannan* yang terkandung dalam lidah buaya dapat meningkatkan aktivitas imunomodulator dengan aktivasi makrofag.⁴⁹ Aktivasi makrofag mengeluarkan mediator PDGF, TGF- β dan FGF yang dapat menstimulasi proliferasi fibroblas, migrasi fibroblas ke daerah luka dan sintesis *glycominoglycan*, *proteoglycan* serta kolagen untuk pembentukan matriks ekstraseluler.⁵⁰ *Glukomanan* menstimulasi proliferasi sel fibroblas pada daerah luka.⁵¹ *Mannose-6-phosphate* dapat meningkatkan penyembuhan luka dengan merangsang aktivasi dan proliferasi fibroblast.⁵²

Pada kelompok kombinasi gel kitosan berat molekul tinggi dan *Aloe vera* menunjukkan kepadatan serabut kolagen meningkat secara signifikan dibandingkan kelompok kombinasi gel kitosan berat molekul rendah dan *Aloe vera* pada hari ke-3 dan ke-7. Karakteristik utama pada kitosan yang mempengaruhi proses penyembuhan luka adalah derajat deasetilasi dan berat molekul⁴¹. Pada kitosan berat molekul tinggi, ukuran partikel besar dan viskositas tinggi sehingga aplikasi kitosan gel lebih mudah juga penetrasi pada lapisan mucin juga meningkat sehingga mukoadhesif lebih kuat, mudah melekat pada jaringan dibanding berat molekul rendah.^{30,42}

Lapisan mukosa terdiri atas glikoprotein disebut mucin yang kaya akan muatan negatif. Sedangkan kitosan bermuatan positif sehingga akan menghasilkan ikatan dengan muatan negatif mucin.⁴² Kitosan gel 1% dengan derajat deasetilasi >75% yang diaplikasikan pada luka pencabutan gigi *Rattus Norvegicus* telah terbukti dapat meningkatkan jumlah sel osteoblas, sel fibroblas, dan kolagen tipe 1 pada lama pengamatan 7 dan 14 hari.⁴¹

Berdasarkan penelitian Junianto dan Prasetyo (2006) menyatakan bahwa skoring pembentukan kolagen pada luka punggung mencit memperlihatkan perbedaan yang mencolok pada hari ke-7 dan ke-14 yang mengindikasikan bahwa proses penyembuhan luka terjadi lebih cepat pada kelompok aplikasi dibandingkan kelompok control.⁵³ Penelitian yang dilakukan oleh Anggraeni (2004) dengan menggunakan ekstrak lidah buaya terhadap pertumbuhan sabut kolagen pasca pencabutan gigi dengan konsentrasi 25%, 45%, 90% menunjukkan adanya pertumbuhan serabut kolagen.⁵⁴ Mukopolisakarida, salah satu yang terkandung dalam *Aloe*, berperan dalam *Aloe*, berperan sangat penting sebagai *growth factor*. *Growth factor* ini berkontribusi dalam penyembuhan luka dengan menstimulasi fibroblas (*connectivetissue cells*) untuk memproduksi kolagen lebih banyak, dimana akan meningkatkan proses remodeling pada luka dan mengisi daerah luka.⁵⁵

Dari hasil penelitian ini, kombinasi gel kitosan berat molekul tinggi dan *Aloe vera* mampu meningkatkan kepadatan serabut kolagen pada hari ke-3 dan ke-7 sehingga proses penyembuhan luka

terjadi lebih singkat. Pemberian kombinasi gel kitosan dan *Aloe vera* pada ulkus traumatikus diharapkan mampu menunjang percepatan proses penyembuhan ulkus traumatikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Cunningham SJ and Quinn FB. Ulcerative Lesions of The Oral Cavity. 2002 [cited 14 Maret 2015]. Available from <http://www.utmb.edu/otoref/grnds/Ulcer-oral-021016/Ulcer-oral-021016.pdf>.
- DeLong L, and Burkhart N. General and Oral Pathology for the Dental Hygienist. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. p. 295-297.
- Terry TSI and McDowell J. Differential Diagnosis: Is it Herpes or Aphthous. 2002; 3(1). [cited 14 Maret 2015]. Available from <http://faculty.ksu.edu.sa/Asmaa%20Faden/341%20MDS/Is%20It%20herpes%20OR%20aphthous.pdf>.
- Houston G. Traumatic Ulcer. 2009 [cited 15 Maret 2015]. Available from <http://emedicine.medscape.com/article/1079501-overview>.
- Marie NM, Nathan BM, Boardman CH, Diegelmann FR. Biologic Therapeutic and Molecular Profiling to Optimize Wound Healing. Gynecologic Oncology III. 2008. p: 87-91.
- Novriansyah R. Perbedaan Kepadatan Kolagen di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokolid Selama 2 dan 14 Hari [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2008 [cited 16 Maret 2016]. Available from http://eprints.undip.ac.id/28847/1/Robin_Novriansyah_Tesis.pdf.
- Rahayu NA. Pengaruh Aplikasi Simvastatin Secara Topikal Terhadap Kepadatan Kolagen Tulang Alveolar Dalam Proses Penyembuhan Periodontitis [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada; 2014. Available from http://etd.repository.ugm.ac.id/index.php?mod=penelitian_detail&sub=PenelitianDetail&act=view&typ=html&buku_id=72191&obyek_id=4.
- Budihargono O, Yuliati A, and Rianti D. Peningkatan Mobilisasi Sel Polimorfonuklear Setelah Pemberian Gel Kitosan 1% pada Luka Pencabutan Gigi *Cavia Cobaya*. Material Dental Journal Universitas Airlangga. 2013; 6-1.
- Kim F. Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols [Thesis]. Baton Rouge: Louisiana State University; 2004. p: 6-7.
- Boddupalli BM, Mohammed ZNK, Nath RA, Banji D. Mucoadhesive Drug Delivery System : An Overview. J Adv Pharm Technol Res. 2010; 1(4):387-381.
- Semalty A. Mucoadhesive Polymers-A Review. 2006 [cited 15 Maret 2015] Available from <http://www.pharmainfo.net/reviews/mucoadhesive-polymers-review>.
- Baitukalova TA, Bogoslovskaya OA, Ol'khovskaia IP, Gluschenko NN, Ovsianikova MN, Lopatin SA, Varlamov VP. Regenerating Activity and Antibacterial Effect of Low-Molecular-Weight Chitosan. Izv Akad Nauk Ser Biol. 2005; 6:659-63.
- Ueno H, Nakamura F, Mukarami M, Okumura M, Kadasawa T, Fujinaga T. Evaluations Effects of Chitosan for the Extracellular Matrix Production by Fibroblast and Growth Factor Production by Macrophages. J. Biomaterials. 2001. 22: 2125.
- Subramaniam T, Arun S., Asha Chowdhery, Sreeja Daas, Mishali Gill. *Versatility of Aloe Vera In Dentistry-A review*. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences. 2014;13(10): 100-99.
- Silva SS, Caridade SG, Mano JF, Reis L. Effect of crosslinking in Chitosan/Aloe Vera-Based Membranes for Biomedical Applications. Journal Carbohydrate Polymers. 2013; 98(1):588-581.
- Aksongur P, Sungur A, Unal S, Iskit AP, Squier CA, Senel S. Chitosan Delivery Systems for the Treatment of Oral Mucositis: in vitro and in vivo studies. Journal of Controlled Release. 2004; 98(2): 279-269. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15262418>. Accessed 25 August 2015.
- Hartisyah OE. Preparasi dan Karakterisasi Kitosan Suksinat Sebagai Polimer Mukoadhesif Untuk Sediaan Bukal. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2011. p.1.
- Prasetyaningrum N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera Linn*) Topikal Terhadap Peningkatan IFN- γ , TGF- β dan Fibroblas Pada Proses Percepatan Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi [Thesis]. Surabaya: Universitas Airlangga; 2010. p. 2, 9-11, 13.
- Sudibyo. Metodologi Penelitian Aplikasi Penelitian Bidang Kesehatan. Surabaya: Unesa University; 2013.

