

A large, stylized graphic of a tooth, rendered in a light green color with a darker green outline, positioned behind the main title.

denta

Jurnal
Kedokteran
Gigi

Vol. 9 No. 1 Februari 2015

ISSN : 1907-5987

SUSUNAN REDAKSI

Pemimpin Umum
Noengki Prameswari

Ketua Penyunting
Sularsih

Sekretaris
Dwi Andriani, Carissa Endianasari

Bendahara
Maria Franciska

Penyunting Pelaksana
Kristanti Parisihni, Widyastuti, Rima Parwati Sari
Endah Wahjuningsih, Syamsulina Revianti, Dian Widya Damaiyanti, Sarianoferni

Penyunting Ahli (Mitra Bebestari)
Setyo Harnowo, Arifzan Razak,
Dian Mulawarmanti, Bambang Sucahyo,
Soetjipto, Achmad Gunadi, Udijanto Tedjosasongko, Iga Wahyu Ardani

Distribusi
Trias Djohar Wirawan

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: jurnal.denta@gmail.com/denta@hangtuah.ac.id
Website : www.fkg.hangtuah.ac.id

DAFTAR ISI

Susunan redaksi	i
Daftar isi	ii
Panduan Penulisan Naskah	iv
Aplikasi Gel Kitosan Berat Molekul Tinggi dan Rendah terhadap Ketebalan Epitel Mukosa pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi <i>Fransiska Amelia Hartono, Puguh Bayu Prabowo, Syamsulina Revianti</i>	1
Daya Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (<i>Pluchea Indica Less</i>) Terhadap <i>Streptococcus Viridians</i> (In Vitro) <i>Agni Febrina Pargaputri, M. Mudjiono, Agus Subiwahjudi</i>	11
Efektivitas Kombinasi Grafting Cangkang Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i>) dan Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>) Terhadap Penurunan Jumlah Osteoklas Pada Proses Bone Repair <i>Dinda Divilia, Rima Parwati Sari, Paulus Budi Teguh</i>	20
Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut Spesies <i>Eucheuma Cottonii</i> Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Mixed Periodontopatogen</i> <i>Iqbal Fahmiliyan Asmoro, Yoifah Rizka, Paulus Budi Teguh</i>	30
Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (<i>Stichopus hermanii</i>) terhadap Bakteri <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Roy Tamara, Linda Rochyani, Paulus Budi Teguh</i>	37
Daya Hambat Ekstrak Teripang Pasir (<i>Holonthuria scabra</i>) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Mixed periodontopatogen</i> In Vitro <i>Susi Krestiana, Widyastuti, Vivin Ariestania</i>	48
Efek Pemberian kombinasi Prf dengan Xenograft dan Alloplast Terhadap Jumlah Osteoblas <i>Hansen Kurniawan</i>	59
Efektifitas Perbandingan Kombinasi <i>Clindamycin</i> dan Ekstrak <i>Nannochloropsis Oculata</i> Terhadap Peningkatan Kepadatan Kolagen pada Osteomielitis Mandibula <i>Faidha Azmi N, Dian Mulawarmanti, Noengki Prameswari</i>	64
Karakterisasi Ekstrak Air Teripang Emas (<i>Stichopus hermanii</i>) <i>Dian Widya Damaiyanti</i>	74

Pengaruh Teripang Emas (<i>Stichopus Hermanii</i>) pada Remodeling Ekspansi Sutura Maksila Terhadap Lebar Palatal Menggunakan Analisis Sefalometri Anydya Putri, Noengki Prameswari, Budi Handayani	82
Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mangrove Api-Api Putih (<i>Avicennia Alba</i>) Terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus Davy Tri Wulandari P, Isidora Karsini S, Dian Mulawarmanti	90
Pengaruh Pemberian Ekstrak <i>Nannochloropsis oculata</i> Terhadap Penurunan Kadar TNF-α pada Tikus yang Diinduksi Bakteri <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> Peggie Octavia Halim, Syamsulina Revianti, Yoifah Rizka Wedarti	109
Perbedaan Kitosan Berat Molekul Rendah dan Tinggi Terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Felinda Gunawan, Sularsih, Soemartono	113

LAPORAN PENELITIAN

Aplikasi Gel Kitosan Berat Molekul Tinggi dan Rendah terhadap Ketebalan Epitel Mukosa pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi

(Application of Chitosan Gel High Molecular Weight and Low Molecular Weight on the Epithelial Mucosal Thickness in Wound Healing After Tooth Extraction)

Fransiska Amelia Hartono*, Puguh Bayu Prabowo**, Syamsulina Revianti ***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Acceleration of wound healing after tooth extraction is the most important. One of the tissue repair in wound healing is the reepithelialization. Chitosan is a biomaterial that can be used to accelerate reepithelialization in the wound healing process. **Purpose:** The aim of this study was to prove the differences between application of chitosan gel high molecular weight and low molecular weight to accelerate the reepithelialization in socket healing after tooth extraction. **Material and Methods:** The experiment was held the post test only control group design used 24 male wistar rats divided into 3 group. K1 group was control group which was extracted without any treatment, K2 group was extracted and applicated by low molecular weight of chitosan gel, K3 group was extracted and applicated by high molecular weight of chitosan gel. After treatments on the 7th day, all groups of rats were euthanized and the epithelial mucosal thickness was measured under light microscope magnificant 100x. All of the data were analyzed by one way ANOVA and LSD test. **Result:** This study showed the epithelial thickness of the K2 and K3 groups was significantly higher than K1 group, but there were not significantly different between K2 and K3 group. **Conclusion:** The effectivity of high molecular and low molecular weight chitosan gel to accelerate reepithelialization in socket healing are similar.

Keywords: Chitosan, molecular weight, epithelial thickness, wound healing

Correspondence: Puguh Bayu Prabowo, Department of Materials science and Technology Dentistry, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, 5912191, Email: pbprabowo@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: Percepatan proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi merupakan hal yang paling utama. Salah satu perbaikan jaringan dalam penyembuhan luka adalah terjadinya reepitelisasi. Kitosan merupakan biomaterial yang dapat digunakan untuk mempercepat proses penyembuhan luka dengan cara meningkatkan reepitelisasi. **Tujuan:** Membuktikan perbedaan pengaruh aplikasi ekstrak kitosan gel berat molekul tinggi dan berat molekul rendah terhadap ketebalan epitel mukosa dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian post test only control group design. 24 tikus Wistar jantan dibagi menjadi 3 kelompok. K1 merupakan kelompok kontrol yang dilakukan pencabutan tetapi tidak diberi aplikasi kitosan gel, K2 merupakan kelompok perlakuan yang dilakukan pencabutan dan aplikasi kitosan gel berat molekul rendah, kelompok K3 dilakukan pencabutan dan aplikasi kitosan gel berat molekul tinggi. Tujuh hari setelah perlakuan, semua kelompok tikus dikorbankan dan diukur ketebalan epitel mukosa secara mikroskopik dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 100x. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan one way ANOVA dan LSD. **Hasil:** Studi menunjukkan ketebalan epitel kelompok K2 dan K3 signifikan lebih tinggi dibandingkan K1, tetapi tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 dan K3. **Simpulan:** Kitosan gel berat molekul tinggi dan rendah memiliki efektivitas yang sama dalam meningkatkan reepitelisasi pada penyembuhan luka pencabutan.

Kata kunci: Kitosan, berat molekul, ketebalan epitel, penyembuhan luka pencabutan

Korespondensi: Puguh Bayu Prabowo, Departemen Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: pbprabowo@gmail.com

PENDAHULUAN

Pencabutan gigi yang ideal adalah pencabutan sebuah gigi atau akar gigi yang utuh tanpa menimbulkan rasa sakit dengan trauma sekecil mungkin pada jaringan penyangga, sehingga luka bekas pencabutan gigi akan sembuh normal dan tidak menimbulkan komplikasi.¹ Pasien sangat peduli dan memperhatikan penampilan atau estetika gigi saat ini, sehingga percepatan proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi merupakan hal utama yang perlu diperhatikan terutama ketika pasien ingin mengganti gigi yang telah dicabut tersebut dengan gigi tiruan.^{2,3}

Proses penyembuhan luka dapat dikelompokkan dalam 4 fase yaitu fase

hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Tahap awal penyembuhan luka yaitu hemostasis ditandai dengan adanya blood clot.⁴

Fase inflamasi terdiri dari fase awal inflamasi (akut) dan fase inflamasi akhir (kronis). Fase inflamasi akut terjadi sesaat setelah terjadinya luka, ditandai oleh banyaknya eksudasi protein plasma dan sel neutrofil. Fase inflamasi kronis terjadi setelah fase inflamasi akut berakhir yang ditandai oleh sel radang kronis (makrofag, limfosit, dan sel plasma) yang mengalami peningkatan pada hari ke 2-5 dan mengalami penurunan jumlah yang signifikan pada hari ke 7.⁵ Penurunan jumlah tersebut diikuti dengan peningkatan jumlah fibroblas, pembuluh darah baru dan kolagen

yang disebut sebagai jaringan granulasi. Fase granulasi merupakan fase proliferasi. Pada fase ini terjadi proses epitelisasi dan pembentukan jaringan ikat baru. Fase akhir dari penyembuhan luka adalah fase remodeling.^{6,7}

Epitelisasi merupakan proses pembentukan epitel pada luka. Sel basal yaitu sel keratinosit menunjukkan aktivitas paling aktif dalam siklus epitel mukosa rongga mulut. Epitelisasi dimulai 12 jam pasca trauma dan dimulai dengan mitosis sel keratinosit pada stratum basalis. Keratinosit akan memipih dan membentuk tonjolan-tonjolan disekitarnya. Sel ini akan kehilangan perlekatan hemidesmosom dengan sel basal disekitarnya dan mulai bermigrasi pada 24 jam pasca trauma. Dalam 48 jam, proliferasi sel-sel epitel dimulai.^{8,9}

Growth factor yang berperan dalam proses epitelisasi adalah *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Keratinocyte Growth Factor* (KGF), dan *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF). EGF dilepaskan oleh platelet, fibroblas dan sel mast. EGF menstimulasi proliferasi keratinosit dan menstimulasi pelepasan perlekatan hemidesmosom keratinosit. Fibroblas juga mengeluarkan KGF yang berperan dalam stimulasi mitosis sel basal pada epitel stratum basalis dan melindungi keratinosit dari apoptosis.^{8,9}

Kitosan merupakan bahan biomaterial yang telah digunakan untuk mempercepat proses penyembuhan luka pencabutan. Kitosan banyak ditemukan pada cangkang *Crustaceae sp*, yaitu udang, kepiting, lobster, dan hewan bercangkang lainnya.¹⁰

Kitosan dikenal sebagai bahan yang memiliki biodegradabilitas yang baik, biokompatibel untuk *wound-dressing* dan bahan perekat jaringan, memiliki aktivitas anti infeksi, dan kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka.¹¹ Kitosan memiliki rumus kimia *N-acetyl-D-glucosamine* yang memiliki struktur polimer sama dengan *hyaluronic acid* yaitu golongan *glycosaminoglycan* (GAGs) yang merupakan makromolekul matriks ekstraseluler yang penting untuk penyembuhan luka.¹²

Beberapa penelitian mengenai kitosan dipengaruhi oleh derajat deasetilasi (DD) dan berat molekul (BM). Kitosan dengan BM rendah memiliki sifat antibakteri yang baik sehingga penyembuhan luka dapat dipercepat karena adanya efek daya hambat kitosan terhadap bakteri.^{13,14} Kitosan dengan BM tinggi memiliki sifat mukoadhesif yang baik dalam menutup luka sehingga terbentuk *blood clot* yang kuat dan tidak mudah lepas untuk mencegah terjadinya *dry socket* pada fase hemostasis.¹⁵

Penelitian mengenai kitosan di bidang kedokteran telah berkembang pesat. Penelitian Ueno, dkk (2001) menunjukkan bahwa stimulasi sel makrofag menggunakan kitosan menunjukkan peningkatan *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF β 1), *Platelets Release Transforming Growth Factor* (PDGF) dan *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Masuoka, dkk (2005) kitosan memiliki kemampuan untuk meningkatkan waktu paruh *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF) dibanding kelompok kontrol dengan cara memberi perlindungan agar tidak

terdegradasi oleh panas atau pengaruh dari enzim. FGF-2 berperan penting terhadap perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas, proliferasi sel epitel dan angiogenesis

Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi dapat cepat terjadi khususnya dalam proses epitelisasi dengan peranan suatu biomaterial yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi. Salah satu Biomaterial yang dapat digunakan salah satunya adalah kitosan. Kitosan telah digunakan sebagai produk *hemostatic agent* yang berguna untuk menghentikan perdarahan, namun bahan tersebut pada dosis ini belum mampu untuk merangsang pembentukan jaringan lunak maupun keras termasuk mempercepat proses epitelisasi. Kitosan memiliki biokompatibilitas yang tinggi dan biodegradabilitas yang baik sehingga sangat potensial untuk diaplikasikan pada proses penyembuhan luka. Salah satu yang dapat mempengaruhi sifat fisiko-kimia kitosan adalah berat molekul (BM). Berat molekul kitosan bergantung pada degradasi yang terjadi selama proses deasetilasi dimana dihasilkan kitosan dengan berat molekul rendah dan tinggi. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui pengaruh gel kitosan dengan berat molekul tinggi dan berat molekul rendah terhadap ketebalan epitel mukosa pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental*

dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus yang dibagi dalam 3 kelompok. Teknik pengambilan sampel menggunakan cara acak (*simple random sampling*).

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu sarung tangan, masker penutup mulut, pinset kedokteran gigi, kaca mulut, tang modifikasi elevator khusus untuk mencabut gigi tikus, *needle holder*, gunting, *disposable syringe* 2,5cc, kotak tempat sampel, *beaker glass*, inkubator, *rotary microtome*, label, *slide*, *cover glass*, *petridish*, dan mikroskop trinokuler.

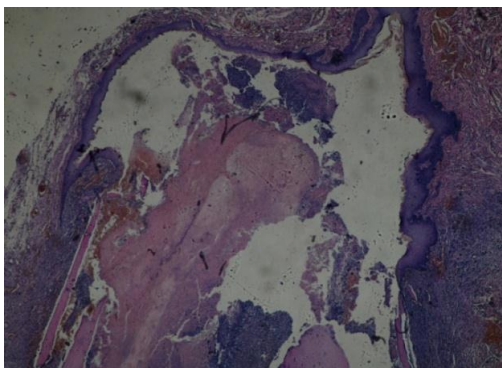
Bahan yang digunakan yaitu kitosan Sigma-Aldrich *low molecular weight*, kitosan Sigma-Aldrich *high molecular weight*, asam asetat 1%, NaOH 1,25%, alkohol 70%, ketamin *hydrochloride*, *xylazine hydrochloride*, eter, buffer formalin 10%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol 100% (absolut), NaOH 50%, *xylene*, buffer parafin, asam nitrat 5%, pewarnaan hematoksiklin eosin (HE), makanan standar tikus wistar, minuman tikus wistar (minuman yang diberikan berupa air PDAM biasa secara *ad libitum*).

Pada hari pertama, 24 tikus di aklimatisasi selama 7 hari dalam kandang ukuran 40cmx30cmx14cm dan ditempatkan dalam ruangan yang cukup udara dan cahaya. Pada hari ke-7, tikus dibagi dan diberi tanda menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok 1, 2, dan 3. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 tikus yang diletakkan dalam 1 kandang.¹²

Setelah semua tikus dibagi menjadi 3 kelompok, kelompok ke-1 dilakukan pencabutan pada gigi *incisive* kiri rahang bawah tikus lalu

diberikan irigasi larutan saline 1,5ml tanpa pemberian gel kitosan. Pada kelompok ke-2, dilakukan pencabutan pada gigi *incisive* kiri rahang bawah tikus lalu diberikan irigasi larutan saline 1,5ml kemudian diberi kitosan gel BM rendah 1% sebanyak 0,1ml. Kelompok ke-3 dilakukan pencabutan pada gigi *incisive* kiri rahang bawah tikus lalu diberikan irigasi larutan saline 1,5ml kemudian diberi kitosan gel BM tinggi 1% sebanyak 0,1ml.

Pada hari ke-8 (7 hari setelah perlakuan) semua kelompok tikus dikorbankan dan di ambil rahang mandibulanya. Setelah itu, dilakukan pembuatan preparat HPA. Kemudian dilakukan pemeriksaan HPA pada soket bekas pencabutan gigi dan dilakukan pengukuran ketebalan epitel mukosa Setelah didapatkan data hasil pengukuran, dilakukan tabulasi dan analisis data.¹⁴



Gambar 1. Hasil foto HPA epitel permukaan soket (tanda panah)

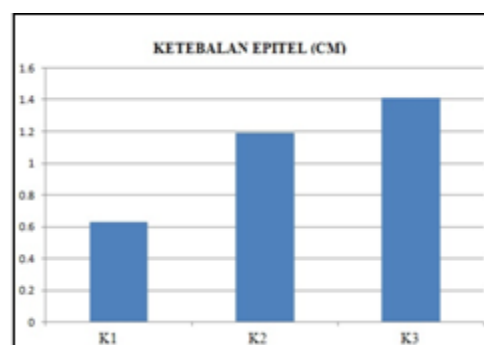
HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi data untuk memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan

taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 20.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku ketebalan epitel mukosa tikus pada setiap kelompok percobaan dengan satuan centimeter (cm)

Kelompok	Rata-rata $\pm$ Standar deviasi
K1	0.6319 $\pm$ 0.26623
K2	1.1931 $\pm$ 0.47590
K3	1.4119 $\pm$ 0.59521



Gambar 2. Rata-rata ketebalan epitel mukosa pada masing-masing kelompok

Sebelum dilakukan uji hipotesis, maka setiap kelompok dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena pada penelitian ini jumlah sampel <50 .

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan hasil uji *Levene* didapatkan nilai signifikansi 0.152, sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen ($p > 0,05$).

Hasil data di atas diketahui memiliki distribusi data yang normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, uji dilanjutkan dengan menggunakan uji *one way ANOVA* karena desain penelitian ini menggunakan lebih dari 2 kelompok yang tidak berpasangan dengan skala pengukuran numerik (rasio). Uji *one way ANOVA* ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pada

tiap kelompok baik secara terpisah maupun bersama-sama.

Pada uji *one way ANOVA*, diperoleh nilai $p=0.009$ ($p<0.05$) yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan). Perbedaan tinggi tulang mandibular pada masing-masing kelompok perlakuan, dilakukan uji *LSD* dengan signifikansi $p<0.05$.

Tabel 2. Tabel hasil uji *LSD*

Kelompok	Rata-rata	Kelompok	Rata-rata	Sig.
K1	0.6319	K2	1.193	0.02
		K3	1	5*
K2	1.1931	K4	1.411	0.00
		9	9	3*
			1.411	0.35
			9	9

Hasil uji *LSD* didapatkan bahwa ketebalan epitel pada kelompok K2 dan K3 signifikan lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok K1 ($p<0.05$). Namun kelompok K2 dibandingkan K3 tidak terdapat perbedaan signifikan ($p>0.05$).

PEMBAHASAN

Kitosan adalah senyawa kimia yang berasal dari bahan hayati kitin, suatu senyawa organik yang melimpah di alam setelah selulosa. Kitosan banyak ditemukan pada cangkang *Crustaceae sp*, yaitu udang, lobster, kepiting, dan hewan yang bercangkang lainnya, terutama yang berasal dari laut. Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan bubuk kitosan yang didapat dari Sigma-Aldrich yang terbuat dari cangkang kepiting. Cangkang kepiting memiliki kandungan kitin mencapai 50%-60% sedangkan kulit udang hanya menghasilkan 42%-57% sehingga kandungan kitosan yang dihasilkan

cangkang kepiting lebih tinggi daripada kulit udang.¹⁰

Secara kimiawi, kitosan merupakan polisakarida linear yang memiliki rantai berupa β -(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose yang strukturnya mirip glukosaminoglikan (GAG). GAG berperan penting dalam penyembuhan luka. GAG terdiri dari rantai polisakarida yang meliputi asam hialuronat, dermatan sulfat, kondroitin sulfat, heparin, heparan sulfat dan keratin sulfat. Asam hialuronat merupakan komponen utama dalam matriks ekstraseluler. Asam hialuronat adalah komponen GAG terbesar yang bertugas dalam menarik air dan jumlahnya meningkat pada jaringan yang rusak. Asam hialuronat menstimulasi produksi sitokin oleh makrofag, meningkatkan reepitelisasi dan angiogenesis.^{18,19}

Proses penyembuhan luka dapat dikelompokkan dalam 4 fase yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Setelah pencabutan gigi dilakukan, segera terjadi perdarahan dan diikuti munculnya *blood clot*. Kemudian platelet teraktivasi selama hemostasis dan memicu keluarnya sitokin yang penting dalam fase inflamasi.⁸

Fase inflamasi merupakan respon pertahanan tubuh terhadap benda asing dan bertugas untuk mengeliminasinya. Di awal fase inflamasi ditandai dengan munculnya cairan plasma dan banyaknya neutrofil yang berperan aktif dalam memfagositosis benda asing.^{8,4} Sel yang dominan pada fase inflamasi adalah makrofag, limfosit dan sel plasma.⁵

Fase proliferasi merupakan fase perbaikan luka yang meliputi fibroblasia, sintesis kolagen, pembentukan jaringan granulasi,

epitelisasi, dan angiogenesis. Epitelisasi merupakan proses pembentukan epitel pada luka. Sel basal menunjukkan aktivitas paling aktif dalam siklus epitel mukosa rongga mulut. Sel yang paling berperan dalam aktivitas tersebut adalah sel keratinosit.^{4,8,20} Keratinosit merupakan sel dominan dalam epitel. Epitelisasi dimulai 12 jam pasca trauma dan dimulai dengan mitosis sel basal (keratinosit) pada stratum basalis. Keratinosit akan memipih dan membentuk tonjolan-tonjolan sekitar stratum basalis. Sel ini akan kehilangan perlekatan hemidesmosom dengan sel basal sekitar keratinosit dan mulai bermigrasi pada 24 jam pasca trauma. Dalam 48 jam, proliferasi sel-sel epitel dimulai.^{8,9}

Kitosan yang memiliki struktur mirip GAG dapat bertindak sebagai bahan penyembuhan luka. Kitosan dapat menginduksi adhesi dan aktivasi trombosit sehingga *blood clot* terbentuk dalam waktu singkat. Proses pembentukan *blood clot* dalam waktu singkat ini akan mempercepat proses penyembuhan luka pada tahap selanjutnya yaitu fase inflamasi.^{21,22} Pada fase inflamasi, sel-sel inflamasi seperti PMN dan makrofag bermigrasi ke daerah luka dan berperan dalam memfagositosis benda asing serta bakteri di daerah luka, membentuk jaringan granulasi, memicu proliferasi fibroblas, memproduksi *growth factor* yang berperan dalam epitelisasi dan angiogenesis. Pemberian kitosan dan derivat-derivatnya akan meningkatkan fungsi dan proliferasi dari PMN dan makrofag.^{21,23}

Pemakaian kitosan di bidang biomedis harus memiliki derajat deasetilasi minimal 80%. Pada penelitian ini, kitosan yang digunakan mempunyai derajat deasetilasi 95,5%

untuk kitosan berat molekul rendah dan 95,8% untuk kitosan berat molekul tinggi. Semakin besar derajat deasetilasinya maka semakin baik mutu kitosan, hal ini akan menghasilkan kemampuan absorpsi kitosan gel yang baik terhadap luka.^{24,25}

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pengaruh aplikasi kitosan gel berat molekul tinggi dan rendah terhadap ketebalan epitel mukosa pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi. Sampel penelitian adalah tikus Wistar putih (*rattus novergicus strain wistar*) jantan dengan berat badan 200-250 gram dan berusia 3 bulan. Tikus Wistar dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia.²⁶ Selain itu, penelitian ini menggunakan hewan coba berjenis kelamin laki-laki karena dasar pertimbangan pada manusia yaitu jika menggunakan tikus berkelamin wanita dikhawatirkan tikus tersebut akan mengalami menstruasi dimana terjadi ketidakseimbangan hormon yang akan mempengaruhi hasil penelitian.²⁷

Pada penelitian ini, dilakukan pencabutan gigi insisif kiri tikus sehingga menyebabkan luka dan adanya kerusakan epitel pada bekas pencabutan. Kemudian kitosan gel diaplikasikan pada soket tempat bekas pencabutan menggunakan *syringe* dengan ujung berdiameter kecil. Tikus lalu didekaputasi pada hari ketujuh untuk melihat ketebalan epitel mukosa.⁸

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa tikus kelompok K2 dan K3 yang diberi aplikasi kitosan gel masing-masing dengan berat molekul

rendah dan berat molekul tinggi pada soket bekas pencabutan mampu meningkatkan ketebalan epitel yang signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok K1 yang tidak diberi aplikasi kitosan gel. Namun pemberian kitosan gel berat molekul rendah masih kurang efektif dibandingkan dengan pemberian kitosan gel berat molekul tinggi. Hal ini dibuktikan dengan ketebalan epitel K2 lebih rendah namun tidak signifikan bila dibandingkan dengan kelompok K3. Sehingga efektivitas kitosan gel berat molekul tinggi dan rendah sama dalam meningkatkan ketebalan epitel mukosa.

Penelitian ini menggunakan kitosan gel 1% yang dibuat dengan cara mencampurkan 1 gram bubuk kitosan dengan asam asetat 1%. Kitosan yang larut dalam asam mempunyai keunikan yaitu membentuk gel yang stabil.²⁸ Derajat deasetilisasi dan berat molekul merupakan parameter utama yang mempengaruhi karakteristik kitosan. Derajat deasetilisasi semakin tinggi (di atas 80%) maka semakin tinggi kelarutan kitosan dalam larutan asam asetat. Hal ini disebabkan karena adanya interaksi hidrogen antara gugus karboksil pada asam asetat dan gugus amida pada kitosan.^{15,26}

Gel kitosan merupakan penutup luka yang ideal karena memiliki biokompatibilitas dan biodegradabel yang baik, bersifat hemostatik, antiinfeksi, dan mampu mempercepat penyembuhan luka. Efek biokompatibilitas yang dimiliki kitosan disebabkan karena strukturnya yang mirip dengan glukosaminoglikan pada matriks ekstraselular.²⁹

Pada penelitian yang dilakukan Alsarra (2009), menunjukkan bahwa luka bakar yang dirawat dengan pemberian kitosan berat molekul tinggi

mampu meningkatkan epitelisasi dan mempercepat penutupan luka. Selain itu menurut Chen dkk (2011), kitosan berperan dalam menstimulasi makrofag dan PMN sehingga kitosan dapat meningkatkan pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi pada proses penyembuhan luka.

Pemberian kitosan pada luka pencabutan gigi akan mempengaruhi proses penyembuhan luka yang diawali dengan fase hemostasis. Pada fase hemostasis terjadi kerusakan pembuluh darah yang menyebabkan keluarnya platelet. Platelet akan membentuk bekuan darah (*blood clot*) sehingga perdarahan akan terhenti.³⁰ Kitosan berat molekul tinggi memiliki ukuran partikel yang besar dan viskositas yang lebih tinggi daripada kitosan berat molekul rendah sehingga memiliki mukoadhesif yang lebih kuat. Sifat mukoadhesif ini berperan dalam menutup luka sehingga terbentuk *blood clot* yang kuat dan tidak mudah lepas sehingga proses penyembuhan luka dapat segera terjadi.^{31,32,33}

Fase selanjutnya adalah fase inflamasi. Pada fase ini, sel-sel yang paling berperan adalah sel-sel fagosit seperti makrofag dan sel PMN. Sel-sel fagosit ini memiliki enzim lisosim. Enzim lisosim merupakan suatu enzim yang dilepaskan ke daerah luka oleh sel-sel inflamasi. Enzim lisosim akan menyebabkan kitosan mengalami biodegradasi dari *N-acetyl-D-glucosamine* polimer menjadi *N-acetyl-D-glucosamine* dimer aktif. Kitosan berat molekul tinggi terdiri dari rantai polimer *N-acetyl-D-glucosamine* yang panjang, sehingga ketika terjadi biodegradasi kitosan oleh enzim lisosim, kitosan berat molekul tinggi akan menghasilkan rantai *N-acetyl-D-glucosamine* dimer yang

lebih banyak jika dibandingkan dengan kitosan berat molekul rendah.³⁴

Kitosan kemudian akan merangsang migrasi sel-sel radang ke daerah luka dan meningkatkan proliferasi sel-sel radang pada daerah luka tersebut. Semakin meningkat proliferasi dari sel-sel radang menyebabkan semakin banyak pula sitokin dan *growth factor* yang dilepaskan oleh sel-sel radang tersebut.^{12,34} Beberapa sitokin dan *growth factor* yang berperan penting dalam proses epitelisasi luka adalah dari EGF *family* yaitu EGF (*Epidermal Growth Factor*) dan HB-EGF (*Heparin Binding EGF*); FGF *family* yaitu KGF (*Keratinocyte Growth Factor*); dan TGFβ1 (*Transforming Growth Factor β1*).⁹

EGF berperan dalam menstimulasi proliferasi keratinosit dan menstimulasi pelepasan hemidesmosom keratinosit. HB-EGF berperan dalam migrasi keratinosit pada fase awal reepitelisasi. KGF memiliki peran dalam menstimulasi proliferasi dan migrasi keratinosit. Sedangkan TGFβ1 berperan dalam proliferasi keratinosit pada fase akhir epitelisasi.^{8,9} Sitokin dan *growth factor* tersebut akan menyebabkan migrasi dan proliferasi dari keratinosit yang merupakan sel dominan dalam epitelisasi sehingga proses epitelisasi dapat terjadi lebih cepat dan luka dapat segera menutup sempurna.⁸

SIMPULAN

Pemberian ekstrak kitosan gel berat molekul rendah dan berat molekul tinggi efektif dalam meningkatkan ketebalan epitel mukosa bekas pencabutan gigi tikus.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pedlar J. 2007. Oral and Maxillofacial Surgery 2nd ed. United States of America: Elsevier Saunders. P. 1.
2. Topazian RG, Goldberg MH., Hupp JR. 2002. Oral and Maxillofacial Infections 4ed. United States of America: Elsevier Saunders. P. 1.
3. Muflih A. 2008. Distribusi dan Frekuensi Pasien dengan Gigi Tiruan Jembatan di Klinik Integrasi RSGMP FKG UI Periode 2008. Skripsi, Universitas Indonesia. H. 3-1.
4. Kumar V, Abdul K. Abbas, Nelson F. 2005. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. P. 114-107.
5. Velnar, Bailey T, Smrkolj V. 2009. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanism. The Journal of Internasional Medical Research, 37: 1542-1528.
6. Nield J dan Wilmann D. 2003. Foundation of Periodontics for the Dental Hygienist. United States of America: Wilham & Walkins. P. 81-1.
7. Diegelmann RF dan Evans MC. 2004. Wound Healing: an Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing. Frontiers in Bioscience, 9: 289-283.
8. Larjava H. 2012. Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management 1st ed. Willey-Blackwell. P. 108-81.
9. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. 2008. Growth Factors and Cytokines In Wound Healing. Wound Repair and Regeneration. P. 588-585.
10. Sugita P, Wukirsari T, Sjahriza A, Wahyono D. 2009. Kitosan: Sumber Biomaterial Masa Depan. Bogor: IPB Press. P. 45-28.
11. Pieper JS, Van Wachem PB, Van Luyn MJA. 2000. Attachment of Glycosaminoglycans to Collagenous Matrices Modulates the Tissue Response in rats. *Biomaterials*, 21(16): 1699-1689.
12. Chin L dan Halim AS. 2009. In Vitro Models In Biocompatibility Assessment For Biomedical-Grade Chitosan Derivatives In Wound Management. *J. Molecular Science*, 10(3): 1313-1300.
13. Baitukalova TA, Bogoslovskaja OA, Ol'khovskaia IP, Gluschenko NN, Ovsiannikova MN, Lopatin SA, Varlamov VP. 2005. Regenerating activity and antibacterial effect of low-molecular-

- weight chitosan. *Izv Akad Nauk Ser Biol*, 6: 659-63.
14. Ahlam A. 2011. Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Vera* (L.) Webb) dengan Gelling Agent Kitosan dan Uji Efek Penyembuhan Luka Bakar. Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. P. 3-2.
 15. Budianto B. 2013. Pengaruh Kitosan Gel 1% Yang Memiliki Berat Molekul Tinggi dan Rendah Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi. Skripsi, Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 3-1.
 16. Ueno H, Mori T, Fujinaga T. 2001. Topical Formulation and Wound Healing Applications Of Chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 52(2): 115-105.
 17. Masuoka K., Ishihara M., Asazuma T., Hattori H., Matsui T. 2005. The interaction of chitosan with fibroblast growth factor-2 and its protection from inactivation. *Biomaterials*, 26: 3284-3277.
 18. Schultz GS, Ladwig G, Wysocki A. 2005. Extracellular matrix: review of its roles in acute and chronic wounds. P. 1. Available from <http://www.worldwidewounds.com/2005/august/Schultz/Extrace-Matric-Acute-Chronic-Wounds.html>. Diakses 5 Februari 2014.
 19. Astuti T. 2006. Efek derajat deasetilasi dan konsentrasi kitosan terhadap daya hambat *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. Tesis, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. P. 40-25.
 20. Saputra HA. 2012. Perbandingan Kesembuhan Luka Episiotomi Dengan Luka Ruptur Perineum Tingkat 1-2 Pada Primigravida Di RSUP H. Adam Malik Medan. Tesis, Universitas Sumatera Utara. H. 1.
 21. Dai TH, Tanaka M, Huang YY, Hamblin MR. 2011. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. Expert review of anti-infective therapy, 9(7): 879-857.
 22. Krause F. 2002. Wound Healing. P. 1. Available from http://www.charite.de/klinphysio/bioinfo/3_k-pathophy-fromm/05ws_skripten/Krause/webscript_krause.htm Diakses 23 Juli 2013.
 23. Morris PJ, Malt RA. 1995. Oxford Textbook of Surgery. Sec. 1 Wound healing. New York-Oxford-Tokyo Oxford University Press. P. 60-56.
 24. Rochima E, Suhartono MT, Syah D, dan Sugiyono. 2007. Viskositas dan Berat Molekul Kitosan Hasil Reaksi Enzimatis Kitin Deasetilase Isolat *Bacillus* Papandayan. Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI), Bandung. P. 7
 25. Tang ZX, Qian JQ. 2007. Use of chitosan gel for the purification of protein. *Braz. Arch. Biol. Technol*, 50 (2). P. 1. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-89132007000200015&script=sci_arttext Diakses 7 Februari 2014.
 26. Rukmini A. 2007. Regenerasi minyak goreng bekas dengan arang sekam menekan kerusakan organ tubuh. Seminar Nasional Teknologi, Yogyakarta. P. 9-1.
 27. Kusmawati D. 2004. Bersahabat dengan hewan coba, 1sted., Gadjah Mada University Press. H. 1.
 28. Tang ZX, Shi LE, Qian JQ. 2007. Neutral lipase from aqueous solutions on chitosan nano-particles. *Biochemical Engineering Journal*, 34(3): 223-217.
 29. Alemdaroglu C, Degim Z, Celebi N, Zor F, Ozturk S, Erdogan D. 2006. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns*, 32: 327-319.
 30. Tawi M. 2008. Proses Penyembuhan Luka. H. 1. Available from <http://www.syehaceh.wordpress.com/2008/05/13/proses-penyembuhan-luka> Diakses 15 Juni 2013.
 31. Sonia TA, Sharma CP. 2011. Chitosan and its derivatives for drug delivery perspective. *Adv Polym Sci* 243: 54-23.
 32. Semalty A. 2006. Mucoadhesive Polymers—A review. Available from <http://www.pharmainfo.net/reviews/mucoadhesive-polymers-review>. Diakses 3 Februari 2014.
 33. Sigma-Aldrich. 2013. Chitosan. P. 1. Available from <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/448869?lang=en®ion=1D>. Diakses 14 Januari 2014.
 34. Alsarra IA. 2009. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds. *International Journal of Biological Macromolecules*. P. 21-16.
 35. Chen MC, Mi FL, Liao ZX, Sung HW. 2011. Chitosan: its Applications in Drug Eluting Devices. *Advances in Polymer Science*, 243: 230-185.

LAPORAN PENELITIAN

Daya Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica Less*) Terhadap *Streptococcus Viridans* (In Vitro)

(Antibacterial Activity of *Pluchea indica Less* Leaves Extract Against *Streptococcus viridans* In Vitro)

Agni Febrina Pargaputri*, M. Mudjiono**, Agus Subiwahjudi**

**Pasca Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

**Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

ABSTRACT

Background: *Pluchea indica Less* leaves is a species of plants that has several chemical properties. It consists of flavonoids, tanine, and essential oil which had been reported as antibacterial agents. *Streptococcus viridans* is the most common bacteria found in infected root canal teeth, and the extract of *Pluchea indica Less* leaves could be potentially used as one of root canal sterilization dressing in root canal teeth. **Purpose:** The aim of this study was to determine antibacterial activity and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of *Pluchea indica Less* leaves extract against *Streptococcus viridans*. **Materials and Methods:** The antibacterial testing of *Pluchea indica Less* leaves extract was performed using dilution method against *Streptococcus viridans*. The tube with concentration extract of 25% was showed no visible turbidity, while the tube with concentration extract of 12,5% was showed growth of *Streptococcus viridans*. We made range between concentration 12,5% until 25% to determine the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of *Pluchea indica Less* leaves extract. The result of antibacterial activity of *Pluchea indica Less* leaves extract was determined by measure the growth of *Streptococcus viridans* using colony count. **Result:** The result showed that *Pluchea indica Less* leaves extract was able to inhibit the growth of *Streptococcus viridans* on concentration 12,5%-25%. The results of Anova statistical test (significant value $<0,05$) showed significant different among each concentration of *Pluchea indica Less* leaves extract. **Conclusion:** *Pluchea indica Less* leaves extract had antibacterial activity against *Streptococcus viridans*. Minimum Bactericidal Concentration of *Pluchea indica Less* leaves extract was performed in concentration 12,5%-25%, which was could kill more than 99% growth of *Streptococcus viridans*.

Keywords: *Pluchea indica Less* leaves, extract, *Streptococcus viridans*, antibacterial, Minimum Bactericidal Concentration (MBC).

Correspondence: Agni Febrina Pargaputri, Under graduate Dentistry, Faculty of Dentistry, Airlangga University, Prof. Dr. Moestopo 47, Surabaya, Phone.031-5020251, Email: agni_febrina@yahoo.com

ABSTRAK

Latar belakang: Daun beluntas (*Pluchea indica* Less) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki beberapa kandungan kimia yaitu flavonoid, tannin, dan minyak atsiri yang telah dilaporkan memiliki peran sebagai bahan antibakteri. *Streptococcus viridans* adalah salah satu bakteri paling umum yang ditemukan dalam saluran akar gigi terinfeksi. Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif obat sterilisasi saluran akar karena kandungan antibakteri yang ada di dalamnya. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) terhadap *Streptococcus viridans*. **Bahan dan Metode:** Uji antibakteri ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) terhadap *Streptococcus viridans* dilakukan menggunakan metode dilusi. Tabung dengan konsentrasi ekstrak 25% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung dengan konsentrasi ekstrak 12,5% mulai menunjukkan pertumbuhan bakteri. Dibuat rentang konsentrasi antara 12,5% hingga 25% untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less). Aktivitas antibakteri ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) ditentukan dengan menghitung pertumbuhan *Streptococcus viridans* menggunakan metode hitung koloni (colony count). **Hasil:** Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus viridans* pada konsentrasi 12,5% hingga konsentrasi 25%. Hasil uji Anova (nilai signifikansi $<0,5$) menunjukkan perbedaan bermakna antar tiap konsentrasi ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less). **Simpulan:** Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus viridans*. Konsentrasi Bunuh Minimal ekstrak daun beluntas terhadap *Streptococcus viridans* adalah konsentrasi 12,5%-25%, dan mampu membunuh lebih dari 99% bakteri.

Kata kunci: Daun beluntas (*Pluchea indica* Less), ekstrak, *Streptococcus viridans*, antibakteri, Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM).

Korespondensi: Agni Febrina Pargaputri, Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, Prof. Dr. Moestopo 47, Surabaya, Phone.031-5020251, Email: agni_febrina@yahoo.com

PENDAHULUAN

Salah satu penyebab terjadinya penyakit pulpa dan jaringan periapikal adalah mikroorganisme, dimana sebagian besar disebabkan oleh mikroorganisme fakultatif anaerob dan obligat anaerob. Mikroorganisme yang paling sering diisolasi dari saluran akar terinfeksi adalah bakteri gram positif, seperti *Streptococcus viridans*. Diketahui adanya dominasi *Streptococcus viridans* sebesar 63%, diikuti oleh *Staphylococcus albus* (17%), *Diphtheroid bacilli* (6,5%), dan aerob pembawa spora, *Staphylococcus*

aureus, *Bacillus proteus*, *Streptococcus hemolyticus*, dan *B. coli* pada pulpa terinfeksi.¹

Gigi yang mengalami kematian pulpa memerlukan perawatan saluran akar, hal ini dilakukan untuk menghilangkan mikroorganisme patogenik yang terdapat dalam saluran akar, karena mikroorganisme tersebut dapat menyerang jaringan periapikal dan tidak saja menimbulkan rasa sakit tetapi juga dapat menghancurkan periodonsium termasuk tulang. Setelah itu, perlu pemberian obat sterilisasi untuk mengurangi atau menghilangkan flora mikrobial di dalam saluran akar,

serta pengisian saluran akar yang kedap bakteri.^{1,2}

Obat sterilisasi saluran akar yang digunakan sejak dulu adalah golongan fenol, dan meliputi formokresol, *camphorated parachlorophenol*, *thymol*, *metakresilasetat*, dan *halida (iodine-potassium iodida)*. Selain dari golongan fenol, bahan yang juga digunakan sebagai medikamen saluran akar adalah kalsium hidroksida, N₂, halogen seperti *sodium hypochlorite* dan yodida, serta kompoun amonium kuarterner (*quats*), namun obat-obat sterilisasi ini bersifat antigenik dan sitotoksik yang hanya efektif dalam waktu singkat.^{1,3} Kekuatan iritasi medikamen saluran akar diteliti oleh Grossman, yang menemukan bahwa formokresol menghasilkan iritasi derajat tinggi dan menyebabkan nekrosis yang bertahan 2-3 bulan. Hidrogen peroksida dan sodium hipoklorit lebih sedikit mengiritasi daripada kebanyakan medikamen intrasaluran, dan *cresatin* menyebabkan sedikit inflamasi. Juga diketahui bahwa medikamen saluran akar mempunyai potensi menimbulkan efek samping yang berbahaya, masing-masing merupakan bahan aktif dan bahan kimia toksik atau terapeutik.^{1,3} Oleh karena itu, bahan alternatif dari minyak esensial dan ekstrak tumbuh-tumbuhan (herbal) merupakan hal yang menarik untuk dijadikan bahan pilihan sebagai bahan antibakteri, karena bahan alternatif tersebut memiliki efek yang bersifat alamiah sehingga efek samping yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan obat-obatan kimia. Selain itu, bahan esensial dan ekstrak tumbuh-tumbuhan (herbal) tersebut diproses secara alami tanpa penggunaan unsur kimia dan tidak menyebabkan ketergantungan. Salah satu diantara tanaman (herbal)

yang mempunyai daya antibakteri adalah beluntas.^{4,5}

Beluntas yang mempunyai nama latin *Pluchea indica* Less merupakan tanaman yang telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia, dimana tanaman ini sering digunakan sebagai tanaman pagar, dan secara tradisional berkhasiat sebagai penurun demam (antipiretik), peningkat nafsu makan (stomakik), dan peluruh keringat (diaforetik). Daun beluntas (*Pluchea indica* Less) mengandung flavonoid, tannin, saponin, *polyvinyl*, minyak atsiri, alkaloid, asam klorogenik, natrium, kalsium, magnesium, dan fosfor. Efek antibakterial daun beluntas telah dilaporkan oleh Purnomo⁷, dimana daun beluntas mempunyai aktivitas antibakterial terhadap *Staphylococcus* sp, *Propionobacterium* sp, dan *Corynebacterium*. Aktivitas antibakterial daun beluntas berasal dari peranan *flavonoid*, *tannin*, dan minyak atsiri yang terkandung di dalamnya.^{6,7}

Penelitian mengenai daya antibakteri ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans* belum pernah dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans* serta menentukan konsentrasi bunuh minimal ekstrak daun beluntas, sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat dieksplorasi pemanfaatannya sebagai salah satu alternatif obat sterilisasi saluran akar.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental*

dengan rancangan penelitian *complete randomized design*. Besar sampel pada penelitian ini adalah 25 *petridish* berisi koloni bakteri *Streptococcus viridans* yang dibagi dalam 5 kelompok. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *petridish*, *spiritus burner*, mikropipet, *oese*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *spreader*, gelas ukur 500 ml, inkubator, *beaker glass* 600 ml, *rotary evaporator*, tabung *erlenmeyer* 500 ml, *anaerobic jar*, corong gelas, timbangan analitik, pengaduk, dan korek api.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica Less*), bakteri *Streptococcus viridans* (stok), media *Brain Heart Infusion Broth*, media *Mueller Hinton Agar*, larutan *Mc Farland 0,5*, dan etanol 80%.

Ekstrak daun beluntas diperoleh dari daun beluntas kering yang dihaluskan dengan blender dan diayak sehingga didapatkan serbuk daun beluntas, kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 80% terlindung dari cahaya matahari, dan didiamkan selama semalam. Setelah itu dilakukan penyaringan hingga didapatkan filtrat yang terpisah dari ampasnya. Ampas dari penyaringan I dimaserasi kembali dengan etanol 80% kemudian didiamkan semalam dan disaring, sehingga didapatkan filtrat kedua dan ampas kedua. Ampas kedua kemudian dimaserasi dengan etanol 80%, didiamkan semalam, dan disaring sehingga didapatkan filtrat ketiga dan ampas ketiga. Filtrat pertama dari hasil penyaringan I, filtrat kedua dari hasil penyaringan II dan filtrat ketiga dari hasil penyaringan III dicampur, kemudian dipekatkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) pada suhu 60°C selama satu jam. Setelah dipekatkan, ekstrak dipanaskan dengan

waterbath pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental.⁸

Penggunaan bakteri *Streptococcus viridans* dalam penelitian ini adalah dengan cara membuat suspensi koloni *Streptococcus viridans* dengan media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dalam tabung reaksi, yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya suspensi koloni bakteri *Streptococcus viridans* diencerkan dengan menambah akuades steril untuk memperoleh suspensi koloni bakteri dengan kandungan tertentu. Kekeruhan suspensi bakteri *Streptococcus viridans* disamakan dengan standar *Mc Farland 0,5* yang setara dengan jumlah bakteri sebanyak 15×10^7 cfu/μl. Menyamakan kekeruhan suspensi koloni bakteri menggunakan spektrofotometer dengan cara menyamakan optik densitasnya.⁹

Penentuan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) atau konsentrasi bunuh minimal ekstrak daun beluntas terhadap *Streptococcus viridans* dilakukan dengan metode penipisan seri. Disediakan 12 tabung reaksi steril, ditandai no 1 sampai no 12. Tabung 1 – 12 diisi dengan media *Brain Heart Infusion Broth* steril sebanyak 1 ml. Tabung 1 hanya berisi media *Brain Heart Infusion Broth* sebagai kelompok kontrol negatif. Tabung 2 diisi bahan uji, yaitu ekstrak daun beluntas dengan konsentrasi 100% sebanyak 1 ml (100% berarti 5 gram ekstrak daun beluntas dilarutkan dalam 5 ml aquades). Ambil 1 ml dari tabung no 2 dimasukkan dalam tabung no 3. Volume tabung no 3 menjadi 2 ml dan penipisannya adalah $\frac{1}{2} \times 100\% = 50\%$. Selanjutnya dari tabung no 3 diambil 1 ml dimasukkan dalam tabung no 4. Volume tabung no 4

menjadi 2 ml dan penipisannya $1/4 \times 100\% = 25\%$. Dengan cara yang sama dilakukan sampai tabung no 11, dan 1 ml dari tabung no 11 dibuang. Tabung no 12 ditambahkan *Streptococcus viridans* tanpa bahan uji, sebagai kelompok kontrol positif. Setelah penipisan seri selesai, dimasukkan 0,1 ml inokulum standart (*Mc Farland 0,5*) pada tabung no 2 sampai tabung no 11. Seluruh tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Cara pembacaan hasil penipisan seri dari bahan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus viridans* dengan mengamati secara visual ada tidaknya pertumbuhan yang ditandai dengan kekeruhan atau pembuatan endapan dan kemudian ditentukan konsentrasi bunuh minimal. Untuk lebih memperjelas hasil yang didapat (sebagai *cross check*), maka tiap tabung diambil dengan menggunakan ose dan ditanamkan dengan metode *strip* pada media *Mueller Hinton Agar* dalam *petridish*. *Petridish* dimasukkan dalam *anaerobic jar* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Ditentukan konsentrasi tertinggi yang menunjukkan pertumbuhan koloni dan konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni.¹⁰

Teknik analisis data yang digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridans* adalah dengan uji *one way analysis of varians* (*Anova*) yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* pada lima

kelompok penelitian daya antibakteri ekstrak daun beluntas dengan masing-masing kelompok terdapat lima sampel penelitian, maka diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Rerata dan standard deviasi jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* pada masing-masing kelompok penelitian daya antibakteri ekstrak daun beluntas.

Kelompok	N	Rerata	Standard deviasi
Tanpa Ekstrak/ kontrol (+)	5	$49,6 \times 10^5$	$70,2 \times 10^3$
Konsentrasi ekstrak 12,5%	5	$38,8 \times 10^3$	$23,9 \times 10^2$
Konsentrasi ekstrak 15%	5	$34,4 \times 10^3$	$26,1 \times 10^2$
Konsentrasi ekstrak 20%	5	$30,6 \times 10^3$	$36,5 \times 10^2$
Konsentrasi ekstrak 25%	5	0	0

Dari tabel 1 terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* seiring dengan bertambahnya nilai konsentrasi. Pada kelompok tanpa ekstrak (kontrol positif) didapatkan jumlah koloni bakteri tertinggi, sedangkan pada kelompok konsentrasi ekstrak 25% tidak didapatkan jumlah koloni bakteri. Sebelum dilakukan uji analisis antar kelompok penelitian, dilakukan uji normalitas pada masing-masing kelompok. Uji normalitas menggunakan uji statistik *One Sample Kolmogorov Smirnov Test* dan diperoleh hasil bahwa seluruh kelompok penelitian mempunyai nilai lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), yang berarti bahwa data pada seluruh kelompok penelitian berdistribusi normal. Untuk melihat perbedaan secara keseluruhan jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* digunakan uji *Anova*, dan didapatkan nilai (p) $< 0,05$ yang berarti bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni

Streptococcus viridans. Selanjutnya untuk melihat perbedaan secara nyata jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* antar masing-masing

kelompok konsentrasi ekstrak daun beluntas, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dan hasilnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 2. Uji beda jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* antara masing – masing kelompok penelitian daya hambat ekstrak daun beluntas menggunakan uji *Mann-Whitney*

	Tanpa ekstrak	Konsentrasi ekstrak 12,5%	Konsentrasi ekstrak 15%	Konsentrasi ekstrak 20%
Konsentrasi ekstrak 12,5%	0.009*	-	0.036*	0.009*
Konsentrasi ekstrak 15%	0.009*	0.036*	-	0.141
Konsentrasi ekstrak 20%	0.009*	0.009*	0.141	-
Konsentrasi ekstrak 25%	0.005*	0.005*	0.005*	0.005*

*= terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney*, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna jumlah koloni bakteri *Streptococcus viridans* antara masing-masing konsentrasi. Ada perbedaan jika nilai signifikansi ($p < 0,05$). Namun dari hasil data diatas terdapat nilai signifikansi ($p > 0,05$) pada konsentrasi ekstrak daun beluntas 15% bila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak daun beluntas 20% dengan nilai signifikansinya 0.141, maka dapat dikatakan pada konsentrasi ekstrak daun beluntas 15% jika dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak daun beluntas 20% tidak ada perbedaan atau pengaruh yang berarti.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun beluntas sebagai salah satu alternatif obat sterilisasi saluran akar yang berasal dari bahan alam terhadap *Streptococcus viridans*. Untuk

mengetahui daya antibakteri ekstrak daun beluntas tersebut, dilakukan penelitian laboratoris melalui pengamatan pertumbuhan koloni bakteri.

Pada percobaan yang dilakukan melalui metode penipisan seri, diperoleh hasil bahwa pada konsentrasi ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica Less*) 25%-100% tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni *Streptococcus viridans*. Pada konsentrasi ekstrak daun beluntas dibawah 25% yaitu konsentrasi 12,5% mulai didapatkan adanya pertumbuhan *Streptococcus viridans*, oleh sebab itu kemudian dibuat interval antara konsentrasi 12,5% - 25% untuk melihat keefektifan dan memperkirakan konsentrasi ekstrak daun beluntas yang tepat dalam membunuh bakteri *Streptococcus viridans*.

Berdasarkan hasil penelitian, pada konsentrasi 12,5%, 15%, 20%, dan 25% terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Streptococcus*

viridans bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan bahan antibakteri dalam ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) pada konsentrasi 25% lebih besar daripada konsentrasi 20%, 15%, dan 12,5% (semakin besar konsentrasi ekstrak daun beluntas maka semakin besar daya antibakterinya). Terbunuhnya bakteri *Streptococcus viridans* kemungkinan disebabkan oleh bahan antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun beluntas, yaitu flavonoid, tannin, dan minyak atsiri.

Aktivitas flavonoid disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut dari dinding sel, dimana interaksi tersebut akan mengakibatkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri. Flavonoid memiliki efek antibakteri karena kemampuannya untuk berinteraksi dengan DNA bakteri.¹¹ Setiap senyawa flavonoid mempunyai kemampuan untuk merusak ikatan jembatan hidrogen dari untai rantai ganda DNA, hal ini mengakibatkan terganggunya stabilitas dari struktur rantai ganda DNA bakteri yang kemudian akan mempengaruhi seluruh proses pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Flavonoid juga mampu memproduksi transduksi energi yang akan mempengaruhi sitoplasma bakteri dan secara perlahan motilitas bakteri. Hal ini diketahui berdasarkan adanya ion hidroksil dalam flavonoid yang secara kimia dapat merubah senyawa organik dan transpor nutrisi yang dapat menyebabkan efek toksis terhadap sel bakteri.¹²

Tannin yang terkandung dalam daun beluntas merupakan basis aktivitas antibakteri dengan kerusakan membran sel yang menyebabkan kebocoran intraselular.¹³ Gugus gallo dan pirogallo dari *tannin* bereaksi dengan protein membran bakteri melalui ikatan non-spesifik seperti ikatan hidrogen dan efek hidrofobik sebagaimana pembentukan ikatan kovalen yang menyebabkan kerusakan membran sitoplasma bakteri, sehingga fungsi membran sebagai *barrier* permeabilitas selektif, pembawa fungsi transpor aktif, serta kontrol komposisi internal sel akan terganggu. Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak dan terjadi kematian.¹⁴ Aktivitas antimikroba *tannin* juga tergantung dari kemampuan senyawa ini untuk menghambat aktivitas beberapa selektif enzim. *Tannin* akan bekerja sebagai inhibitor yang akan berkombinasi atau berikatan dengan enzim bakteri dan kemudian mencegahnya untuk menjadi aktif. Hal ini akan menyebabkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.^{15,16}

Minyak atsiri dalam daun beluntas berperan dalam merusak membran sel dan denaturasi protein bakteri. Minyak atsiri dalam daun beluntas mengandung benzil alkohol dan eugenol. Benzil alkohol memiliki sifat pelarut lemak, dan mendenaturasikan protein secara dehidrasi sehingga membran sel akan rusak. Proses denaturasi protein melibatkan perubahan dalam stabilitas protein molekular dan menyebabkan

perubahan struktur protein, serta menyebabkan terjadinya proses koagulasi. Protein yang mengalami denaturasi akan kehilangan aktivitas fisiologisnya dan kemampuan untuk berfungsi dengan baik. Perubahan yang terjadi dalam protein dan dinding sel akan menyebabkan peningkatan permeabilitas sel. Kerusakan dan peningkatan dalam permeabilitas sel akan merusak sel bakteri tersebut. Sedangkan eugenol merupakan salah satu turunan fenol dan memiliki cara kerja hampir sama dengan fenol.^{17,18}

Selain karena bahan antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun beluntas, terbunuhnya bakteri *Streptococcus viridans* kemungkinan juga dapat disebabkan oleh etanol yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak daun beluntas tersebut. Etanol digunakan sebagai pelarut efektif dan untuk memisahkan senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam daun beluntas. Namun dalam tahap akhir proses pembuatan ekstrak daun beluntas, ekstrak dipanaskan dengan *water bath* pada suhu 60°. Hal ini dilakukan untuk memisahkan pelarut etanol dalam ekstrak sehingga diharapkan etanol yang digunakan selama proses pembuatan ekstrak daun beluntas dapat hilang atau berkurang.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa terdapat penurunan jumlah koloni bakteri pada interval konsentrasi 12,5% - 25%. Berdasarkan hasil data tersebut dapat dikatakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun beluntas maka semakin besar daya bunuh terhadap *Streptococcus viridans*. Hal ini disebabkan oleh semakin besar

konsentrasi ekstrak daun beluntas maka semakin banyak kandungan bahan antibakterinya yaitu flavonoid, tannin, dan minyak atsiri, sehingga semakin besar pula daya bunuhnya.

Pada penelitian ini tidak hanya melihat pengaruh ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica Less*) terhadap *Streptococcus viridans*, namun juga melihat perbedaan pada setiap konsentrasi dalam membunuh bakteri *Streptococcus viridans*. Dari hasil penelitian yang dilakukan, didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna untuk setiap konsentrasi apabila dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Namun pada konsentrasi 15% bila dibandingkan dengan konsentrasi 20% tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhinya. Faktor – faktor tersebut antara lain seperti adanya kontaminasi dari bahan ekstrak daun beluntas yang digunakan, atau dapat juga disebabkan oleh bakteri yang ditanamkan dalam media *Mueller Hinton Agar* terkontaminasi oleh bakteri lain diakibatkan karena kurang sterilnya alat yang digunakan untuk mengambil bakteri dari media *Brain Heart Infusion Broth* dalam tabung reaksi.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, ditemukan bahwa pada konsentrasi 12,5%, 15%, 20%, dan 25% telah mampu membunuh lebih dari 99% bakteri. Hal ini berarti pada

konsentrasi 12,5% - 25% telah memenuhi persyaratan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimal atau MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) yang mampu membunuh lebih dari 99% bakteri atau kurang dari 1% bakteri masih dapat hidup.¹⁹

DAFTAR PUSTAKA

- Grossman L.I, Oliet S, and Del Rio C.E. 1995. *Ilmu Endodontik Dalam Praktek, Edisi Kesebelas*. Alih bahasa : Abyono R. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. p: 248-49; 251; 255-57.
- Indra, Yvonne Kartika. 2000. *Obat - Obat untuk Menanggulangi Infeksi Saluran Akar*. Majalah Kedokteran Gigi Usakti. Vol.15. No 42. ed Desember. p:153.
- Walton and Torabinejad. 1994. *Prinsip dan Praktik Ilmu Endodonsi, Edisi kedua*. Alih Bahasa: drg. Narlan Sumawinata. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. hlm: 361-64.
- Batam Post Realtime News. *Obat Herbal Kian Diminati*. Accessed at 6th January 2010.
- Pratiwi, Rini. 2005. *Perbedaan daya Hambat terhadap Streptococcus mutans Dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal*. Majalah Kedokteran Gigi Vol. 38 No. 2 ed April-Juni.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trubus Agriwidya: Jakarta.
- Purnomo, M. 2001. *Isolasi Flavonoid dari Daun Beluntas (Pluchea indica Less) yang mempunyai Aktivitas Antimikroba Terhadap Penyebab Bau Keringat Secara Bioautografi*. Thesis. Universitas Airlangga: Surabaya
- Depkes RI. 1974. *Ekstra Farmakope Indonesia*. Lembaga Farmasi Nasional. Jakarta.
- Forbes BA, Sahm DF, and Weissfeld AS. 2002. *Laboratory Methods for Detection of Antibacterial Resistance*. Bailey Scoot's *Diagnostic Microbiology*, 11th ed. St. Louis, Mosby Inc. p: 142; 229; 516.
- Pollack R, Findlay L, Mondschein W, Modesto RR. 2005. *Laboratory Exercises in Microbiology*, 2nd ed. John Wiley & sons Inc: United States of America.
- Sabir A. 2003. *Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi*. Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal), Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III: 81-7.
- Sabir A. 2005. *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp Terhadap Bakteri Streptococcus mutans (In Vitro)*. Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal); 38(3): 75-9.
- Slots, Jorgen and Martin A. Taubman. 1992. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. Mosby Year Book, Inc. St Louis. P. 187
- Jawetz, Melnick, & Adelberg's. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Penerjemah: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika: Jakarta. hlm: 327-35.
- Mahtuti, Erni Y. 2004. *Pengaruh Daya Antimikroba Asam Tanat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhii Secara In Vitro*. Tesis Master dari JIPTUNAIR.
- Michael J. Pelczar and E.C.S. Chan. 1988. *Dasar – dasar mikrobiologi 2*. Penerjemah: Ratna Siri Hadioetomo, dkk. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press): Jakarta. hlm: 456-7
- Wahyuningtyas E. 1998. *Pengaruh Minyak Atsiri Zingiber purpurea Terhadap Pertumbuhan Candida albicans Serta Kekuatan Transversa Plat Dasar Gigi Tiruan Resin Visible Light Cured dan Resin Akrilik*. Karya Tulis Ilmiah Yogyakarta. Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada: 36-7.
- Susanti, Ary. 2007. *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (Pluchea indica Less) terhadap Eschericia coli Secara In Vitro*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga: Surabaya.
- Sittiwet, Chaayasit. 2009. *In Vitro Antimicrobial Activity of Pluchea indica Aqueous Extract: The Potential for Urinary Tract Infection Treatment*. Journal of Pharmacology and Toxicology 4 (2): 90-8

LAPORAN PENELITIAN

Efektivitas Kombinasi *Grafting Cangkang Kerang Darah (Anadara granosa)* dan Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Terhadap Penurunan Jumlah Osteoklas Pada Proses *Bone Repair*

(The Effectivity of Grafting Combination Blood Cockle Shell and Sardine Fish Oil to Decrease in The Number of Osteoclasts in The Process of Bone Repair)

Dinda Divilia*, Rima Parwati Sari**, Paulus Budi Teguh***

* Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: In dentistry, complication post-extraction, disease periodontal, prosthetic surgery, pathological conditions, and trauma can cause alveolar bone loss and even lead to tooth loss. The use of hydroxyapatite derived from blood cockle shells is osteokondiction. Omega-3 in sardine oil will stimulate the healing process of damaged bone with decreasing in the number of the osteoclasts. **Purpose:** The aimed of this study to determine the Effectivity of Grafting Combination Blood Cockle Shell and Sardine Fish Oil to Decrease in The Number of Osteoclasts in The Process of Bone Repair **Methods:** Animals used in research, as many as 24 male Wistar rats, which then divided into 4 groups, namely the control group and the treatment group. The control group subdivided into two groups, normal healing and human application's paste. In the treatment group, also divided into two groups, group with blood cockle shell application and combination of blood cockle shell and sardine oil. Osteoclasts viewed using HPA on the 7th day. **Results:** Decrease in The Number of Osteoclasts on K-group : 2.67 ± 1.033 , P1 : 2.33 ± 0.09 , K+ : 1.5 ± 0.09 , P2 : 0.83 ± 0.54 . Because the data not homogeneous then used test Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney. P1 with P2 have a difference significantly compared 0,048 , P2 with K- 0,026 ($p < 0,05$). **Conclusions:** Combined administration of blood cockle shell (*Anadara granosa*) and sardine oil (*Sardinella longiceps*) significantly influence the amount of osteoclasts in the process of bone repair on the 7th day.

Keywords: Blood cockle shell, sardine oil, osteoclasts, bone repair

Correspondence: Rima Parwati Sari, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Fax 031-5912191, Email: rimaparwatisari@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: Dalam kedokteran gigi, luka pasca ekstraksi, penyakit periodontal, bedah prostetik, kondisi patologis, dan trauma dapat menyebabkan kerusakan bahkan kehilangan tulang alveolar apabila tidak dilakukan perawatan dapat mengakibatkan tenggelangnya gigi. Penggunaan bahan hidroksiapatit yang berasal dari cangkang kerang darah yang banyak mengandung CaCO_3 dapat mengisi bone defect dan mengembalikan fungsi tulang. Kandungan omega-3 pada minyak ikan lemuru akan merangsang proses penyembuhan kerusakan tulang dengan penurunan jumlah osteoklas. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas kombinasi grafting cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses bone repair. **Metode:** Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor tikus wistar jantan, yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Osteoklas dilihat menggunakan HPA pada hari ke-7. **Hasil :** Berdasarkan uji statistik deskriptif terjadi penurunan jumlah osteoklas dengan rata-rata kelompok K- : 2.67 ± 1.033 , P1 : 2.33 ± 0.09 , K+ : 1.5 ± 0.09 , P2 : 0.83 ± 0.54 . Oleh karena data tidak homogen maka uji yang digunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney. P1 dengan P2 memiliki perbedaan yang bermakna 0,048 ,dan P2 dengan K- 0,026 ($p < 0,05$). **Simpulan:** Kombinasi pemberian cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah osteoklas pada proses bone repair pada hari ke-7.

Kata kunci: Cangkang kerang darah, minyak ikan lemuru, osteoklas, proses penyembuhan tulang

Correspondence: Rima Parwati Sari, Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, Fax 031-5912191, Email: rimaparwatisari@gmail.com

PENDAHULUAN

Kerusakan tulang alveolar dapat terjadi oleh adanya trauma yang cukup besar akibat komplikasi pasca pencabutan, tumor, infeksi, protesa yang tidak adekuat, dan penyakit sistemik.^{1,2} Dalam kedokteran gigi, luka pasca ekstraksi, penyakit periodontal, bedah prostetik, kondisi patologis, dan trauma dapat menyebabkan kerusakan bahkan kehilangan tulang alveolar.^{3,4} Sel osteoklas meresorpsi dan menyerap sel-sel tulang yang meningkatkan kelarutan matriks organik sehingga kerusakan tulang terjadi. Jumlah sel osteoklas yang lebih banyak dari sel osteoblas akan menyebabkan terjadinya resorpsi tulang.^{1,5}

Proses penyembuhan tulang dalam memulihkan fungsi dan bentuknya ada 3 tahap yaitu fase inflamasi, *reparative*, dan *bone repair*. Adanya inflamasi pada jaringan periodontal yang mengeluarkan makrofag memproduksi beberapa mediator resorpsi tulang termasuk IL-1, IL-6 dan TNF- α yang akan meningkatkan regulasi *receptor activator of nuclear factor- B ligand* (RANKL) yang di ekspresikan oleh osteoblas. RANKL yang berikatan dengan RANK di sinyaling oleh *preosteoklas* yang mengarah pada pembentukan osteoklas. Pada sel osteoblas yang sama terdapat OPG yang berfungsi menghambat RANKL berikatan dengan RANK ikatan ini akan menurunkan proses diferensiasi *preosteoklas* dan menghambat

pematangan sel osteoklas, sehingga terjadi proses *bone repair*.^{6,7}

Terapi dengan menggunakan *bone graft* digunakan untuk merangsang pembentukan kerusakan tulang dan regenerasi kerusakan tulang akibat penyakit periodontal, pembedahan pada odontektomi, serta digunakan sebagai cara untuk mengatasi adanya resorpsi tulang pada perawatan lainnya, seperti dental implan. *Bone graft* juga berperan sebagai *scaffold* atau kerangka sehingga terjadi reparasi sel tulang.^{8,9} Fungsi *graft* pada tulang untuk mendorong osteogenesis yaitu osteoinduksi dan osteokonduksi. Kontribusi *graft* dimulai dengan proses osteokonduksi dengan membuat kerangka matriks tulang di jaringan *resipien* dan dilanjutkan dengan stimulasi pembentukan tulang sebagai proses osteoinduksi.¹⁰

Berbagai macam *bone graft* yang dapat digunakan untuk regenerasi tulang dapat dikelompokkan menjadi *autograft*, *allograft*, *xenograft* dan *alloplast*. Peneliti menggunakan *xenograft* karena jumlah besar tulang dapat diperoleh, bersifat osteokonduksi, *biocompatible* dengan jaringan sekitarnya, tidak ada respon imun sistemik, menstabilkan bekuan darah dan revaskularisasi sehingga terjadi migrasi osteoblas.⁸ Secara umum *bone graft* akan meningkatkan produksi *bone morphogenetic protein* (BMP). BMP akan meningkatkan produksi osteoblas yang membentuk ligan OPG berfungsi menghambat adanya ikatan RANKL dengan RANK, sehingga menekan pembentukan osteoklas dan BMP menginduksi osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi sel osteoblas yang aktif kemudian membentuk tulang baru.^{11,12} *Xenograft* terdiri dari kalsium karbonat dan kalsium fosfat yang merupakan

bahan keramik biomaterial yang bersifat bioaktif dan biokompabilitas yang baik. Senyawa kalsium karbonat yang sering digunakan adalah hidroksiapatit karena memiliki sifat fase paling stabil, tidak korosi dan tidak beracun.¹³

Salah satu bahan alami yang mengandung hidroksiapatit yang banyak ditemukan sebagai sumber daya bernilai ekonomis yang pada umumnya belum dimanfaatkan secara maksimal adalah kerang darah (*Anadara granosa*). Kerang darah (*Anadara granosa*) kebanyakan hanya isinya saja yang dijadikan makanan yang kaya protein, sementara cangkangnya dibuang menjadi limbah. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan nilai tambah kerang darah, yaitu dengan memanfaatkan limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*). Cangkang merupakan alat pelindung diri, terdiri atas lapisan karbonat (*crystalline calcium carbonate*), dipisahkan oleh lapisan tipis (lembaran) protein di antara cangkang dan bagian tubuh. Cangkang kerang darah banyak mengandung kalsium yang diperlukan untuk proses penyembuhan tulang. Kandungan mineral yang terkandung didalam cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) antara lain CaC 98,7%, Mg 0,05%, Na 0,9%, P 0,02%.¹⁴ Cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) digunakan sebagai sumber kalsium yang baik dan dapat meningkatkan adhesi sel, proliferasi, dan diferensiasi yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh.^{15,16}

Adanya proses inflamasi pada proses *bone repair* yang memproduksi IL-1, IL-6, dan TNF- α sehingga dapat menghambat penyembuhan kerusakan tulang maka dicari bahan yang dapat menghambat mediator inflamasi

tersebut. Salah satu bahan anti inflamasi yang mempercepat rehabilitasi jaringan tulang adalah asam lemak tak jenuh omega-3 yang banyak terdapat di ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). Peneliti memilih ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) karena termasuk salah satu ikan yang memiliki kandungan omega-3 dan omega-6 tinggi berkisar sekitar 11,33% - 40,26% , kandungan tersebut tergantung dari beberapa faktor seperti genetik, lingkungan dan ukuran ikan tersebut dan ikan lemuru mudah didapatkan dan harganya yang ekonomis.¹⁷

Resorpsi tulang alveolaris dapat dihambat dengan pemberian omega-3, oleh karena terjadinya penurunan jumlah aktivitas *preosteoklas* serta osteoklas. Diet minyak ikan yang banyak mengandung n-3 PUFA khususnya EPA dan DHA dapat memberikan efek keseimbangan kalsium memperbaiki jaringan yang rusak, efek osteoblastogenesis dan aktivitas osteoblas, perubahan fungsi membran terbukti menurunkan mediator resorpsi tulang yaitu prostaglandin maupun sitokin proinflamasi yaitu IL-1 α , IL-1 β dan TNF- α . Penurunan PGE2, IL-6, IL-1 maupun TNF- α menyebabkan produksi *preosteoklas* menurun sehingga menghambat pembentukan osteoklas yang menghambat penyembuhan tulang.¹⁸ Pasta diaplikasikan secara topikal karena memiliki stabilitas yang baik, dan dapat mengabsorpsi obat lebih cepat sehingga dapat memberikan efek terapeutik yang maksimal.^{19,20}

Pada penelitian ini kerusakan tulang dibuat pada tulang femur tikus karena secara histologi tulang femur memiliki tulang trabekular yang berkembang secara baik di bawah tulang kortikal, memberikan model

yang substansial untuk aplikasi potensi dalam bidang kedokteran gigi. Hal ini merupakan alasan dipilihnya femur sebagai lokasi pembuatan *defect*.²¹

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true eksperimental laboratories*, karena merupakan suatu penelitian yang berusaha mencari pengaruh variable tertentu terhadap variabel lain dalam kondisi terkontrol secara ketat. Rancangan penelitian ini adalah rancangan acak lengkap.²² Subyek penelitian dibagi dalam 4 kelompok besar yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif), kelompok yang diberi hidroksiapatit *human paste* (kontrol positif), kelompok dengan pemberian pasta cangkang kerang darah, serta kelompok dengan pemberian kombinasi pasta cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru.

Sampel diperoleh dari populasi yang diambil secara acak (random) dan dibagi dalam 4 kelompok besar. Kemudian masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar. Pada kelompok pertama setelah mengalami penyesuaian diberi defek di *os femur* dan tidak diberi aplikasi bahan atau digunakan sebagai kontrol (K (-)). Pada kelompok kedua diberi aplikasi *human paste* atau dapat digunakan sebagai kontrol positif (K(+)). Pada kelompok ketiga diberi defek di *os femur* kemudian diaplikasikan hidroksiapatit berbentuk pasta dari *Anadara granosa* (P1) sedangkan pada kelompok keempat diberi aplikasi berbentuk kombinasi pasta dari *Anadara granosa* dan *sardinella longiceps* (P2) dengan konsentrasi 30%.

Alat-alat yang akan digunakan untuk membedah harus dilakukan sterilisasi dengan *autoclave*.²³ Tikus yang telah diaklimatisasi dan dibagi berdasarkan kelompok, dilakukan pembuatan defek pada os *femur dextra*. Pertama dilakukan anestesi dengan memberikan *ketamine* 0,1 mL dan *xylazine* 0,01 mL dicampur dan disuntikkan dengan dosis 0,11 mL/100 gr BB pada *femur dextra* (*intramuscular*).²⁴ Setelah tikus mulai tidak sadar, bulu pada bagian yang akan dilakukan defek, dicukur. Kemudian dilakukan antiseptik menggunakan *povidine iodine* 10% pada daerah sekitar tempat defek selama 5 menit.²⁵ Langkah selanjutnya dengan menggunakan pisau bedah dilakukan insisi 2 cm pada jaringan lunak (kulit dan otot) diangkat dengan menggunakan *periosteal elevator* tempat pembuatan defek. Setelah menemukan os *femur dextra*, maka dilakukan defek berupa lubang menggunakan *straight handpiece* pada kelompok 1. Dilakukan juga pada kelompok 2,3 dan 4. Dibuat lubang sedalam setengah diameter *round bur* merk Mcisinger Germany ukuran 18 (hasil trial). Lubang dibuat 5 mm dari *third trochanter femur* tikus.²⁶

Pada tikus kelompok pertama lubang bagian os femur tidak perlu diberi bahan. Pada kelompok kedua os femur diaplikasikan *human paste*. Pada kelompok ketiga diisi dengan pasta cangkang kerang darah dan pada kelompok keempat diisi dengan kombinasi pasta cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru.

Siapkan *dappen glass* dengan posisi terbalik dan letakkan hidroksiapatit pada *dappen glass*. Aduk hidroksiapatit dan darah tikus sampai keduanya tercampur. Letakkan campuran hidroksiapatit dan darah tikus pada daerah *defect* pada tikus

kelompok kedua menggunakan ekskavator yang telah dibuat hingga padat dan menutup permukaan *defect*. Metode yang sama juga dilakukan pada sediaan pasta cangkang kerang darah pada kelompok ketiga dan sediaan pasta kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru pada kelompok ke empat. Setelah pengisian selesai dilakukan, maka dilakukan penjahitan untuk menutup kulit dan jaringan lunak pada os *femur dextra* tikus. Pemberian analgesik *novalgin* 18,75mg/200gr BB yang dilarutkan dalam CMC 0,2% hingga mencapai 0,2mL diperlukan untuk mengontrol pembengkakan dan rasa sakit.²⁷ Tujuh hari setelah dilakukan *defect*, diharapkan semua tikus sudah terdapat penurunan osteoklas.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi *grafting* cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*. dengan taraf kemaknaan $p = 0,05$ dan diolah dengan program SPSS versi 20.0.

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi peningkatan data guna memperjelas penyajian hasil.

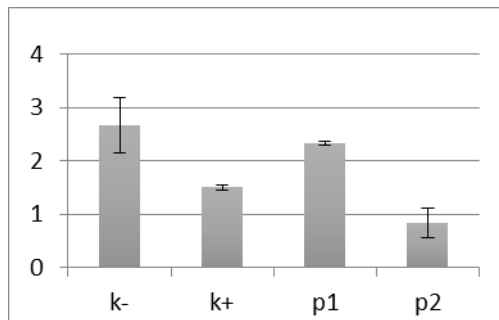
Tabel 1. Hasil mean jumlah osteoklas hari ke-7.

Kelompok	Mean $\pm$ Std Deviasi
K-	2.67 $\pm$ 1.033
K+	1.5 $\pm$ 0.09
P1	2.33 $\pm$ 0.09
P2	0.83 $\pm$ 0.54

Pada tabel 1 menunjukkan nilai mean tertinggi adalah kelompok K-

yang berarti terjadi sedikit penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*. Nilai mean pada kelompok P1 dan K+ adalah sedang pada proses *bone repair*. Sedangkan nilai mean terendah adalah kelompok P2 yang berarti banyak terjadi penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*.

Selisih Mean Jumlah Osteoklas



Gambar 1. Grafik mean jumlah osteoklas pada masing-masing kelompok perlakuan.

Hasil uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa tidak semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$). Karena data terdistribusi normal, maka akan dilanjutkan dengan uji non parametrik.

Uji *Kruskall-Wallis*

Uji *Kruskall-Wallis* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan peningkatan jumlah osteoklas pada masing-masing kelompok perlakuan hewan coba.