20. Hidayat AAA. Metode Penelitian Kesehatan Paradigma Kuantitatif. Surabaya : Health Books Publishing; 2011.
21. Matsunaga S, Yanagiguchi K, Yamada S, Ohara H. Chitosan Monomer Promotes Tissue Regeneration on Dental Pulp Wounds. J. Biomed. Mater. Res. 2005; 76A: 720-711.
22. Lavoie JP dan Hincheliff K. Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Equine, 2nd ed., Iowa: Wiley-BlackwellP; 2008. p. 162.
23. Puspita BS. Perbedaan Pengaruh Pemberian Kitosan BM Tinggi dan Rendah terhadap Jumlah Pembuluh Darah pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi [Skripsi]. Surabaya: Universitas Hang Tuah; 2015. p. 4, 32.
24. Mahmudah. Uji Aktivitas Film Kitosan yang Mengandung Asiatoksida sebagai Penutup Luka Bakar pada Tikus Putih Betina (*Rattus Novergicus*) Galur Sprague Dawley secara In Vivo [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Jakarta; 2013. p. 23.
25. Greenberg MS. *Ulcerative, Vesicular, and Bulous Lesion in Burket's Oral Medicine Diagnosis and Treatment*. 11th Ed. New York : BC Decker Inc; 2008. p. 57.
26. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral Pathology Clinical Pathologic Correlations, 5th Edition. St. Louis: Elsevier Science; 2008. p. 21-24.
27. DiPietro AL, Guo S. Factors Affecting Wound Healing. 2010 [cited 4 April 2015] Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2903966/>.
28. Damayanti SA, Budi Y, Dwi MCR. Efek Pemberian Kurkumin terhadap Pembentukan Kolagen Pada Soket Gigi Tikus Wistar Pasca Pencabutan. 2012 [cited 15 Desember 2015]. Available from <http://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/59378/Shelvina%20Ayu%20Damayanti.pdf?sequence=1>.
29. Dai T, et al. Chitosan Preparations for Wounds and Burns : Antimicrobial and Wound Healing Effects. Expert Rev Anti Infect Ther. 2011;9(7):879-857.
30. Budianto B. Pengaruh Kitosan Gel 1% yang Memiliki Berat Molekul Tinggi dan Rendah Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah.; 2013. p.57.
31. Djamaluddin AM. Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Krustasea untuk Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2009. p.8.
32. Hritcu D, Popa N, Badescu V, Balan V. Preparation and Characterization of Magnetic Chitosan Nanospheres. Turk J Chem. 2008;33:796-787.
33. Budiman A. Kelarutan Farmasi Kimia. 2011 [cited 21 Desember 2015]. Available from <http://blogs.unpad.ac.id/arifbudiman/files/2011/05/Farmasi-fisika-kelarutan.pdf>.
34. Ratnaningsih R.. Laju Reaksi. 2012 [cited 21 Desember 2015]. Available from <http://kimia.upi.edu/staf/nurul/web2012/0905762/isi-materi3.html>.
35. Atik N, Januarsih IAR. Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dengan Solusio Povidone Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Kulit Mencit (*Mus musculus*). 2009 [cited 16 Desember 2015]. Available from http://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb/article/download/188/pdf_72.
36. Triyono, B. Perbedaan Tampilan Kolagen di Sekitar Luka Insisi pada Tikus Wistar yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang Tidak Diberi Levobupivakain (Studi Histokimia) [Tesis]. Semarang: Univerisitas Diponegoro; 2005.
37. Jithendra P, Rajam AM, Kalaivani T, Mandal AB, Rose C. Preparation and Characterization of Aloe Vera Blended Collagen-Chitosan Composite Scaffold for Tissue Engineering Applications. 2013 [cited 18 Juni 2015]. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23838342>.
38. Setiawan K. Uji Efektifitas Aplikasi Topikal Ekstrak Daun *Mangrove Avicennia Marina* Terhadap Kepadatan Serabut Kolagen Pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus. 2013.
39. Ratnawati ID. Peningkatan Sel Makrofag Pada Luka Pencabutan Gigi *Cavia Cobaya* Setelah Pemberian Gel Kitosan 1%. [Skripsi] Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga; 2013. p. 39.
40. Sari TA, Finsa TS, Anne HD, Arachadian N, Dyah L. The Effect of Chitosan-Gelatin Membrane on Angiogenesis and Collagen Density in Labial Ulceration Healing. The Indonesian Journal of Dental Research. 2013 [cited 25 juni 2015]. Available from <http://ijdr.fkg.ugm.ac.id/wpcontent/uploads/Ita%20Arum%20Sari.pdf>
41. Sularsih. Penggunaan Kitosan Dalam Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi *Rattus Norvegicus* [Tesis]. Program Magister Kedokteran Gigi. Surabaya: Universitas Airlangga; 2011. p. 31-35.
42. Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Panos I, Miralles B, Acosta N, Galed G and Heras A, 2009. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. Current Chemical Biology. 2009;3:230-203.