Tabel 2. Hasil Uji *Kruskall-Wallis*

	Sig.
Antar Grup	.085

Berdasarkan tabel tersebut, hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p > 0,05$), menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna

pada jumlah osteoklas pada setiap kelompok hewan coba.

Uji *Mann-Whitney*

Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk menentukan perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dilakukan dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$. Berikut hasilnya pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji *Mann-Whitney*

Kelompok	K+	P1	P2
K-	.142		.621
026.			
K+		.320	.4208
P1			.048.

* Terdapat perbedaan bermakna

Penghitungan statistik dilanjutkan dengan Uji *Mann-Whitney* dan didapatkan perbedaan jumlah osteoklas yang bermakna antara kelompok K- (kontrol negatif) dengan P2 (perlakuan 2 kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru), kelompok P1 (perlakuan cangkang kerang darah) dengan P2 (perlakuan 2 kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru). Pada kelompok K- dengan K+ tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Pada kelompok K- dengan P1 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Pada kelompok K+ dengan P1 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Pada kelompok K+ dengan P2 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan osteoklas. Perbedaan yang paling bermakna yaitu antara kelompok K- dengan P2.

PEMBAHASAN

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus wistar karena tikus memiliki metabolisme yang hampir sama dengan manusia dan memiliki tingkat *stress* yang lebih rendah dibandingkan hewan coba lainnya.²⁸ Salah satu hormon yang dikhawatirkan dapat mempengaruhi tubuh adalah hormon estrogen pada hewan berjenis kelamin betina. Hormon estrogen ini akan mempengaruhi fungsi enzim-enzim yang berfungsi sebagai pembentukan bahan-bahan yang bersifat oksidatif kuat yang menekan proses fagositosis di dalam makrofag sehingga dapat menurunkan aktifitas fagositosisnya akibat fungsi makrofag yang menurun serta adanya pengaruh terhadap osifikasi yang dipengaruhi oleh hormon estrogen. Oleh karena itu pemilihan jenis kelamin jantan lebih diutamakan dibandingkan betina karena pertimbangan pengaruh hormonal yang dikhawatirkan akan mempengaruhi respon imun yang berakibat pada mekanisme penyembuhan.²⁹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi *grafting* cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dan minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair*. Pada hasil uji statistik *Kruskall-Wallis* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Namun pada uji perbedaan antar kelompok *Mann-Whitney* terjadi perbedaan yang bermakna antara kelompok P2 dengan kelompok P1 dan antara kelompok P2 dengan kelompok K-.

Bone graft digunakan untuk merangsang pembentukan tulang dan regenerasi tulang.¹⁰ Hidroksiapatit

merupakan salah satu macam *bone graft* yang memiliki sifat biokompatibel dan bioaktifitas yang baik, merangsang terjadinya osteogenesis, non toksik, tidak bersifat antigen, tahan terhadap infeksi, ankilosis, mudah didapat, prosedur operasi minimal.⁸ Hidroksiapatit ini memiliki sifat osteokonduktif dimana molekul yang terkandung dalam hidroksiapatit terdiri dari BMP-2 yang dapat merubah sel-sel di sekitarnya menjadi osteoblas.³⁵ Peningkatan produksi BMP-2 dalam tulang akan lebih banyak mengubah sel-sel disekitarnya menjadi osteoblas yang aktif sehingga lebih banyak diproduksi ligan OPG yang akan mempengaruhi jumlah RANKL yang merupakan stimulator utama proosteoklas menjadi osteoklas. OPG dibutuhkan dalam jumlah yang lebih banyak dibanding jumlah RANKL sehingga OPG lebih banyak mengikat RANK yang akan menyebabkan penurunan jumlah osteoklas.^{6,30} Pada uji statistik kelompok (K-) dan kelompok (K+) tidak menunjukkan jumlah osteoklas yang bermakna, tapi paling tidak terdapat suatu perbedaan jumlah dari osteoklas diantara dua kelompok tersebut.

Bahan alami yang mengandung banyak kalsium yang belum termanfaatkan secara maksimal adalah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) kebanyakan hanya isinya saja yang dijadikan makanan yang kaya protein. Sementara cangkangnya dibuang menjadi limbah. Cangkang kerang darah banyak mengandung kalsium yang dapat dirubah menjadi hidroksiapatit diolah dengan menambahkan cairan fosfat yang diproses dengan cara pengadukan.¹⁵ Sama seperti hidroksiapatit yang beredar di pasaran, hidroksiapatit yang terbuat dari cangkang kerang darah

juga bersifat osteokonduksi yang akan meningkatkan produksi BMP-2 dalam tulang. Sediaan pada kelompok P1 dibuat dari bubuk cangkang kerang darah yang diproses menjadi bentuk pasta. Pada kelompok P1 memiliki jumlah osteoklas yang lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok K(-). Pada kelompok P1 memiliki jumlah osteoklas yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok K(+). Secara statistik ketiganya memiliki perbedaan jumlah osteoklas yang tidak bermakna pada proses *bone repair*. Oleh sebab itu pada penelitian ini indikator yang digunakan tidak dapat osteoklas saja untuk melihat proses *bone repair* namun juga melihat indikator lain bila perlu dilihat rasio antara osteoklas dan osteoblas.

Bone repair dapat lebih cepat terjadi dengan pemberian minyak ikan lemuru karena minyak ikan lemuru mengandung 13,7% EPA, 8,9% DHA, dan 26,8% total omega-3 dari total.³⁴ Omega-3 yang terkandung dalam minyak ikan lemuru akan mempengaruhi proses inflamasi. Pada saat proses tersebut, makrofag akan mengeluarkan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi. Antiinflamasi ini akan meningkat sehingga akan menekan proinflamasi.³² Kerusakan tulang akibat pematangan osteoklas harus segera dihambat dengan dibutuhkan lebih banyak jumlah OPG yang melindungi kerangka tulang dengan mengikat RANKL dan mencegah terjadinya pengikatan dengan RANK sebagai reseptornya sehingga menekan pembentukan osteoklas dan lebih banyak mengaktifkan osteoblas yang kemudian membentuk tulang baru.³³ Pada kelompok P2 memiliki jumlah osteoklas yang lebih sedikit apabila dibandingkan dengan kelompok P1. Secara statistik menunjukkan terdapat

perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok tersebut.

Pada kelompok K(+) dibandingkan dengan P2 (kombinasi cangkang kerang darah dan minyak ikan lemuru) terdapat perbedaan jumlah osteoklas, pada kelompok P2 produksi osteoklas lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok K(+), tetapi pada uji statistik *Kruskal-Wallis* hasilnya belum signifikan dan pada uji *Mann-Whitney* tidak terdapat suatu perbedaan bermakna diantara dua kelompok tersebut, oleh sebab itu pada penelitian ini indikator yang digunakan tidak dapat osteoklas saja untuk melihat proses *bone repair* namun juga melihat osteoblas.

Kelompok P2 adalah kelompok kombinasi minyak ikan lemuru dan cangkang kerang darah yang memberikan hasil yang paling efektif dan signifikan dengan menunjukkan hasil rata-rata jumlah osteoklas paling kecil apabila dibandingkan dengan kelompok-kelompok lainnya. Kelompok P2 terdapat suatu perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan kelompok lainnya, sehingga kombinasi minyak ikan lemuru dan cangkang kerang darah terbukti paling efektif terhadap penurunan jumlah osteoklas pada saat *bone repair* jika dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini terbukti pada uji statistik yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok K- dengan kelompok P2 dan kelompok P1 dengan kelompok P2.

SIMPULAN

Kombinasi pasta cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) paling efektif terhadap penurunan jumlah osteoklas pada proses *bone repair* hari ke-7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferdiansyah, Rushadi D, Rantam F A, Aulani'am. 2011. Regenerasi pada Massive Bone Defect dengan Bovine Hydroxyapatite sebagai Scaffold Mesenchymal Stem Cell. JBP, 13(3): 195-179.
2. Matoses VF, Vinarta MM, Domingo TA, Matoses IF, Liacer VJF. 2015. Treatment of multiple traumatized anterior teeth associated with an alveolar bone fracture in a 20-year-old patient: A 3-year follow up. J Clin Exp Dent, (4): e425-9.
3. Matthew P, William V, Caroline S, Zhu Z, Tejeda K. 2001. Surgical aids to Prosthodontics, Including Osseintegrated Implant in Pedlar J., Oral and Mxillofacial Surgery. Edinberg. Churchill Livingstone. P. 1.
4. Cochran DL. 2008. Inflammation and bone loss in periodontal disease. J Periodontal, 79(8): 1569-76.
5. Little N, Rogers B, Flannery M. 2011. Bone Formation, Remodelling and Healing. Basic Science Surgery, 29(4): 145-141.
6. Yustina, Ade Ratri. 2012. Peningkatan Jumlah Osteoklas pada Keradangan Periapikal Akibat Induksi Lipopolisakarida Porphyromonas Gingivalis (Suatu Penelitian Laboratories menggunakan Tikus). Universitas Airlangga. H. 1.
7. Irawati L. 2014. Hubungan Tumor Necrosis Factor-Alfa (Tnf-A) dengan Kadar Hemoglobin dan Parasitemia pada Infeksi Malaria Falciparum. Disertasi Universitas Andalas. H. 99.
8. Hardani PR, Lastianny SP, Herawati D. 2013. Pengaruh Penambalan platelet-rich plasma pada Cangkang Tulang terhadap Kadar Osteocalcin Cairan Sulkus Gingiva pada Terapi Poket Infraboni. Jurnal PDGI, 62: 82-75.
9. Dumitrescu AL. 2011. Chemicals in Surgical Periodontal Therapy 2011th. Springer. P. 1.
10. Siregar NH. 2009, Keramik Sebagai Bahan Substitusi Bone Graft. Skripsi. Universitas Sumatra Utara. H. 1.
11. Ermiza, Linda. 2012. Perbandingan Dosis Akhir Sterilisasi 15 kGy dan 25 kGy bahan Allobatan (DFDB) Pada Proses Regenerasi Tulang. Tesis. Universitas Indonesia. H. 1.
12. Wu YL. 2007. Interaction of Bone Cells with Biomimetic Hydroxyapatite Gelatin P. 1.
13. Nanocomposites Towards Developing Bone Tissue Engineering. Thesis, University of Minnesota. P. 1.
14. Newmann MG, Takei HH, Carranza FA. 2011. Clinical Periodontology 11th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders. p.672-678.
15. Awang-Hamzi AJ, Zuki ABS, Noordin MM, Jalila A, Norimah Y. 2007. Mineral Composition of the Cockle (*Anadara granosa*) Shells of West Coast of Peninsular Malaysia and It's Potential as Biomaterial for Use in Bone Repair. Journal of Animal and Veterianry Advances 6(5).p.591-594
16. Hafisko H, Ardiyanto, Trixi M. 2013. Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa* Linn) Dalam Sintesis Nanohidroksiapatit sebagai Bone Implan untuk Kerusakan Tulang. H. 1.
17. Setyono DED. 2006. Karakteristik Biologi dan Produk Kekerangan Laut. Oseana, Volume XXXI No.1, 2006.
18. Mahrus, Sumitro SB, Widodo N, Sartimbul A. 2012. The Association Between Genetic Variations and Omega-3 Production on *Sardinella* lemuru in Lombok Strait. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*.
19. Collins N and Suleweski C. 2011. Omega-3 Fatty Acid and Wound Healing. P. 1013.
20. Omar MN, Ahlam NS, Zainuddin NA, Yunus K. 2010. Ω -Fatty acid from malaysian giant snakehead (*Channa micropeltes*) fish oil. Oriental Jurnal of Chemistry, 26(1).
21. Sulatani M, Stringer AM, Bowen JM, Gibson RJ. 2012. Anti-Inflammatory Cytokines : Important Immunoregulatory Factors Contributing to Chemotherapy Induced Gastrointestinal Mucositis. Chemotherapy Research and Practie. Vol 2012.
22. Asakura T, Nagano A, Tanioka Y, Sakurai N, Sezutsu H, Kiba H. 2011. Bone Regeneration on The Epicondyle of The Femur
23. Supported by Silk Fibroin-based Scaffold : A Model System for Dental Surgery. Journal of Insect Biotechnology and Sericoloy, 80: 25-3.
24. Sudibyo. 2013. Metodologi Penelitian Aplikasi Penelitian Bidang Kesehatan (Edisi Revisi), Buku 1. Surabaya: Unesa University Press. H. 129-30, 20-19.
25. Tanideh N, Nazhvani SD, Jaber FM, Mehrabani D, Rezazadeh S, PakbazS, et al. 2011. The Healing Effect of Bioglue in Articular Cartilage Defect of Femoral Candyle in Experimental Rabbit Model.

- Iranian Red Crescent Medical Journal, 13: 636-629.
26. Fleckhell P. 2009. Laboratory Animal Anesthesia Edisi Ketiga. Elsevier. H. 187.
 27. Rokn AR, Khodadoostan MA, Ghahroudin AARR, Motahhary P, Fard MJK, Bruyn HD, Afzalifar R, Soolar E, Soolar A. 2011. Bone Formation with Two Types of Grafting Materials : A Histologic and Histomorphometric Study. Open Dent. Journal. P. 104-96.
 28. Kopschina MI, Marinowic DR, Klein CP, Araujo CA, Freitas TA, Hoff G, and Silva JB. 2012. Effect of Bone Marrow Mononuclear Cells Plus Platelet-rich Plasma in Femoral Bone Repair in Rats. Braz J. Vet. Res. Anim. Sci, Sao Paulo, 49(3): 184-179.
 29. Schmidlin PR, Nicholls F, Kruse A, Zwahlen RA, Weber FE. 2011. Evaluation of In Situ Hardening Calcium Phosphate Bone Graft Substitutes. Clin Oral Implants Res, 24(2): 157-149.
 30. Nanci A. 2008. Ten's Cate Oral Histology Development Structure and Function, edisi 7. St. Louis: Mosby Elsevier. P. 383-379, 77-57, 5.
 31. Rasyid A. 2008. Isolasi Asam Lemak tak Jenuh Majemuk Omega-3 dari Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). Prosiding Seminar Iptek Kelautan Nasional. Jakarta: Pusat Penelitian Oseanografi LIPI.
 32. Riani. 2012. Evaluasi Radiografis Tinggi dan Densitas Tulang Alveolar pada Terapi Periodontitis Dengan Allograft (DFDBA) Dibandingkan Xenograft. Tesis, Universitas Indonesia: Jakarta. H. 17-15, 12-10.
 33. Awang-Hamzi AJ, Zuki ABS, Noordin MM, Jalila A, Norimah Y, 2007. Mineral Composition of the Cockle (*Anadara granosa*) Shells of West Coast of Peninsular Malaysia and It's Potential as Biomaterial for Use in Bone Repair. Journal of Animal and Veterinary Advances 6(5): 594-591.
 34. Marie B E N. 2003. The immune system innate and adaptive body defenses. *Humans anatomy and physiology*. New York : Benjamin Cummings. Boyce BF and Xing L. 2007. Biology of RANK, RANKL and Osteoprotegerin. Arthritis Research and Therapy. (9): 7-1.
 35. Estiasih T. 2009, Minyak Ikan Teknologi dan Penerapannya untuk Pangan dan Kesehatan. Yogyakarta: Graha Ilmu.

LAPORAN PENELITIAN

Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut Spesies Eucheuma Cottonii Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed Periodontopatogen*

*(The Inhibition Effect of Seaweed Eucheuma Cottonii Species
Extract on the Growth of Mixed Periodontopathogen Bacteria)*

Iqbal Fahmiliyan Asmoro*, Yoifah Rizka**, Paulus Budi Teguh***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Bacterial mixed periodontopatogen dominated by gram negative. *Eucheuma cottonii* seaweed as one of the plant species have the antibacterial effect againts gram positive and gram negative bacteria. thus potentially developed as antibacterial agent in periodontal disease. **Purpose:** This study aimed to determine the inhibition effect of *Eucheuma cottonii* seaweed extract to the growth of mixed periodontopathogen bacteria concentration of 0,25%, 0,5%, 1% and 2%. **Materials and Methods:** *Eucheuma cottonii* seaweed extracted with 95% etanol by soxhlet method. Mixed periodontopathogen bacteria inoculated in BHI medium. Antibacterial effects of extracts of *Eucheuma cottonii* seaweed againts bacterial mixed periodontopathogen was tested by the diffusion method with the concentrations of 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, aquadest and tetracycline, where each group consisted of 5 experiment unit. The effect of the inhibition observed by measuring the diameter of clear area on the disk using digital calipers stated in millimeters. **Result:** There were inhibition effect at each concentrations of treatment. The diameter zone were concentration of 0.25% (6.184), the concentration of 0.5% (6.356), the concentration of 1% (6.62), the concentration of 2% (7.148) and a positive control with tetracycline (39.336) **Conclusion:** *Eucheuma cottonii* seaweed extract has inhibition effect to the growth of bacteria mixed periodontopatogen.

Keywords: *Eucheuma cottonii* seaweed, mixed periodontopatogen bacteria, periodontal disease, antibacterial.

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

ABSTRAK

Latar belakang: Bakteri mixed periodontopatogen merupakan populasi bakteri yang didominasi bakteri gram negatif. Rumput laut *Eucheuma cottonii* sebagai salah satu tumbuhan yang memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri gram negatif maupun gram positif, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai antibakteri pada penyakit periodontal. **Tujuan:** Mengetahui daya hambat ekstrak rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, dan 2% terhadap pertumbuhan bakteri Mixed periodontopathogen. **Bahan dan metode:** Rumput laut *eucheuma cottonii* diekstrak dengan etanol 95% dengan metode soxhlet. Bakteri mixed periodontopatogen diinokulasi pada media BHI. Efek antibakteri dari ekstrak rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri mixed periodontopatogen diuji dengan menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1% dan 2%, akuades dan tetrasiklin dimana tiap kelompok terdiri dari 5 unit eksperimen. Efek daya hambat diteliti dengan mengukur diameter daerah jernih pada disk menggunakan kaliper digital satuan milimeter. **Hasil:** Ada efek daya hambat pada masing-masing konsentrasi dari setiap perlakuan. Diameter zona hambat konsentrasi 0,25% (6,184), konsentrasi 0,5% (6,356), konsentrasi 1% (6,62), konsentrasi 2% (7,148) dan kontrol positif dengan tetrasiklin (39,336). **Simpulan:** Ekstrak rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri mixed periodontopatogen.

Kata kunci: *Eucheuma cottonii*, bakteri Mixed periodontopatogen, penyakit periodontal, antibakteri

Korespondensi: Yoifah Rizka, Bagian Periodonsia Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191

PENDAHULUAN

Penanganan penyakit periodontal lebih ditujukan pada tindakan pencegahan. Tindakan yang paling utama menjaga kebersihan mulut adalah pengendalian plak.¹ Pengendalian plak dapat dilakukan dengan cara pembersihan plak secara mekanis dan kemungkinan penggunaan bahan antibiotik.² Namun pemberian antibiotik secara terus menerus memiliki efek samping yaitu bakteri menjadi resisten untuk dapat bertahan hidup.³ Oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain, salah satunya dengan pemberian obat yang terbuat dari sumber daya alam yang mempunyai efek samping lebih kecil sebagai antibakteri.⁴ Sumber daya alam yang dapat dikembangkan adalah berasal dari biota laut, dan salah satu

yang memiliki potensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan adalah rumput laut.⁵

Keanekaragaman jenis rumput laut di perairan Indonesia cukup tinggi dan secara umum sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai makanan dan obat tradisional. Sementara itu, rumput laut dapat diolah atau diproses menjadi beberapa produk yang mempunyai nilai tambah seperti agar-agar dan karaginan.⁶ Rumput laut yang banyak dimanfaatkan adalah dari jenis ganggang merah (*Rhodophyceae*) karena mengandung agar-agar, karaginan, porpiran, furcellaran maupun pigmen fikobilin yang terdiri dari fikoeretrin dan fikosianin.⁷ Ada beberapa varietas rumput laut jenis ganggang merah (*Rhodophyceae*) penghasil karaginan (karaginofit) yang

potensial untuk dikembangkan di Indonesia, dan salah satunya adalah *Eucheuma cottonii*.⁶ Menurut penelitian *Eucheuma cottonii* memiliki kandungan kimia karagenan dan senyawa fenol, terutama flavanoid.⁸ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Iskandar dkk, 2007) bahwa ekstrak rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* memiliki sifat anti bakteri dengan spektrum luas sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun gram positif. Pada penelitian tersebut ekstrak *Eucheuma cottonii* memiliki daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan dosis 0,5% dan *Bacillus cereus* dengan dosis 0,2%.⁹

Berdasarkan penjelasan diatas penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Mixed* periodontopatogen dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, dan 2%. Bakteri *Mixed* periodontopatogen merupakan perpaduan dari bakteri patogen yang didominasi oleh bakteri gram negatif, hal ini bisa dijadikan dasar penelitian karena ekstrak *Eucheuma cottonii* memiliki daya hambat terhadap bakteri *E.coli* yang merupakan salah satu bakteri gram negatif.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini tergolong jenis penelitian True Experimental Laboratoris.¹⁰ Rancangan penelitian menggunakan *post test only control group design* dan diuji dengan metode difusi dengan 2 kontrol yaitu kontrol negatif menggunakan Akuades, kontrol positif menggunakan Tetrasiklin dan 4 konsentrasi ekstrak

rumpaut laut spesies *Eucheuma cottonii* yaitu 0,25%, 0,5%, 1%, 2% dimana tiap kelompok terdiri dari 5 sampel. Daya hambat diperiksa dengan mengukur diameter kertas saring dan zona jernih disekitar kertas saring yang mengandung ekstrak rumput laut spesies *Eucheuma cottonii*. Analisis data menggunakan uji statistik.

Ekstrak rumput laut (*Eucheuma cottonii*) didapatkan dari rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang segar kemudian dikeringkan. rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang telah kering di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 95% sampai tetesan terakhir tidak berwarna. Ekstrak dipekatkan dengan penguap vakum putar pada suhu 34-40°C dan dilanjutkan dengan pemanas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental diencerkan hingga diperoleh ekstrak uji dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1% dan 2%.⁹

Selanjutnya pada kelompok kontrol negatif, kertas saring (*disk*) dicelupkan dalam akuades sebanyak 1 ml selama 10 detik, sedangkan pada kelompok kontrol positif menggunakan tetrasiklin disk.

Pada kelompok perlakuan, kertas saring (*disk*) dicelupkan dalam ekstrak rumput laut spesies *Eucheuma cottonii* dengan berbagai konsentrasi selama 10 detik, kemudian meletakkan kertas saring tersebut pada tiap zona media BHI (*Brain Heart Infusion*) agar dengan menggunakan pinset steril dan agak ditekan. Lalu petridish dimasukkan dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi dalam inkubator selama 2x24 jam dengan suhu 37°C.

Setelah itu mengukur diameter zona hambat yang terbentuk berupa area jernih (*clear zone*) disekitar kertas saring dengan menggunakan *digital calipers* (dalam satuan mm) sebanyak 3 kali dari jarak terpanjang, sedang dan

terpendek lalu dibagi 3 sehingga didapatkan reratanya (mean). Pengukuran tersebut dilakukan dari batas jernih terakhir yang berdekatan dengan koloni di sebelah kiri hingga batas kanan yang diukur pada jarak daerah jernih terpanjang. Diameter zona hambat yang timbul menunjukkan adanya daya antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak rumput laut spesies *Eucheuma cottonii*.¹¹

HASIL

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak (*Eucheuma cottonii*) Terhadap pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen pada *BHI* agar.

Kelompok	N	Rerata	Standart Deviasi
K - (<i>Aquadest</i>)	5	6,00	-
K + (<i>Tetrasiklin</i>)	5	39,336	0,767
P1	5	6,184	0,083
P2	5	6,356	0,084
P3	5	6,620	0,171
P4	5	7,148	0,195

Berdasarkan tabel 1, didapatkan rerata kelompok yang paling tinggi yaitu kelompok K+ kemudian diikuti oleh P4, P3, P2, P1 dan K-. Setelah itu dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel kurang dari 50.

Setiap kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi $>0,05$,

sehingga dapat dikatakan bahwa diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Mixed periodontopatogen* dalam satuan millimeter (mm) berdistribusi normal.

Dari hasil uji homogenitas (Uji *Levene*) diketahui bahwa nilai signifikansi adalah sebesar 0,000 mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka disimpulkan bahwa zona hambat pertumbuhan bakteri *Mixed periodontopatogen* tidak homogen sehingga dilakukan transformasi data.

Tabel 3. Hasil uji *Levene* setelah transformasi data

Uji <i>Levene</i>	Sig
3,660	0,013

Hasil transformasi data menunjukkan variasi data tidak homogen karena nilai signifikansi adalah sebesar 0,013 mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Variasi data tidak homogen sehingga dilakukan uji non parametrik, yaitu uji *Kruskal-Wallis*

Tabel 4. Hasil uji *Kruskal-Wallis*

	Sig
Chi-square	27,921
Df	5
Asymp.sig	0,000

Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan daya hambat bakteri *Mixed periodontopatogen* yang bermakna pada masing-masing kelompok.

Tabel 3. Hasil uji Mann-Whitney

Rerata Kelompok	K – (Aquadex)	K + (Tetrasiklin)	P1	P2	P3	P4
K - (Aquadex)		0,005*	0,005*	0,005*	0,005*	0,005*
K + (Tetrasiklin)			0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
P1				0,028 *	0,009*	0,009*
P2					0,021*	0,009*
P3						0,009*
P4						

Keterangan *ada perbedaan bermakna

Dari hasil uji Mann-Whitney menunjukkan terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Eucheuma cottonii* yang bermakna ($p < 0,05$) adalah kelompok K (+) dengan kelompok K (-), kelompok 0,25% dengan kelompok K (+) dan K (-), kelompok 0,5% dengan kelompok K (+) dan K (-), kelompok 1% dengan kelompok K (+), K (-) dan 0,25%, kelompok 2% dengan kelompok K (+), K (-), 0,25% dan 0,5%. 0,25% dengan kelompok 0,5%, kelompok 0,5% dengan kelompok 1% dan kelompok 1% dengan kelompok 2% .

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini, ekstrak rumput laut spesies *Eucheuma cottonii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen pada semua kelompok perlakuan dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1% dan 2%. Hal ini disebabkan karena rumput laut spesies *Eucheuma cottonii* mengandung komponen aktif berupa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid.^{2,9,12} Pada penelitian ini aquades digunakan sebagai kontrol negatif dan tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif.

Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung reaksi nitrogen

yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel bakteri (peptidoglikan) dan DNA bakteri.¹³ Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan yang akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri.¹⁴

Senyawa flavanoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri serta dapat mengganggu motilitas bakteri.¹⁵

Triterpenoid memiliki kandungan aktivitas antiradang, antikarsinogenik dan anti serangga. Mekanisme dari triterpenoid tidak sepenuhnya diketahui, namun diduga senyawa ini bekerja dengan merusak membran sel oleh senyawa lipofilik.¹⁶

Penelitian ini masih bersifat kualitatif yaitu menunjukkan adanya daya hambat ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* terhadap pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai terapi alternatif perawatan penyakit periodontal. Pada penelitian ini ekstrak rumput laut dengan konsentrasi 2% mempunyai daya hambat paling besar terhadap bakteri

Mixed periodontopatogen hal ini disebabkan karena konsentrasi 2% paling banyak mengandung zat antibakteri seperti senyawa alkaloid, flavanoid dan triterpenoid. Dari kesimpulan diatas diharapkan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* dengan konsentrasi 2% dapat dipertimbangkan untuk digunakan sebagai antibakteri alternatif berbahan dasar biota laut yang alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mixed* periodontopatogen penyebab penyakit periodontal, yang menunjang terapi utama seperti *scaling root planing*.

SIMPULAN

Ekstrak rumput laut *eucheuma cottonii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed periodontopatogen* pada konsentrasi 0,25% (6,184), 0,5% (6,356), 1% (6,62), dan 2% (7,148). Ekstrak rumput laut *eucheuma cottonii* pada konsentrasi terbesar 2% merupakan konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *mixed periodontopatogen*, Konsentrasi terbesar dalam penelitian ini 2% (7,148) memiliki daya hambat yang lebih kecil dibandingkan tetrasiklin sebagai kontrol positif (39,336).

DAFTAR PUSTAKA

1. Zaenab, Mardiasuti HW, Anny VP, Logawa B. 2004. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora persica*) terhadap *Streptococcus mutans* (ATC31987) dan *Bacteroides melaninogenicus*, Jurnal Makara Kesehatan 8(2): 40-37.
2. Siregar AF, Agus S, Delianis P. 2012 Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. Journal of marine research, 1(2): 160-152.
3. Pratiwi R. 2005. Perbedaan daya hambat terhadap streptococcus mutans dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal, jurnal. Fakultas kedokteran gigi hasanudin, 38(2): 67-64.
4. Utami E.R. 2011. Antibiotika, resistensi dan rasionalitas terapi. Malang: fakultas sains dan teknologi universitas islam negeri (UIN). Jurnal El-Hayah, 1(4) h1. Available from <http://ejournal.uin-malang.ac.id/index.php/bio/article/view/1783/pdf>.
5. Radiananda G. 2008. Efek antibakteri infusum kulit aloe vera terhadap porphomonas gingivalis in vitro (perbandingan metode ekstraksi maserasi dan infundasi. Jakarta. Fakultas kedokteran gigi Universitas Indonesia. H. 17. Available from <http://lontar.ui.ac.id/file?file=digital/125721-R20-OB-446%20Efek%20antibakteri-HA.pdf>.
6. Warkoyo. 2007. Studi Ekstraksi Karaginan dari Rumput Laut *Eucheuma cottonii* (Kajian Jenis Larutan Perendam dan Lama Perendaman), 14(1): 54-49. Available from http://ejournal.umm.ac.id/index.php/.../89_umm_scientific_journal.doc
7. Alamjah MA, Nurines OA dan Sri S. 2010. Pengaruh lama penyinaran terhadap pertumbuhan dan klorofil a *gracilaria verucosa* pada sistem budidaya indoor. Jurnal ilmiah kelautan dan perikanan, 2: 23-21. Available from http://fpk.unair.ac.id/backup/administrato r/components/com_jresearch/files/publications/Moch.%20Amin%20Alamsjah.pdf.
8. Suptijah, Pipih. 2003. Rumput Laut: Prospek dan Tantangannya. <http://members.tripod.com/~ugm2/mti101.htm,28/03/05,21:10:08>.
9. Iskandar Y, Dewi R, Rini RD, 2007. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol rumput laut (*Eucheuma cottonii*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*, Jurnal. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang. H. 4-2. Available from http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/05/akt_anbakteri_e kstrak_rumput_laut.pdf
10. Sudibyo. 2009. Statistik penelitian aplikasi penelitian di bidang kesehatan. Universitas Negeri Surabaya, Surabaya. Universitas Press. H. 96.
11. Nurrama S. 2012. Daya Hambat Ejstrak Daun Binohang (*Anredera cordifolia*)

- terhadap Pertumbuhan Bakteri Saluran Akar Gigi Nekrosis. Skripsi FKG Universitas Hang Tuah Surabaya. H. 34-33.
12. Roswien AP. 1991 Isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif pada rumput laut (seaweed) yang dikumpulkan dari perairan pulau serib, jurnal. Vol 3. Available from http://www.ipb.ac.id/~ippm/id/index.php?view=penelitian/hasilcari&status=buka&id_hasilit=639. Diakses 7 Mei 2013.
 13. Juliantina F, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. 2009. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan negatif. Jurnal kedokteran dan kesehatan indonesia, 1(1): H. 10-1. Available from <http://journal.uui.ac.id/index.php/jkki/article/view/543/467.pdf>.
 14. Rinawati ND. 2011. Daya anatibakteri tumbuhan majapahit (*crescentia cujete l.*) terhadap bakteri *vibrio alginolyticus*. Tugas akhir, Jurusan biologi, fakultas matematika ilmu pengetahuan alam, institut teknologi sepuluh nopember, Surabaya. Available from <http://digilib.its.ac.id/public/TTS-Undergraduate-13710-Paper-370813.pdf>.
 15. Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi E. 2009. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. H. 585. Available from <http://lontar.ui.ac.id/file?file=digital/125324-S09122fk-Pengukuran%20diameter-Bibliografi.pdf>
 16. Fitriani Y, Astawan M, Soekarto SS, Wiryawan KG, Wresdiyati T, Kharina R. 2008. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) Terhadap Bakteri Patogen Penyebab Diare. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, XIX (2). Available from <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jtip/article/view/350>.

LAPORAN PENELITIAN

Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*

(Inhibitory Effect of Gold Sea Cucumber (*Stichopus Hermanii*)
Extract on *Enterococcus faecalis* Bacteria)

Roy Tamara*, Linda Rochyani**, Paulus Budi Teguh***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Enterococcus faecalis* is one caused bacteria of root canal infections. ChKM is mostly used as sterilization agent in endodontic treatment. *Stichopus hermanii* extract has been reported to have antibacterial effects for gram-negative and gram-positive bacteria, so could be potentially developed as a root canal sterilization agent. **Purpose:** The aim of this study was to determine the inhibitory effect of *Stichopus hermanii* extract on *Enterococcus faecalis* bacteria. **Materials and Methods:** This study was an experimental study with post test only control group design and were tested by diffusion methods with 4 groups concentration of 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, and 2 controls groups using DMSO 1% as negative control, and ChKM as positive control, each group consisted of 7 samples. The inhibition effect were examined by measure the diameter of the clear zone around the disc. Data were analyzed by one way ANOVA test and followed by LSD test. **Results:** Results showed that the mean of inhibition zone at concentrations of 2,5% (7,3543 mm), 3% (8,1086 mm), 3,5% (8,7286 mm), 4% (9,4029 mm), DMSO 1% (6,0257 mm) and ChKM (25,49 mm). It had been proved that. *Stichopus hermanii* extract could inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* ($p < 0,05$). The largest diameter of the clear zone was in the concentration of 4%. **Conclusion:** *Stichopus hermanii* extract could inhibit the growth of *Enterococcus faecalis* and the most effective inhibitory concentration is 4%.

Keywords: Endodontic treatment, antibacterial, *Stichopus hermanii*, *Enterococcus faecalis*

Correspondence: Linda Rochyani, Department of Convservation, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: lindarochyani@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: *Enterococcus faecalis* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi saluran akar. Perawatan saluran akar terdiri dari beberapa tahapan, diantaranya yaitu sterilisasi saluran akar. ChKM merupakan obat yang sering digunakan pada tahapan ini. Ekstrak *Stichopus hermanii* diketahui memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai obat sterilisasi saluran akar.

Tujuan: Untuk mengetahui kemampuan ekstrak *Stichopus hermanii* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. **Bahan dan Metode:** Penelitian eksperimental dengan desain penelitian the post test only control group, serta diuji menggunakan metode difusi dengan 4 konsentrasi, yaitu 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, dan 2 kontrol yaitu kontrol negatif menggunakan DMSO 1% serta kontrol positif menggunakan ChKM, dimana tiap kelompok terdiri dari 7 sampel. Daya hambat diperiksa dengan mengukur diameter zona jernih disekitar kertas saring. Analisis data menggunakan uji one way ANOVA diikuti dengan uji LSD. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan rerata zona hambat pada konsentrasi 2,5% (7,3543 mm), 3% (8,1086 mm), 3,5% (8,7286 mm), 4% (9,4029 mm), untuk kontrol negatif DMSO 1% (6,0257 mm) dan kontrol positif ChKM (25,49 mm). Ini menunjukkan bahwa ekstrak *Stichopus hermanii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* ($p < 0,05$). Diameter terbesar dari zona jernih di sekitar kertas saring terdapat pada konsentrasi 4%. **Simpulan:** Ekstrak *Stichopus hermanii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan konsentrasi hambat yang paling efektif adalah 4%.

Kata kunci: perawatan endodontik, antibakteri, *Stichopus hermanii*, *Enterococcus faecalis*

Korespondensi: Linda Rochyani, Departemen Konsevasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: lindarochyani@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut masyarakat Indonesia masih merupakan hal yang perlu mendapat perhatian serius dari tenaga kesehatan, baik dokter maupun perawat gigi, hal ini terlihat bahwa penyakit gigi dan mulut masih diderita oleh 90% penduduk Indonesia. Penyakit gigi dan mulut yang banyak diderita masyarakat di Indonesia adalah penyakit jaringan penyangga gigi dan karies gigi.¹

Survei Nasional Riskesdas 2007 melaporkan bahwa 75% penduduk Indonesia memiliki riwayat karies gigi dengan rata-rata jumlah kerusakan gigi sebesar lima gigi setiap orang dan empat gigi diantaranya sudah dicabut karena sudah tidak bisa dipertahankan

lagi.² Salah satu usaha mempertahankan gigi dengan karies yang parah agar tetap berada dalam lengkungnya dan berfungsi dengan baik adalah perawatan saluran akar.³ Perawatan saluran akar dapat mengalami keberhasilan atau kegagalan. Perawatan saluran akar dikatakan berhasil jika pasien tidak merasa sakit saat dilakukan palpasi dan perkusi, tidak ada pembengkakan, terjadi penyembuhan tulang yang sempurna, dan resorpsi akar berhenti. Perawatan saluran akar dikatakan gagal jika pasien sensitif saat dilakukan palpasi dan perkusi, terjadi pembengkakan karena infeksi sekunder.⁴

Terdapat bermacam-macam penyebab kegagalan perawatan saluran akar, antara lain preparasi saluran akar

yang kurang, pengisian saluran akar yang tidak adekuat dan mikroorganisme. Diantara faktor-faktor tersebut, mikroorganisme baik yang tersisa setelah perawatan saluran akar atau yang timbul setelah pengisian saluran akar merupakan faktor utama penyebab kegagalan perawatan saluran akar.⁵ Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa mikroorganisme dipertimbangkan sebagai penyebab utama adanya kelainan pulpo-periapikal yang persisten sebagai kegagalan endodontik.⁶ Mikroorganisme dan produknya memiliki peran yang penting dalam patogenesis infeksi pulpa dan periapikal.⁷

Mikroorganisme yang paling banyak diisolasi dari saluran akar yang terinfeksi adalah bakteri obligat *anaerob*.⁸ Pada perawatan saluran akar yang gagal, ditemukan sejumlah bakteri *anaerob* seperti *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *Streptococcus anginosus*, *Bacteroides gracilis*, dan *Fusobacterium nucleatum*.⁹

Enterococcus faecalis adalah suatu bakteri fakultatif gram positif yang dikenal sebagai spesies yang paling resisten pada rongga mulut dan paling sering ditemukan pada kasus dengan kelainan setelah perawatan saluran akar.⁶ *Enterococcus faecalis* merupakan suatu organisme yang mempunyai peran penting sebagai etiologi dari lesi periradikuler yang persisten setelah perawatan saluran akar.¹⁰ *Enterococcus faecalis* ditemukan sebanyak 20 dari 30 kasus infeksi endodontik yang persisten pada gigi yang telah dilakukan perawatan saluran akar. Spesies ini ditemukan pada 18% dari kasus infeksi endodontik primer, prevalensinya pada gigi dengan pengisian saluran akar lebih tinggi lagi yaitu 67% dari

kasus.¹¹ Prevalensi *Enterococcus faecalis* disebabkan antara lain karena *Enterococcus faecalis* dapat beradaptasi pada kondisi yang kurang menguntungkan seperti hiperosmolaritas, panas, *ethanol*, hidrogen peroksida, asam, dan basa.⁶ *Enterococcus faecalis* dapat menginvasi tubulus dentin untuk perlindungan dari preparasi saluran akar kemomekanikal, dan teknik dressing intrakanal. Selanjutnya jika ada kesempatan, *Enterococcus faecalis* dapat terlepas dari tubuli menuju ruangan saluran akar dan menjadi sumber infeksi ulang.¹² Beberapa studi telah melaporkan rendahnya sensitifitas *Enterococcus faecalis* terhadap terhadap obat-obatan sterilisasi saluran akar seperti kalsium hidroksida karena diperkirakan efek basa-nya meningkatkan sifat adhesif dari bakteri.¹³

Eliminasi *Enterococcus faecalis* dari akar yang terinfeksi telah menjadi fokus utama dalam perawatan saluran akar karena keberadaan bakteri tersebut memegang peranan penting dalam patogenesis penyakit pulpa dan periradikular serta keberhasilan dari perawatan saluran akar. Hal yang terpenting dari perawatan endodontik adalah aktivitas reduksi atau eliminasi bakteri yang menginfeksi.^{14,15} Mengingat anatomi ruang pulpa yang sangat rumit serta jauhnya penetrasi bakteri ke dalam tubulus dentin, maka tindakan preparasi saluran akar disertai irigasi tidak dapat membebaskan saluran akar dari bakteri, sehingga diperlukan medikamen saluran akar atau sterilisasi saluran akar.¹⁶

Perawatan saluran akar membutuhkan penggunaan obat sterilisasi yang mampu mengeliminasi endotoksin bakteri yang telah melekat pada struktur gigi yang tidak

tereliminasi sempurna saat proses instrumentasi saluran akar. Penggunaan obat sterilisasi saluran akar selama perawatan endodontik harus dapat mensterilisasi dan mengurangi jumlah mikroorganisme patogen dalam saluran.¹⁴ Salah satu obat sterilisasi saluran akar yang sering digunakan adalah golongan fenol, seperti *ChKM* dan *Cresophene*. Obat sterilisasi golongan fenol ini memiliki beberapa kelemahan yaitu bau yang menyengat, rasa tidak enak, dapat terserap oleh tumpatan sementara, dapat menyebar ke rongga mulut sehingga pasien akan mengeluhkan rasa yang tidak enak dan bersifat alergen sehingga dapat menyebabkan reaksi imun yang dapat membahayakan pulpa.^{16,17}

Banyaknya kelemahan dari obat-obat sterilisasi saluran akar dan adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik seperti *Enterococcus faecalis* mengakibatkan penggunaan antibiotik dalam terapi menjadi terbatas, sehingga para peneliti mulai mengembangkan terapi non-antibiotik baik sebagai terapi pengobatan penyakit ataupun sebagai upaya pencegahan penyakit.¹⁸ Bahan-bahan yang digunakan sebagai terapi non-antibiotik dapat menggunakan bahan-bahan yang berasal dari laut Indonesia. Laut Indonesia memiliki sumber daya hayati dan nonhayati yang besar jumlahnya. Adapun sumber daya hayati diantaranya teripang emas yang termasuk salah satu spesies timun terbanyak ditemukan pada perairan laut dangkal di wilayah laut Indonesia.¹⁹

Teripang (filum *Echinodermata*) memiliki kandungan gizi yang telah dibuktikan oleh peneliti modern dapat menyembuhkan luka, digunakan sebagai antikoagulan dan

antitrombotik, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, antikanker, antitumor, imunostimulan, antirematik, antimalaria, antivirus, antijamur, dan antibakteri.²⁰ Senyawa metabolit sekunder saponin *Stichopus hermanii* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif seperti *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, dan *Mixed Periodontopathogen*.^{21,22,23}

Ekstrak *Stichopus hermanii* bersifat tidak toksik pada konsentrasi hingga 2,5% terhadap stem sel fibroblas gingival.²⁴ Konsentrasi ekstrak *Stichopus hermanii* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,5%, 3%, 3,5% dan 4% dengan asumsi bahwa bakteri *Enterococcus faecalis* memiliki mekanisme pertahanan yang lebih kuat dibandingkan dengan stem sel fibroblas gingival, sehingga diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian tentang daya hambat ekstrak *Stichopus hermanii* terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* belum pernah dilakukan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak teripang emas dalam menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*, sehingga hasil penelitian ini dapat dieksplorasi pemanfaatannya bagi pengembangan teknologi kedokteran khususnya ekstrak teripang emas dalam menghambat bakteri *Enterococcus faecalis* pada infeksi endodontik yang persisten pasca perawatan saluran akar.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental*

dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 42 petridish berisi koloni bakteri *Enterococcus faecalis* yang dibagi dalam 6 kelompok. Teknik pengambilan sampel adalah secara *simple random sampling* (acak atau secara undian).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah masker, *handsoun*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, *petridish* (cawan petri), *yellow tip*, *blue tip*, mikro pipet, *autoclave*, inkubator, pinset, excavator, spiritus brander, korek api, *anaerobic jar*, gaskit, blender, timbangan digital, *vacum rotary evaporator*, *digital calipers* Krisbow dengan ketelitian 0,01 mm, kertas saring berbentuk lingkaran Ø 6 mm, lidi kapas steril, *syringe microporus membrane* (mikro filter) *Whatman* Ø 0,2 µm.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah suspensi bakteri *Enterococcus faecalis*, ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3%, 3,5% dan 4%, *ChKM*, etanol 96 %, *DMSO* 1%, larutan *Mc Farland* 0,5, media *BHI* cair, media *BHI* agar.

Ekstrak *Stichopus hermanii* diperoleh melalui metode maserasi hasil *freeze dried Stichopus hermanii* dengan pelarut etanol 96%. *Stichopus hermanii* segar dibersihkan dari organ bagian dalam dan dicuci bersih dengan air. Setelah itu diblender dengan aquades dan dikeringkan dengan alat *freeze dryer*. Hasil *freeze dried Stichopus hermanii* di blender untuk mendapatkan partikel yang lebih kecil dan halus. Setelah itu mulai dilakukan maserasi selama 3 hari dengan pelarut etanol untuk mendapatkan ekstrak etanol *Stichopus hermanii*. Selanjutnya hasil maserasi diuapkan dengan alat

evaporator suhu 50°C agar zat pelarut terpisah kemudian hasil penguapan didinginkan sehingga menghasilkan ekstrak kental (ekstrak etanol teripang emas).²⁵

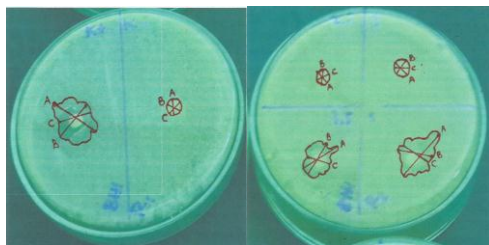
Persiapan ekstrak *Stichopus hermanii* dengan berbagai konsentrasi di dalam tabung-tabung steril dengan menggunakan pengenceran *DMSO* 1%.

Bakteri *Enterococcus faecalis* biakan murni berupa biakkan dalam *BHI* cair yang sudah diinkubasi selama 24 jam dalam suasana *anaerob*, selanjutnya kekeruhannya disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0,5.

Daya hambat diuji menggunakan metode difusi (metode *Kirby – Bauer*). Pertama, disiapkan 1 tabung reaksi. Tabung reaksi diisi dengan *BHI* cair yang telah diinokulasikan dengan 1 ml suspensi bakteri *Enterococcus faecalis* yang setara dengan larutan *Mc. Farland* 0,5. Biakan bakteri diusapkan pada seluruh permukaan lempeng *BHI* agar steril dengan menggunakan kapas lidi steril.

Siapkan 42 cakram kertas saring. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 2,5% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 3% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 3,5% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam bahan antibakteri yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* 4% selama 10 detik. 7 cakram kertas saring masing-masing dicelupkan ke dalam larutan *ChKM* 1 ml. 7 cakram kertas saring lainnya masing-masing dicelupkan ke dalam *DMSO* 1% 1 ml.

Letakkan seluruh kertas saring tersebut pada media *BHI* agar *Enterococcus faecalis* dengan menggunakan pinset steril agak ditekan-tekan. *Petri dish* dimasukkan ke dalam inkubator selama 2x24 jam dengan suhu 37° C dalam sungkup *anaerob*. Setelah 48 jam, diameter zona hambat yang terbentuk berupa area jernih (*clear zone*) disekitar kertas saring diukur dengan menggunakan *digital calipers* (dalam satuan mm). Pengukuran tersebut dilakukan sebanyak tiga kali dari jarak daerah jernih terpanjang, terpendek, dan media dengan menggunakan *digital calipers* dalam satuan millimeter (mm) lalu dibagi 3 sehingga didapatkan rata-ratanya (*means*). Diameter zona hambat yang timbul menunjukkan adanya daya antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak *Stichopus hermanii*.²⁶



Gambar 1. Pengukuran diameter zona hambat pada kelompok kontrol dan ekstrak *Stichopus hermanii*

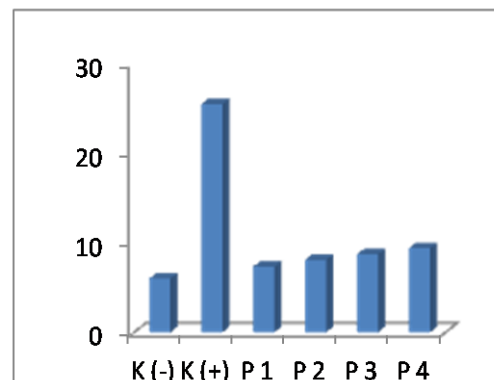
Teknik analisa data yang dipakai untuk membandingkan daya hambat pemberian ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3%, 3,5% dan 4% terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* adalah dengan uji *one way analysis of varians* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *LSD*.²⁷

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan 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 signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 20.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku diameter zona hambat ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* pada *BHI* Agar dengan satuan milimeter

Kelompok	Rerata (mm)	Standar Deviasi
K(-)	6.0257	0.04541
K(+)	25.49	4.84769
P1	7.3543	0.43539
P2	8.1086	0.70615
P3	8.7286	0.70615
P4	9.4029	1.18619



Gambar 2. Rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing kelompok

Sebelum dilakukan uji hipotesis, maka setiap kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena pada penelitian ini jumlah sampel <50.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan hasil uji *Levene* didapatkan

nilai signifikansi 0.123, sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen ($p > 0,05$).

Hasil data di atas diketahui memiliki distribusi data yang normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, uji dilanjutkan dengan menggunakan uji *one way ANOVA* karena desain/rancangan penelitian ini menggunakan lebih dari 2 kelompok yang tidak berpasangan dengan skala pengukuran numerik (rasio). Uji *one way ANOVA* ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pada tiap kelompok baik secara terpisah maupun bersama-sama.

Pada uji *one way ANOVA*, diperoleh nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan). Selanjutnya, untuk melihat perbedaan daya hambat masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan pengujian *LSD* dengan signifikansi $p < 0.05$.

Tabel 2. Tabel hasil uji *LSD*

Kelompok	Rata-rata	Kelompok	Rata-rata	Sig.
K(-)	6.0257	K(+)	25.49	0.000*
		P1	7.3543	0.000*
		P2	8.1086	0.000*
		P3	8.7286	0.000*
		P4	9.4029	0.000*
K(+)	25.49	P1	7.3543	0.000*
		P2	8.1085	0.000*
		P3	8.7286	0.000*
		P4	9.4029	0.000*
P1	7.3543	P2	8.1086	0.025*
		P3	8.7286	0.000*
		P4	9.4029	0.000*
P2	8.1086	P3	8.7286	0.098
		P4	9.4029	0.030*
P3	8.7286	P4	9.4029	0.130

Keterangan : * $p < 0.05$

Dari hasil uji *LSD* diketahui bahwa perbedaan rerata diameter zona hambat pada kelompok K(-) signifikan dibandingkan dengan kelompok K(+), P1, P2, P3, dan P4. Kelompok K(+)

signifikan dibandingkan dengan kelompok P1, P2, P3, dan P4. Kelompok P1 signifikan dibandingkan dengan kelompok P2, P3 dan P4. Kelompok P2 signifikan dibandingkan dengan kelompok P4. Perbedaan yang paling signifikan terdapat pada kelompok K(-) dengan kelompok K(+), P1, P2, P3, P4, antara kelompok K(+), dengan kelompok P1, P2, P3, P4, dan antara kelompok P1 dengan kelompok P3, P4.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok, yaitu kelompok K(-) sebagai kontrol negatif menggunakan *DMSO* 1%, kelompok K(+), sebagai kontrol positif menggunakan *ChKM* dan kelompok 1, 2, 3 dan 4 adalah kelompok perlakuan yang diberi ekstrak *Stichopus hermannii* dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 2,5%, 3%, 3,5% dan 4%.

Peneliti menggunakan *DMSO* 1% sebagai kontrol negatif karena dapat digunakan sebagai pengencer bahan alam agar lebih mudah homogen. *DMSO* 1% memiliki sifat antibakteri yang kecil sehingga dapat mempengaruhi daya penghambatan bakteri.²⁸ Hal ini dapat dilihat dari rerata zona hambat pada kelompok kontrol negatif (*DMSO* 1%), yaitu 6,0257 mm. Peneliti menggunakan *ChKM* sebagai kontrol positif karena salah satu mekanisme kerja *ChKM* dalam menghambat bakteri sama dengan mekanisme kerja flavonoid yang terkandung dalam ekstrak *Stichopus hermannii* yaitu mendenaturasi protein sel bakteri.^{29,30,31} Selain itu *ChKM* merupakan obat sterilisasi saluran akar yang sering digunakan dalam klinik dan harganya relatif murah.¹⁷

Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) yang digunakan di dalam penelitian ini dibuat dengan metode *freeze drying* yang kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol (polar) dengan metode maserasi. Keuntungan menggunakan metode *freeze drying* adalah kadar air pada hasil ekstrak lebih rendah dibandingkan dengan metode ekstrak yang lain. Hal ini disebabkan oleh bahan yang akan diekstrak dibekukan terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan pengeringan dengan menggunakan tekanan rendah sehingga kandungan air yang sudah menjadi es akan langsung menjadi uap (sublimasi). Tingkat keamanan senyawa dalam ekstrak lebih baik karena resiko terjadinya degradasi senyawa dalam ekstrak cukup rendah karena suhu yang digunakan cukup rendah.³² Setelah *freeze drying* selesai dilakukan, hasil *freeze dry* tersebut diekstraksi dengan pelarut etanol dengan metode maserasi.³³

Metode maserasi adalah cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut organik selama satu hari sebanyak tiga kali perulangan pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya. Maserasi sangat menguntungkan dalam mengekstrak senyawa bahan alam, karena dengan perendaman, pelarut akan mempunyai waktu interaksi dengan sampel lebih lama untuk melakukan pemecahan dinding dan membran sel sampel. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan keluar dan terlarut dalam pelarut organik.³⁴

Peneliti memilih etanol sebagai pelarut karena etanol merupakan

senyawa polar yang bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa bersifat polar dan sedikit senyawa non-polar. Etanol umumnya dapat mengekstrak komponen dari golongan glikosida dan minyak atsiri.³⁵ Hasil uji senyawa kandungan *triterpene glycoside* pada ekstrak etanol lebih besar daripada kandungan *triterpene glycoside* pada ekstrak heksana.³⁶ *Triterpene glycoside* merupakan sebutan untuk *holothurin* yang merupakan senyawa saponin pada teripang dan berfungsi sebagai antibakteri.³⁷ Konsentrasi etanol yang digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini adalah konsentrasi 96% karena menghasilkan pemisahan kandungan yang lebih mudah.³⁸

Maserat yang diperoleh berupa ekstrak etanol diuapkan dengan alat penguap *rotary evaporator*. Alasan penggunaan *rotary evaporator* sebagai alat penguap adalah karena pelarut dapat menguap di bawah titik didihnya dengan bantuan penurunan tekanan sehingga senyawa kimia yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak atau terdekomposisi.³⁴

Penelitian untuk melihat adanya daya hambat ekstrak *Stichopus hermanii* terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan dengan metode difusi yang menggunakan media agar *BHI*. Agar *BHI* merupakan media agar yang baik untuk membiakkan bakteri *Enterococcus faecalis* karena media ini dilengkapi dengan hemin dan vitamin K1 yang dapat berfungsi sebagai faktor pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.³⁹ Penelitian ini menggunakan metode difusi karena karena penelitian tentang daya hambat ekstrak *Stichopus hermanii* terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan metode difusi belum

pernah dilakukan, sehingga dengan metode ini peneliti dapat melihat tingkat sensitivitas *Enterococcus faecalis* terhadap ekstrak *Stichopus hermanii* secara kualitatif.

Hasil penelitian yang dilakukan memperlihatkan bahwa makin besar konsentrasi ekstrak *Stichopus hermanii* maka makin besar pula diameter zona hambatnya. Rata-rata zona hambat pada konsentrasi 2,5% (7,3543 mm), 3% (8,1086 mm), 3,5% (8,7286 mm) dan 4% (9,4029 mm). Pada penelitian ini telah dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3%, 3,5% dan 4% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dengan rata-rata zona hambat terbesar pada konsentrasi 4% sebesar 9,4029 mm, tetapi *ChKM* yang digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini memiliki zona hambat yang jauh lebih besar yaitu dengan rata-rata sebesar 25,49 mm. Terdapat dua alasan yang menyebabkan hal tersebut dapat terjadi, yaitu *ChKM* mempunyai zat antibakteri *chloro-phenol* sebesar 60%. Pada ekstrak teripang emas, persentase senyawa antibakterinya kecil, yaitu flavonoid 0,04%, alkaloid 0,11%, saponin 0,12% dan tanin 0,02%.^{30,40} Alasan kedua adalah adanya kandungan *kamfer* dalam *ChKM* yang berfungsi memperpanjang efek antimikroba, sehingga daya hambat *ChKM* lebih besar dibandingkan ekstrak *Stichopus hermanii*.⁴⁰

Hasil uji *LSD* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa perbandingan rerata diameter zona hambat antar semua kelompok ekstrak *Stichopus hermanii* menunjukkan perbedaan yang bermakna, kecuali perbandingan antara konsentrasi 3% dan 3,5%, serta konsentrasi 3,5% dan 4%. Perbedaan yang paling signifikan

ditentukan dengan rerata diameter zona hambat yang paling besar, yaitu ekstrak *Stichopus hermanii* pada konsentrasi 4%.

Antibiotik yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein, mempunyai daya antibakteri sangat kuat.⁴¹ Hal ini ditunjukkan dengan ukuran zona hambat *ChKM* jauh lebih besar dibanding zona hambat yang menggunakan ekstrak *Stichopus hermanii*. *ChKM* sebagai antibiotik non alamiah memiliki beberapa kekurangan seperti yang telah dijelaskan sebelumnya yaitu bau yang menyengat, rasa tidak enak, dapat terserap oleh tumpatan sementara, dapat menyebar ke rongga mulut sehingga pasien akan mengeluhkan rasa yang tidak enak dan bersifat alergen sehingga dapat menyebabkan reaksi imun yang dapat membahayakan pulpa.¹⁶ Pemilihan ekstrak *Stichopus hermanii* sebagai antibakteri alamiah dapat dijadikan alternatif dalam mengeliminasi bakteri *Enterococcus faecalis* yang resisten di dalam saluran akar merupakan pilihan yang dapat diaplikasikan.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat dipilih dan diaplikasikan ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 4% karena memiliki zona hambat yang lebih besar, sehingga diasumsikan lebih baik dibandingkan dengan ekstrak *Stichopus hermanii* dengan konsentrasi 2,5%, 3% dan 3,5%.

SIMPULAN

Ekstrak teripang emas (*Stichopus hermanii*) dengan konsentrasi sebesar 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Konsentrasi ekstrak teripang emas (*Stichopus*

hermanii) 4% memiliki daya hambat terbesar diantara konsentrasi lainnya, namun daya hambat yang dihasilkan masih lebih kecil dibandingkan dengan *ChKM* (*Chlorophenol Kamfer Menthol*) sebagai kontrol positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Anitasari S dan Rahayu N.E. 2005. Hubungan Frekuensi Menyikat Gigi dengan Tingkat Kebersihan Gigi dan Mulut Siswa Sekolah Dasar Negeri di Kecamatan Palaran Kotamadya Samarinda Provinsi Kalimantan Timur. *Maj, Kedokteran Gigi (Den. J.)*, 38 (2): 90-88.
- Depkes RI. 2012. Pedoman Paket Dasar Pelayanan Kesehatan Gigi dan Mulut di Puskesmas. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Available from: <http://perpustakaan.depkes.go.id:8180/handle/123456789/1777>. Diakses 14 Mei 2013.
- Yanti N. 2004. Biokompatibilitas Larutan Irigasi Saluran Akar. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. Medan. H. 7-1.
- Bergenholtz G, et al. 2003. Textbook of Endodontology. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Mulyawati E. 2011. Peran Bahan Disinfeksi pada Perawatan Saluran Akar. *Majalah Kedokteran Gigi*, 18(2): 209-205.
- Wardhana DV, dkk. 2008. Daya Antibakteri Kombinasi Metronidazol, Siprofloksasin, dan Minosiklin Terhadap *Enterococcus faecalis*. *Jurnal Ilmu Konservasi Gigi*, Vol 1 (1). Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Souza et al. 2005. Endodontic Therapy Associated with Calcium Hydroxide as an Intracanal Dressing: Microbiologic Evaluation by the Checkerboard DNA-DNA Hybridization Technique. *Journal of Endodontic*, 3(2): 83-79.
- Squiera JF and Roca IN. 2008. Endodontic Microbiology in : Endodontic Principles and Practice 4th ed. Michigan: Saunders. P. 46-38.
- Bodrumlu E and Semiz M. 2006. Antibacterial Activity of a New Endodontic Sealer Against *Enterococcus faecalis*. *J Can Dent Assoc*, 72(7): 637 a-c.
- Stuart CH, et al. 2006. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Journal of Endodontics*, Vol 32(2). The University of Texas Health Science Center. Texas: San Antonio.
- Roca IN, et al. 2004. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *The American Association of Endodontics*, 30(5): 5-1.
- Sedgley CM, et al. 2005. Virulence, Phenotype and Genotype Characteristics of Endodontic *Enterococcus spp.* *Oral Microbiology Immunologi*, 20: 10-9.
- Kayaoglu G and Orstavik D. 2004. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship of Endodontic Disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, Vol 15(5): 308-20.
- Beatrice dan Lusiana. 2010. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*. Scheff (Boerl)) terhadap *Enterococcus faecalis* Sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar Secara In Vitro. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. Medan. H. 3-1.
- Cogulu D, et al. 2007. Detection of *Enterococcus faecalis* in Necrotic Teeth Root Canals by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *European Journal of Dentistry*.
- Walton dan Torabinejad. 2008. Prinsip dan Praktik Ilmu Endodontia. Edisi 3. Jakarta: EGC.
- Grossman, et al. 2010. Endodontics Practice. 12th ed. New Delhi: Wolters Kluwer Health.
- Devine DA and Marsh PD. 2009. Prospects for The Development of Probiotics and Prebiotics For Oral Applications. *Journal of Oral Microbiol*, 1: 10.3402/jom.v1i0.1949.
- Purwati. dkk. 2008. Katalog Timun Laut Anggota Ordo Aspidochirotida (Echinodermata, Holothuroidea). Pusat Penelitian Oseanografi. LIPI. Jakarta.
- Farouk AE, et al. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumber with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(20): 65-60.
- Brilliantin A. 2011. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Surabaya.

22. Muttaqien W. 2011. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap *Mixed periodontopathogen*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya.
23. Wawolumaya JT. 2012. Potensi Antibakteri pada Beberapa Jenis Teripang (*Stichopus spp.*) yang Berasal dari Perairan Lampung Selatan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.
24. Revianti S dan Parisihni K. 2012. Kajian Bioaktivitas Antijamur Ekstrak Teripang pada Kandidiasis Oral. Penelitian Hibah Fundamental.
25. Harjanti RS. 2008. Pemungutan Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma domestica val.*) dan Pemakaiannya sebagai Indikator Analisis Volumetri. Jurnal Rekayasa Proses, 2(2): 49-54
26. Kumala S dan Indriani D. 2008. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Eugenia aromatic L.*). Jurnal Farmasi Indonesia, 4(2): 87-82.
27. Dahlan S. 2012. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Salemba Medika. H. 87
28. Patel, dkk. 2009. Evaluation of some medicinal plants used in traditional wound healing preparations for antibacterial property against some pathogenic bacteria. Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research, 1 (1): 012-007.
29. Laila AN. 2012. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Sirih (*Piper betle Linn.*) terhadap Total Bakteri dan Sifat Organoleptik pada Ikan Bawal (*Formio niger*). Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah. Semarang.
30. Rizal MB. 2012. Komposisi Senyawa Organik dan Anorganik Ekstrak Teripang Pasir dan Teripang Emas yang Biokompatibel terhadap Jaringan Pulpa. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah. Surabaya.
31. Bachtiar SY, dkk. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Journal of Marine and Coastal Science, 1(1): 60-53.
32. Sembiring BB. 2009. Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan Cara Pengeringan terhadap Mutu Ekstrak Kering Sambiloto. Bul. Littro, 20(2): 181-173.
33. Mamahit L. 2009. Satu Senyawa Steroid dari Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L. Medik*) Asal Sulawesi Utara. Ejournal Universitas Sam Ratulangi, Vol 2(1): 38-33.
34. Budi FS, dkk. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Asam Kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F) terhadap DPPH. Available from <http://beliebet.wordpress.com/2011/07/12/uji-aktivitas-antioksidan-ekstrak-buah-asam-kalimbawan-sarcotheca-diversifolia-miq-hallier-f-terhadap-dpph/>. Diakses 12 November 2013.
35. Murhadi, 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanta*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*). Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, p 7-24
36. Saleh MR. 2013. Perbandingan Kadar Glikosaminoglikan dan *Triterpene Glycoside* pada Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) dengan Pelarut Etanol (Polar) dan Heksana (Non polar). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya.
37. Bordbar S. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods – A Review. Marine Drugs. P. 1805-1761.
38. Marnoto T. 2012. Ekstraksi Tannin sebagai Bahan Pewarna Alami dari Tanaman Putrimalu (*Mimosa pudica*) Menggunakan Pelarut Organik. Reaktor, 14(1). P. 45-39.
39. Acumedia. 2011. Brain-Heart Infusion Agar (7115). PI 7115 Rev 4.
40. Osswald R. 2005. The Problem of Endodontitis and Managing It Through Conservative Dentistry. P. 144-134.
41. Rinawati DW. 2011. Daya Hambat Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujute L.*) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Skripsi Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya. Jawa Timur.

LAPORAN PENELITIAN

Daya Hambat Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed* periodontopatogen In Vitro

*(The Inhibition of Sand Sea Cucumber (*Holothuria scabra*) Extract on The Growth of Mixed periodontopatogen bacteria in vitro)*

Susi Krestiana*, Widyastuti**, Vivin Ariestania***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Periodontitis is caused by the occupation of gram-negative bacteria (mixed periodontopatogen) in oral cavity. Despite causing resistance, antibiotics are still used as a therapy for periodontitis. Sand sea cucumber (*Holothuria scabra*) extract hold some potentials, if developed, to become the alternative therapy for periodontitis due to its antibacterial effects against gramnegative bacteria. **Purpose:** To determine sand sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) in inhibiting the growth of mixed periodontopatogen bacteria. **Materials and Methods:** This study used a research design the post-test only control group design. 40 samples of BHI agar plates, contained mixed periodontopatogen bacteria samples, were divided into 5 groups samples. K1 (negative control) was given distilled water containing filter paper, K2 (positive control) was given the antibiotic tetracycline disc 30 µg, while P1, P2, and P3 were given a filter paper containing sand sea cucumber extract with a concentration of 150 g/ml, 300 g/ml, and 450 g/ml. All sample from each group were anaerobically inoculated for 2x24 hours. After inoculation, the area around the filter paper will appear to be clear and it will be measured with digital calipers (mm). The acquired data will be analyzed using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test. **Result:** The inhibition rate of K1 ($6,00 \pm 0,00$), K2 ($28,975 \pm 1,20049$), P1 ($6,8525 \pm 0,30156$), P2 ($7,6237 \pm 0,51281$), and P3 ($8,75 \pm 0,3525$). **Conclusion:** Sand sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) can inhibit the growth of Mixed periodontopatogen bacteria.

Keywords: *Holothuria scabra*, periodontal disease, Mixed periodontopatogen

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

ABSTRAK

Latar belakang: Periodontitis merupakan salah satu penyakit dengan tingkat penyebaran yang luas dalam masyarakat yang disebabkan oleh bakteri gram negatif (mixed periodontopatogen) didalam rongga mulut. Antibiotik sering digunakan sebagai terapi periodontitis namun banyak terjadi resistensi. Ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram negatif sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai alternatif terapi penyakit periodontal (periodontitis). **Tujuan:** Mengetahui efektivitas ekstrak *Holonthuria scabra* dalam menghambat pertumbuhan bakteri mixed periodontopatogen secara in vitro. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian the post test only control group design. 40 sampel BHI agar yang telah berisi bakteri mixed periodontopatogen dibagi menjadi 5 kelompok sampel. K1 merupakan kelompok kontrol negatif yang diberi kertas saring berisi Aquadest, K2 merupakan kelompok kontrol positif yang diberi antibiotik Tetracycline disc 30 µg, P1, P2, dan P3 merupakan kelompok yang diberi kertas saring yang berisi ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) masingmasing dengan konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml. Semua kelompok sampel diinokulasi selama 2x24 jam dalam suasana anaerob. Setelah proses inokulasi, akan terlihat area jernih disekitar kertas saring dan diukur dengan digital calipers (dalam satuan mm). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney. **Hasil:** Hasil studi menunjukkan daya hambat K1 ($6,00 \pm 0,00$), K2 ($28,975 \pm 1,20049$), P1 ($6,8525 \pm 0,30156$), P2 ($7,6237 \pm 0,51281$), dan P3 ($8,75 \pm 0,3525$). **Simpulan:** Ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri Mixed periodontopatogen secara in vitro.

Kata kunci: *Holonthuria scabra*, Penyakit periodontal (periodontitis), Mixed periodontopatogen

Correspondence: Widyastuti, Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031- 5912191

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang paling banyak terjadi dan tersebar luas di masyarakat seluruh dunia. Menurut Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004, secara umum 39% penduduk Indonesia mempunyai masalah kesehatan gigi dan mulut. Penyakit karies gigi dan penyakit periodontal merupakan dua penyakit gigi dan mulut yang paling sering ditemukan di klinik gigi dan merupakan penyebab utama hilangnya gigi di dalam rongga mulut, tetapi yang paling banyak terjadi di Indonesia adalah penyakit periodontal. Prevalensi penyakit periodontal pada

kelompok umur 25-64 tahun pada penduduk pedesaan dan penduduk Kawasan Timur Indonesia (KTI) berada di atas prevalensi nasional. Presentase tertinggi penduduk yang kehilangan seluruh gigi yang disebabkan oleh penyakit periodontal adalah kelompok 65 tahun atau lebih, yaitu sebesar 30%, kemudian kelompok umur 55-64 tahun (18%), dan kelompok umur 45-54 tahun (7%).¹ Beberapa tahun terakhir, periodontitis dapat menjadi faktor risiko penyakit sistemik, antara lain penyakit kardiovaskuler, endokarditis, diabetes militus, pneumonia bakterial, dan stroke.²

Penyakit periodontal pada dasarnya merupakan kelompok infeksi

rongga mulut yang memiliki faktor etiologi utama berupa plak gigi. Plak bakteri adalah penyebab utama penyakit periodontal tetapi bukanlah satu-satunya penyebab bagi semua kerusakan periodontal).³ Keparahan penyakit periodontal tidak terlepas dari pengaruh virulensi bakteri yang terakumulasi dalam plak.⁴ Beberapa penelitian telah dilakukan dengan melibatkan beberapa spesies bakteri sebagai patogen pada penyakit periodontal. Spesiesspesies tersebut meliputi bakteri anaerob obligat seperti *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bakterioides forsythus* dan spesies *Wollinella*, serta bakteri gram negatif anaerob, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, spesies *Capnocytophaga* dan *Eikenella corrodens*.³

Perawatan penyakit periodontal yang sering dilakukan sampai saat ini adalah dengan *scaling* dan *root planing*. *Scaling* dan *root planing* dilakukan untuk mengeliminasi pertumbuhan bakteri plak sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit periodontal.⁵ Disamping itu untuk mencegah pertumbuhan bakteri plak, dapat menggunakan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri plak. Antimikroba dapat menurunkan konsentrasi bakteri di dalam plak sehingga dapat membantu menghilangkan peradangan.⁶ Antimikroba yang efektif digunakan sekarang ini adalah antimikroba konvensional (antibiotik). Antimikroba konvensional (antibiotik) sangat ideal untuk pencegahan dan perawatan penyakit periodontal karena dapat bekerja secara spesifik terhadap bakteri patogen periodontal, tidak menimbulkan alergi, tidak bersifat toksik, aktivitasnya di rongga mulut

dapat dipertahankan untuk waktu yang lama dan harga yang sangat terjangkau.^{5,6}

Antimikroba konvensional yang sering digunakan untuk menghambat bakteri plak dalam penyakit periodontal adalah *Amoxycillin*, *Metronidazole*, *Ciprofloxacin*, *Tetracycline*, *Clindamycin*, dan *Sefalosporin*.⁴

Suatu metode alternatif diperlukan untuk mengontrol tingkat prevalensi penyakit periodontal di seluruh lapisan masyarakat. Salah satunya dengan pemanfaatan obat alternatif biota-biota laut. Biota laut melalui sintesis kimia dapat dijadikan obat karena sifatnya yang alami dan relatif aman. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) adalah hewan laut yang sudah banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional sejak dahulu.⁷ *Holothuria scabra* merupakan jenis teripang yang memiliki sumber biofarmako potensial dari hasil laut dan sebagai makanan kesehatan yaitu bahan baku berbagai industri di berbagai Negara dan bernilai ekonomis.⁸ Teripang pasir hidup di perairan berpasir atau di antara karang yang tertutup pasir.⁹ Teripang pasir telah diuji memiliki beberapa aktivitas biologis dan farmakologis antara lain bersifat antibakteri baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif.¹⁰ Beberapa kandungan senyawa kimia yang penting pada teripang pasir adalah senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin.¹¹

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rizal (2012), diketahui bahwa *Holothuria scabra* memiliki kandungan antibakteri (glikosida dan saponin) yang terbesar dibandingkan jenis teripang *Stichopus hermannii*. Kandungan glikosida pada *Holothuria scabra* 1,03% dan saponin 2,56%

sedangkan, pada *Stichopus hermanii* kandungan glikosida 0,88% dan saponin 0,12% .¹² Penelitian yang lain, dilakukan oleh Dinita (2008) menunjukkan bahwa ekstrak teripang jenis teripang *Holothuria atra* dapat menghambat bakteri *mixed* periodontopatogen terbesar pada konsentrasi 25 mg/ml¹³, sedangkan pada jenis teripang *Stichopus hermanii* dapat menghambat bakteri *mixed* periodontopatogen pada konsentrasi 20 mg/ml.¹⁴ Pada penelitian Aras (2013), diketahui bahwa ekstrak teripang *Holothuria scabra* bersifat toksik dengan nilai LC50 0,5886 µg/ml untuk ekstrak etil asetat 5 pada konsentrasi 1000 µg/ml.

Pada penelitian sebelumnya oleh Nimah dkk (2012) menguji bioaktivitas ekstrak *Holothuria scabra* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (bakteri anaerob gram negatif) dan *Bacillus cereus* (bakteri anaerob gram positif) pada konsentrasi 150 mg/ml, 300 mg/ml, dan 450 mg/ml. Hasil penelitian, pada konsentrasi 450 mg/ml memiliki daya hambat terbesar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*,¹⁰ tetapi belum ditemukan adanya daya hambat ekstrak teripang *Holothuria scabra* terhadap bakteri *mixed* periodontopatogen. Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian tentang daya hambat ekstrak teripang *Holothuria scabra* terhadap bakteri *mixed* periodontopatogen pada konsentrasi 150 mg/ml, 300 mg/ml, dan 450 mg/ml sesuai dengan penelitian sebelumnya dengan jenis bakteri yang sama, yaitu bakteri gram negatif.¹⁰ Peneliti menggunakan konsentrasi yang kecil bertujuan untuk mencegah timbulnya toksik yang berlebih dari teripang itu sendiri.

Keinginan untuk menemukan obat alternatif untuk penyakit periodontal yang bisa diterapkan di masyarakat luas menjadi alasan peneliti untuk meneliti lebih lanjut tentang efek antibakteri pada ekstrak teripang *Holothuria scabra* terhadap bakteri-bakteri *Mixed* periodontopatogen.

BAHAN DAN METODE

Teripang pasir seberat 400-500 gram/ekor dicuci dan dibersihkan, kemudian daging teripang dikumpulkan dan diletakkan dibawah air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran yang menempel pada daging teripang, kemudian direndam dengan aquadest steril untuk membuang garam dan parasit. Teripang pasir disiapkan untuk diblender dengan cara memotong bagian teripang menjadi ukuran 3 x 2 cm agar memudahkan dalam proses blender kemudian ditimbang dahulu masing-masing 500 gram menggunakan timbangan digital lalu dicampur dengan 500 ml aquades steril dan diblender sampai memperoleh konsistensi yang halus dan disimpan dalam wadah plastik. Teripang yang digunakan sebanyak 1433,2 gr dicampur dengan 1500 ml aquadest steril.

Setelah itu dilakukan prosedur pembuatan ekstrak kasar menggunakan metode *freeze dry*. Metode *freeze dry* yaitu pengeringan teripang pasir dari cairan yang ada di tubuh teripang pasir. Teripang pasir basah dimasukkan ke *freeze dryer* dengan tekanan 20 Pa dan suhu 4°C selama 39 jam.¹⁶ Hasil ekstrak kasar teripang pasir sebanyak 179,9 gr dilarutkan dengan menggunakan

indikator pelarut semi polar yaitu dengan pelarut etil asetat dan direndam (proses maserasi) selama 24 jam kemudian disaring dengan kertas saring. Residu diberi etil asetat dan disaring lagi. Metode maserasi adalah cara ekstraksi sederhana dengan merendam bahan yang akan diekstrak ke dalam pelarut organik selama satu hari sebanyak tiga kali pengulangan pada suhu ruangan dan jauh dari paparan sinar matahari.¹⁷ Cairan hasil penyaringan terbentuk 3 macam keadaan, yaitu pekat, setengah pekat, dan tidak pekat. Selanjutnya hasil penyaringan diuapkan dengan alat rotari evaporator (*rotavapor*) dengan suhu 50°C agar zat pelarut terpisah.¹⁸ Penguapan pertama pada cairan yang tidak pekat sehingga cairan hasil penyaringan habis dan dilanjutkan dengan cairan yang setengah pekat kemudian yang pekat. Hasil penguapan didinginkan sehingga menghasilkan ekstrak kental (ekstrak etil asetat teripang pasir).

Ekstrak etil asetat teripang pasir diencerkan dengan menggunakan aquadest steril. Bahan uji tersebut mengandung 100% *Holonthuria scabra* yang artinya sama dengan 100 mg *Holonthuria scabra* dalam 100 ml. 1 µg artinya sama dengan 0,001 mg. Untuk konsentrasi 1 µg/ml : 1 µg *Holonthuria scabra* menjadi 0,001 mg/ml : 0,001 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril.