43. Alsarra IA. Chitosan Topical Gel Formulation in the Management of Burn Wounds. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2009;45:21-16.
44. Frisca, Sardjono CT, Sandra F. Angiogenesis: Patofisiologi dan Aplikasi Klinis. *JKM*. 2009; 8(2): 187-174.
45. Nanci A. Ten's Cate Oral Histologi Development Structur and Function. 7th edition. St. Louis Elsevier. 2008. p. 63-78; 290-292; 319-357; 380-383.
46. Velnar, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *The Journal of International Medical Research*. 2009;37:1537-1532.
47. Hidayat TSN. Karya Akhir Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe vera pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam pada Tikus. Departemen/SMF Ilmu Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik Fakultas Kedokteran. Surabaya: Universitas Airlangga; 2013. p.38-39.
48. Femenia A, Pascual PG, Simal S, Rossello C. Effects of Heat Treatment and Dehydration on Bioactive Polysaccharide Acemannan and Cell Wall Polymers From Aloe Barbadensis Miller. *Carbohydrate Polymer*. 2003.51: 405-397. Available from <https://www.deepdyve.com/lp/elsevier/effects-of-heat-treatment-and-dehydration-on-bioactive-polysaccharide-wD0rDYP1qA>.
49. Jimmy TNC, David AW, Kenneth MY, Warren JG. Chemical Characterization of Immunomodulating Polysaccharide of Aloe Vera L. *Carbohydrate Research*. 2005; 340:1142-1131.
50. Tsirogianni AK, Moutsopoulos HM. Wound Healing : Immunological Aspects. *Injury*. 2006; 37(1): S15-S12.
51. Davis RH. The Conductor-Orchestra Concept of Aloe Vera. 2000 [cited 20 Maret 2015]. Available from <http://wearewinners.com/wpcontent/uploads/2013/10/Conductor-Orchestra-Concept-of-Aloe-Vera.pdf>.
52. Subramanian S, Satish KD, Arulselvan P. Wound Healing Potential of Aloe Vera Leaf Gel Studied in Experimental Rabbits. *Asian Journal of Biochemistry*. 2006; 1(2): 185-178.
53. Yuza F. Efek Pemberian Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe barbadensis Miller*) Pada Soket Gigi Terhadap Kepadatan Serabut Kolagen Pasca Ekstraksi Gigi Marmut (*Cavia porcellus*) [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 2013. Available from http://etd.repository.ugm.ac.id/index.php?mod=penelitian_detail&sub=PenelitianDetail&act=view&typ=html&buku_id=62697.
54. Hardiana D. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis Milleer*) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Wistar [Thesis]. Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya; 2013. p. 3.
55. Saed, M.A., Ahmad, L., Yaqub, U., Akbar, S., Waheed, A., Saleem, M., Nasirud-Din. Aloe Vera : A Plant of Vital Significance. *Quarterly Science Vision*. 2003; 9 (1-2): 13-1.

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Alga Coklat Jenis *Sargassum Sp.* Terhadap Jumlah Makrofag Pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus

(The Effect of Brown Algae Sargassum sp. Extract Towards The Amount of Macrophages in The Healing Process of Traumatic Ulcer)

Annisa Rahmawati*, Agni Febrina Pargaputri**, Isidora Karsini S***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: The *Sargassum's sp.* extract contains of several chemical properties such as flavonoid, vitamin A, vitamin C, zinc, and calcium which has benefit as anti-inflammation, so it can be used as an alternative therapy for traumatic ulcer. **Purpose:** To investigate the effectivity of *Sargassum's sp.* extract towards the amount of macrophages in the healing process of traumatic ulcers. **Material and Method:** 32 wistar rats were divided into 4 groups, K1 the negative control group without treatment, K2 the positive control group with the drugs containing 0.2% hyaluronic acid, and the treatment group K3 *Sargassum's sp.* extract concentrations of 50% and K4 *Sargassum's sp.* extract concentrations of 75%. Traumatic ulcer were made in the labial mucosa of rats by using heated amalgam stopper. On the fourth and seventh day, rats were sacrificed and biopsied on lower labial mucosa. The macrophages were observed using a 1000x magnification light microscope with OptiLab viewer. **Result:** The statistical test using One Way ANOVA showed significant difference ($p < 0,05$) of macrophage on fourth day group. The LSD test showed a significant difference ($p < 0,05$) in macrophages at K1 (2.83 ± 1.03) compared to K3 (1.17 ± 0.64), K1 compared to K4 (0.58 ± 0.79), K2 (2.58 ± 0.50) compared to K3, and K2 compared to K4 at the fourth day group, whereas the seventh day group showed no significant differences between each groups. **Conclusion:** The *Sargassum's sp.* extract concentrations of 75% is the most effective in decreasing amount of macrophages in the healing process of traumatic ulcers.