Pengenceran bahan uji untuk konsentrasi 150 µg/ml (P1) adalah dengan mengubah µg menjadi mg dengan mengalikan 150 dengan 0,001 menjadi 0,15 mg/ml : 0,15 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril, untuk konsentrasi 300 µg/ml (P2) menjadi 0,3 mg/ml : 0,3 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril, dan untuk

konsentrasi 450 (P3) menjadi 0,45 mg/ml : 0,45 mg *Holonthuria scabra* diencerkan dalam 1 ml aquadest steril. Lalu ekstrak teripang pasir yang akan diuji sebelum digunakan terlebih dahulu disterilkan dengan *Syringe mikroporus membrane* diameter 0,02µm.

Bakteri *Mixed* periodontopatogen diambil dari biakan murni yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Hang Tuah Surabaya yang berupa biakan dalam *BHI* cair yang sudah diinkubasi selama 24 jam dalam suasana *anaerob*. Kemudian biakan bakteri *Mixed* periodontopatogen dari media *BHI* cair disetarakan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 0,5 dengan mata telanjang untuk memperoleh suspensi bakteri yang mengandung $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.¹³ Selanjutnya mengusapkan biakan tersebut pada seluruh permukaan lempeng media *BHI* agar steril dengan menggunakan lidi kapas steril.

Selanjutnya siapkan *petri dish* yang telah berisi media *BHI* agar dan biakan bakteri *Mixed* periodontopatogen yang terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kemudian pada kelompok kontrol negatif (K1), kertas saring (*disk*) dicelupkan dalam *Aquades steril* sebanyak 1 ml selama 10 detik, sedangkan pada kelompok kontrol positif (K2) menggunakan kertas saring (*disk*) yang telah berisi *Tetracycline* 30 µg.

Pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3), letakkan kertas saring tersebut pada media nutrisi agar yang berisi ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) dengan menggunakan pinset steril agak ditekan-tekan. Kemudian memasukkan *petri dish* ke dalam inkubator selama 2x24 jam dengan

suhu 37⁰ dalam suasana anaerob. Setelah 2x24 jam, mengukur zona hambat ekstrak *Holonthuria scabra* yang berupa area jernih di sekitar kertas saring dengan menggunakan digital calipers (dalam satuan mm). Pengukuran dilakukan 3 kali dengan 3 diameter yang berbeda dari diameter terpanjang, sedang dan terpendek karena bentuk zona hambat (area jernih) tidak rata dan tidak beraturan, kemudian hasilnya dirata-ratakan. Biasanya diameter zona hambat yang timbul menunjukkan adanya daya antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak *Holonthuria scabra*.

HASIL

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil.

Tabel 1. Hasil uji statistik deskriptif

Kelompok	N	Rerata	Standart Deviasi
K1	8	6,0000	0,00000
K2	8	28,9750	1,20049
P1	8	6,8525	0,30156
P2	8	7,6237	0,51281
P3	8	8,7500	0,35250

Berdasarkan tabel 1, didapatkan rerata kelompok yang paling tinggi yaitu kelompok K2 kemudian diikuti oleh P3, P2, P1, dan K1. Setelah itu dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel kurang dari 50. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi >0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Mixed*

periodontopatogen dalam satuan millimeter (mm) berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas (Uji *Levene*).

Hasil uji homogenitas (Uji *Levene*) diketahui bahwa nilai signifikansi adalah sebesar 0,001 mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka disimpulkan bahwa zona hambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen adalah tidak homogen sehingga dilakukan transformasi data.

Transformasi data dilakukan untuk menormalkan distribusi data yang tidak normal, setelah dilakukan transformasi data diulangi dengan tes homogenitas dilihat apakah data telah homogen atau tidak. Hasil transformasi data menunjukkan variasi data tidak homogen karena nilai signifikansi adalah sebesar 0,011 mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Variasi data tidak homogen sehingga dilakukan uji non parametric menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan daya hambat bakteri *Mixed* periodontopatogen yang bermakna pada masing-masing kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *MannWhitney* untuk melihat kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang bermakna pada daya hambat *Mixed* periodontopatogen dalam milimeter dengan membandingkan antar dua kelompok yang tidak berpasangan.

Dari hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan daya hambat bakteri *Mixed* periodontopatogen yang bermakna ($p < 0,05$) adalah pada kelompok K1 dengan kelompok K2, P1, P2 dan P3.

Kelompok K2 dengan kelompok P1, P2, dan P3. Kelompok P1 dengan kelompok P2 dan P3. Kelompok P2 dengan kelompok P3.

PEMBAHASAN

Penyakit periodontal merupakan kelainan yang paling banyak terjadi dalam mulut yang disebabkan oleh mikroorganisme dan plak bakterial yang terletak pada mahkota gigi.¹⁹ Periodontitis disebabkan oleh suatu infeksi dari bakteri anaerob (*mixed periodontopatogen*) seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, dan *Actinobacillus actinomycescomitans* dimana terapinya dengan mengurangi plak dan menjaga kebersihan mulut.²⁰ Namun, pembersih plak dengan teknik mekanik saja tidak cukup sehingga diperlukan antibiotik sebagai penunjang terapi periodontitis.^{20,21,22} Banyaknya peningkatan resistensi antibiotik sekarang ini mendorong untuk menemukan senyawa antibakteri baru melalui keanekaragaman hayati biota laut Indonesia untuk mengontrol tingkat prevalensi penyakit periodontal di seluruh lapisan masyarakat, salah satunya adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*). Biota laut melalui sintesis kimia dapat dijadikan obat karena sifatnya yang alami dan relatif aman.⁹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan konsentrasi yang berbeda-beda dalam mencegah penyakit periodontal yang lebih lanjut. Menurut Nimah dkk (2012), senyawa metabolit sekunder saponin pada ekstrak *Holothuria scabra* terbukti mampu

menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan bakteri gram positif seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus* pada konsentrasi yang paling efektif 450 µg/ml.¹⁰ Pada penelitian Aras (2013), diketahui bahwa ekstrak teripang *Holothuria scabra* bersifat toksik dengan nilai LC50 0,5886 µg/ml untuk ekstrak etil asetat pada konsentrasi 1000 µg/ml, oleh karena itu konsentrasi ekstrak *Holothuria scabra* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150 µg/ml, 15 Pada penelitian ini peneliti 300 µg/ml, 450 µg/ml. Memilih konsentrasi ekstrak *Holothuria scabra* dari penelitian terdahulu karena diharapkan dengan konsentrasi ini juga memiliki daya antibakteri sehingga dapat mengurangi efek toksisitasnya.

Penelitian ini menggunakan *tetracycline* sebagai kontrol positif dan Aquades sebagai kontrol negatif.²⁴ Peneliti menggunakan Aquades steril sebagai kontrol negatif karena dapat digunakan sebagai pengencer bahan alami agar lebih mudah homogen, bersifat netral, dan tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri.²⁴ Peneliti menggunakan *tetracycline* sebagai kontrol positif karena memiliki kemampuan daya hambat yang sangat besar terhadap bakteri *mixed periodontopatogen* serta sering digunakan dalam perawatan di bidang periodontal.²⁴

Ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang digunakan di dalam penelitian ini dibuat dengan metode *freeze drying*. Peneliti menggunakan metode *freeze drying* karena dapat mempertahankan mutu hasil pengeringan, menghambat aktivitas mikroba dan mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia.²⁵ Tahap selanjutnya melakukan proses

ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.²⁵ Pemilihan metode ekstraksi merupakan hal penting untuk mendapatkan zat pokok atau zat aktif dari suatu bahan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam mengekstrak senyawa bahan alam, karena dengan perendaman, pelarut akan mempunyai waktu interaksi dengan sampel lebih lama untuk melakukan pemecahan dinding dan membran sel sampel. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan keluar dan terlarut dalam pelarut organik.²⁵

Peneliti menggunakan etil asetat sebagai pelarut karena etil asetat merupakan senyawa semi polar yang bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa bersifat polar dan sedikit senyawa non polar.²⁶ Menurut penelitian Nimah dkk (2012), hasil uji senyawa saponin dan alkaloid pada ekstrak etil asetat lebih besar daripada kandungan saponin dan alkaloid pada ekstrak metanol.¹⁰

Uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi untuk mengetahui daya hambat ekstrak *Holonthuria scabra* pada *BHI* agar karena metode ini digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan ekstrak *Holonthuria scabra* terhadap bakteri *Mixed* periodontopatogen.²⁴ Metode difusi merupakan metode yang sederhana dan mudah prosedurnya serta dapat digunakan untuk menguji bakteri aerob maupun fakultatif anaerob.²⁶ Agar *BHI* adalah media agar yang baik untuk membiakkan bakteri *Mixed* periodontopatogen. Alasan memilih metode ini adalah karena penelitian tentang daya hambat ekstrak *Holonthuria scabra* terhadap

pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen dengan metode difusi belum pernah dilakukan, sehingga dengan metode ini peneliti dapat melihat tingkat sensitivitas *Mixed* periodontopatogen terhadap ekstrak *Holonthuria scabra* secara kualitatif.

Penelitian menunjukkan ekstrak *Holonthuria scabra* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen pada semua kelompok perlakuan dengan konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml. Berdasarkan hasil penelitian terlihat Ekstrak *Holonthuria scabra* bersifat bakteristatik, semakin besar konsentrasi ekstrak *Holonthuria scabra* maka semakin besar pula diameter zona hambatnya. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Holonthuria scabra* maka konsentrasi kandungan bahan aktif yang terkandung didalamnya semakin tinggi sehingga kemampuan untuk menghambat bakteri semakin besar. Rata-rata zona hambat terbesar pada ekstrak *Holonthuria scabra* terdapat pada konsentrasi 450 µg/ml (8,75 mm) dibandingkan dengan konsentrasi 150 µg/ml (6,8525 mm), dan konsentrasi 300 µg/ml (7,6237 mm) pada kelompok perlakuan, sedangkan kontrol positif *Tetracycline* 30 µg/ml (28,975 mm) memiliki zona hambat terbesar dibandingkan ekstrak *Holonthuria scabra*.

Ekstrak *Holonthuria scabra* dapat menurunkan jumlah koloni bakteri karena adanya bahan aktif yang terkandung berupa saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Keempat senyawa tersebut memiliki sifat sebagai antibakteri.^{10,27} Saponin bekerja mengganggu stabilitas membran bakteri, dan merusak

membran sitoplasma sel bakteri, sehingga menyebabkan sel bakterilisis.²⁸ Alkaloid bekerja mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut.²⁹ Tanin bekerja merusak membran sel bakteri, menginaktivasi enzim, dan destruksi materi genetik bakteri sehingga fungsi sel bakteri terganggu.²⁹ Sedangkan Flavonoid bekerja mengganggu aktivitas transpeptidase peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu dan sel bakteri mengalami lisis.³⁰ Sedangkan kontrol positif (*Tetracycline* 30 µg/ml) memiliki zona hambat terbesar dibandingkan ekstrak *Holonthuria scabra*, ini dikarenakan *tetracycline* bekerja dengan cara mengikat dirinya pada subunit 30S dari ribosom bakteri yang berperan dalam menghambat sintesis protein dengan menghalangi perlekatan *tRNA-aminoasil* yang bermuatan, sehingga *tetracycline* menghalangi penambahan asam amino baru pada rantai peptida yang terbentuk. Adanya gangguan sintesis protein pada bakteri tersebut berakibat sangat fatal yaitu terhentinya sintesis protein dan dapat mengakibatkan kematian sel bakteri (bakterisid).³¹ *Tetracycline* meskipun memiliki tingkat antibakteri yang tinggi namun mempunyai efek samping seperti alergi, resistensi, dan mungkin keracunan sehingga cukup berbahaya bagi manusia. *Tetracycline* memiliki kekurangan yaitu pada pemakaian jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya disgenesis berupa perubahan warna gigi permanen.³¹ Oleh karena itu, ekstrak *Holonthuria scabra* dapat digunakan sebagai bahan adjuvan pada terapi

mekanik tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penurunan jumlah koloni bakteri *Mixed* periodontopatogen.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa Ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed* periodontopatogen secara in vitro pada konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, 450 µg/ml dan semakin besar konsentrasi semakin besar pula daya hambatnya. Tetrasiklin 30 µg mempunyai daya hambat lebih besar dari pada ekstrak teripang pasir (*Holonthuria scabra*) pada konsentrasi 150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

1. Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). 2004. Sudut Pandang Masyarakat mengenai Status, Cakupan, Ketanggapan, dan Sistem Pelayanan Kesehatan Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, 3: 20-18.
2. Sudibyo, 2003. Penyakit Periodontal Sebagai Fokus Infeksi dan Faktor Risiko Terhadap Manifestasi Penyakit Sistemik. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. <http://journal.ac.id/bitstream/123456789/37189/4.pdf>. Diakses 2 April 2013
3. Herawati D dan Fauziah, 2008. Aplikasi Subgingiva Gel Metronidasol 25% Sebagai Bahan Tambahan Pada *Scaling* dan *Root Planing*. Majalah Kedokteran Gigi; 15(2) : 186-183.
4. Newman MG, Takei H. Carranza FA, 2012. *Clinical periodontology*. 10th ed, Philadelphia; WB Saunder Co. 339-65.
5. Mombeli A, Schmid B, Reitar A. 2002. *Persistensi Pattern of Phorpyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Lactobacillus actinomycetemcomitans After Mechanical Therapy of Periodontal disease: J Periodontology*, No 71: 21-14.

6. Diaz R, Ghofaily LA, Patel J, et al. 2006. *Characterization of Leucotoxin from a Clinical Strain of Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *Microb Pathol*; 40(2): 48-5.
7. Thanh Nguyen Van, Dang Nguyaen Hai, Kiem Phan van, Cuong Nguyen Xuan, Huong Thanh Hoang, Minh Chau Van. 2006. *A New Triterpene Glycoside from the Sea Cucumber Holothuria scabra Collected in Vietnam*. Available from <http://www.vjol.info/index.php/ASEAN/article/viewFile/986/927>. Diakses 2 Mei 2013.
8. Karnila R, Astawan M, Sukarno, dan Wresdiyati T. 2011. Analisis Kandungan Nutrisi Daging dan Tepung Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Segar. *Berkala Perikanan Terubuk*, Vol 39(2): 60-51.
9. Kordi MGH. 2010. Cara Gampang Membudidayakan Teripang, Edisi 1. Yogyakarta: Penerbit ANDI. H. 14-1.
10. Nimah S, Ma'ruf WD, dan Trianto A. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. Skripsi. Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. H. 8-1.
11. Sendih. 2006. Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab dari Laut. Jakarta : Agromedia Pustaka. Vol 11(2). H. 54-23.
12. Rizal MB. 2012. Komposisi Senyawa Organik dan Anorganik Ekstrak Teripang Pasir dan Teripang Emas yang Biokompatibel terhadap Jaringan Pulpa. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 46-9.
13. Dinita TB. 2008. Daya Hambat Ekstrak *Holothuria atra* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed periodontopathogen*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 4-1.
14. Muttaqien Wildan. 2007. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Srichopus hermannii*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mixed periodontopathogen*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 40-1.
15. Aras TR. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria scabra* terhadap *Artemia salina*. Skripsi Universitas Hasanuddin, Makassar. H. 39-1.
16. Rizhwan B.H, Leong T.C and Idid S.Z. 2003. The Antinociceptive effects of water extract from sea cucumber *Holothuria leucospilota brandt*, *Bohadschia marmorata vitiensis jaeger* and *coelomic fluid from Stichopus hermannii*. Available from <http://www.docsdrive.com/pdfs/2003/20689-2072.pdf>. Diakses 15 Mei 2013.
17. Mamahit. 2009. Satu Senyawa Steroid dari Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik). Sulawesi Utara. Ejournal Universitas Sam Ratulangi 2(1): 38-33. Available from <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/chemprog/article/download/61/5> 7. Diakses 25 Mei 2013.
18. Harjati RS. 2008. Pemungutan Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma domestica* val.) dan Pemakaiannya sebagai Indikator Analisis Volumetri. *Jurnal Rekayasa Proses*, 2008, 2(2): 54-49. Available from <http://journal.ugm.ac.id/index.php/jrekpro/article/view/557/376>. Diakses 24 Mei 2013.
19. Manson J D,M Soory, B M Elley.2010.*Periodontics* 6th ed. P. 175-89.
20. Basyir H. 2012. Pemeriksaan Bakteri Penyebab Periodontitis Kronis dengan Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar, Indonesia. Available from <http://222.124.222.229/handle/123456789/1106>. Diakses 4 April 2013.
21. Herliana P, 2010. Potensi Khitosan Sebagai Anti Bakteri Penyebab Periodontitis. *Jurnal UI Untuk Bangsa Seri Kesehatan, Sains, dan teknologi*, 1: 24-12. Available from <http://uiuntukbangsa.files.wordpress.com/2011/06/potensikhitosan-sebagai-anti-bakteri-penyebab-periodontitis-putriherliana.pdf>. Diakses 7 April 2013.
22. Brook I. 2003. Microbiology and management of periodontal infections. *Gen Dent*, 51(5): 428-424. Diakses 10 Mei 2013.
23. Patel JD, Anshu KS, Vipin K. 2009. Wvaluation of Some Medicinal Plants Used in Traditional Wound Healing Preparations of Antibacterial Property Againts Some Pathogenic Bacteria. *Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research*, 1 (1) : 012-007.
24. Jawet, et al. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Salemba Medika. H. 120-26.

25. Sembiring BB. 2009. Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan Cara Pengeringan terhadap Mutu Ekstrak Kering Sambiloto. *Bul. Littro*, 20(2): 181-173. Available from <http://balittro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/Bulletin/20092/10-sambiloto.pdf>. Diakses 25 Mei 2013.
26. Bauman RW. 2004. Mikrobiologi. Intenational Edition: Person: Benyamin Education, Inc. P 179-178.
27. Laila AN. 2012. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Infusa Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Total Bakteri dan Sifat Organoleptik pada Ikan Bawal (*Formio niger*). *Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah*. Semarang, 2 (2): 69-1.
28. Jaya AM. 2010. Isolasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin dari Akar Putri Malu (*Mimosa pudica*). Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri, Malang. H. 9-7.
29. Citra DA, dkk. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 2 (3): 7-1.
30. Ambarasari L. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Flavonoid Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Institut Pertanian Bogor*. H. 4-2.
31. Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta. Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. H. 585.

LAPORAN PENELITIAN

Efek Pemberian PRF dengan Xenograft dan Alloplast terhadap Jumlah Osteoblas

(The Effect of PRF Combination With Xenograft and Alloplast to Amount of Osteoblast)

Hansen Kurniawan

Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: Bone graft materials have been widely used to regenerate bone defects, which are caused by trauma, tumor resection, pathological processes, and congenital bone defects. Type of bone graft is classified into several types, autograft, allograft, xenograft, and alloplast PRP and PRF derived from autologous blood which sends a high concentration of growth factors on bone defect area. **Purpose:** The aim of this study is to investigate the effect of PRF with xenograft and alloplast to osteoblast in bone New Zealand rabbits. **Materials and Methods:** The experiment was held by Post Test Group design. Twenty seven male New Zealand Rabbits were divided into three group. The first group performed the treatment on the right hind limb be treated with Alloplast and PRF treated, The second group performed the treatment on the right hind limb be treated with xenograft and PRF, and The third group was the control group performed the treatment on the right hind limb was given PRF. After treatment the rabbits were sacrificed. Osteoblast of each group was measured by EDTA method All data experiment were analyzed by ANOVA and LSD test ($p < 0,01$). **Results:** The result of this study showed that the results of osteoblasts between PRF with alloplast compared with prf with xenografts, significant differences as a result of the process of bone formation to see the results of better bone formation. **Conclusion:** In PRF with alloplast has better results compared with PRF with xenografts from to increase osteoblasts expression.

Keywords: Osteoblasts, bone, xenograft, Alloplast, PRF.

Correspondence: Hansen Kurniawan, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, 5912191, Email: drghansenkurniawan@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Bahan bone graft telah banyak digunakan untuk meregenerasi cacat tulang, yang disebabkan oleh trauma, reseksi tumor, degenerasi karena proses patologis, dan cacat tulang bawaan. macam-macam bone graft diklasifikasikan menjadi autograft, allograft, xenograft, dan alloplast. PRP dan PRF yang berasal dari darah autologous yang mengirimkan konsentrasi tinggi faktor pertumbuhan di daerah cacat tulang. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh xenograft dengan PRF dan alloplast dengan PRF pada osteoblas di tulang kelinci New Zealand. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini dilakukan dengan desain Post test group design. Dua puluh tujuh Kelinci jantan New Zealand dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama dilakukan terapi pada kaki belakang dengan Alloplast dan PRF, Kelompok kedua dilakukan terapi pada kaki belakang dengan xenograft dan PRF, dan Kelompok ketiga adalah kelompok kontrol dilakukan terapi pada kaki belakang diberi PRF. Setelah terapi kelinci dikorbankan. Osteoblas dari masing-masing kelompok diukur dengan metode EDTA dan Data percobaan dianalisis dengan ANOVA dan uji LSD ($p < 0,01$). **Hasil:** penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi osteoblas antara PRF dengan alloplast dibandingkan dengan PRF dengan xenografts didapatkan perbedaan yang signifikan sebagai hasil dari proses pembentukan tulang untuk melihat proses dari pembentukan tulang yang lebih baik. **Simpulan:** Pada PRF dengan alloplast memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan PRF dengan xenograft dilihat dari peningkatan jumlah osteoblas.

Kata kunci: Osteoblas, tulang, xenograft, alloplast, PRF

Korespondensi: Hansen Kurniawan, Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim, 150 Surabaya, Telepon 031-5945864, 5912191, Email: drghansenkurniawan@gmail.com

PENDAHULUAN

Periodontitis adalah peradangan pada daerah periodontium yang merusak jaringan pendukung gigi, hilangnya ligamen periodontal dan menyebabkan kerusakan tulang alveolar.^{1,2} Faktor-faktor yang terlibat pada proses destruksi tulang pada periodontitis adalah bakteri dan host. Periodontitis, akan terjadi kerusakan jaringan penyangga gigi yang jika tanpa dilakukan perawatan maka akan menyebabkan kerusakan jaringan gigi yang dapat mengakibatkan terlepasnya gigi dengan sendirinya dari rongga mulut.³ Bedah flap periodontal merupakan tindakan untuk memberikan akses bagi operator untuk dapat membersihkan jaringan granulasi pada poket yang dalam dan

meregenerasi kembali jaringan periodontal yang rusak akibat periodontitis.⁴

Bone graft adalah bahan kedokteran gigi yang digunakan untuk perbaikan kerusakan tulang, yang disebabkan oleh trauma, reseksi oleh karena tumor, degenerasi oleh karena proses patologis, dan cacat tulang bawaan. *Alloplast* adalah salah satu jenis graft yang merupakan graft sintetik memiliki kemampuan untuk osteokonduktif. Bahan ini memiliki biokompatibilitas yang sangat baik, bioaktivitas dan sifat osteokonduksi.⁵ Begitu juga dengan *Xenograft* yang merupakan salah satu jenis bahan graft yang diambil dari spesies lain, dan *Xenograft* yang sering digunakan adalah *bovine bone* (berasal dari sapi). *Xenograft* tidak memiliki sel

osteogenik atau kemampuan osteoinduktif, tetapi bahan anorganik *graft* ini dapat membuat terjadinya perlekatan dan proliferasi sel-sel osteoblas yang merupakan langkah awal bagi proses osteoblas untuk membentuk tulang.⁶

Platelet Rich Fibrin (PRF) menjadi generasi terbaru pada konsentrat platelet dengan proses yang lebih simple dan tanpa penambahan bahan biokimiawi. PRF ditemukan pertama kali di Perancis oleh Choukroun et al. Generasi kedua ini, mengeliminasi faktor resiko yang berhubungan dengan penggunaan *bovine thrombin*. (Geetha et al, 2010).

Penggunaan PRF sebagai *growth factor* memiliki keuntungan yang baik bagi pasien⁸ oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh bahan *graft* setelah dikombinasikan dengan PRF.

BAHAN DAN METODE

Randomisasi dilakukan dua puluh tujuh ekor kelinci dan dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok A dan B, C. Semua Kelompok setelah 21 hari dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan tulang tungkainya untuk kemudian dilihat osteoblas dibawah mikroskop. Kelompok pertama dilakukan perlakuan pada tungkai belakang kanan, diberi perlakuan *Alloplast* dan PRF. Kelompok kedua dilakukan perlakuan pada tungkai belakang kanan, diberi perlakuan *Xenograft* dan PRF. Kelompok ketiga dilakukan perlakuan pada tungkai belakang kanan diberi PRF.

PRF disiapkan dari 5 ml darah yang diambil dari tiap kelinci. Darah diambil dan dimasukkan ke dalam

tabung tanpa diberikan anti koagulan, kemudian tabung tersebut disentrifus selama 12 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah selesai maka pada tabung akan terbentuk 3 bagian yang paling bawah adalah darah merah, yang tengah PRF dan yang paling atas adalah plasma vasculer (Mazoor, 2006). Lapisan atas diambil untuk mendapatkan PRF dengan menggunakan pinset, kemudian gunting perbatasan PRF dengan sel darah merah. Ambil PRF, kemudian ditaruh didalam saringan. PRF digunting kecil-kecil.

Kelinci dianastesi dengan diberikan suntikan ketamin secara intramuskular. Sebelum dilakukan insisi yang berpenampang memanjang diberikan suntikan anastesi lokal pehacain satu cc agar memperkuat anastesi ketamin. Rasparatorium digunakan untuk pemisahan jaringan otot untuk mendapatkan struktur tulang tibia dari kelinci. Tulang dibuat defek dengan menggunakan bur low speed dengan luas 3x5 mm dan kedalaman sekitar 3 mm. Pada kelompok pertama, defek yang dilakukan di kaki kanan kelinci akan diberi *Alloplast* dan PRF, sedangkan pada kelompok kedua, kaki kanannya diberi *Xenograft* dan PRF dan Pada kelompok ketiga, kaki kanannya diberi PRF. Kemudian dijahit kembali dan dari 27 ekor kelinci akan ditunggu selama 21 hari.⁸

Hewan coba dikorbankan dengan terlebih dahulu dianastesi. Jaringan di tibia kanan diambil dan dipotong dengan gergaji kecil, kemudian dimasukkan ke dalam larutan formalin buffer 70% agar jaringan tidak membusuk, pengerasan jaringan, meningkatkan indeks bias dari berbagai komponen jaringan dan

meningkatkan afinitas jaringan terhadap bahan cat.

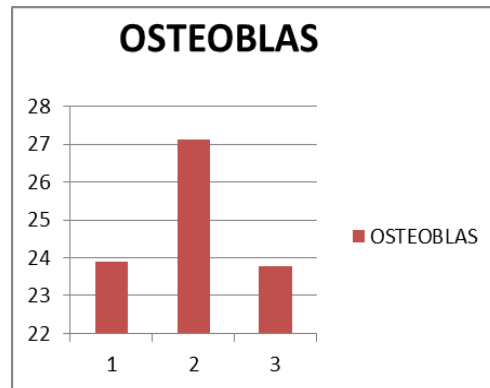
Setelah dilakukan fiksasi jaringan dibilas dengan air mengalir selama 6-9 jam lalu dimasukkan ke dalam larutan dekalsifikasi HNO_3 5 % selama 60 menit. Selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan dengan tahap pemrosesan sebagai berikut : dehidrasi , clearing , impregnasi pada temperatur 56 derajat celcius pada parafin bedding pada parafin, Disayat dengan menggunakan mikrotom, tebal sayatan sekitar 4 mikron. Kemudian dengan pewarnaan DAB (deamino benzidine).

Setelah membuat parafin blok dilakukan tindakan deparafinisasi, setelah itu dilakukan pewarnaan HE. Perhitungan Pemeriksaan dan perhitungan perkembangan sel fibroblas diamati jumlah sel dengan melihat adanya warna coklat pada sitoplasma sel, yang dihitung menurut Soini et al (1998) dan Pizem and Cor (2003) yang dimodifikasi untuk kepentingan sel osteoblas, masing-masing slide pada bidang pandang dengan pembesaran 1000x dan sebanyak 20 lapang pandang. Hasil setiap perhitungan ditulis pada lembar kerja dan diambil nilai rata-rata per lapang pandang. Pemulasan Haematoxilin-Eosin yang digunakan sebagai pembandingan struktural.⁹

HASIL

Hasil analisis statistik menunjukkan hasil pada kelompok *Xenograft* dengan PRF dan kelompok kontrol memiliki kadar osteoblas tidak terdapat perbedaan signifikan (sig 0.996>0.05), sedangkan kadar osteoblas pada *Alloplast* dengan PRF dibandingkan kelompok kontrol

terdapat perbedaan yang signifikan (sig 0,034 < 0.05) dan pada kelompok *Alloplast* dengan PRF dibandingkan dengan *Xenograft* dengan PRF dapat diketahui kadar osteoblasnya memiliki perbedaan yang signifikan (sig 0,041 < 0.05).



Gambar 1. Diagram hasil perbandingan jumlah osteoblas setelah perlakuan dan kontrol dalam pemeriksaan Hematoxilen-Eosin (HE)

Berdasarkan gambar diatas terlihat hasil osteoblas setelah perlakuan menunjukan hasil yang paling baik adalah pada kelompok 2 (*Alloplast* dengan PRF) dan pada kelompok 1 (*Xenograft* dengan PRF) memiliki hasil yang lebih tinggi daripada kelompok 3 (kontrol) tetapi lebih rendah daripada kelompok 2.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini pemeriksaan dengan Hematoxilen- Eosin (HE), menunjukkan hasil pada kelompok *Xenograft* dengan PRF dan kelompok kontrol memiliki kadar osteoblas tidak terdapat perbedaan signifikan (sig 0.996>0.05), sedangkan kadar osteoblas pada *Alloplast* dengan PRF dibandingkan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang signifikan (sig 0,034<0.05) dan pada kelompok

Alloplast dengan PRF dibandingkan dengan *Xenograft* dengan PRF dapat diketahui kadar osteoblasnya memiliki perbedaan yang signifikan ($\text{sig } 0,041 < 0,05$).

Kadar osteoblas yang menunjukkan kadar osteoblast pada *Alloplast* dengan PRF dibandingkan *Xenograft* dengan PRF memperlihatkan hasil *Alloplast* dengan PRF memiliki osteoblas lebih banyak sehingga pembentukan tulang terbentuk lebih baik.

Walaupun *Alloplast* dan *Xenograft* memiliki sifat osteokonduksi, dapat dilihat pada hasil penelitian bahwa, reaksi osteokonduksi lebih baik *Alloplast* daripada *Xenograft* dilihat dari jumlah kadar peningkatan osteoblas perbandingan kedua bahan tersebut pada defek tulang dari kelinci New Zealand. *Alloplast* juga merupakan bahan yang aman karena bisa diserap, mudah dimanipulasi, *biocompatible*, *nonimmunogenik* dan *nonkarsinogenik*.¹⁰ Sedangkan pada *Xenograft* memiliki kekurangan berupa reaksi imunologi berupa penolakan pada tubuh dan lebih mudah terjadi infeksi.¹¹

SIMPULAN

Pada PRF dengan *alloplast* memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan PRF dengan *xenograft* dilihat dari peningkatan jumlah osteoblast.

DAFTAR PUSTAKA

1. Draidi MA. 2009. Differences in amount and architecture of alveolar bone loss in chronic and aggressive periodontitis assessed through panoramic radiographs. Jordan.
2. Savage, Amir; Eaton, Kenneth A.; Moles, David R.; Needleman, Ian. 2009. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 36 (6): 467-458.
3. Newman.MG, Takei HH, Carranza FA. 2011. *Clinical Periodontology* 11th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders. P.825-785; 725-719; 257-63.
4. Illueca FMA. 2006 .Periodontal regeneration in clinical practice. *Medical Oral Patology Oral Circular Bucal*;11: 392-382.
5. Sanjaya Kumar. 2009. Thesis : Processing of Porous Hydroxyapatite. Scaffold. India. P. 24-21; 13-12; 6-1.
6. Chun R. 2009. Effect of growth factors on the osteoinductive potential of Hydroxyapatite β -Tricalcium Phosphate (HA-TCP), A report submitted to the University of Adelaide in partial fulfilment of the requirements of the Degree of Doctor of Clinical Dentistry. The University of Adelaide.
7. Dondy Setyawan. 2012. Ekspresi osteocalcin pada xenograft dengan penambahan PRF. Universitas Airlangga Surabaya
8. Riawan W., Keman K., Wibowati S., Ali M. 2004. Peningkatan insiden apoptosis pada sel-sel trofoblast jaringan plasenta preeklampsia berkaitan dengan peningkatan ekspresi p53 dan penurunan PPAR γ teraktivasi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*,20(3): 136-14.

LAPORAN PENELITIAN

Efektifitas Perbandingan Kombinasi *Clindamycin* dan Ekstrak *Nannochloropsis Oculata* Terhadap Peningkatan Kepadatan Kolagen pada Osteomielitis Mandibula

(Comparison of The Effectiveness Between The Combination of Clindamycin and Nannochloropsis Oculata's Extract to Increase The Density of Collagen on the Mandibular Osteomyelitis)

Faidha Azmi N*, Dian Mulawarmanti**, Noengki Prameswari***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Biokimia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Biomedik Fakultas Kedokteran gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Osteomyelitis is an bone infection caused by bacteria of *Staphylococcus aureus*. The use of clindamycin within long term may cause of resistance. A compound in *Nannochloropsis oculata*'s extract contain antibacterial, antiinflammation, antioxidant that can be used as therapy of osteomyelitis. **Purpose:** Knowing comparison of the effectiveness between the combination of clindamycin and *Nannochloropsis oculata*'s extract to increasing the density of collagen on the mandibular osteomyelitis. **Materials and Methods:** The experimental research's type with a design post test only control group. Fourty male wistar rats as model of mandibular osteomyelitis has made by inducing bacteria of *Staphylococcus aureus* inserted in socket after an extraction of left incisive teeth on lower jaw and waiting for 28 days. The rats are divided into 5 group: negative control (K1), clindamycin (K2), clindamycin with 50mg *Nannochloropsis oculata*'s extract (K3), clindamycin with 100mg *Nannochloropsis oculata*'s extract (K4), clindamycin with 200mg *Nannochloropsis oculata*'s extract. After 7 days, all of group are euthanized and then the density of collagen measured using histopathology slide used Masson's Trichom and 100x enlargement, so then analyzing the density of collagen by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney. **Result:** There were significant differences in collagen between K1 and K2 ($p=0,037$), K1 and K3 ($p=0,013$), K1 and K4 ($p=0,002$), K1 and K5 ($p=0,000$). and there were significant differences in collagen between K2 and K5 ($p=0,013$). But there were no significant differences in collagen between group K2 and K3 ($p=1,000$), K2 and K4 ($p=0,288$). **Conclusion:** The combination of clindamycin with 200mg *Nannochloropsis oculata*'s extract having an effect on increasing number of the density of collagen significantly on the healing of mandibular osteomyelitis.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, collagen, osteomyelitis.

Correspondence: Dian Mulawarmanti, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: dianmulawarmanti@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Osteomielitis merupakan infeksi tulang yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Penggunaan clindamycin dalam jangka panjang dapat menyebabkan resistensi. Senyawa yang ada pada ekstrak *Nannochloropsis oculata* mengandung antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan yang dapat digunakan sebagai terapi osteomielitis. **Tujuan:** Mengetahui efektifitas perbandingan kombinasi clindamycin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada osteomielitis mandibula. **Bahan dan Metode:** Rancangan penelitian ini adalah post test only control group design,. Dengan menggunakan 40 tikus wistar jantan model osteomielitis mandibula dibuat dengan menginduksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang dimasukkan kedalam soket setelah ekstraksi pada gigi insisif kiri rahang bawah dan ditunggu selama 28 hari. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok: kontrol negatif (K1), clindamycin (K2), clindamycin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 50mg (K3), clindamycin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 100mg (K4), clindamycin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 200mg (K5). Setelah perlakuan selama 7 hari semua kelompok dikorbkan lalu kepadatan kolagen diukur menggunakan preparat HPA dengan pengecatan Masson's Trichom dan pembesaran 100x, kemudian dilakukan analisis kepadatan kolagen menggunakan Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney. **Hasil:** Terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara K1 dengan K2 ($p=0,037$), K1 dengan K3 ($p=0,013$), K1 dengan K4 ($p=0,002$), K1 dengan K5 ($p=0,013$), dan terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara K2 dan K5 ($p=0,013$). Tetapi tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen secara signifikan antara K2 dan K3 ($p=1,000$), K2 dan K4 ($p=0,288$). **Simpulan:** Kombinasi clindamycin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 200mg memiliki pengaruh terhadap peningkatan jumlah kepadatan kolagen secara signifikan pada penyembuhan osteomielitis mandibula.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, kolagen, osteomielitis

Correspondence: Dian Mulawarmanti, Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arief Rahman Hakim 150 Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: dianmulawarmanti@yahoo.com

PENDAHULUAN

Osteomielitis merupakan proses peradangan dengan infeksi bakteri yang terjadi pada tulang dan sumsum tulang. Infeksi yang terjadi dapat disebabkan oleh infeksi yang disebabkan mikroorganisme odontogenik yang dominan yaitu *Staphylococcus aureus* dan fraktur mandibula yang dapat terjadi akut maupun kronis. Pada manusia, osteomielitis lebih sering terjadi pada mandibula karena lesi bersifat lebih menyebar, aliran suplai darah pada mandibula kurang dan sering terjadi pada bagian posterior dari mandibula.

Penanganan osteomielitis masih merupakan masalah dalam bidang orthopedi karena membutuhkan biaya yang besar, waktu yang lama pengalaman yang cukup dari dokter bedah, dan penanganannya sulit. Osteomielitis sulit untuk didiagnosis dan belum ada pendekatan prospektif untuk mengidentifikasi sehingga penyembuhannya cukup sulit, karena sering disertai kekambuhan dan eksaserbasi. ^{1,13, 17, 24, 26}

Osteomielitis mandibula dapat diobati dengan baik menggunakan terapi kombinasi antibiotik dan operasi, yaitu sekuestrektomi, dekontikasi dan debridement. Tujuan

operasi yaitu untuk membuang jaringan yang nekrotik, meningkatkan aliran darah, tekanan vaskularisasi tulang korteks dan penyembuhan pada daerah tulang yang terkena serta dilakukan drainase untuk menghilangkan pus. Pada soket yang terbuka dilakukan irigasi dengan larutan antiseptik atau *saline*. Apabila tidak dilakukan pengobatan yang lengkap akan menyebabkan osteomielitis yang persisten. Osteomielitis dapat diobati dengan menggunakan antibiotik. *Clindamycin* sering digunakan karena merupakan obat yang cukup baik untuk kedua macam bakteri *Staphylococcus aureus* dan anaerob. Kekurangan dari antibiotik bila digunakan dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan komplikasi dan resistensi bakteri. Faktor penyulit lain adalah ketidakmampuan untuk memberikan antibiotik dengan konsentrasi yang efektif ke dalam lokasi infeksi.^{1, 2, 4, 16, 17, 23, 26, 28}

Salah satu biota laut yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alami adalah jenis mikro alga *Nannochloropsis occulata*. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek dari kandungan bahan-bahan alam sebagai obat yang dapat membantu dan mempercepat proses penyembuhan luka serta memiliki kandungan sebagai anti bakteri. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Selvendran (2013), ekstrak *Nannochloropsis Oculata* memiliki daya antibakteri yang signifikan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 22 mm.^{8, 21}

Nannochloropsis oculata adalah salah satu alga laut yang memiliki senyawa bahan aktif yang diduga mampu digunakan sebagai

antioksidan. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* mengandung senyawa aktif yang salah satunya berupa terpenoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Kandungan lainnya adalah *alkaloid* dan *flavonoid*. Kandungan tersebut memiliki daya antiinflamasi, antibakteri, antioksidan dan analgesik yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Pada penelitian Nuno dkk (2012) dengan menggunakan tikus yang dibuat diabetes, ekstrak *Nannochloropsis oculata* sebagai antioksidan dengan dosis 50 ml menunjukkan adanya penurunan glukosa dan kolesterol serta tidak memiliki efek negatif pada lambung dan saluran pencernaan.²⁷

Senyawa *flavonoid* dan *alkaloid* yang terkandung dalam *Nannochloropsis oculata* memiliki salah satu khasiat sebagai analgesik. *Alkaloid* bekerja dengan mengubah persepsi nyeri dengan meningkatkan ambang nyeri di sistem saraf pusat. Senyawa *flavonoid* merupakan senyawa *fenolik* alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioefektifitas sebagai obat. Manfaat *flavonoid* untuk melindungi struktur sel, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Kolagen adalah protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraseluler dan merupakan protein yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh manusia. *Flavonoid* mampu meningkatkan peran TGF- β dalam mempercepat sintesis dan deposit kolagen yang dapat berpengaruh terhadap peningkatan sintesis kolagen menyebabkan proses penyembuhan luka dapat lebih cepat.^{8,12}

Efektifitas perbandingan kombinasi *clindamycin* dan ekstrak *Nannochloropsis occulata* terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada

osteomielitis mandibula belum pernah diteliti. Maka pada penelitian ini penulis ingin mengetahui pada konsentrasi mana yang lebih efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka osteomielitis mandibula.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini tergolong jenis penelitian *true experimental laboratories* dengan desain penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Lokasi penelitian di: 1) Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga– Surabaya; 2) Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr.Sutomo– Surabaya; 3) Balai Besar Laboratorium Klinik–Surabaya; 4) laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga– Surabaya. Hewan coba menggunakan 40 ekor *Rattus Norvergicus* strain *Wistar*, dengan kriteria yaitu :kelamin jantan, umur 3 bulan, berat badan 150-200 gram, sehat fisik, gigi insisif 1 sebelah kiri rahang bawah utuh, tidak karies dan tidak fraktur.²⁵

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang hewan coba, alat pembedahan tikus untuk mengambil bahan uji (*scalpel*, pinset, gunting, kapas), *syringe*, kateter plastik, bola steril yang terbuat dari serat karbon, jarum jahit, benang nylon untuk jaringan, *chamber*, glass lab untuk hapusan dan mikroskop.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: ekstrak *Nannochloropsis oculata*, bakteri *Staphylococcus aureus* 2×10^9 (setara 10 *mcfarlan*) dalam 1 mm cairan suspensi kalsium klorida 10%, antibiotik *clindamycin*, ekstrak *Nannochloropsis oculata*, pakan tikus

dan alkohol 70% untuk sterilisasi alat, larutan antiseptik, obat anestesi *ketamin hydrochloride* (25 mg/kg BB) dan *xylazine hydrochloride* (15 mg/kg BB), larutan *buffer formalin* (larutan formalin 10% dalam *phospat buffer saline* pada pH 7,0), dan bahan pengecatan preparat hapusan kolagen dengan menggunakan *Masson's trichrom*.

Empat puluh ekor *Rattus norvergicus* strain *wistar* jantan (3 bulan) berat badan 180-200 gram dibagi menjadi 5 kelompok. Pada masing-masing kelompok terdapat kelompok kontrol negatif (pencabutan gigi, induksi bakteri *Staphylococcus aureus*), kelompok kontrol positif (pencabutan gigi, induksi bakteri *Staphylococcus aureus*, diberi terapi *clindamycin*) dan kelompok perlakuan (pencabutan gigi, induksi bakteri *Staphylococcus aureus*, diberi terapi *clindamycin* 10 mg/kg BB dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 50 mg/kg BB), kelompok perlakuan (pencabutan gigi, induksi bakteri *Staphylococcus aureus*, diberi terapi *clindamycin* 10 mg/kg BB dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 100mg/kg BB), kelompok perlakuan (pencabutan gigi, induksi bakteri *Staphylococcus aureus*, diberi terapi *clindamycin* 10mg/kg BB dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 200 mg/kh BB). dikandangkan tiap 5 ekor (ukuran kandang 60x40x34 cm), Tikus diadaptasi selama 1 minggu dalam kandang ukuran 40 cm x 30 cm x 14 cm dan ditempatkan dalam ruangan yang cukup udara dan cahaya. Makanan diberikan dengan cara diletakkan dalam wadah kecil dan diberikan tiap pagi. Sedangkan minuman diberikan dalam botol 300 ml yang dilengkapi pipa kecil dan diisi air matang. Hewan coba diadaptasi

selama 1 minggu untuk mendapatkan kesehatan umum yang baik dan penyesuaian dengan lingkungan. Terakhir dilakukan penimbangan hewan coba untuk memenuhi kriteria sampel.

Setelah pembagian kelompok, tikus ditimbang lalu diberi anestesi menggunakan kombinasi *Ketamine* dan *Xylazine* (4:1) sebanyak 0,1ml tiap tikus. Ditunggu selama 1-1,5 jam dari penyuntikan/setengah dari *duration of action*, lalu dilakukan pencabutan gigi insisif kiri rahang bawah menggunakan tang modifikasi dan elevator. Cuci lubang gigi dengan kalsium klorida 10% dengan menggunakan jarum suntik dan kateter plastik tipis sampai perdarahan berhenti. Masukkan bola steril yang terbuat dari serat karbon kedalam tabung yang berisi *S. aureus* (strain VT668,2 miliar sel mikroba dalam 1 milliliter) dengan tujuan agar bakteri menempel pada bola steril. Kemudian masukkan bola tersebut kedalam lubang gigi yang dicabut kemudian dilakukan irigasi dengan larutan antiseptik atau saline steril. Pada soket pasca pencabutan dan ditunggu selama 28 hari untuk terjadinya *Osteomyelitis*. Setelah dipastikan terjadi komplikasi tersebut, masing-masing tikus diberi perlakuan yang berbeda sesuai kelompoknya.

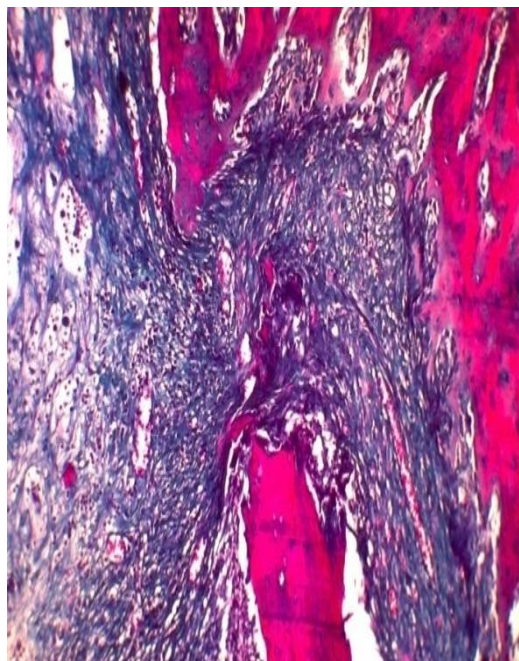
Pada hari ke 37 setelah perlakuan, tikus dieuthanasia dan dibiopsi untuk mengambil rahang bawah kiri. Kemudian organ difiksasi dalam larutan *buffer formalin* dan dilunakkan dengan EDTA. Hewan coba yang telah dilakukan dekaputasi lalu dikuburkan.

Mandibula yang telah difiksasi dalam larutan *buffer formalin* diberikan ke Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr.Sutomo-Surabaya

dan ditunggu hingga mandibula tadi melunak yang kemudian diproses dan dibuat preparat dengan menggunakan pewarnaan *Masson's Trichrom* lalu diamati menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 100x sebanyak 1 lapang pandang. Kepadatan serat kolagen dihitung dengan metode skoring dan dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.

HASIL

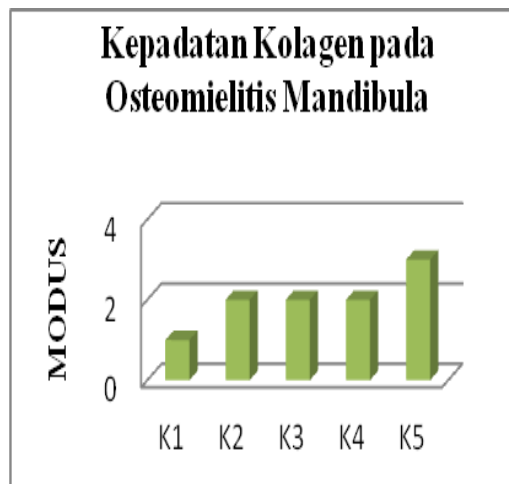
Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 17.



Gambar 1. Perhitungan kepadatan kolagen pada foto preparat *Masson's Trichrom*

Tabel 1. Hasil uji statistik deskriptif modus kepadatan kolagen kelompok perlakuan irigasi

Kelompok	N	Modus
K1	8	1
K2	8	2
K3	8	2
K4	8	2
K5	8	3
	40	

**Gambar 2.** Nilai skoring terbanyak jumlah kepadatan kolagen pada masing-masing kelompok

Pada hasil analisis *Kruskal-Wallis* kelompok perlakuan irigasi, diperoleh nilai $p=0,000^*$ ($p<0,05$) yang artinya terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan pada semua kelompok.

Tabel 2. Hasil analisis *Kruskal-Wallis* kelompok perlakuan irigasi

Variabel	Asymp. Sig.
Kepadatan kolagen	0,000*

Keterangan: $p < 0.05$ signifikan

Selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney* mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara dua kelompok dengan derajat kemaknaan $p<0,05$.

Tabel 3. Hasil uji beda dengan *Mann-Whitney U* kombinasi terapi antibiotik dan *Clindamycin* dengan pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap peningkatan kepadatan kolagen osteomielitis mandibula

Keterangan * $p<0,05$

Kelompok	Modus	Kelompok	Modus	P
K1	1	K2	2	0,037*
		K3	2	0,013*
		K4	2	0,002*
		K5	3	0,000*
K2	2	K3	2	1,000
		K4	2	0,288
		K5	3	0,013*
K3	2	K4	2	0,175
		K5	3	0,004*
K4	3	K5	3	0,046*

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus wistar putih (*rattus novergicus strain wistar*) jantan dengan Berat badan berkisar 150-200 gram dan berusia 3 bulan sebanyak 40 ekor. Pemilihan tikus wistar sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia. Penggunaan hewan coba tikus berjenis kelamin jantan dengan dasar pertimbangan memiliki metabolisme tubuh seperti manusia dibandingkan dengan tikus berkelamin betina, tikus tersebut akan mengalami menstruasi dimana terjadi ketidakseimbangan hormon yang akan mempengaruhi hasil penelitian.¹ Pembuatan model osteomielitis pada tikus dengan cara diinduksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang dimasukkan kedalam soket yang sebelumnya telah dilakukan ekstraksi pada gigi insisif kiri rahang bawah dan ditunggu selama 28 hari

sehingga terjadi osteomielitis mandibula. Pada kelompok kontrol negatif terjadi invasi bakteri *Staphylococcus aureus* kedalam tulang mandibula menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung dan mempunyai kemampuan untuk tumbuh serta menghindar dari imunitas inang, sehingga dalam penanganannya dibutuhkan pengobatan yang maksimal. Selanjutnya, akan terjadi peradangan, hiperemia serta peningkatan permeabilitas kapiler dan infiltrasi granulosit. Timbul jaringan nekrosis akibat enzim proteolitik yang terlepas dari perusakan bakteri serta terjadi trombus vaskular. Pus yang terbentuk terdiri dari jaringan nekrotik dan akumulasi bakteri yang ada di dalam leukosit. Kemudian terjadi peningkatan intramedulla sehingga mengakibatkan kolaps vaskular, stasis vena dan iskemia. Jika terjadi akumulasi pus secara terus-menerus akan menembus periosteum dan fistula. Pus yang menyebar keseluruh jaringan menurunkan pasokan vaskular, iskemik dan hipoksia, dimana pada saat pembuluh darah kekurangan suplai oksigen maka pembentukan fibroblas tidak dapat terjadi dan sintesis kolagen menjadi terhambat, tulang kekurangan suplai darah menjadi nekrotik sehingga menyebabkan osteomielitis yang disertai disfungsi saraf alveolaris inferior.^{15, 17, 26}

Perlakuan yang dilakukan pada kelompok kontrol positif menggunakan antibiotik yang mana merupakan terapi utama pada osteomielitis. *Clindamycin* sering digunakan karena merupakan obat yang cukup baik untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan anaerob. *Clindamycin* bekerja dengan cara mengikatkan dirinya pada subunit 30S

dari ribosom bakteri yang berperan dalam menghambat sintesis protein dengan menghalangi perlekatan *tRNA-aminoasil* yang bermuatan, sehingga *clindamycin* menghalangi penambahan asam amino baru pada rantai peptida yang terbentuk. Adanya gangguan sintesis protein pada bakteri bisa mengakibatkan kematian sel bakteri, sehingga proses inflamasi menjadi lebih cepat yang dapat mempengaruhi percepatan penyembuhan luka. Pada saat yang sama terjadi proses reparasi yang mana baru selesai sempurna setelah bakteri mati sehingga penyembuhan luka dapat terjadi. Proses penyembuhan luka terjadi terus-menerus dimana sel inflamasi epitel, endotel, trombosit dan fibroblas berinteraksi untuk mengembalikan kerusakan jaringan dengan memproduksi kolagen.^{5, 11, 17}

Hasil dari skoring jumlah kepadatan kolagen antara kelompok kombinasi *clindamycin* dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 50 mg dan 100 mg dibanding kelompok *clindamycin*, hanya ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan dosis 200 mg yang terdapat peningkatan jumlah kepadatan kolagen secara signifikan. Hal ini karena, pada dosis 50 mg dan 100 mg belum mencapai dosis terapeutik yang dapat diartikan bahwa kandungan ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan dosis tersebut kurang mampu membunuh bakteri untuk melawan infeksi pada osteomielitis mandibula. Pada dosis 200 mg dapat meningkatkan jumlah kepadatan kolagen karena dengan dosis ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang lebih besar mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kepadatan kolagen pada osteomielitis mandibula. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan

diketahui bahwa ekstrak *Nannochloropsis oculata* mengandung senyawa aktif *alkaloid*, *terpenoid* dan *flavonoid* yang memiliki daya antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka.^{8, 27}

Senyawa *alkaloid* memiliki mekanisme kerja penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun *peptidoglican* pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Didalam senyawa *alkaloid* juga terdapat gugus basa yang mengandung reaksi nitrogen yang akan bereaksi dengan senyawa asam amino menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA kemudian akan mengalami kerusakan yang akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri sehingga reaksi inflamasi akan berlangsung singkat yang menjadikan proses penyembuhan luka menjadi lebih cepat.¹⁹

Senyawa *terpenoid* memiliki potensi anti-inflamasi yang ada pada kandungan saponin. Mekanisme antiinflamasi pada saponin dengan menghambat pembentukan eksudat dan menghambat permeabilitas vaskuler. Senyawa *flavonoid* juga berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi. Aktivitas antiinflamasi *flavonoid* dilakukan melalui penghambatan siklooksigenase dan lipoksigenase sehingga terjadi pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan perlukaan. Selanjutnya reaksi inflamasi akan

berlangsung lebih singkat dan kemampuan proliferasi dari TGF- β tidak terhambat, sehingga proses proliferasi dapat segera terjadi. Aktivitas *flavonoid* dalam mempercepat proses penyembuhan luka didukung juga oleh mekanisme antioksidan dalam melakukan penghambatan aktivitas radikal bebas.^{7, 10}

Senyawa *flavonoid* masuk dalam kelompok polifenol, yang dikenal berpotensi sebagai antioksidan berhubungan dengan kemampuannya dalam melawan radikal bebas. Antioksidan sebagai salah satu komponen utama dalam penyembuhan luka. Antioksidan melawan kelebihan protease dan ROS (*reactive oxygen species*) yang seringkali dihasilkan oleh akumulasi neutrofil di area luka dan melindungi inhibitor protease dari kerusakan oksidatif. ROS bertanggung jawab terhadap kerusakan oksidatif dan penuaan dari makromolekul biologis seperti DNA, karbohidrat dan protein. Peran *flavonoid* sebagai antioksidan dapat melindungi fibroblas dari kerusakan oksidatif. Apabila fibroblas terlindungi, maka kolagen akan disintesis secara optimal. Komponen hidroksil yang dimiliki oleh *flavonoid* pada reaktivitas yang tinggi dapat menyebabkan radikal bebas menjadi tidak aktif yang berakibat pada aktivasi mediator inflamasi oleh radikal bebas dapat dihambat.¹⁸

Kandungan lain dari ekstrak *Nannochloropsis oculata* sebagai antioksidan yang dapat berfungsi dalam proses penyembuhan luka adalah kandungan *Omega eicosapentenoic acid* (EPA) dan *docohexaenoic acid* (DHA) yang termasuk asam lemak tidak jenuh jenis omega 3 (ω -3) (Putri, 2013).

Kandungan tersebut berfungsi untuk mempercepat perbaikan jaringan yang rusak dan menghalangi pembentukan *prostaglandin* penyebab radang tinggi. Omega 3 mempengaruhi produksi PGE₂, yang dapat meningkatkan regulasi produksi kolagen. Omega 3 menyebabkan peningkatan sintesis kolagen dengan cara menurunkan faktor PGE₂ (Damaiyanti, 2012). *Karotenoid* mempengaruhi regulasi pertumbuhan sel, dan memodulasi ekspresi gen dan respon kekebalan tubuh. (Daniel, 2008). *Phyocyanin* protein kompleks yang terdapat lebih dari 20% dalam seluruh berat kering, adalah pigmen terpenting dalam *spirulina*. Pigmen inilah yang berperan sebagai antioksidan.^{3,6, 9, 10}

Berdasarkan hasil pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan *clindamycin* saja hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak dapat meningkatkan jumlah kepadatan kolagen secara signifikan. Sedangkan kelompok perlakuan *clindamycin* dengan kelompok kombinasi *clindamycin* dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 200 mg terjadi peningkatan kepadatan kolagen secara signifikan dibandingkan dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 50 mg dan 100 mg. Hal ini disebabkan pada kelompok kombinasi ekstrak *Nannochloropsis oculata* 200 mg terdapat pengobatan tambahan dari efek *clindamycin* sebagai antibakteri dan kombinasi *clindamycin* dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang mengandung *senyawa alkaloid*, *terpenoid*, dan *flavonoid* yang mana terdapat daya antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

SIMPULAN

Kombinasi *clindamycin* dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 200mg memiliki pengaruh terhadap peningkatan jumlah kepadatan kolagen secara signifikan pada penyembuhan osteomyelitis mandibula.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adiwenanto AW and Sutejo. 2007. Management of Osteomielitic Chronic Medical Patient at Dr. Kariadi Semarang in 2001-2005 Periods. Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang. Available from <http://eprints.undip.ac.id/22318/>
2. Bagheri S and Jo C. 2008. *Clinical Review of Oral and Maxillofacial Surgery*. Georgia: Mosby-Elsevier. P. 92.
3. Bayu A. 2009. Hutan mangrove sebagai salah satu sumber produk alam laut. Jakarta: Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Oseana, 34(2): 23-15.
4. Cawson R and Odell E. 2008. *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*. Philadelphia: Churchill Livingstone-Elsevier. P. 102-99.
5. Collier M. 2003. *Understanding Wound Inflammation*. Boston, 99: 63. Available from <http://www.nursingtimes.net/home/clinical-zones/wound-care/understanding-wound-inflammation/205361.article>
6. Damaiyanti. 2012. Aplikasi Ekstrak Air Teripang Emas (*Stichopus hermani*) Sebagai Akselerator Fibroblas dan Kolagen tipe I Ulkus Traumatikus Mukosa Rongga Mulut Tikus Wistar. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya.
7. Darsana. 2012. Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escheria Coli secara In Vitro. Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar. H. 346.
8. Fadhilah A. 2013. Daya Hambat Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri Enterococcus faecalis. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 56
9. Fretes H, Susanto, Prasetyo B, Limantara. 2012. Karotenoid dari Makroalgae dan Mikroalgae: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. J.Teknologi dan Industri Pangan, 23(2): 223-222.

10. Indraswary R. 2011. Efek Konsentrasi Ekstrak Konsentrasi Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill) Topikal Pada Epitalisasi Penyembuhan Luka Gingiva Labial Sprague Dawley In Vivo. *Majalah Sultan agung*, 59(1): 124.
11. Jewets, M, adelsberg's. 2005. Mikrobiologi Kedokteran Alih Bahasa bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. H. 225-224.
12. Kafaie S, Loh SP, Muhtarrudin N. 2012. Acute and Sub-chronic Toxicological Assessment of *Nannochloropsis oculata* in Rats. *African Journal of Agricultural Research*, 7 (7): 1220-1225. Available from www.academicjournals.org/ajar/pdf/pdf2012/19Feb/Kafaieetal.pdf. Diakses 4 April 2013.
13. Konjevic et al. 2011. Prevalence of Mandibular Osteomyelitis in Roe Deer (*Capreolus Capreolus*) in Slovenia. *Journal of wildlife diseases*, 47(2): 400-393. Available from <http://www.torna.do/s/Prevalence-of-mandibular-osteomyelitis-in-roe-deer-Capreolus-capreolus-in-Slovenia/> Peterson LJ, 2004. Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nded., London: BC Decker Inc. P. 322-313.
14. Kusumawati D. 2004. Biologi Hewan Coba. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. H. 20.
15. Novriansyah R. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid Selama 2 dan 14 hari. Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang. H. 20-17.
16. Pedlar J, Frame JW. 2001. Oral and Maxillofacial Surgery. Churchill Livingstone: Elsevier, p. Topazian RG, 2002. Oral and Maxillofacial Infections. 4thed., Philadelphia: W.B Saunders. P. 226-214.
17. Peterson LJ. 2004. Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nded., London: BC Decker Inc. P. 322-313.
18. Raras T M, Dewi D S.L.I, Nugraheny. 2008. Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap Optimalisasi Kepadatan Kolagen Luka Bakar Derajat IIA Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Available from http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:RCi9jKJtYocJ:old.fk.ub.ac.id/artikel/id/filedownload/keperawatan/MAJALAH_Ni%2520Wayan%2520Septi%2520Nugraheny_0910720008.pdf+&cd=1&hl=id&ct=clnk.
19. Rinawati ND. 2011. Daya antibakteri tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete* I) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Tugas akhir, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya. H. 9.
20. Rizka, Budipramana, Fauziah. 2008. Kepadatan Kolagen Tipe 1 Pada Luka Operasi Tikus Wistar Yang Mengalami Anemia Karena perdarahan Akut. *Jurnal. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya*.
21. Selvendran, 2013. Studies On Antimicrobial Compounds From Selected Marine Phytoplanktons. 4 (2):876-888. Available from http://www.ijpbs.net/cms/php/upload/2200_pdf.pdf. Diakses 15 Agustus 2013.
22. Smeltzer and Gillapsy. 2000. Molecular Pathogenesis of Staphylococcal Osteomyelitis. Department of Microbiology and Immunologi, University of Arkansas of Medical Sciences, Little Rock, Arkansas.
23. Spagnolo, Greco F, Ciolli R L, Teti A, Posteraro P. 1993. Chronic Staphylococcal osteomyelitis: a new experimental rat model, 61(12):5225 available from <http://iai.asm.org/>. Diakses 4 April 2013.
24. Suchahyo B. 2005. Peranan Terapi Oksigen Hiperbarik pada Perkembangan Penanganan Kasus-kasus Kedokteran Gigi. *Majalah kedokteran gigi. Edisi khusus temu ilmiah IV* 11-13: 388.
25. Sudibyo. 2009. Metodologi Penelitian. Aplikasi Penelitian Bidang Kesehatan. Surabaya: Unesa University Press. H. 106-105.
26. Topazian RG. 2002. Oral and Maxillofacial Infections. 4thed., Philadelphia: W.B Saunders. P. 226-214.
27. Yanuhar U. 2011. Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Kadar Radikal Bebas Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, Vol (1): 2. Available from <http://journal.lib.unair.ac.id/index.php/JIPK/article/download/599/599>. Diakses 15 Agustus 2013.
28. Yeoh SC, MacMahon S, Schifter M. 2005. Chronic Suppurative Osteomyelitis of the Mandible: Case Report. *Australian Dental Journal*. Available from http://www.researchgate.net/publication/7528720_Chronic_suppurative_osteomyelitis_of_the_mandible_case_report.

LAPORAN PENELITIAN

Karakterisasi Ekstrak Air Teripang Emas (*Stichopus hermanii*)

Characterization Of Water Extract Gold Sea Cucumber (*Stichopus hermanii*)

Dian Widya Damaiyanti

Biologi Oral Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Indonesia is the country with the biggest sea cucumbers world's producer. So far, sea cucumbers are only used as a side dish alone. Indonesia can provided added value and high economic value of gold sea cucumber through right procedure. A lot of gold sea cucumbers active substance that are suspected to have an influence on wound healing. For the best result, extract gold sea cucumber must be prepare with correct procedure. Water extract is one of a safe procedure with a small risk that may damage parts of the active substance. **Purpose:** The aim of this study is to know the characterization of water extract gold sea cucumber (*Stichopus hermanii*). **Materials and Methods:** Gold sea cucumbers were collected, homogenized with distilled water and shaken with water-bath shaker. Then extract was freeze dried, the result then characterized using spectrophotometer. **Result:** The largest component to fewest component of water extract gold sea cucumber is total protein 76,82%, essential amino acid 48,11%, non essential amino acid 28,70%, glycoprotein 4,62%, collagen 4,05%, GAG's 1,62%, proteoglycan 1,13%, heparin sulfat 1,02%, calcium 59%, saponin 56%, heparin 38%, hyaluronat acid 29%, calcium 0,59%, Zinc 0,01%. **Conclusion:** There is many active substance of water extract gold sea cucumber that involed in wound healing process.

Keywords: Gold sea cucumber, active substance, water extract, wound healing

Correspondence: Dian W Damaiyanti, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 08563385805, Email: damaiyanti02@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Indonesia merupakan negara penghasil teripang terbesar didunia. Selama ini Teripang hanya dimanfaatkan sebagai konsumsi makanan saa. Indonesia dapat menambahkan nilai ekonomi lebih tinggi melalui prosedur yang tepat. Substansi aktif dari teripang emas diduga berperan penting pada penyembuhan luka. Mendapatkan hasil terbaik dari suatu proses ekstraksi harus melalui prosedur yang tepat. Ekstraksi menggunakan air merupakan ekstraksi yang aman dan menimbulkan resiko yang kecil pada kerusakan bahan aktif. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik dari ekstrak air Teripang emas (*Stichopus hermannii*). **Bahan dan Metode:** Teripang emas dikumpulkan, diberikan, dihomogenisasi dengan air distilasi dan dikocok dengan water-bath shaker. Hasil shaker kemudian difreeze dried. Kemudian hasil freeze dried dianalisa secara spektrofotometri. **Result:** Komponen terbanyak sampai tersedikit dari ekstrak teripang emas adalah protein total 76,82%, asam amino esensial 48,11%, asam amino non esensial 28,70%, glycoprotein 4,62%, Kolagen 4,05%, Glikosaminoglikan (GAG's) 1,62%, proteoglikan 1,13%, heparin sulfat 1,02%, calcium 59%, saponin 56%, heparin 38%, hyaluronat acid 29%, Kalsium 0,59%, Zinc 0,01%. **Simpulan:** Terdapat banyak sekali bahan aktif yang terdeteksi pada karakterisasi ekstrak air teripang emas yang terlibat pada proses penyembuhan luka.

Kata kunci: Teripang emas, bahan aktif, ekstrak air, wound healing

Korespondensi: Dian W Damaiyanti, Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 08563385805, Email: damaiyanti02@gmail.com

PENDAHULUAN

Sea cucumbers atau teripang merupakan salah satu spesies yang paling banyak dari golongan invertebrata laut. Lebih dari 1400 jenis telah diidentifikasi.¹ Teripang termasuk dalam kelompok hewan kelas *Holothuroidea*. Tubuhnya lunak, silindris, dan memanjang seperti buah mentimun. Itulah sebabnya teripang disebut mentimun laut (*Sea cucumbers*).²

Teripang selain sebagai sumber protein, juga dikenal secara luas sebagai obat tradisional. Genus *Stichopus hermannii* atau lebih dikenal dengan gamat memiliki khasiat menyembuhkan *gastric ulcer*, arthritis, nyeri, mengurangi hipertensi, dan meningkatkan penyembuhan luka.³

Indonesia merupakan negara dengan potensi teripang terbesar dan

penghasil teripang terbesar didunia. Sampai saat ini Indonesia belum mampu mengolah teripang menjadi produk yang dapat memberikan nilai tambah dan bernilai ekonomi tinggi. Teripang hanya dimanfaatkan sebagai makanan sampingan saja. Produksi teripang Indonesia pada tahun 1994 sekitar 1.318.000kg. Data terbaru pada budidaya jaring apung teripang menghasilkan 42ton selama tahun 2004.²

Teripang emas (*Stichopus hermannii*) umumnya digunakan dalam bentuk Gamat atau dalam bentuk bubuk. Gamat biasanya diformulasikan menjadi lotion atau salep topikal. Teripang kaya akan *growth factor* sehingga dapat memperbaiki sel-sel rusak. Kandungan protein teripang mencapai hingga 82%, dari seluruh komponen teripang dan 80% bagian dari protein tersebut merupakan

kolagen. Kandungan lain teripang adalah asam lemak essensial, berguna memperkuat sel hati untuk mengeluarkan antibodi. Karena itu juga teripang (gamat) kerap disebut imunomodulator.² Pada penelitian yang dilakukan oleh Yulianto dengan menggunakan produk ekstrak gamat menunjukkan adanya peningkatan proliferasi fibroblas, hal ini dimungkinkan karena ekstrak gamat dapat merangsang PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*) dan TGF (*Transforming Growth Factor*) untuk berinteraksi dan merangsang FGF (*Fibroblas Growth Factor*) untuk merangsang proliferasi fibroblast sehingga penyembuhan luka terjadi lebih cepat.⁴ Penelitian menggunakan *sulfated GAGs* (glikosaminoglikan) dari ekstrak teripang emas menunjukkan peningkatan penyembuhan melalui percepatan kontraksi luka full thickness pada kulit tikus.⁵ Kandungan lain teripang emas yang diduga mempunyai pengaruh terhadap penyembuhan luka adalah omega 3 dan saponin.²

Kandungan teripang emas, dapat diperoleh dengan metode ekstraksi pelarut. Prinsip dari ekstraksi adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti etanol, metanol, etil asetat, heksana dan air mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi.⁶

Proteoglikan bersifat hidrofilik sehingga memiliki kemampuan mengikat air.⁷ Penggunaan pelarut air merupakan prosedur yang aman dengan resiko kecil terhadap bahan aktif dari teripang emas.

Freeze drying atau yang dikenal dengan pengeringan beku. Metode *freeze drying* (liofilisasi) merupakan metode yang sesuai untuk bahan sampel yang sensitif terhadap panas dan baik sekali digunakan dalam pengembangan farmasi.⁸

Indonesia sebagai penghasil teripang emas terbesar sudah seharusnya mulai memanfaatkan teripang emas dalam berbagai bidang, termasuk bidang kesehatan. Pemanfaatan bahan alami saat ini mulai banyak digunakan masyarakat, oleh karena itu berbagai macam bahan alami telah dikembangkan untuk berbagai terapi.⁹ Berdasarkan hal tersebut diperlukan isolasi dan identifikasi kandungan ekstrak air teripang emas.

BAHAN DAN METODE

Esktrak teripang emas adalah sediaan yang dibuat dengan mengekstrak kandungan teripang emas dengan air, dan dikeringkan dengan teknik freeze drying.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini Teripang Emas *Stichopus hermanii* dewasa yang diperoleh dari hasil tangkapan nelayan di Provinsi Kalimantan daerah Bontang, dengan berat 200-300 gr/ ekor, Aquadest. Alat yang digunakan adalah Becker Glass, Stirer, Pipet, Oven, Pengayak 60 mesh, Timbangan, Pengaduk kaca, Vibrator,

Tabung reaksi dan rak, Termometer, waterbath shaker, erlenmeyer, freeze dry, vorteks, pipet mikro, pipet ukur, pipet tetes, gelas ukur, gelas piala, labu takar, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1240), rotary evaporator (Bibby), erlenmeyer, spatula, tabung reaksi, kertas saring, penangas air, pH meter, aluminium foil, dan alat-alat analisis.

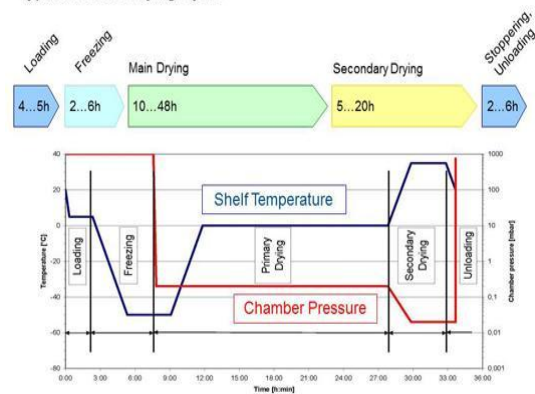
Ekstraksi Pelarut Air Satu Tahap

Teripang Emas dikumpulkan dan kemudian dicuci dengan air mengalir, kemudian dipotong secara longitudinal mengikuti sumbu tubuh teripang, kemudian organ dalam dipisahkan. Bagian tubuh yang masih tersisa dikeringkan diatas kertas blotting, sebelum di homogenisasi menjadi tekstur yang halus. Ekstrak disiapkan dengan cara, setiap 50gram jaringan yang telah dihomogenisasi ditempatkan pada conical flask 250ml ditambahkan 100ml air (*distilled water*). Kemudian campuran dikocok dengan *water-bath shaker* pada kecepatan 80rev/min pada suhu kamar selama 4jam. Hasil dari percampuran di sentrifugal pada 3.000rpm selama 20 menit. Kemudian ekstrak difreeze dried dengan menggunakan *freeze-dryer* (model Heto FD3, ID 87164).³

Freeze Drying

Freeze Drying (pengeringan beku) atau liofilisasi adalah proses pengeringan dari bahan cair yang dibekukan, kemudian diperlakukan dengan suatu proses pemanasan ringan dalam suatu ruang / chamber hampa udara.

Typical Freeze Drying Cycle



Gambar 1. Proses Freeze Drying

Kristal es yang terbentuk selama tahap pembekuan, menyublim jika dipanaskan pada tekanan hampa yaitu berubah secara langsung dari es menjadi uap air tanpa melewati fase cair. Kemudian akan dihasilkan produk yang bersifat porous, tidak merusak bahan / senyawa dan terjaga kualitasnya serta aman.⁸

Analisa karakteristik Ekstrak Air Teripang Emas

Hasil ekstraksi yang telah difreeze dried kemudian dianalisa rendemen menggunakan rumus $\{(\text{berat ekstrak air teripang} / \text{berat Teripang mentah}) \times 100\%$ kemudian diuji kandungannya dengan metode spektrofotometri uv-vis.

HASIL

Hasil yang didapatkan berupa bubuk teripang dan disimpan dalam botol steril pada suhu 4°. Dari 800gram teripang segar didapatkan ekstrak teripang kering sebanyak 15gram. Pada penelitian hasil rendemen ekstraksi air teripang emas yang di freeze drying sebesar 1,875%. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi tersebut memberikan hasil

yang sedikit. Kualitas bahan yang dihasilkan justru berbanding terbalik dengan nilai rendemen, semakin kecil nilai rendemen semakin baik kualitasnya.

Analisa ekstrak air teripang emas melalui spektrofometri didapatkan hasil:

Tabel 1. Hasil Uji karakteristik Ekstrak Air teripang emas

NO	KANDUNGAN	PROSENTASE (%)
1	Air	5,65
2	Protein total	76,82
3	As.amino Esensial	48,11
4	As.amino non esensial	28,70
5	Glikoprotein	4,62
6	Kolagen	4,05
7	Glikosaminoglikan	1,62
8	As.Hyaluronat	0,29
9	Heparin	0,38
10	Heparin Sulfat	1,02
11	Mukopolisakarida	0,69
12	Proteoglikan	1,13
13	EPA-DHA	0,16
14	Alkaloid	0,11
15	flavonoid	0,16
16	Tanin	0,02
17	Glikosida	0,81
18	Saponin	0,56
19	Zn	0,01
20	Ca	0,59

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa banyak sekali senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak air teripang emas. Senyawa aktif yang terdapat diteripang emas banyak yang terlibat dalam proses penyembuhan, diantaranya asam amino, glikosaminoglikan (GAGs), omega 3 (EPA-DHA), saponin, dan trace Element seperti Zinc dan Kalsium.

PEMBAHASAN

Rendemen

Pada hasil didapatkan nilai rendemen yang kecil, hal ini menunjukkan bahwa hasil ekstraksi yang didapatkan cukup kecil namun nilai rendemen berbanding terbalik dengan kualitas ekstrak yang dihasilkan, semakin kecil nilai rendemen semakin baik kualitas ekstraksi.

Asam Amino

Riset yang ditempuh Hassan Yacob merupakan penelitian pertama yang mengungkap khasiat gamat/teripang di Malaysia. Para peneliti mengungkap 11 asam amino pada teripang: miristat, palmitat, palmitoleat, stearat, oleat, linoleat, arakhsidat, behenat, erusat, eicosapentaenat (EPA) dan docosaheptaenat (DHA). EPA dan DHA itulah yang mempercepat penyembuhan luka luar maupun dalam. Kandungan asam eicosapentaenat (EPA) dan asam docosaheptaenat (DHA) pada ekstrak air teripang emas sebesar 0,16%. Nilai EPA besar menandakan kecepatan teripang memperbaiki jaringan rusak dan menghalangi pembentukan prostaglandin penyebab radang tinggi. Sedangkan DHA, asam lemak utama pada sperma dan otak, serta retina mata. Asupan DHA tinggi dapat menurunkan trigliserida darah penyebab penyakit jantung. Kekurangan DHA menyebabkan penurunan serotonin otak pemicu penyakit alzheimer dan depresi.²

Trace Mineral Zinc

Peranan zinc untuk penyembuhan luka telah diperlihatkan pada penelitian terhadap beberapa hewan percobaan, dilaporkan bahwa akan terjadi akumulasi zinc pada jaringan yang disembuhkan sebagai respon terhadap meningkatnya kebutuhan lokal zinc pada jaringan yang disembuhkan. Zinc berfungsi pada replikasi fibroblast, sintesis kolagen serta pengikatan silang kolagen. Hewan yang menderita defisiensi zink mengalami hambatan dalam proses tersebut, luka yang terjadi sangat sulit sembuh dan garis bekas jahitan pada luka dapat dengan mudah pecah.¹⁰ Karakteristik ekstrak air teripang emas didapatkan hasil kandungan Zinc sebesar 0,01%.