Keywords: traumatic ulcer, inflammation, macrophage, *Sargassum sp.* extract

Correspondence: Agni Febrina Pargaputri, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: agni_febrina@yahoo.com

ABSTRAK

Latar belakang: Ekstrak *Sargassum* sp. mengandung beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, vitamin A, vitamin C, zink, dan kalsium yang dapat berfungsi sebagai anti-inflamasi, sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk terapi ulkus traumatikus. **Tujuan:** Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatikus. **Bahan dan Metode:** 32 tikus wistar dibagi menjadi 4 kelompok, K1 kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan, K2 kelompok kontrol positif dengan obat yang mengandung asam hialuronat 0,2%, dan kelompok perlakuan yaitu K3 ekstrak *Sargassum* sp. konsentrasi 50% dan K4 ekstrak *Sargassum* sp. konsentrasi 75%. Tikus dibuat ulkus mukosa labial menggunakan amalgam stopper yang telah dipanaskan. Pada hari ke-4 dan ke-7 tikus dikorbankan dan dioperasi mukosa labial bawah, kemudian dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan Hematoksilin Eosin untuk melihat makrofag yang diamati menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 1000x dengan OptiLab viewer. **Hasil:** Hasil analisis One Way ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) rerata jumlah makrofag pada hari ke-4. Uji LSD menunjukkan terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) rerata jumlah makrofag pada K1 (2.83 ± 1.03) dibanding K3 (1.17 ± 0.64), K1 dibanding K4 (0.58 ± 0.79), K2 (2.58 ± 0.50) dibanding K3, dan K2 dibanding K4 pada biopsi hari ke-4, sedangkan pada kelompok hari ke-7 hasil uji One Way ANOVA dan LSD menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. **Simpulan:** Ekstrak *Sargassum* sp. konsentrasi 75% paling efektif terhadap menurunkan jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatikus.

Kata kunci: ulkus traumatikus, inflamasi, makrofag, ekstrak *Sargassum* sp.

Korespondensi: Agni Febrina Pargaputri, Departmen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: agni_febrina@yahoo.com

PENDAHULUAN

Ulkus adalah suatu lesi yang sering muncul pada rongga mulut. Ulkus atau ulser merupakan lesi sekunder yang terbentuk karena hilangnya jaringan lapisan epitelium hingga melebihi membran basalis.¹ Prevalensi terjadinya ulkus sebesar 25% dari populasi di dunia.² Ulserasi yang paling sering ditemukan pada beberapa kasus di masyarakat adalah ulkus traumatikus dan SAR (*Stomatitis Aphthosa Recurrent*).³ Ulkus traumatikus disebabkan oleh adanya riwayat trauma, sedangkan SAR dapat timbul dengan sendirinya dan disebabkan oleh banyak faktor serta sifatnya kambuhan. Gambaran klinis ulkus traumatikus berupa ulser yang

berwarna putih kekuningan, terasa nyeri, dan dikelilingi oleh daerah eritematous.¹

Ulkus traumatikus terjadi ketika ada trauma yang melukai mukosa, sehingga menimbulkan luka, yang berlanjut menjadi proses peradangan. Kemudian terjadi proses penyembuhan luka yang melibatkan suatu proses kompleks dengan tahapan yang saling tumpang tindih satu dengan lainnya. Proses penyembuhan luka meliputi empat tahap yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi dan remodeling.⁴ Inflamasi merupakan suatu respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik dari luka.⁵ Pada saat proses inflamasi atau peradangan

berlangsung, terjadi infiltrasi sel-sel radang seperti neutrofil, limfosit, dan makrofag.⁶

Makrofag memiliki peran penting dalam proses penyembuhan luka. Makrofag berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh dengan cara memfagosit bakteri dan sel yang nekrotik.⁷ Kemampuan fagosit makrofag lebih kuat dibanding neutrofil, makrofag mampu memfagosit lebih dari 100 bakteri.⁸ Makrofag dapat memproduksi sitokin dan mediator proinflamatori seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α). Makrofag merupakan sel utama dalam proses penyembuhan luka yang mendorong fase inflamasi memasuki fase proliferasi dengan cara memproduksi growth factor seperti *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF) sehingga proses penyembuhan dapat berlanjut hingga terjadi penyembuhan luka.⁹ Makrofag muncul pertama 48–96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ketiga sampai keempat. Makrofag berumur lebih panjang dibanding dengan sel PMN dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Pada hari ketujuh setelah terjadi luka, jumlah makrofag mulai menurun karena fase inflamasi sudah berakhir dan memasuki fase proliferasi.^{10,11}

Ulkus traumatikus bukan merupakan penyakit yang berbahaya, akan tetapi keberadaannya dapat mengganggu pada mukosa rongga mulut. Nyeri yang ditimbulkan dapat mengganggu fungsi kunyah, bicara, atau menelan.¹² Ulkus traumatikus dapat sembuh dalam beberapa hari sampai dua minggu dengan menghilangkan

penyebab dan diberikan pengobatan yang bertujuan untuk mempercepat proses penyembuhan.¹³ Saat ini, obat yang dapat digunakan pada ulkus traumatikus adalah obat yang mengandung asam hialuronat 0,2 %. Asam hialuronat mampu merangsang terjadinya proses penyembuhan luka, migrasi, dan mitosis dari fibroblas dan sel epitel, tetapi penggunaan asam hialuronat dapat menyebabkan alergi atau reaksi hipersensitivitas dan harganya masih relatif mahal.¹⁴

Indonesia memiliki sumber biota laut yang melimpah, salah satunya adalah alga coklat.¹⁵ *Sargassum sp.* adalah alga coklat yang dapat dimanfaatkan sebagai terapi alternatif. Penelitian ini menggunakan alga coklat jenis *Sargassum sp.* karena mudah diperoleh dan senyawa yang terkandung dalam *Sargassum sp.* seperti flavonoid, vitamin A, vitamin C, zink, dan kalsium dapat digunakan sebagai bahan anti bakteri dan anti inflamasi.¹⁶