Kalsium

Kalsium memiliki berbagai peran biologis, kalsium sangat penting dibutuhkan untuk proses seperti *Structural support*, perlekatan sel, mitosis, koagulasi darah, kontraksi otot, sekresi kelenjar. Pada penelitian didapatkan nilai kalsium sebesar 0,59%.

Ca meregulasi sejumlah besar fisiologis tubuh, seperti proliferasi, signaling neuron, proses belajar, kontraksi, sekresi, sehingga regulasi Ca intraseluler sangat penting. Konsentrasi kalsium bebas pada sitoplasma istirahat dipertahankan pada 100 nmol/L. Konsentrasi Ca pada cairan interstitial lebih banyak 12.000 kali dibandingkan konsentasi sitoplasma (ie, 1,200,000 nmol/L).¹¹

Glikosaminoglikan

Glikosaminoglikan mukopolisakarida terdiri dari sejumlah rantai karbohidrat kompleks yang dicirikan oleh kandungan gula amino dan asam-asam uronatnya jika rantai-rantai ini melekat pada molekul protein, senyawa disebut sebagai suatu proteoglikan.

Glikosaminoglikan bergabung dengan unsur-unsur pembentuk struktur jaringan seperti tulang, elastin, dan kolagen. Sifatnya yang menahan air dalam jumlah besar dan mengisi ruang-sehingga menjadi bantalan atau pelumas Contoh glikosaminoglikan adalah asam hialuronat, kondroitin sulfat, dan heparin. FGF (*fibroblast growth factor*) merupakan *growth factor* yang terikat pada glikosaminoglikan. FGF merupakan suatu faktor angiogenik yang kuat, menyebabkan migrasi sel epitel yang makin banyak, dan mempercepat kontraksi luka.¹²

Glikosaminoglikan (GAGs) menyusun tiga tipe komponen pada *Extracellular Matrix* (ECM), disamping protein struktural fibrous dan protein adhesi sel. GAGs berikatan dengan protein inti, dan membentuk molekul yang disebut proteoglikan. Proteoglikan awalnya didefinisikan sebagai substansi dasar atau mukopolisakarida, dimana fungsinya untuk mengorganisasi ECM, namun sekarang molekul ini diketahui memiliki fungsi yang berbeda dalam meregulasi struktur dan permeabilitas jaringan ikat. Proteoglikan dapat berintegrasi dengan membran protein dan melalui ikatan dengan molekul dan aktivasi *growth factor* dan kemokin dapat bertindak sebagai modulator dari inflamasi, respon imun, pertumbuhan sel dan diferensiasi sel.¹³

Saponin

Senyawa saponin bekerja sebagai antimikroba. Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi, sehingga dapat mencegah infeksi pada bekas luka pencabutan. Saponin juga memacu pembentukan kolagen, yaitu protein struktur yang berperan dalam proses penyembuhan luka.¹⁴

Omega 3

Omega-3 termasuk dalam asam lemak tak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acid*). PUFA dibagi menjadi dua grup penting yakni asam lemak omega-3 dan asam lemak omega-6 (Fadilah, 1966). Asam lemak omega 3 pada minyak ikan kaya akan EPA dan DHA yang dapat berfungsi sebagai anti inflamasi.

Omega 3 yang mempengaruhi produksi PGE₂, meningkatkan regulasi produksi kolagen. Omega 3 menyebabkan peningkatan sintesis kolagen dengan cara menurunkan faktor PGE₂. Pemberian antiinflamasi yang tepat dapat meningkatkan prokolagen.¹⁵

SIMPULAN

Ekstrak air teripang emas memiliki banyak sekali kandungan aktif yang terlibat dalam proses penyembuhan luka. Banyaknya kandungan aktif menjadikan teripang kommoditi yang baik yang dapat dimanfaatkan secara lebih oleh masyarakat, sehingga Indonesia tidak

hanya sebagai negara eksportir teripang emas mentah, namun sebagai negara pengolah teripang yang baik dan nilai jual teripang dapat meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tehranifard Akram, Shahrbanoo Oryan Gholamhossin Vosoghi. 2011. Introducing a Holothurian sea cucumber species *Stichopus hemanni* form Kish island in the Persian Gulf in IRAN. International Conference on Environment and Industrial Innovation IPCBEE vol. 12. IACSIT Press, Singapore. P. 143-138.
2. Arylza. Irma Shita. 2009. Teripang dan Bahan Aktifnya, Oseana. 34(1): 16-9.
3. Ridzwan B.H., Zarina M.Z, Kaswandi M A, Nadirah M and Shamsuddin A.F. 2001. The Antinociceptive Effects of Extracts from *Stichopus chloronotus* Brandt. Pakistan Journal of Biological Sciences, 4 (3): 246-244.
4. Yulianto, Putri E. Pengaruh Ekstrak Gamat (*Stichopus hemanii*) Terhadap Proliferasi Sel Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka Tikus Wistar (Penelitian Pendahuluan). Skripsi. FKG. Universitas Airlangga.
5. Masre S, Kip George W, Sirajudeen K N, Ghazali F. 2010. Wound Healing Activity of Total Sulfated Glycosaminoglycan (GAG) From *Stichopus Vastus* and *Stichopus Hermanii* integumental Tissue in Rats. International Journal OF Molecular Medicine and Advance Science 6 (4): 53-49.
6. Septiana, A. T., & Asnani, A. 2012. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum duplicatum*) menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi. Jurnal Argointek, 6(1): 28-22.
7. Riyanto, B., Nurhayati, T., & Pujiastuti, A. D. 2013. Karakterisasi Glikosaminoglikan Dari Tulang Rawan Ikan Pari Air Laut (*Neotrygon Kuhlii*) Dan Pari Air Tawar (*Himantura Signifer*) Characterisation Of Glycosaminoglycan From Marine Skate (*Neotrgon Kuhlii*) And Freshwater Skate (*Himantura Signifer*) Cartilage, JPHPI, 16(3): 231-224.
8. AnnaR, Suhandar, Jakaria, dan Suharmadi, 2013, Uji Fungsi Freeze Dryer Radiofarmaka, Seminar Prosiding Penelitian Dan Pengelolaan Perangkat Nuklir Pusat Teknologi Akselerator dan

- Proses Bahan Yogyakarta, Rabu, 11 September.
9. Yılmaz I Nergiz, Nisbet Ozlem, Nisbet Cevat, Ceylan Gozlem, Hoşgor Fatih, Dede O. Doğu. 2009. Biochemical Evaluation Of The Therapeutic Effectiveness Of Honey In Oral Mucosal Ulcers. *Bosnian Journal Of Basic Medical Sciences*, 9(4): 295-290.
 10. Dharma Budi, Prihartiningsih, dan Rahardjo. 2010. Pengaruh Suplemen Zink Terhadap pembentukan Kolagen Pada Soket Gigi Marmut yang Mengalami Defisiensi Zink pasca Pencabutan Gigi., *jurnal kedokteran gigi*, 1(3): 98-94, UGM.
 11. Miller Gregory D., PhD, and John J.B. Anderson, PhD. 1999. The Role of Calcium In Prevention of Chronic Diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(5), 372S-371S.
 12. Sirko S, Holst Alexander von, Weber Anika, Wizenmann Andrea, Theodoridis Ursula, Götz Magdalena, Faissner Andreas. 2010. Chondroitin sulfates are required for fibroblast growth factor-2-dependent proliferation and maintenance in neural stem cells and for epidermal growth factor-dependent migration of their progeny. *Stem Cells*. Pub med, 28(4): 775-87.
 13. Kumar, V., Abbas, A.K., and Fausto, N. 2010. Robbins and Contran: Pathologic Basis of Disease. 8th Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders Inc., 105-91.
 14. Puryanto. Kelik. 2009. Uji aktivitas gel ekstrak etanol daun Binahong (*Anredera cordifolia* (tenore) Steen.) Sebagai Penyembuh luka bakar pada kulit Punggung kelinci. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
 15. Watkins, BA, Li Y, Lippman HE, Seifert MF. 2001. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and skeletal health, *Exp Biol Med* (Maywood), 226: 497-485.

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) pada Remodeling Ekspansi Sutura Maksila Terhadap Lebar Palatal Menggunakan Analisis Sefalometri

(Effect of Stichopus Hermanii to Palatal Width on Maxillary Suture Expansion using Cephalometric Analysis)

Anydya Putri *, Noengki Prameswari **, Budi Handayani **

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: Maxillary expansion device causing mechanical pressure to open the maxillary suture which causes inflammation and bone remodeling around the area. *Stichopus hermanii* is known to contain flavonoid, chondroitin sulfate, omega 3 (EPA and DHA) and dermatan sulfate which is used to inhibit inflammatory process, increase bone metabolism and mineralization, and bone remodelling. **Purpose:** The aim of this experiment is to know the effect of *Stichopus hermanii* on maxillary suture remodeling expansion to palatal width using cephalometric analysis. **Materials and Methods:** Experimental units used was 24 male *Cavia cobaya* divided into 4 groups (n=6). Group K(-) is negative control. Helical spring was applied to and activated in the other 3 groups for 10 days. Group K(+) was given 2% NaCMC gel, both group P1 and P2 was given 3% *Stichopus hermanii* gel. Group P2 were also given retention period for 10 days after activation period. *Cavia cobaya* were then decapitated and observed for the palatal width changes. The data was analyzed with One Way ANOVA test continued with LSD test. **Result:** The result of ANOVA test showed significant differences among the treatment groups $p=0,000$ ($p<0,05$). LSD test showed significant differences between group K(-) and K(+) (Sig. 0,000), K(-) and P1 (Sig. 0,000), K(-) and P2 (Sig. 0,000), K(+) and P2 (Sig. 0,020) and group P1 and P2 (Sig. 0,036). **Conclusion:** 3% *Stichopus hermanii* gel has effect on maxillary suture remodeling expansion to palatal width use cephalometric analysis and combination of *Stichopus hermanii* with 10 days retention period resulting the widest palatal width.

Keywords: *Stichopus hermanii*, bone remodelling, maxillary suture expansion, palatal width, cephalometric analysis

Correpondence: Noengki Prameswari, Department of Ortodonty, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, 5912192, Email: noengki.prameswari@hangtuah.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Alat ekspansi maksila menimbulkan tekanan mekanik untuk membuka sutura maksila sehingga terjadi proses inflamasi pada daerah tekanan dan remodeling tulang pada area tersebut. Teripang emas diketahui mengandung flavonoid, kondroitin sulfat, omega 3 (EPA dan DHA) dan derman sulfat yang berfungsi untuk menghambat inflamasi, meningkatkan metabolisme dan mineralisasi tulang, serta berperan dalam proses remodeling tulang. **Tujuan:** Untuk mengetahui pengaruh teripang emas pada remodeling ekspansi sutura maksila terhadap lebar palatal menggunakan analisis sefalometri. **Bahan dan Metode:** Unit eksperimental yang digunakan adalah 24 ekor *Cavia cobaya* jantan yang terbagi dalam 4 kelompok ($n=6$). Kelompok K(-) merupakan kelompok kontrol negatif. Helical spring diaplikasikan pada 3 kelompok yang lain selama 10 hari. Kelompok K(+) diberi gel NaCMC 2%, kelompok P1 dan P2 diberi gel teripang emas 3%. Pada kelompok P2 diberlakukan periode retensi selama 10 hari setelah periode aktivasi. Hewan coba kemudian didekaputasi dan dilihat perubahan lebar palatal yang terjadi menggunakan analisis sefalometri lalu data yang diperoleh dianalisis dengan uji One Way ANOVA dilanjutkan dengan uji LSD. **Hasil:** Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan $p=0,000$ ($p<0,05$). Uji LSD menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok K(-) dan K(+) (Sig. 0,000), K(-) dan P1 (Sig. 0,000), serta K(-) dan P2 (Sig. 0,000), K(+) dan P2 (Sig. 0,020), P1 dan P2 (Sig. 0,036). **Simpulan:** Gel teripang emas 3% berpengaruh pada remodeling ekspansi sutura maksila terhadap lebar palatal menggunakan analisis sefalometri dan kombinasi teripang emas 3% dengan periode retensi 10 hari menghasilkan lebar palatal terbesar.

Kata kunci: *Stichopus hermannii*, remodeling tulang, ekspansi sutura maksila, lebar palatal, analisis sefalometri

Korespondensi: Noengki Prameswari, Bagian Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, 5912192, Email: noengki.prameswari@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Perawatan ortodonti umumnya dilakukan karena adanya hubungan rahang yang tidak harmonis, yaitu untuk meningkatkan penampilan gigi dan estetik.¹ Perawatan ortodonti adalah salah satu jenis perawatan di bidang kedokteran gigi yang bertujuan mendapatkan penampilan dentofasial yang memuaskan secara estetik yaitu dengan menghilangkan susunan gigi yang berjejal, mengoreksi penyimpangan rotasional dari gigi-geligi, mengoreksi hubungan antar insisal serta menciptakan hubungan oklusi yang baik. Perawatan ortodonti harus dapat mengoreksi maloklusi dan

meningkatkan kesehatan gigi dan mulut sehingga dapat memuaskan secara estetik.²

Keadaan yang menyimpang dari oklusi normal, yang terjadi karena tidak sesuai lengkung gigi dan lengkung rahang disebut maloklusi.³ Maloklusi merupakan masalah penting dalam bidang ortodonti di Indonesia.⁴ Klasifikasi maloklusi Angle dibagi menjadi tiga kelas, yaitu kelas I, kelas II, dan kelas III.⁵ Salah satu perawatan untuk maloklusi kelas I Angle dapat diatasi dengan ekspansi transversal.⁴ Teknik ekspansi meliputi: ekspansi transversal dan ekspansi sagital, ekspansi transversal dibagi menjadi

dua yaitu ekspansi ortopedik dan ekspansi ortodonti.⁶

Pelebaran dengan alat ekspansi dapat dilakukan secara ortodonti, seperti plat ekspansi, dan secara ortopedi, seperti *rapid maxillary expansion*.⁵ Perawatan ekspansi secara ortopedi bertujuan untuk memperlebar sutura *midpalatal* dengan mengaplikasikan kekuatan ke arah lateral terhadap gigi dan tepi tulang alveolar.⁷ Ekspansi tidak hanya menyebabkan perubahan pada struktur dentoalveolar, tetapi juga menyebabkan pembukaan pada sutura *midpalatal* dan menghasilkan perubahan pada tulang maksilofasial yang dapat diobservasi.⁸

Penampang transversal struktur kraniofasial dapat dianalisis menggunakan titik-titik referensi sefalometri. Perawatan ortodonti sering menggunakan radiografi sefalometri untuk mendeskripsikan morfologi dan pertumbuhan skeletal wajah, memprediksi pertumbuhan, mengetahui faktor-faktor penyebab maloklusi, merencanakan perawatan dan evaluasi hasil perawatan.⁹ Pada titik-titik referensi sefalometri rodentia dengan penampang transversal, ada 8 titik yang dapat diamati dan 2 di antaranya adalah P1 dan P2. P merupakan singkatan dari palatal, yang merupakan titik pertemuan antara batas anterior dan media pada *fossa temporal* kanan dan kiri. Ukuran transversal P1 dan P2 pada radiografi sefalometri adalah titik paling inferior pada *fossa temporal* yang jarak antara keduanya menghasilkan lebar yang paling sempit, yang disebut juga lebar palatal.¹⁰

Tekanan pada alat ekspansi lengkung gigi akan menyebabkan trauma pada jaringan sekitar gigi seperti jaringan periodontal, tulang

alveolar dan sementum. Proses ini diikuti dengan reaksi biokimia pada sel atau pengaktifan sel-sel yang menghasilkan proses inflamasi dan remodeling tulang. Ligamen periodontal memegang peranan penting dalam merespon kekuatan mekanik yang diterima dari alat ekspansi, sehingga terjadi pelepasan mediator inflamasi yang memicu proses biologis berkaitan dengan resorpsi dan aposisi tulang alveolar.³

Teripang emas diketahui memiliki banyak manfaat dalam kesehatan, salah satunya adalah sifat anti inflamasi.¹¹ Teripang emas mengandung banyak mineral dan bahan-bahan untuk menurunkan reaksi inflamasi sehingga dapat mempercepat proses remodeling tulang.¹² Penelitian pendahuluan yang dilakukan mengenai uji sitotoksitas teripang emas, didapatkan bahwa konsentrasi 3% teripang emas tidak toksik dan konsentrasi 5% toksik.¹³ Banyak penelitian tentang manfaat teripang emas sementara pada remodeling ekspansi sutura maksila belum. Efek teripang emas 3% terhadap lebar palatal pada remodeling ekspansi sutura maksila menggunakan analisis sefalometri belum pernah dilakukan sehingga dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh bahan aktif antiinflamasi teripang emas terhadap reaksi inflamasi dalam remodeling sutura.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis eksperimental laboratoris, dengan rancangan penelitian *completely randomized control group post test only design*. Unit eksperimental yang digunakan

adalah 24 ekor *Cavia cobaya* jantan berusia 2-3 bulan. Teknik pengambilan sampel menggunakan teknik *simple random sampling*.

Alat yang digunakan adalah kandang dan timbangan *Cavia cobaya*, tabung tempat gel teripang, blender Waring Commercial Model HGBTWT, *incisive band*, *helical spring*, karet separator, *syringe* insulin 1ml, alat radiografi sefalometri ekstraoral Toshiba/D-051 tipe VATECH PaX-400C, kertas foto *glossy* 200gsm, kaliper, mistar, pinset, *cotton pellet*, gunting, tang *coil* kecil, kertas amplas, oven listrik, *mortar* dan *pestle*, *hotplate*, mesin *scanner* HP Deskjet Ink Advantage 2545. Bahan yang digunakan adalah bubuk teripang emas 100%, NaCMC 2% (*Natrium-Carboxymethyl Cellulose* 2%), ketamin (0,033mg/gr BB)-acepromazin (0,003mg/gr BB), *glass ionomer cement* tipe 1.

Teripang emas yang telah dikeringkan selama 6-7 hari pada suhu 28°C dengan oven listrik lalu diblender hingga menjadi bubuk. Proses pembuatan gel teripang emas dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Hang Tuah Surabaya. Bubuk teripang emas sebanyak 0,3 gr dicampur dengan 0,2 gr bubuk NaCMC, kemudian dilarutkan dengan aquades 10 ml sehingga didapatkan gel teripang emas konsentrasi 3%. Gel NaCMC 2% didapatkan dengan cara mencampur 0,2 gr bubuk NaCMC dengan aquades 10 ml. Pembuatan kedua gel ini dilakukan menggunakan *mortar* dan *pestle* di atas *hotplate*.

Cavia cobaya disiapkan dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2). Kelompok K- tidak diberi perlakuan apa-apa, K+ diberi

alat ekspansi selama 10 hari dan gel NaCMC 2% mulai hari ke-4 dari awal perlakuan. Kelompok P1 diberi alat ekspansi selama 10 hari dan gel teripang emas 3% mulai hari ke-4 dari awal perlakuan, sementara untuk kelompok P2, diberi perlakuan sama seperti P1 dan ditambah periode retensi selama 10 hari dan gel teripang emas 3% selama periode tersebut.

Pemasangan karet separator dilakukan untuk menghasilkan diastema di antara insisif *Cavia cobaya* supaya mempermudah pemasangan *incisive band*. Penyuntikan gel teripang emas 3% dan NaCMC 2% dilakukan menggunakan *syringe* insulin yang telah ditumpulkan, disuntikkan ke sulkus insisif *Cavia cobaya*, dengan dosis 0,025ml 2x sehari. Dekapitasi dilakukan setelah periode perlakuan telah selesai, diikuti penyimpanan kepala dan rahang *Cavia cobaya* di dalam larutan buffer formalin supaya tidak terjadi perubahan pada spesimen.

Pengambilan radiografi sefalometri dilakukan dengan meletakkan kepala *Cavia cobaya* di atas permukaan alas foto dengan permukaan lingual menghadap samping (tegak lurus dengan arah sinar) dan bagian kepala mendekati *ear rod* alat sefalometri. Hasil yang didapat kemudian dicetak pada kertas foto *glossy* 200gsm, kemudian di *scan* dengan menaikkan *contrast* 30% dan resolusi 600 dpi. Hasil *scan* tersebut diproses menggunakan *software* Photoshop 4 untuk di *crop* sebesar 8 cm x 5 cm (panjang x lebar) sesuai ukuran asli, kemudian dilakukan pembesaran 2x dengan cara menginput ukuran 16 cm x 10 cm pada pilihan *Image Size*. Analisis dimulai dengan menentukan titik-titik referensi sefalometri *Cavia cobaya* (*rodentia*)

serta letak titik palatal kiri dan kanan. Ukur lebar palatal menggunakan mistar dan catat hasil dalam satuan cm.

HASIL

Pengukuran lebar palatal yang dilakukan menghasilkan hasil rata-rata:

Tabel 1. Hasil Rata-rata dan Simpang baku Pengukuran Lebar palatal terhadap Pemberian Gel Teripang Emas pada Remodeling Ekspansi Sutura Maksila menggunakan Analisis Sefalometri

Kelompok Penelitian Pengaruh Gel Teripang Emas pada Remodeling Ekspansi Sutura Maksila terhadap Lebar palatal menggunakan Analisis Sefalometri	Rata-rata (cm) ± Simpang Baku
K(-)	2,083 ± 0,0753
K(+)	2,383 ± 0,1169
P1	2,400 ± 0,1265
P2	2,533 ± 0,0816

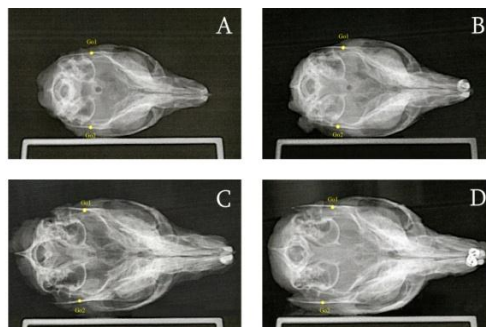
Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc LSD* Pengukuran Lebar Palatal dengan Pemberian Gel Teripang Emas pada Remodeling Ekspansi Sutura Maksila menggunakan Analisis Sefalometri

Kelompok Perlakuan	K(+)	P1	P2
K(-)	0,000*	0,000*	0,000*
K(+)		0,781	0,020*
P1			0,036*

*Terdapat perbedaan bermakna

PEMBAHASAN

Kelompok K(-) tidak diberi perlakuan apa-apa, sementara ketiga kelompok perlakuan yang lain diberi alat ekspansi. Ekspansi pada 4 hari pertama mengakibatkan timbulnya



Gambar 1. Hasil foto sefalometri kepala *Cavia cobaya*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lebar palatal terbesar didapatkan pada kelompok P2 dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Uji *One Way ANOVA* yang dilakukan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (Sig.=0,000). Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok K(-) dengan seluruh kelompok perlakuan yang lain ($p < 0,05$), sementara kelompok K+ dan P1 tidak memiliki perbedaan bermakna ($p > 0,05$).

aktivitas osteoklas sehingga sutura bisa terbuka.⁸ Kandungan bioaktif teripang emas dapat mengurangi reaksi inflamasi pada daerah sutura yang terbuka dengan menurunkan sitokin proinflamasi dan meningkatkan sitokin anti inflamasi, sehingga perlahan proses resorpsi tulang terhenti dan terbentuk tulang baru yang menutup pembukaan sutura tersebut.

Komponen bioaktif yang terkandung pada teripang emas terutama flavonoid, memiliki efek antiinflamasi. Flavonoid menyebabkan reaksi inflamasi yang terjadi akibat reaksi tubuh hewan coba terhadap tekanan alat ekspansi bisa berkurang dan kemudian dilanjutkan dengan proses remodeling tulang. Teripang diketahui memproduksi berbagai

varian elemen bioaktif untuk terapi, seperti antikanker, antiinflamasi, antikoagulan, antimikrobal, antitumor dan antioksidan yang dapat dimanfaatkan sebagai kompleks farmakologis untuk merawat defek tulang.¹⁴

Dinding tubuh *Stichopus hermanni* merupakan sumber kaya *sulphated glycosaminoglycan*. Beberapa sumber glikosaminoglikan yang diketahui adalah dermatan sulfat, flavonoid dan kondroitin sulfat.¹⁵ Kondroitin sulfat dapat menghambat apoptosis osteosit dan meningkatkan osteoblas pada proses remodeling.¹⁶ Flavonoid dapat mempengaruhi osteoklastogenesis dalam sumsum tulang makrofag berasal sehingga dapat menurunkan proses resorpsi tulang. Dermatan sulfat berperan pada fase proliferasi dan maturasi serta mendukung kemampuan FGF untuk memberi sinyal proliferasi sel.¹⁵

Periode retensi selama 10 hari yang diberlakukan pada kelompok P2 ini berpengaruh dalam mempertahankan lebar palatal yang dihasilkan. Retensi berfungsi untuk menahan gigi geligi pada posisi yang baik serta mengembalikan jaringan lunak ke kondisi fisiologis dan struktur tulang yang kompak pasca perawatan ortodonti.¹⁷ Retensi dalam penelitian ini dilakukan dengan harapan tidak terjadi penyusutan lebar palatal pasca aktivasi *helical spring* yang dilakukan sebelumnya. Selama periode retensi berlangsung, aplikasi gel teripang emas tetap dilakukan, sehingga efek kandungan bioaktif teripang emas tetap berjalan.

Pengaruh gel teripang emas 3% terlihat pada rata-rata lebar palatal yang ditunjukkan oleh masing-masing kelompok. Meskipun kelompok K(+) tidak memiliki perbedaan yang

bermakna dengan kelompok P1, kelompok P1 dan P2 memiliki rata-rata lebar palatal yang lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok K(+). Teripang emas mengakibatkan peningkatan fungsi fisiologis aktif dan remodeling tulang.⁸ Hal ini mengakibatkan dalam proses remodeling tulang yang terjadi, lebih banyak tulang baru yang terbentuk di area ruptur yang disebabkan oleh alat ekspansi pada kelompok P1 dan P2, kemudian menyebabkan peningkatan jarak antara titik palatal kiri dan kanan yang lebih besar daripada kelompok K(+).

Rata-rata lebar palatal pada kelompok P2 lebih besar daripada P1, akan tetapi perbedaan tersebut tidak bermakna. Hal ini dimungkinkan karena waktu pemberian gel teripang yang terlalu cepat. King et al mengemukakan ada tiga tahap deposisi tulang pada rodensia: (1) fase awal resorpsi tulang (3-5 hari), (2) tahap *reversal* (5-7 hari), dan (3) fase akhir (7-14 hari).¹⁸ Penelitian ini memulai pemberian gel teripang emas pada hari ke-4 setelah pemasangan alat ekspansi, yang berarti pemberian dimulai pada fase awal resorpsi tulang.

Teripang emas menurunkan tingkat sitokin proinflamasi seperti IL-1 α , IL-1 β , IL-6 dan TNF α .¹⁹ Pemberian gel teripang emas yang terlalu dini mungkin mengakibatkan proses resorpsi tulang yang seharusnya terjadi menjadi tidak terjadi atau hanya minimal sehingga tulang baru terbentuk di area yang tidak terlalu jauh. Hal ini dapat mengakibatkan perubahan lebar palatal yang minimal. Fase *reversal* menandai transisi proses resorpsi tulang menjadi proses formasi tulang sehingga terdapat proses sinyaling sel oleh derivat matriks tulang seperti FGF-2.¹⁶ Pemberian

teripang emas pada fase *reversal* dengan dosis yang lebih besar mungkin dapat mengoptimalkan kerja kondroitin sulfat dalam teripang untuk menghambat inflamasi serta meningkatkan kerja *growth factor*.²⁰ FGF-2 merupakan salah satu protein yang berfungsi sebagai faktor pertumbuhan yang berperan dalam proliferasi, diferensiasi dan regenerasi sel osteoblas.¹⁶

Perbedaan tidak bermakna pada kelompok kontrol negatif dengan P1 mungkin dikarenakan pemberian gel teripang emas yang terlalu cepat dan pemberian dosis yang terlalu sedikit mengakibatkan proses remodeling tulang yang seharusnya terjadi menjadi tidak terjadi atau minimal sehingga tulang baru terbentuk di area yang tidak terlalu jauh, kemudian periode retensi yang dilakukan pada P2 sedangkan P1 tidak dilakukan mungkin dapat terjadi relaps.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa gel teripang emas 3% memberikan pengaruh pada remodeling ekspansi sutura maksila terhadap lebar palatal menggunakan analisis sefalometri dan kombinasi teripang emas 3% dengan periode retensi 10 hari menghasilkan lebar palatal terbesar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mauna Safra, *et al.* 2009. Angulasi Gigi Pasca Perawatan Ortodonti dengan Pencabutan dan Tanpa Pencabutan (Kajian Foto Rontgen Panoramik di klinik Ortodonti FKG UI). Indonesian Journal of Dentistry 2009, 16(1): 52-46.
2. Bahirrah Siti. 2004. Pergerakan Gigi dalam Bidang Ortodonsia dengan Alat Cekat, Tesis. Universitas Sumatra Utara. H. 1.
3. Rahardjo, P. 2012. Ortodonti Dasar. Edisi dua. Surabaya: Airlangga University Press. H. 83, 13-12.
4. Dika DD, Hamid T, dan Sylvia M. 2011. Penggunaan Index of Orthodontic Treatment Need (IOTN) sebagai hasil Perawatan dengan Piranti Lepas. H. 48-45.
5. Sulandjari Heryumani. 2008. Buku Ajar Ortodonsia I KGO I. Universitas Gajah Mada Yogyakarta, Indonesia. Edisi 1. H. 51-40, 39-7.
6. Zenab, Y. 2010. Perawatan Maloklusi Kelas I Angle Tipe 2. Skripsi. Universitas Padjajaran. Bandung. H: 18-16.
7. Graber, *et al.* 2005. Orthodontics: Current Principles Techniques. St. Louis. Elsevier Inc. p: 146-152.
8. Walianto Surwandi. 2012. Asimetri Dental dan Wajah. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahassaraswati Denpasar Jurnal, 5(2): 6.
9. Ardhana Wayan. 2011. Biomekanika Ortodontik. Buku Ajar Ortodonti. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Ed.2. H. 4-3.
10. Abbassy Aly Mona, *et al.* 2013. Pengaruh Tipe 1 Diabetes Melitus di Kompleks Dento-Craniofasial. Available from <http://www.intechopen.com/books/type-1-diabetes/the-effect-of-type-1-diabetes-melitus-on-the-dento-craniofacial-complex#SEC7>. H. 10-8.
11. Noviyana Muji. 2011. Asupan Zat Gizi, Aktivitas Fisik dan Kepadatan Tulang Penari. Skripsi, Universitas Diponegoro Semarang, Indonesia. H. 7-4.
12. Bordbar Sara, *et al.*, 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods. Marine Drugs Journal, 9: 1805-1761.
13. Rahardjo Celia. 2014. Pengaruh Gel Teripang Emas terhadap Jumlah Fibroblas di Daerah Tarikan pada Relaps Gigi setelah Perawatan Ortodonti. Skripsi. Universitas Hang Tuah Surabaya. H. 15-14.
14. Farouk Abd El-Aziem, *et al.*, 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 3(2): 65-60.
15. Masre SF, Yip GW, Sirajudeen KNS, and Ghazali FC. 2010. Wound Healing Activity of Total Sulfated Glycosaminoglycan (GAG) from

- Stichopus vastus and Stichopus hermanni Integumental Tissue in Rats. International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences; 6(4): 53-49.
16. Tsourdi Elena, *et al.*, 2014. Glikosaminoglikan dan Turunannya Sulfat dalam Mengatur Kelangsungan Hidup dan Ekspresi Gen Seperti Sel Osteosit. Jurnal Bioaktif dan Kompatibel Polimer, 29 (5): 474-48.
 17. Alawiyah T dan Sianita PP. 2012. Retensi dalam Perawatan Ortodonti. Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi FKG UPDM; 9(2): 35-29.
 18. Kaya FA, Arslan SG, Kaya CA, Arslan H, and Hamamci O. 2011. The Gingival Crevicular Fluid Levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in Late Adult Rats. Int Dent Res; 1: 12-7.
 19. Zohdi RM, Zakaria ZA, Yusof N, Mustapha NM, and Abdullah MN. 2011. Sea Cucumber (*Stichopus hermanni*) based Hydrogel to Treat Burn Wound in Rats. J Biomed Mater Res B Apl Biomater; 98(1): 37-30.
 20. Clarke, B. 2008. Normal Bone Anatomy and Physiology. Clinical Journal of the American Society of Nephrology; 3(3): 139-131.

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia Alba*) Terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus

(The Effect of Etanol Extract of Mangrove Leaf (*Avicennia alba*) To Healing of Traumatic Ulcer)

Devy Tri Wulandari P*, Isidora Karsini S**, Dian Mulawarmanti***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran gigi Universitas Hang Tuah

***Biokimia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Ulcers are common and cause pain, difficulty in speaking, eating and swallowing. *Avicennia alba* role in the process of wound healing and has been shown to accelerate the healing process of gastric ulcer. It contains flavonoid, saponin, NSL components, minerals and vitamin C, which plays a role in wound healing. **Purposes:** To prove the effect of ethanol extract of *Avicennia alba* concentration 10%, 20%, 40% against traumatic ulcer. **Materials and Methods:** The subjects of this research were 30 wistar rats that were randomized into 5 different groups; K0, K1, P1, P2 and P3. (K0) control, (K1) were given hyaluronic acid, (P1) were given extract of *Avicennia alba* 10%, (P2) were given extract of *Avicennia alba* 20%, and (P3) were given extract of *Avicennia alba* 40%. The subject was wounded using amalgam stopper that has been heated before. Subject was given topical application once daily. The ulcer's diameter was measured at the second day until the day cured using digital caliper. Data were analyzed using One way ANOVA test. **Result:** The result showed signification of $p < 0,05$, showed that there were difference diameters between two groups. The average diameter differences of traumatic ulcer among rat are: 0,75 mm (K0), 1,51 mm (K1), 1,01 mm (P1), 2,02 mm (P2), and 1,70 mm (P3). The results showed statistically significant value of $p > 0.05$ which there was no difference in effectiveness *Avicennia alba* extract in the K1 group. **Conclusions:** Ethanol extract of *Avicennia alba* 10%, 20%, and 40% have effect in the healing of traumatic ulcer. The effectiveness of those were the same as giving a 0.2% hyaluronic acid. The concentration 20% of *Avicennia alba* was effective to the healing of traumatic ulcer

Keywords: *Avicennia alba*, wound healing, traumatic ulcer diameter.

Correspondence: Isidora Karsini S, Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: Isidora_karsini_drg@yahoo.com

ABSTRAK

Latar belakang: Ulkus sering dijumpai pada masyarakat dan menyebabkan rasa nyeri, kesulitan berbicara, makan maupun menelan. *Avicennia alba* telah terbukti dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus pada mukosa lambung. *Avicennia alba* mengandung flavonoid, saponin, komponen NSL, mineral dan vitamin C yang berperan dalam penyembuhan luka. **Tujuan:** Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol daun *Avicennia alba* konsentrasi 10%, 20%, dan 40% terhadap kesembuhan ulkus traumatikus. **Bahan dan Metode:** Subyek penelitian 30 ekor tikus wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok. (K0) tanpa perlakuan, (K1) pemberian asam hialuronat, (P1) ekstrak *Avicennia alba* 10%, (P2) ekstrak *Avicennia alba* 20%, (P3) ekstrak *Avicennia alba* 40%. Subyek dilukai dengan amalgam stopper yang dipanaskan. Subyek diberikan aplikasi topikal 1 kali sehari sampai pada hari tampak adanya kesembuhan. Pengukuran diameter ulkus dilakukan pada hari ke-2 sampai hari terlihat adanya kesembuhan ulkus traumatikus menggunakan kaliper digital. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji one way ANOVA. **Hasil :** Hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ yaitu terdapat perbedaan selisih diameter antara dua kelompok. Rerata selisih diameter ulkus traumatikus pada tikus berturut-turut sebesar: 0,75 mm (K0), 1,51 mm (K1), 1,01 mm (P1), 2,02 mm (P2), dan 1,70 mm (P3). Hasil statistik menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$ yaitu tidak terdapat perbedaan efektivitas ekstrak *Avicennia alba* dengan kelompok K1. **Simpulan:** Konsentrasi ekstrak etanol *Avicennia alba* 10%, 20%, dan 40% memiliki pengaruh terhadap kesembuhan ulkus traumatikus, efektivitas ekstrak etanol *Avicennia alba* sama seperti pemberian asam hialuronat 0,2%. Konsentrasi etanol ekstrak *Avicennia alba* paling efektif yaitu 20% terhadap kesembuhan ulkus traumatikus.