Telah dilakukan penelitian tentang efektifitas khasiat ekstrak *Sargassum sp.* dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan ulkus traumatikus, dan didapatkan hasil bahwa ekstrak *Sargassum sp.* konsentrasi 25% tidak efektif terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan ulkus traumatikus, sedangkan ekstrak *Sargassum sp.* konsentrasi 50% dan 75% efektif terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan ulkus traumatikus.¹⁷ Berdasarkan penelitian terdahulu tentang uji toksisitas akut alga coklat (*Sargassum sp.*) terhadap mencit (*Mus musculus*) menyatakan bahwa ekstrak *Sargassum sp.* dosis 500mg/kgbb sampai dengan 2000mg/kgbb tidak menunjukkan kematian pada hewan

coba.¹⁸ Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik ingin mengamati pengaruh ekstrak *Sargassum sp.* terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatikus.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini tergolong jenis penelitian *true experimental laboratories*. Rancangan penelitian ini adalah *randomized subjects post test only control group design*. Besar sampel pada penelitian ini 4 sampel tikus Wistar untuk setiap kelompok sehingga diperoleh sampel keseluruhan adalah 32 sampel tikus Wistar. Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hangtuah.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang hewan coba 38x30x11 cm, timbangan analitik, masker, *handscone*, *amalgam stopper*, pinset anatomi, pinset chirugis, *spiritus burner*, *syringe*, spatula semen, cat warna rambut (merah, hitam, biru), *handle dan scalpel*, oven Memmert IN55, tabung tempat gel *Sargassum sp.*, tabung untuk spesimen mukosa labial tikus Wistar, *object glass*, *cover glass*, mikroskop cahaya Olympus CX23 dan OptiLab viewer.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alga coklat jenis *Sargassum sp.* yang diperoleh dari Nusa Tenggara Barat (NTB), akuades, pakan tikus, asam hialuronat 0.2%, alkohol 70% untuk sterilisasi alat, eter, larutan formalin 10%, etanol 96%, HPMC 5%, PEG400, alkohol 70%-96%, xilol, larutan eosin 1%.

Pelaksanaan penelitian hingga pelaporan hasil penelitian pada bulan

Agustus 2017 – Januari 2018 yang berlokasi di Laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Pembuatan gel ekstrak *Sargassum sp.* dengan cara maserasi, yaitu *Sargassum sp.* segar dikeringkan dengan oven kemudian diblender sehingga menjadi serbuk yang direndam dalam etanol 96% lalu diuapkan di *water bath* hingga menjadi ekstrak kental, kemudian dibuat menjadi sediaan gel ekstrak *Sargassum sp.* konsentrasi 50% dan 75% dengan cara mencampurkan hasil ekstraksi *Sargassum sp.* dengan HPMC 5% dan PEG400 sehingga menjadi sediaan gel ekstrak *Sargassum sp.*, kemudian gel dikemas dalam wadah tertutup rapat.^{19,20}

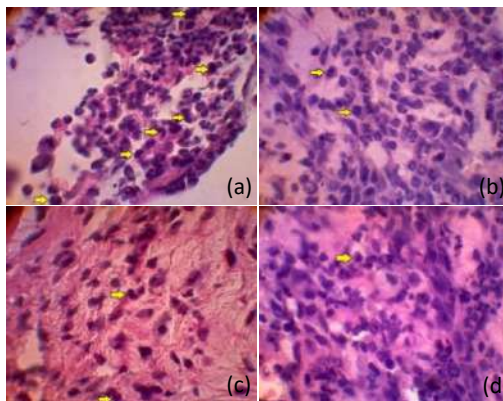
Pada hari pertama setiap tikus Wistar diberi anastesi secara inhalasi dengan menggunakan eter. Mukosa labial bawah tikus dioles dengan *clorhexidine gluconate* 0,12% menggunakan cotton bud steril, kemudian dibuat ulkus dengan *amalgam stopper* dengan diameter 1 mm dan ketebalan 1 mm yang dipanaskan selama 1 menit pada *spiritus burner* dan disentuhkan selama 1 detik. Pada hari kedua memastikan terbentuknya ulkus traumatikus dan pemberian bahan secara topikal sesuai kelompok perlakuan. K1 hanya diberi pakan standart dan akuades secara peroral. K2 diberi pakan standart dan akuades secara peroral dan diberi obat yang mengandung asam hialuronat 0,2% sebanyak 0,05 g. K3 diberi pakan standart dan akuades secara peroral dan diberi ekstrak gel

Sargassum sp. dengan konsentrasi 50% sebanyak 0,05 g. K4 diberi pakan standart dan akuades secara peroral dan diberi ekstrak gel *Sargassum sp.* dengan konsentrasi 75% sebanyak 0,05 g. Aplikasi obat secara topikal dilakukan 1 kali sehari selama 3 dan 6 hari. Pada hari keempat dan ketujuh, tikus dikorbankan dan mukosa labial bawah dibiopsi eksisi. Selanjutnya dibuatkan preparat histopatologi dengan pengecatan *Hematoxylin Eosin* untuk melihat sel makrofag.

Perhitungan sel makrofag dengan mikroskop Olympus CX23 pembesaran 1000x dengan program OptiLab pada 3 lapang pandang. Gambaran sel makrofag memiliki inti berbentuk lonjong atau ginjal dengan sitoplasma merah terang dan inti besar berwarna ungu kebiruan.⁵

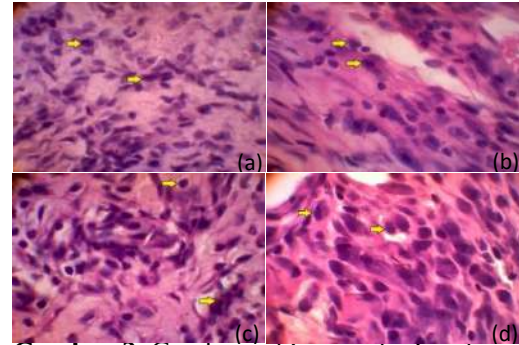
HASIL

Hasil pengamatan dari jumlah makrofag pada hari ke-4 dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histopatologi mukosa labial bawah tikus hari ke-4. (a) K1 Kontrol negatif (b) K2 Kontrol positif (c) K3 *Sargassum sp.* 50% (d) K4 *Sargassum sp.* 75%. Tanda panah kuning menunjukkan sel makrofag dengan mikroskop pembesaran 1000x.

Hasil pengamatan dari jumlah makrofag pada hari ke-7 dapat dilihat pada gambar 2.



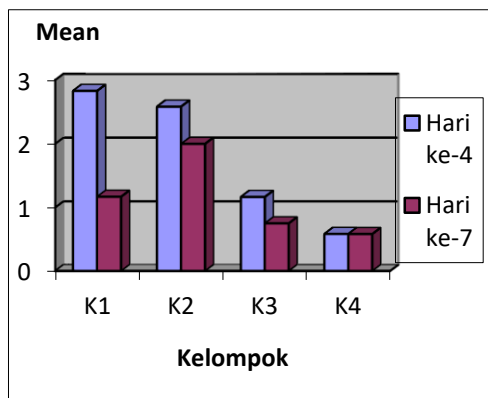
Gambar 2. Gambaran histopatologi mukosa labial bawah tikus hari ke-7. (a) K1 Kontrol negatif (b) K2 Kontrol positif (c) K3 *Sargassum sp.* 50% (d) K4 *Sargassum sp.* 75%. Tanda panah kuning menunjukkan sel makrofag dengan mikroskop pembesaran 1000x.

Data hasil pengamatan jumlah makrofag merupakan data dengan skala rasio, sehingga dilakukan uji hipotesis parameterik *One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan uji beda dengan uji LSD. Batas derajat kemaknaan $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%. Analisis data dilakukan dengan program komputer SPSS 24.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, diperoleh nilai rerata dan simpangan baku jumlah makrofag setiap kelompok perlakuan yang ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata dan Simpang Baku jumlah makrofag setiap kelompok perlakuan

	Kelompok	Rerata± Simpangan Baku (U/mg)
Hari ke-4	K1	2.83±1.03
	K2	2.58±0.50
	K3	1.17±0.64
	K4	0.58±0.79
Hari ke-7	K1	1.17±0.64
	K2	2.00±1.66
	K3	0.75±0.69
	K4	0.58±0.69



Gambar 3. Grafik rerata jumlah makrofag pada setiap kelompok perlakuan.

Hasil uji statistik pada tabel 1 menunjukkan pada kelompok hari ke-4 terdapat penurunan pada K1 (Kontrol negatif) sebesar 2.83, K2 (Kontrol positif) sebesar 2.58, K3 (Ekstrak *Sargassum sp.* 50%) sebesar 1.16, dan K4 (Ekstrak *Sargassum sp.* 75%) sebesar 0.58, sedangkan pada kelompok hari ke-7 didapatkan rerata jumlah makrofag pada K1 (Kontrol negatif) sebesar 1.17, K2 (Kontrol positif) sebesar 2.00, K3 (Ekstrak *Sargassum sp.* 50%) sebesar 0.75, dan K4 (Ekstrak *Sargassum sp.* 75%) sebesar 0.58. Gambar 3 menunjukkan grafik rerata jumlah makrofag pada kelompok hari ke-4 lebih tinggi dibandingkan dengan rerata jumlah makrofag pada kelompok hari ke-7.

Selanjutnya dilakukan Uji normalitas dengan *Shapiro Wilk* dan Uji homogenitas dengan *Levene Statistic* dan didapatkan hasil bahwa data menunjukkan distribusi normal dan homogen. Kemudian dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan Uji LSD untuk melihat perbedaan antar masing-masing kelompok dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$.

Tabel 2. Hasil Uji *One Way ANOVA*

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1		.653	.010*	.001*
K2			.023*	.003*
K3				.303
K4				

Tabel 2 menunjukkan kelompok hari ke-4 dengan nilai signifikansi sebesar 0,003 ($p < 0,05$), yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Pada kelompok hari ke-7 diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,249 ($p > 0,05$), yang berarti bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.

Tabel 3. Hasil Uji LSD jumlah makrofag hari ke-4

Sumber Keragaman	Hari ke-4	Hari ke-7
	Sig.	
Antar Perlakuan	0,003*	0,249

Tabel 3 menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah makrofag pada kelompok K1 dibandingkan dengan K3, K1 dibandingkan dengan K4, K2 dibandingkan dengan K3, dan K2 dibandingkan dengan K4, sedangkan pada kelompok K1 dibandingkan dengan K2 dan K3 dibandingkan K4 menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang berarti bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna.

Tabel 4. Hasil Uji LSD jumlah makrofag hari ke-7

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K1		.267	.571	.430
K2			.106	.071
K3				.819
K4				

Tabel 4 menunjukkan nilai $p > 0,05$ antar tiap kelompok perlakuan. Hal ini berarti bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara jumlah makrofag hari ke-7 pada tiap kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Konsentrasi ekstrak alga coklat jenis *Sargassum sp.* yang digunakan pada penelitian ini sebesar 50% dan 75%. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus Wistar jantan dengan berat badan 150-200 gram. Tikus Wistar jantan dipilih sebagai model hewan coba karena secara hormonal tikus putih jantan lebih stabil dibandingkan dengan tikus putih betina karena tikus putih betina mengalami masa esterus dan masa kehamilan.²¹ Tikus Wistar merupakan mamalia yang mempunyai metabolisme mirip dengan manusia dan mempunyai fisiologi dan anatomi yang hampir sama dengan manusia, seperti struktur anatomi gigi, mukosa rongga mulut, dan jaringan periodontal.²² Ekstrak *Sargassum sp.* diberikan pada mukosa rongga mulut tikus wistar yang mengalami ulkus traumatikus selama 3 hari dan 6 hari, kemudian dilakukan biopsi pada hari ke 4 dan hari ke 7.

Hasil penelitian jumlah makrofag pada hari ke-4 (Tabel 1)

menunjukkan kelompok K4 (0.58) memiliki rerata paling kecil dibandingkan dengan jumlah makrofag pada kelompok K1 (2.83), K2 (2.58), dan K3 (1.17). Pemilihan pemotongan hari ke-4 didasarkan bahwa makrofag mulai aktif menuju daerah yang mengalami luka dan melaksanakan fungsinya untuk fagositosis bakteri dan sel nekrotik, serta memproduksi sitokin dan mediator proinflamatori pada 48-96 jam pasca terjadinya luka, namun keberadaan makrofag akan lebih mudah diamati pada fase inflamasi akhir.^{9,23} Penelitian ini menunjukkan jumlah makrofag hari ke-4 pada kelompok perlakuan menurun dibandingkan dengan kelompok kontrol, hal ini dapat disebabkan karena jaringan yang mengalami fase inflamasi tersebut mulai memasuki tahap proliferasi, oleh karena *Sargassum sp.* mengandung bahan yang dapat berfungsi sebagai anti-inflamasi, sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus traumatikus.¹⁶

Hasil penelitian jumlah makrofag hari ke-7 (Tabel 1) menunjukkan kelompok K4 (0.58) memiliki rerata paling kecil dibandingkan dengan kelompok K1 (1.17), K2 (2.00) dan K3 (0.75). Pada kelompok hari ke-7 jumlah makrofag pada seluruh kelompok perlakuan mulai menurun dibandingkan dengan seluruh kelompok perlakuan pada kelompok hari ke-4, hal ini karena jaringan yang mengalami fase inflamasi tersebut mulai memasuki tahap penyembuhan pada hari ke-7. Penurunan proses inflamasi ditandai dengan menurunnya jumlah makrofag, sehingga jaringan mulai memasuki tahap proliferasi. Apabila didapatkan jumlah makrofag yang terlalu tinggi pada jaringan yang mengalami

inflamasi maka dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sehat disekitar keradangan, dan menunjukkan proses inflamasi berlanjut menjadi inflamasi kronis, sedangkan apabila terlalu rendah maka tubuh tidak mampu melawan sumber infeksi.²⁴

Pada fase inflamasi akan terjadi infiltrasi sel radang akut dan kronis, sel radang akut yaitu neutrofil yang berfungsi dalam memfagosit benda asing pada daerah luka kemudian sisa benda asing dan sel yang terfagosit oleh neutrofil akan difagositosis oleh makrofag untuk mengisolasi, menghancurkan, atau mengaktifkan pertahanan, membersihkan debris, dan mempersiapkan proses penyembuhan dan perbaikan.²⁵ Pada kelompok K2 hari ke-7 mengalami peningkatan rerata jumlah makrofag dibandingkan dengan K1. Hal ini dapat disebabkan karena asam hialuronat mampu meningkatkan proses penyembuhan luka dengan mekanisme aktivasi dan modulasi respon inflamasi yaitu memicu proses peningkatan migrasi sel-sel radang serta pemicu proliferasi, migrasi sel fibroblas, dan sel epitel.¹⁴

Hasil uji Post Hoc LSD jumlah makrofag hari ke-4 (Tabel 3) menunjukkan perbedaan yang bermakna rerata jumlah makrofag K1 apabila dibandingkan dengan kelompok K3 dan K4. Jumlah makrofag pada kelompok perlakuan mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol, hal ini disebabkan oleh kandungan dari ekstrak *Sargassum sp.* antara lain flavonoid, zinc, kalsium, zat besi, Vitamin A dan Vitamin C yang diketahui dapat mempercepat fase inflamasi.²⁶

Vitamin A dan Vitamin C yang terkandung dalam *Sargassum sp.* dapat berperan dalam meningkatkan migrasi

neutrofil dan makrofag ke daerah luka sehingga aktivasi fagositosis menjadi optimal.²⁷ Kalsium dan zinc yang terkandung dalam *Sargassum sp.* dapat menghambat sitokin dan mediator proinflamatori yaitu IL-1, IL-6, dan TNF α sehingga dapat menghambat migrasi sel radang yang berlebih.²⁸ Penurunan jumlah sel radang menandakan bahwa penyembuhan masuk ke tahap berikutnya, yaitu fase proliferasi sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan.

Kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak *Sargassum sp.* dapat menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase pada reaksi kaskade inflamasi sehingga dapat menurunkan produksi prostaglandin dan leukotriene. Penurunan prostaglandin sebagai mediator proinflamasi dapat membatasi sel radang pada daerah luka.²⁹ Penekanan prostaglandin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dan pembengkakan, dan mengurangi vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal, sehingga reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat kemudian proses proliferasi dapat segera terjadi.³⁰

Vitamin C yang terkandung dalam *Sargassum sp.* berperan meningkatkan migrasi neutrofil dan transformasi limfosit, dan dapat meningkatkan sintesis kolagen. Vitamin A berperan untuk meningkatkan fase inflamasi awal dan membantu diferensiasi sel epitel.^{27,31} Kalsium yang terkandung dalam *Sargassum sp.* dapat mempercepat reepitelisasi dengan cara meningkatkan proliferasi keratinosit. Zat besi yang terkandung dalam *Sargassum sp.* dapat berpengaruh pada proses pertumbuhan sel dan

pemeliharaan jaringan, berfungsi sebagai kofaktor untuk sintesis kolagen. Zinc yang terkandung dalam *Sargassum sp.* juga berperan dalam penyembuhan luka, selain itu juga mampu meningkatkan imunitas.¹⁷

Hasil uji Post Hoc LSD jumlah makrofag hari ke-4 (Tabel 3) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah makrofag pada kelompok K3 apabila dibandingkan dengan kelompok K4, namun rerata jumlah makrofag kelompok K4 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok K3. Hal ini berarti bahwa ekstrak *Sargassum sp.* konsentrasi 75% lebih efektif dalam menurunkan jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatikus.

Hasil uji Post Hoc LSD jumlah makrofag hari ke-7 (Tabel 4) menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antar tiap kelompok perlakuan. Hal ini dapat disebabkan karena pada hari ke-7 mukosa rongga mulut yang mengalami ulkus traumatikus sudah mencapai kesembuhan. Hal itu dapat diketahui dari kesembuhan klinis yang dapat dinyatakan dengan hilangnya ulser, perubahan jaringan menjadi daerah yang eritema atau warna dasar ulserasi telah berubah dari putih kekuningan menjadi sama dengan jaringan mukosa mulut disekitarnya. Ulkus traumatikus secara normal pada umumnya dapat sembuh dalam jangka waktu 7-10 hari.³²

SIMPULAN

Pemberian ekstrak *Sargassum sp.* berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatikus. Konsentrasi ekstrak

Sargassum sp. yang paling efektif dalam menurunkan jumlah makrofag pada proses penyembuhan ulkus traumatikus adalah konsentrasi 75%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral Pathologic Clinical Pathologic Correlations, 7th edition. St. Louis: WB Saunders; 2017. p. 22-26.
2. Paleri V, Staines K, Sloan P, Douglas A, Wilson J. Evaluation of Oral Ulceration in Primary Care. *BMJ* 2010; (340): 1234-1239.
3. DeLong L, Burkhart NW. General Oral Pathology for The Dental Hygienist. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. p. 295-297.
4. Orsted HL, Keast D, Lalande LF, Megle MF. Basic Principles of Wound Healing. *Wound Care Canada*. 2004; 9(2):12-4.
5. Kumar V, Cottrann RS, Robbins SL. Robbins Buku Ajar Patologi, Edisi 7 Volume 1. Jakarta: EGC; 2012. p. 35-64.
6. Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing, *J Dent Res*. 2010; (89): 229-219.
7. Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: The role of the macrophage. *Expert Rev Mol Med* 2013 [cited 30 Maret 2017]. p. 1-12. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3596046/>, Guyton AC, Hall JE. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi 11. Jakarta: EGC; 2008. p. 546-553.
8. Larjava, Hannu. Oral Wound Healing. Canada: John Wiley & Sons Inc; 2012. p. 39-50.
9. Prabakti, Yudhi. Perbedaan Jumlah Fibroblas Di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain Dan Yang Tidak Diberi Levobupivakain. Tesis. Semarang: Universitas Diponegoro; 2005. p. 20-21.
10. Enggardipta RA, Haniastuti T, Handajani J. Efek Eugenol Terhadap Jumlah Sel Inflamasi Pada Pulpa Gigi Molar Tikus Sprague Dawley. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2016; 2(2): 66-73.
11. Apriasari, Maharani Laillyza. The Management of Chronic Traumatic Ulcer in Oral Cavity. *Dental Journal*. 2012; (4): 72-68.
12. Hidayati F, Agusmawanti P, Firdausy MD. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah

- Terhadap Jumlah Sel Makrofag Ulkus Traumatikus Mukosa Mulut Akibat Bahan Kimiawi. *Odonto Dental Journal*. 2015; (2): 57-51.
13. Wulandari DT, Karsini I, Mulawarmanti D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia Alba*) Terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 2015; 9(1): 100-90.
 14. Suparmi dan Sahri, Achmad. Mengenal Potensi Rumput Laut : Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan. *Jurnal Sultan Agung*. 2009; 44(118): 116-95.
 15. Hong Dang Diem, Hien Hoang Minh, Anh Hoang Thi Lan. Studies on the analgesic and anti-inflammatory activities of *Sargassum swartzii* (Turner) C. Agardh (Phaeophyta) and *Ulva reticulata* Forsskal (Chlorophyta) in experiment animal models. *African Journal of Biotechnology*. 2011; 10(12): 2314-2308.
 16. Karina A, Revianti S, Karsini I. Khasiat Ekstrak *Sargassum* sp. Terhadap Kepadatan Kolagen pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 2014; (8): 46-35.
 17. Asfa, Nur Wahidah. The Toxicity Of Brown Algae (*Sargassum* Sp) Extract To Mice (*Mus Musculus*). *Journal of Dentomaxillofacial Science*. 2016; 1(2): 115-109.
 18. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008.
 19. Aslani A, Ghannadi A, Najafi H. Design, formulation and evaluation of a mucoadhesive gel from *Quercus brantii* L. and *coriandrum sativum* L. as periodontal drug delivery. *Adv Biomed Res*. 2013; 2(2): 9-1.
 20. Chumaira, Yurista. Efek Pemberian Kombinasi Terapi Hiperbarik dan Gel Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) 3% Pada Tikus Diabetes Melitus Tipe 2 Yang Disertai Periodontitis Terhadap Kepadatan Kolagen Pada Jaringan Periodontal. Skripsi. Surabaya: Universitas Hang Tuah; 2017. p.79.
 21. Leong NL, Hurng JM, Djomehri SI, Gansky SA, Ryder MI, Ho SP. Age-Related Adaptation of Bone-PDL-Tooth Complex: *Rattus-Norvegicus* as a Model System. *Plos One*. 2012; 7(4): 14-1.
 22. Kusumo, Agus Setiawan. Pengaruh Pemberian Echinace Topikal Terhadap Jumlah Sel Fibroblas dan Makrofag pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Marmut. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga; 2007. p. 37-40.
 23. Soepribadi, Istiati. Regenerasi dan Penyembuhan. Jakarta: EGC; 2013. p. 12.
 24. Sherwood, Lauralee. Fisiologi Manusia Edisi 6. Jakarta: EGC; 2011. p. 450.
 25. Nasmia N, Syahir R, Eka YZR. Toxicity of liquid extract of seaweed *Sargassum* sp. on the growth of microalgae *Skeletonema costatum*. *AACL Bioflux*. 2017; (10): 247-253.
 26. MacKay DJ, Miller AL. Nutrition Support for Wound Healing. *Alternative Medicine Review*. 2003; 8(4): 377-359.
 27. Prasad, Ananda S. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Experimental Gerontology*. 2008; 43:377-370.
 28. Sabir, Ardo. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*. 2003; (36): 87-81.
 29. Dwitanandi C, Nahzi MYI, Raharja SD. Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Terhadap Jumlah Makrofag Pada Inflamasi Pulpa. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2016; 1(2): 156-151.
 30. Wild Thomas, Rahbarnia Arastoo, Kellner Martina, Sobotka Lubos, Eberlein Thomas. Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition*. 2010; (26): 866-862.
 31. Hardiono, Imas Kusumastati. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ganggang Coklat (Phaeophyceae) Jenis *Sargassum* Sp. Terhadap Jumlah Limfosit Pada Ulkus Traumatikus. Skripsi. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Hang Tuah; 2012. p. 1-4.