Kata kunci: *Avicennia alba*, diameter ulkus traumatikus, penyembuhan luka

Correspondence: Isidora Karsini S, Bagian Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: Isidora_karsini_drg@yahoo.com

PENDAHULUAN

Prevalensi terjadinya ulkus traumatikus rongga mulut diperkirakan lebih dari 25% dari populasi di seluruh dunia.¹ Ulkus traumatikus rongga mulut dapat terjadi pada orang dewasa, maupun anak-anak.^{2,3} Ulkus traumatikus rongga mulut yang terjadi pada anak-anak bila tidak diatasi maka akan menyebabkan kesukaran makan dan minum sehingga anak akan kekurangan asupan makanan. Hal ini dikarenakan adanya rasa nyeri dan rasa tidak nyaman yang mengakibatkan anak menjadi rewel dan tidak mau makan sehingga berat badan anak pun terhambat.⁴

Ulkus traumatikus rongga mulut dapat sembuh pada 7-10 hari, atau 10-14 hari meskipun tanpa pengobatan karena perawatan ulkus traumatikus dapat dilakukan dengan cara menghilangkan faktor-faktor penyebabnya.^{3,5,6} Penyebab ulkus traumatikus rongga mulut dapat disebabkan oleh faktor trauma mekanis, kimia atau panas, termal atau suhu, serta radiasi.⁷ Oleh karena itu ulkus traumatikus rongga mulut sering diabaikan, padahal bila ulkus traumatikus rongga mulut dibiarkan akan terjadi resistensi hingga terjadi luka yang tidak kunjung sembuh.⁸

Terapi ulkus traumatikus rongga mulut hingga saat ini masih bersifat

simptomatis, mengeliminasi faktor penyebab, dan mempercepat proses penyembuhan luka.^{3,8} Saat ini pengobatan untuk ulkus traumatik rongga mulut menggunakan 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.^{9,10}

Pengobatan menggunakan bahan alam disebabkan karena obat tradisional herbal memiliki efek samping yang relatif sedikit dibandingkan dengan obat sintetis.¹¹ Sejak abad yang lalu, masyarakat pesisir di beberapa wilayah Indonesia seperti Cilacap, Palembang, Bekasi, dan Tangerang telah memanfaatkan mangrove sebagai obat tradisional.¹² Indonesia merupakan kawasan ekosistem mangrove terluas di dunia dan keragaman jenis mangrove yang tersebar di wilayah pesisir Sumatra, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, Bali, NTB, NTT, dan Papua.¹³ Mangrove disamping memiliki manfaat sebagai ekologi, juga mempunyai manfaat sebagai sumber pangan dan bahan untuk pengobatan, namun masyarakat Indonesia belum banyak mengetahui bahwa mangrove memiliki potensi sebagai bahan obat-obatan.^{14,15}

Beberapa jenis tumbuhan yang tergolong dalam genus *Avicennia* menghasilkan bahan-bahan yang dapat digunakan untuk keperluan pengobatan, pangan, pakan, perumahan dan farmasi. Tumbuhan mangrove yang tergolong dalam genus *Avicennia* yaitu *Avicennia alba*, *Avicennia marina*, dan *Avicennia lanata*.¹² *Avicennia alba* (Aa) salah satu jenis mangrove dengan nama lain

api-api putih yang memiliki kandungan nutrisi dan senyawa fenolik cukup tinggi sebesar 11,73 mg yang bermanfaat sebagai antioksidan dan mempunyai peranan dalam proses penyembuhan luka.¹⁶ Aa juga telah dilaporkan bersifat non sitotoksik dan dapat digunakan sebagai bahan obat.⁶ Aa memiliki kandungan antara lain alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida.¹²

Kandungan saponin pada Aa berperan sebagai antimikroba, antiradang, antibiotik, obat hemolitik, hipoglikemi, dan sitotoksik.^{12,17,18} triterpenoid berperan sebagai antiradang dan antikarsinogenik.^{12,17,18} Aa kaya akan sumber *naphthoquinone*.¹⁷ *Naphthoquinone* dan flavonoid dapat memberikan aktivitas penyembuhan luka dan anti inflamasi secara signifikan.¹⁹ Berdasarkan analisis fitokimia pada tanaman genus *Avicennia*, daun Aa memiliki kandungan fenolik, sedangkan pada daun *Avicennia marina* (Am) tidak menunjukkan adanya kandungan fenolik.¹² Senyawa fenolik merupakan antioksidan yang berperan untuk menangkap radikal bebas sebagai penyebab dan patofisiologi penuaan dan inflamasi serta diyakini sebagai konsep penting untuk mempertahankan kondisi sistem biologis yang sehat.¹⁶ Am maupun Aa memiliki kandungan nutrisi yang hampir sama dan berpotensi dalam penyembuhan luka. Kandungan nutrisi lebih banyak terdapat pada daun daripada biji.¹²

Ekstrak daun Aa telah digunakan pada penelitian untuk penyembuhan ulser pada mukosa lambung.¹⁹ Berdasarkan penelitian sebelumnya pada ekstrak daun *Avicennia Marina* (api-api jambu)

dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% memberikan pengaruh kesembuhan terhadap ulkus traumatikus rongga mulut dengan melihat selisih diameter ulkus traumatikus rongga mulut²⁰ sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan ekstrak etanol daun *Aa* dalam satu famili *Avicennia* untuk mempercepat proses penyembuhan luka pada rongga mulut khususnya pada ulkus traumatikus. Umumnya cara mengekstrak menggunakan suatu pelarut. Etanol merupakan pelarut dalam proses ekstraksi. Pelarut merupakan faktor yang menentukan kualitas ekstraksi dan fungsi pelarut harus memiliki daya yang besar untuk melarutkan.²¹ Penelitian ekstrak daun *Aa* pada ulcer pada mukosa lambung menggunakan pelarut etanol 96%.²⁰ Berdasarkan acuan yang tersebut diatas, maka ingin diketahui Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak etanol daun mangrove api-api putih (*Avicennia alba*) dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% terhadap kesembuhan ulkus traumatikus pada tikus *Rattus Novergicus Strain Wistar*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *true experimental laboratory*. Rancangan penelitian ini adalah *post test only control group design*. Sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus wistar jantan yang terbagi atas 5 kelompok. Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan dengan dasar pertimbangan sifat jenis kelamin jantan yang lebih mudah dikontrol dalam proses penyembuhan karena tidak terpengaruh oleh faktor hormonal

pada saat menstruasi. Tikus wistar dipilih sebagai hewan coba karena memiliki metabolisme tubuh yang hampir sama dengan manusia.²²

Pada penelitian ini tikus diadaptasi dalam kandang ukuran 40 cm x 30 cm x 14 cm dan ditempatkan dalam ruangan yang cukup udara dan cahaya. Makanan diberikan tiap pagi, siang, dan malam. Sedangkan minuman diberikan dalam botol 300 ml yang dilengkapi pipa kecil dan diisi air matang. Hewan coba diadaptasikan selama 1 minggu untuk mendapatkan kesehatan umum yang baik dan penyesuaian dengan lingkungan. Selanjutnya tikus dibagi menjadi 5 kelompok, (K0) kontrol negatif, (K1) kontrol positif, (P1) pemberian ekstrak *Aa* 10%, (P2) pemberian ekstrak *Aa* 20%, (P3) pemberian ekstrak *Aa* 40%.

Pada hari pertama masing-masing tikus *Wistar* sebelum mendapat perlakuan dilakukan anestesi dengan menggunakan *ketamine* dan *xylazine* secara intramuskular yang bertujuan agar hewan coba tidak mengalami rasa sakit pada saat perlakuan awal. Kemudian membuat ulkus dengan menggunakan *amalgam stopper* yang mempunyai ukuran penampang ± 3 mm yang telah dipanaskan diatas burner yang diberi spiritus selama 30 detik.^{20,22}

Pada hari kedua dilakukan pengamatan apakah sudah terbentuk ulkus atau tidak. Jika sudah terbentuk ulkus yang ditandai dengan adanya lesi berbentuk bulat, berwarna putih dengan sentral kekuningan yang berisi eksudat fibrinosa dengan tepi kemerahan (eritem).⁷ Ulkus diukur dengan menggunakan kaliper digital yang dilakukan pada hari kedua sampai hari terlihat adanya kesembuhan pada ulkus.

Kelompok K0 tanpa perlakuan, aplikasi topikal gel Asam hialuronat 0,2% pada kelompok K1, aplikasi topikal gel daun mangrove Aa gel 10% pada kelompok P1, aplikasi topikal gel daun mangrove Aa gel 20% pada kelompok P2, aplikasi topikal gel daun mangrove Aa gel 40% pada kelompok P3. Aplikasi obat secara topikal dilakukan 1 kali sehari sampai pada hari terlihat adanya kesembuhan pada salah satu unit eksperimen.

Data dianalisis secara analitik dengan skala data rasio menggunakan SPSS dan dilakukan uji parametrik. Sebelum uji parametrik dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini kurang dari 50 sampel. Setelah dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Levene test*. Uji *one way ANOVA* karena berdasarkan tujuannya, termasuk jenis penelitian komparatif dengan variabel numerik dapat dilakukan apabila > 2 kelompok tidak berpasangan, data tersebut normal dan data tersebut homogen. Bila dalam uji normalitas distribusi data tersebut tidak normal ataupun tidak homogen maka dapat dilakukan transformasi data. Apabila setelah dilakukan transformasi data tetap tidak ada perubahan maka dapat dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.²³

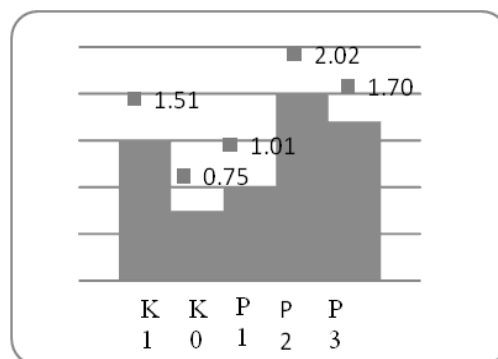
HASIL

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan uji statistik dengan taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) lalu diolah dengan program SPSS versi

17. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

Tabel 1. Hasil uji statistik deskriptif

Kelompok	Jumlah	Rerata Standar Deviasi	±
K0	6	.7483 .16738	±
K1	6	1.5117 .70766	±
P1	6	1.0050 .13004	±
P2	6	2.0150 .71799	±
P3	6	1.7033 .52018	±



Gambar 1. Diagram rerata selisih diameter ulkus traumatikus pada hari ke-2 dengan hari ke-6

Berdasarkan diagram rerata selisih diameter ulkus traumatikus diatas menunjukkan bahwa konsentrasi 20% ekstrak gel daun mangrove Aa paling tinggi dalam mempengaruhi kesembuhan ulkus traumatikus dibandingkan kelompok lainnya.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas Distribusi (*Shapiro-Wilk*)

Kelompok	Sig.
K0	.162
K1	.083
P1	.785
P2	.355
P3	.303

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

Variabel	Sig.
Selisih diameter	.003

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($p > 0,05$) pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji *Levene* didapatkan nilai signifikansi 0.003, sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen ($p > 0,05$).

Hasil data diketahui memiliki distribusi data yang normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, uji dilanjutkan dengan menggunakan uji *one way ANOVA* karena desain atau rancangan penelitian ini menggunakan lebih dari 2 kelompok yang tidak berpasangan dengan skala pengukuran numerik (rasio). Uji *one way ANOVA* ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pada tiap kelompok baik secara terpisah maupun bersama-sama.

Tabel 4. Hasil Uji *One Way ANOVA*

Kelompok	F	Sig.
Antar perlakuan dalam perlakuan	12.338	.000

Pada uji *one way ANOVA*, diperoleh nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan). Maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan selisih diameter antara dua kelompok. Selanjutnya dilakukan analisis *Post Hoc* untuk mengetahui apakah ada perbedaan selisih diameter ulkus traumatikus yang bermakna antara dua kelompok dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$.

Tabel 2. Hasil uji *Post Hoc*

Kelompok	K1	P1	P2	P3
K0	.000*	.025*	.000*	.000*
K1		.056	.093	.328
P1			.001*	.006*
P2				.460

Keterangan: *ada perbedaan bermakna

Dari hasil uji *Post Hoc* diatas didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara selisih diameter pada kelompok K1 dibandingkan dengan kelompok K0 ($p = 0.000$), dimana rerata selisih diameter $K1 > K0$. Kelompok K0 dibandingkan dengan kelompok P1 ($p = 0.025$), dimana rerata selisih diameter $P1 > K0$. Kelompok K0 dibandingkan dengan kelompok P2 ($p = 0.000$), dimana rerata selisih diameter $P2 > K0$. Kelompok K0 dibandingkan dengan kelompok P3 ($p = 0.000$), dimana rerata selisih diameter $P3 > K0$. Kelompok P1 dibandingkan dengan kelompok P2 ($p = 0.001$), dimana rerata selisih diameter $P2 > P1$. Kelompok P1 dibandingkan dengan kelompok P3 ($p = 0.006$), dimana rerata selisih diameter $P3 > P1$.

Data hasil analisis *Post Hoc* juga menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara selisih diameter dengan nilai signifikansi $p > 0,05$, antara lain kelompok K1 dibandingkan dengan kelompok P1 ($p = 0.056$), kelompok K1 dibandingkan dengan kelompok P2 ($p = 0.093$), kelompok K1 dibandingkan dengan kelompok P3 ($p = 0.328$), dan kelompok P2 dibandingkan dengan kelompok P3 ($p = 0.460$).

PEMBAHASAN

Mangrove *Avicennia alba* merupakan tumbuhan laut yang kaya senyawa organik dan anorganik yang

mulai dimanfaatkan dalam beberapa aspek, baik pengobatan, pangan, maupun perumahan. *Ava* salah satu jenis mangrove dengan nama lain api-api putih yang memiliki kandungan nutrisi dan senyawa fenolik bila dibandingkan spesies *Avicennia* lainnya yang bermanfaat sebagai antioksidan dan mempunyai peranan dalam proses penyembuhan luka.^{16,12} Penelitian ini bertujuan mengetahui kemampuan dari ekstrak etanol daun *Avicennia alba* untuk mempercepat proses penyembuhan luka pada rongga mulut khususnya pada ulkus traumatikus.

Penggunaan sampel hewan coba berupa tikus *Rattus Novergicus Strain Wistar* berjenis kelamin jantan dengan usia 12-14 minggu atas dasar pertimbangan sifat jenis kelamin jantan yang lebih mudah dikontrol dalam penelitian sehingga diharapkan tidak ada pengaruh hormonal dalam proses penyembuhan, disamping itu tikus *Rattus Novergicus Strain Wistar* merupakan jenis mamalia yang mempunyai metabolisme sama dengan manusia. Penggunaan hewan coba tikus hasilnya dapat digeneralisasikan pada manusia dimana umur tikus 3,5 bulan setara dengan usia 6-7,5 tahun manusia.^{24,25}

Penelitian ini menggunakan amalgam stopper yang telah dipanaskan dalam pembuatan ulkus traumatikus. Sejauh ini kerusakan jaringan yang disebabkan panas (termal) tidak hanya dipengaruhi oleh faktor suhu dan lama pemajanan, tetapi juga dipengaruhi ketebalan kulit, usia penderita dan vaskularisasi pada area jejas. Dalam proses penyembuhan luka bakar terjadi tahapan koagulasi, stasis, dan hyperemia.²⁶

Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak etanol daun *Aa*

10%, 20%, dan 40%. Konsentrasi ekstrak tersebut didapatkan dari penelitian pendahuluan pada *Avicennia Marina* yang memiliki kandungan hampir sama dengan *Aa* dalam genus *Avicennia*, dimana pada konsentrasi 10%, 20%, dan 40% merupakan konsentrasi yang berpengaruh dalam kesembuhan ulkus traumatikus.²⁰ Penggunaan pelarut etanol 96% dimungkinkan memberikan kualitas ekstraksi yang baik tanpa mengurangi kandungan organik maupun anorganik dalam daun *Aa*. Kelompok K0 merupakan kelompok tanpa perlakuan, hal ini digunakan sebagai panduan untuk mengetahui lama penyembuhan ulkus traumatikus rongga mulut secara normal.

Berdasarkan uji analisis *Post Hoc* (tabel 5.6), menunjukkan bahwa terlihat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif (K0) dengan kelompok kontrol positif (K1) ($p < 0,05$). Kelompok K1 merupakan kelompok yang diberi perlakuan yaitu pemberian asam hialuronat 0,2% secara topikal yang telah dipasarkan dalam sediaan gel produk jadi dan sebagai obat paten dalam penyembuhan ulkus traumatikus yang memiliki komposisi asam hialuronat 0,2%, xylitol serta bahan tambahan lain.²⁷

Asam hialuronat merupakan bagian penting dari matriks ekstra seluler dan merupakan salah satu glikosaminoglikan (GAG) utama yang dikeluarkan selama perbaikan jaringan.⁹ 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 fibroblast, dan sel epitel.^{28,29} Asam hialuronat

mengandung banyak air, serta menyediakan matriks yang meningkatkan migrasi sel. Adhesi glykoprotein, termasuk fibronectin, laminin, dan tenascin, terdapat diseluruh matriks awal sehingga memfasilitasi pertambahan dan migrasi sel. Reseptor integrin pada permukaan sel terikat pada matriks GAG dan glikoprotein. Ketika fibroblas memasuki dan mengisi luka, sel yang terikat tersebut menggunakan hialuronidase untuk mendigesti matriks sementara yang kaya akan asam hialuronat dan kemudian menimbun lebih banyak GAG. Selanjutnya fibroblas menimbun kolagen diatas fibronectin dan GAG dalam susunan tak teratur.³⁰

Asam hialuronat berhubungan erat dengan kolagen jaringan ikat. Protein penghubung secara nonkovalen mengikat protein inti proteoglikan secara elektrostatis berikatan pada serabut kolagen sehingga membentuk matriks berikatan silang.³¹ Asam hialuronat mempunyai peran penting dalam mempengaruhi kecepatan migrasi sel-sel pada proses penutupan luka, inflamasi, angiogenesis, reepitelisasi dan proliferasi sel.^{29,30}

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K0 dengan kelompok P1, P2, maupun P3 yang diberi gel Aa 10%, 20%, dan 40% ($p < 0,05$). Hasil statistik tersebut disebabkan karena kandungan Aa telah terbukti memiliki kandungan yang berpotensi dalam mempercepat penyembuhan luka. Hal ini berdasar pada penelitian sebelumnya pada daun Aa yang terbukti berpengaruh dalam kesembuhan ulkus pada mukosa lambung.¹⁹ Adapun kandungan Aa yang berperan dalam kesembuhan luka

yaitu flavonoid, saponin, komponen NSL, mineral, dan vitamin C.¹³

Kandungan flavonoid dari ekstrak daun Aa berperan dalam proses antiinflamasi.¹⁷ Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial, sedangkan mekanisme antiinflamasi saponin adalah dengan menghambat pembentukan eksudat dan menghambat kenaikan permeabilitas vascular.³² Aktivitas antiinflamasi ini flavonoid menyebabkan pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi pada area jejas yang bertujuan agar tidak terjadi kerusakan jaringan yang berlebihan sehingga proses inflamasi terjadi secara optimal.³³

Flavonoid dapat digunakan sebagai obat pada keadaan patologi seperti terjadinya gangguan permeabilitas dinding pembuluh darah. Terjadinya kerusakan pembuluh darah kapiler akibat radang menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler, sehingga darah (terutama plasma darah) akan keluar dari kapiler jaringan, diikuti dengan terjadinya respon inflamasi. Bahan ini akan bekerja pada endothelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hipermeabilitas dan radang sehingga mempercepat proses penyembuhan luka.³² Selain itu, flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dengan menghambat peroksidasi dari lipid dan berpotensi menginaktivasi oksigen triplet sehingga flavonoid dapat berfungsi sebagai toksin kuat untuk membunuh bakteri dan membantu proses mempercepat inflamasi.^{17,34}

Senyawa fenolik dalam *Aa* merupakan antioksidan yang berperan untuk menangkap radikal bebas sebagai penyebab dan patofisiologi penuaan dan inflamasi serta diyakini sebagai konsep penting untuk mempertahankan kondisi sistem biologis yang sehat.¹⁶

Metabolit sekunder yang dapat terkandung pada *Aa* adalah fraksi senyawa *Non Saponifiable Lipid* (NSL) yaitu triterpenoid, alkaloid, tannin, alkana, alkohol rantai panjang dan fitosterol.³⁵ Tanin berperan dalam kontraksi luka dan tingkat peningkatan epitelialisasi.³⁶

Pemberian ekstrak daun mangrove api-api putih yang memiliki kandungan vitamin C, fenolik dan mineral (Ca, Mg, K, Na) maka akan mempercepat proses proliferasi dengan ditandai meningkatnya jumlah fibroblas, kolagen, dan terbentuknya ikatan yang kuat antara fibroblas dan matriks ekstraseluler.^{9,13} Apabila proses proliferasi terjadi dengan cepat maka akan berpengaruh pada regenerasi dan proses penyembuhan luka juga akan terjadi secara cepat.

Berdasarkan hasil statistik dalam penelitian ini didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,05$) dari masing-masing kelompok P1, P2, maupun P3 bila dibandingkan dengan kelompok K1. Meskipun kandungan dalam ekstrak *Aa* berbeda dengan obat asam hialuronat 0,2% tetapi memiliki khasiat yang sama dengan asam hialuronat 0,2% terhadap kesembuhan ulkus traumatikus sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif ulkus traumatikus. Hal ini terbukti pada hasil penelitian ekstrak daun *Aa* dalam proses penyembuhan ulcer pada mukosa lambung yang dibandingkan

dengan etanol ternyata memberikan pengaruh kesembuhan.¹⁹

Hasil penelitian ini terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok P2, P3 dibanding dengan kelompok P1 ($p<0,05$). Pemberian ekstrak *Aa* 20%, dan 40% lebih efektif dibandingkan konsentrasi ekstrak *Aa* 10%. Hal ini disebabkan kemungkinan dari konsentrasi *whole* ekstrak sehingga mempengaruhi jumlah senyawa aktif pada kelompok P1, dimana terjadi peningkatan dosis ekstrak pada kelompok P2 dan P3.

Kandungan saponin dalam ekstrak *Aa* bertugas sebagai antiradang, antimikroba dan dikenal sebagai senyawa yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Saponin juga berfungsi dalam infiltrasi sel radang dalam proses inflamasi.³⁷ Infiltrasi sel-sel radang akan mengaktifasi mediator pro inflamasi (IL-1, IL-6, TNF- α) dan growth factor (PDGF, TGF- β) sehingga terjadi angiogenesis. Saponin memiliki karakteristik aktivitas biologis yang sangat luas antara lain obat hemolitik, hipoglikemi, dan sitotoksik¹⁷ sehingga saponin bertugas sebagai antiproliferatif dari sel.

Penelitian ini juga didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok P2 dengan kelompok P3. Hal ini dimungkinkan karena kelompok P2 dengan konsentrasi *Aa* 20% merupakan dosis yang efektif, sedangkan pada konsentrasi *Aa* 40% kemungkinan terjadi kematian sel oleh aktivitas saponin yang ada pada konsentrasi ekstrak *Avicennia alba* 40% sehingga perlu adanya uji toksisitas pada konsentrasi tersebut.

SIMPULAN

Ekstrak etanol *Aa* terbukti memiliki pengaruh terhadap kesembuhan ulkus traumatikus rongga mulut. Ekstrak etanol *Aa* dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% memiliki efektifitas yang sama seperti asam hialuronat 0,2% yang telah dipasarkan sebagai obat paten terhadap penyembuhan ulkus traumatikus rongga mulut. Konsentrasi ekstrak etanol *Aa* 20% merupakan konsentrasi efektif dalam pengaplikasian topikal gel ekstrak etanol daun mangrove *Avicennia alba* pada ulkus traumatikus rongga mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- Novianti R.A, Bernadetta Esty Chrismawaty, Goeno Subagyo. 2011. Effect of Allicin for Re-epithelialization During Healing in Oral Ulcer Model. The Indonesian J Dent Res, 1(2).
- Clark, Glenn T, Raymond A. 2012. Orofacial Pain: A Guide to Medications and Management. John Wiley & Sons. P. 192.
- Houston G. 2009. Traumatic Ulcer. Available from <http://emedicine.medscape.com/article/1079501-overview>. Diakses 1 June 2013.
- Simanjuntak, Netti Meilani. 2011. Pengetahuan dan Sikap Ibu Tentang Oral Thrush pada Anak usia 0-3 tahun di Klinik Sally Medan. Skripsi. Universitas Sumatera Utara.
- Bricker SL. 2002. Oral Diagnosis, Oral Medicine, and Treatment Planning. 2nd edition. Hamilton, London: BC Decker Inc. P. 78.
- Shadariah M, A. Aziz and T.M. Tengku Sifzizul. 2011. Cytotoxicity Assay Activity of Methanol Extract of mangroves Leaves From Peninsular Malaysia. UMTAS.
- Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. 2008. Oral Pathologic Correlations. 5th edition. St. Louis: WB Saunders. P. 24-21.
- Mitchell RN, Kumar V, Abbas AK, Fausto N. 2009. Robbins and Cotran. Buku Saku Dasar Patologis Penyakit. Edisi 7 (Pocjet Companion to Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th edition). Alih bahasa: Andry Hartanto. Editor: Inggrid Tania et al. Jakarta: EGC. H. 75- 29.
- MacKay DND and Miller ALND. 2003. Nutritional Support for Wound Healing. Alternative Medicine Review, 8(4): 359-377. Available from <http://www.pilodinal.org/assets/pdf/nutrition.pdf>. Diakses 25 June 2013.
- Kapoor, Pranav, Shabina Sachdeva, Silonie Sachdeva. 2010. Topical Hyaluronic Acid in the Management of Oral Ulcers. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3132908>. Diakses 8 Juni 2013.
- Sari, Lusia. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian, III(1) : 07-01.
- Wibowo C, Kusmana C, Suryani A, Hartati Y, Oktadiyani P. 2009. Pemanfaatan Pohon Mangrove Api-api (*Avicennia* spp) Sebagai Bahan Pangan dan Obat. Available from <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/45052/Pemanfaatan%20Pohon%20Mangrove.pdf?sequence=1>. Diakses 1 Juni 2012.
- Kusmana, cecep. Pengelolaan Sistem mangrove Secara Terpadu. 2009. Available from <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses 1 Juni 2013.
- Setyawan AD, Winarno K. 2006. Pemanfaatan langsung Ekosistem Mangrove di Jawa Tengah dan Penggunaan lahan disekitarnya, kerusakan, dan upaya restorasinya. H. 285.
- Purnobasuki H. 2004. Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat. Available from: <http://www.freewebs.com/irwantomangrove/mangroveobat.pdf>. Diakses 1 Juni 2012.
- Banerjee D, Chakrabarti S, Alok K. Hazra, Shivaji Banerjee, Jharna Ray and Biswapati Mukherjee. 2008. Antioxidant activity and total phenolics of some mangroves in Sundarbans. African Journal of Biotechnology, 7 (6): 810-805.
- Bandaranayake, W.M. 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. Wetlands Ecology and Management, (10): 452-421.
- Bayu A. 2009. Hutan Mangrove Sebagai Salah Satu Sumber Produk Alam Laut. Available from

- <http://isdj.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/342091523.pdf>. Diakses 13 Juni 2013.
19. Al-Attar, Atef M. 2011. Protective Effect of *Avicennia alba* Leaves Extract on Gastric Mucosal Damage Induced by Ethanol. *Research Journal of Medicinal Plant*, (4):490- 477.
 20. Mendrofa AN. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mangrove Api-Api (*Avicennia Marina*) Terhadap Kesembuhan Ulkus Traumatikus. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Surabaya.
 21. Moulana R, Juanda, Syarifah Rohaya. 2012. Efektifitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam Dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). Available from jurnal.unsyiah.ac.id/TIPI/article/download/739/693. Diakses January 2014.
 22. Kusumawati D. 2004. Biologi Hewan Coba Bersahabat dengan Hewan Coba. Gajah Mada University Press. P. 22-5.
 23. Dahlan, M. Sopiudin. 2010. Besar Sampel dan Cara pengambilan Sampel dalam penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Edisi 3. Salemba Medika. P. 75-68.
 24. Rukmini A. 2007. Regenerasi Minyak Goreng Bekas dengan Arang Sekam Menekan Kerusakan Organ Tubuh. Seminar nasional Teknologi, A: 9-1.
 25. Andreello NA, Santos EF, Araujo MR, Lopes LR. 2012. Rat's Age Versus Human's Age: What is the Relationship? *ABCD Arq Bras Cir Dig*, 25(1): 51-49.
 26. Larjava H. 2012. Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management. USA: John Willey & Sons, Inc. P. 333
 27. Hendro, Onge M. 2013. Uji Efektifitas Aplikasi Topikal Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia Marina* Terhadap Pertumbuhan Sel Fibroblas pada Traumatic Ulcer. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Surabaya.
 28. Raoudi MD, Tranchepain F, Deschrevel B, Vincent JC, Bogdanowicz P, Boumediene K and Pujol JP. 2008. Differential Effects of Hyaluronan and Its Fragments on Fibroblast: Relation to Wound Healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16: 287-274.
 29. Gomes J.A.P., Amankwah R., Powel-Richards A., Dua H.S. 2004. Sodium Hyaluronate (Hyaluronic Acid) Promotes Migration of Human Corneal Epithelial Cells in Vitro. *Br J Ophthalmol*, 88(6): 825-821. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1772195/pdf/bjo0800821.pdf>. Diakses 15 Juni 2012.
 30. Prabakti Y. 2005. Perbedaan Jumlah Fibroblas di Sekitar luka Insisi Pada Tikus yang Diberi Levobupivakain dan yang tidak diberi Levobupivakain. Tesis, Universitas Diponegoro-Semarang. Available from <http://eprints.undip.ac.id/12577/1/2005PPDS4514.pdf>. Diakses 1 Juni 2013.
 31. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 2003. Biokimia Herper. Edisi 25. Jakarta: EGC. H. 680.
 32. Fitriyani K, Winarti L, Muslichah S, Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) pada tikus putih. Available from <http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/946.%20Atik20Fitriyani.pdf>. Diakses January 2014.
 33. Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn E, Boelens PG, Van Norren K, van Leeuwen. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanism Nutrient, 74: 418-25. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11566638>. Diakses August, 2013
 34. Guyton AC and Hall JE. 2008. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Alih bahasa: Irawati et al. Editor: Luqnan Yanuar Rachman et al. Jakarta: EGC. H. 51
 35. Hamka M, Mohammad Basyuni, Lollie Agustina. 2012. Karakterisasi Senyawa Isoprenoid dan Pertumbuhan Semai Mangrove *Avicennia alba* Bl. Available from <http://jurnal.usu.ac.id/index.php/PFSJ/article/view/567>. Diakses 15 Juni 2013.
 36. Panda P., Tripathy G. 2009. Wound healing activity of aqueous and methanolic bark extract of *vernoia arborea* in wistar rats. *Natural product radiance* 8: 11-6.
 37. Sachin J, dkk. 2009. Simple Evaluation of wound healing activity of polyherbal formulation of roots of *ageratum conyzoides L.* *Asian J. Research Chem* 2:138-135.

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Penurunan Kadar TNF- α pada Tikus yang Diinduksi Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

(The Effect of Nannochloropsis oculata Extracts to Decreased Levels of TNF- α in Gingival Tissue in Rats Which Induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans Bacteria)

Peggie Octavia Halim*, Syamsulina Revianti**, Yoifah Rizka Wedarti***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* is a major periodontopathic bacterium with multiple virulence factors, including LPS. LPS is a potent stimulator cytokines proinflammatory such as TNF- α . *Nannochloropsis oculata* is a green micro algae that has anti-inflammatory effects. **Purpose:** The aim of this study was to prove the effect of *Nannochloropsis oculata* extracts to decreased levels of TNF- α which induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bacteria. **Materials and Methods:** The experiment was held post test only control group design. 48 male wistar rats divided into 6 groups. K1 group was negative control group without any treatment, K2 group induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bacteria, K3 group treated with minocycline antibiotics 0.1%, and the other groups K4, K5, K6 were treated with *Nannochloropsis oculata* extract on various concentration that is 2.375%, 2.5%, 2.625%. After treatments on the 37th day, all groups of rats were euthanized and measured the levels of TNF- α in gingival tissue by ELISA. All of the datas were analyzed by Kruskal Wallis dan Mann-Whitney U test. **Result:** This study showed the levels of TNF- α K2 group (36.9444) was significantly higher than K1 group (27.8889). K3 group (29.2778) showed no significant decreased compared to K2 group (36.9444). K4 (35.2778), K5 (33.1111) and K6 (29.2778) groups showed no significant decreased levels of TNF- α compared to K2 group (36.9444). **Conclusion:** *Nannochloropsis oculata* extracts can not reduce the levels of TNF- α in rats which induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bacteria.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, alveolar bone resorption

Correspondence: Syamsulina Revianti, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone. 031-5912191, Email: syamsulinarevianti16@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan bakteri periodontopatik dengan beberapa faktor virulensi, termasuk LPS. LPS dapat menstimulasi pelepasan sitokin proinflamasi salah satunya adalah TNF- α . *Nannochloropsis oculata* merupakan mikro alga hijau yang memiliki banyak khasiat salah satunya sebagai antiinflamasi. **Tujuan:** Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap penurunan kadar TNF- α di jaringan gingiva pada tikus yang di induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Bahan dan Metode:** Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian post test only control group design. 36 tikus Wistar jantan dibagi menjadi 6 kelompok. K1 merupakan kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan, K2 merupakan kelompok kontrol positif yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, K3 diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi antibiotik minosiklin 0.1%, dan kelompok K4, K5, K6 diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* & diberi ekstrak *Nannochloropsis oculata* masing-masing dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, 2.625%. Setelah perawatan pada hari ke-37, semua kelompok tikus dikorbankan dan diukur kadar TNF- α jaringan gingiva dengan metode ELISA. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Kruskal Wallis dan Mann-Whitney U ($p > 0,05$). **Hasil:** studi menunjukkan kadar TNF- α jaringan gingival kelompok K2 ((36.9444). signifikan lebih tinggi bila dibandingkan dengan K1(27.8889). Kelompok K3 (29.2778) menunjukkan penurunan yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan K2 (36.9444). Kelompok K4 (35.2778), K5 (33.1111) dan K6 (29.2778) menunjukkan penurunan yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan K2 (36.9444). **Simpulan:** Ekstrak *Nannochloropsis oculata* tidak dapat menurunkan kadar TNF- α jaringan gingiva pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Kata kunci: *Nannochloropsis oculata*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, TNF- α .

Korespondensi: Syamsulina Revianti, Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: syamsulinarevianti16@gmail.com

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit yang banyak terdapat dalam masyarakat di negara maju maupun negara berkembang. Data yang dikumpulkan WHO di 35 negara, menunjukkan prevalensi yang cukup tinggi yaitu lebih dari 75% pada orang yang berumur 35-44 tahun di 7 negara, dan 40-47% di 13 negara serta prevalensi yang sedang atau kurang dari 40% di 15 negara. Berdasarkan hasil laporan yang diterima Direktorat Kesehatan Gigi, menunjukkan gambaran prevalensi penyakit periodontal yang meningkat pada usia

34-44 tahun yaitu sekitar 77,91%-87,10%.^{1,2}

Penumpukan bakteri plak pada permukaan gigi merupakan penyebab utama penyakit periodontal. Penyakit periodontal dimulai dari gingivitis yang bila tidak terawat bisa berkembang menjadi periodontitis dimana terjadi kerusakan jaringan pendukung periodontal yang berupa kerusakan fiber, ligamen periodontal dan tulang alveolar.^{3,4}

Periodontitis dibagi menjadi periodontitis kronis, agresif dan periodontitis sebagai manifestasi penyakit sistemik. Periodontitis agresif didominasi oleh bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Bakteri

Actinobacillus actinomycetemcomitans merupakan penyebab penyakit periodontal dengan kerusakan yang progresif.⁵

Bakteri yang ada di dalam plak, termasuk lipopolisakarida (LPS) dan asam *lipoteichoic*, berinteraksi dengan *toll-like receptor* pada sel epitel, leukosit dan fibroblas, merangsang produksi sitokin seperti IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6, IL-8, prostaglandin E2 (PGE2). Untuk memudahkan infiltrasi leukosit, fibroblas yang distimulasi oleh IL-1 beta dan TNF-alfa mensekresi matriks metalloproteinase (MMPs), yang mendegradasi molekul-molekul matriks ekstraseluler termasuk kolagen.⁶ Respon inflamasi dari jaringan periodontal dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan resorpsi tulang alveolar.⁷

Tumor necrosis factor-α (TNF-α) memainkan peran penting dalam peradangan periodontal. TNF-α terutama dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi. TNF-α memiliki potensi yang kuat untuk meningkatkan resorpsi tulang dan terlibat dalam degradasi jaringan ikat dengan merangsang prostaglandin-E2 dan kolagenase.⁸ Beberapa penelitian telah melaporkan terdapat peningkatan kadar TNF-α pada *gingival crevicular fluid* (GCF) dan jaringan gingiva pada pasien dengan periodontitis.^{9,10,11}

Telah diketahui bahwa penyakit periodontal disebabkan oleh infeksi bakteri⁵, sehingga pada perawatan penyakit periodontal dapat menggunakan antibiotik yang dapat diberikan secara sistemik dan lokal. Antibiotik yang biasa digunakan adalah tetrasiklin, metronidazole, amoksisilin, klindamisin dan siprofloksasin.^{12,13} Adanya penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Abuzar membuktikan bahwa

minosiklin dalam bentuk obat kumur efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed periodontopathogen* pada konsentrasi 0,1%.¹⁴

Antibiotik digunakan sebagai penunjang untuk terapi periodontal secara mekanik dalam mendapatkan peningkatan keuntungan klinis karena antibiotik mampu membunuh bakteri patogen subgingiva yang masih ada pasca perawatan mekanis.¹⁵ Namun pemberian antibiotik dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti resistensi bakteri, reaksi alergi dan reaksi toksik, dan diskolorisasi gigi.⁵

Akhir-akhir ini konsep terapi tersebut mulai berubah, yang dibuktikan oleh penelitian mengenai respon *host* terhadap bakteri yang memberikan kontribusi utama dalam patogenesis penyakit periodontal.¹⁶ Peran respon *host* dalam proses inflamasi dan perkembangan destruksi jaringan pada penyakit periodontal merupakan dasar dari pendekatan terapi, dengan cara menghambat mediator proinflamasi yang terlibat dalam respon jaringan yang mengalami destruksi.^{17,18}

Tujuan terapi ini untuk mengeliminasi peradangan gingiva dan mengurangi kedalaman poket serta meningkatkan perlekatan.¹⁹ Penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obat anti-inflamasi non steroid (OAINS) seperti *endometachin*, *flurbiprofen* dan *naproxen* dalam terapi periodontal yang diberikan setiap hari selama 3 tahun, secara signifikan dapat memperlambat laju kehilangan tulang alveolar dibandingkan dengan placebo.⁵

Obat anti inflamasi nonsteroid (OAINS) banyak dipakai dalam klinik untuk pelbagai penyakit pada orang

dewasa. Efek samping yang sering ditemukan adalah dispepsi ringan sampai berat bahkan erosi, ulserasi sampai hematemesis melena atau perforasi.²⁰ Oleh sebab itu perlu dikembangkan suatu obat anti inflamasi alami yang diharapkan dapat meminimalkan efek samping yang terjadi.

Nannochloropsis oculata merupakan salah satu alga laut yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder di antaranya fenol, tokoferol, terpenoid, karotenoid, alkaloid, *oxylipin* dan flavonoid.^{21,22}

Tokoferol atau vitamin E dan Terpenoid telah dilaporkan memiliki kandungan anti-inflamasi alami.^{23,24} Alkaloid dan flavonoid memiliki aktivitas anti inflamasi dengan cara menghambat TNF- α .²⁵ Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, dan imunostimulator yang dapat mencegah penyakit dan anti-inflamasi.^{26,27} *Oxylipins* berasal dari asam lemak ω - 3, seperti DHA dan EPA, yang dikenal sebagai anti-inflamasi alami.²⁸ Berdasarkan kajian di atas, maka *Nannochloropsis oculata* merupakan salah satu biota laut yang memiliki efek menguntungkan, karena memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, antiviral, imunomodulator dan sebagai antioksidan.^{29,30,21,22}

Berdasarkan penelitian yang dilakukan secara *in vitro* oleh Revianti dan Kristanti, ekstrak *Nannochloropsis oculata* bersifat tidak toksik pada kultur stem sel fibroblas dengan ambang batas konsentrasi 2,5% sedangkan pada konsentrasi di atas 2,5% toksik terhadap stem sel fibroblas.³¹ Oleh sebab itu penulis ingin melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui khasiat *Nannochloropsis oculata* sebagai obat anti-inflamasi alami pada konsentrasi

2,5% kemudian dinaikan 5% dan diturunkan 5%, sehingga didapatkan konsentrasi 2,375%, 2,5% dan 2,625% pada tikus yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomytans* dengan mengukur kadar TNF- α pada jaringan gingiva sebagai parameter penelitian.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 36 ekor tikus yang dibagi dalam 6 kelompok. Teknik pengambilan sampel adalah secara *simple random sampling* (acak atau secara undian).

Alat digunakan pada penelitian ini terdiri atas : masker, *gloves*, timbangan digital, timbangan analitik 4 desimal, sendok tanduk, *hotplate*, *stiller*, gelas ukur, *mortir*, *stamper/pestle*, *sput syringe* 5 cc, *yellow tip*, mikro pipet 10 μ l dan 100 μ l, vortex, *micropour*, *autoclave*, *disposable oral sponge swab*, kandang tikus wistar, tempat makan dan minum tikus, timbangan badan, alat pembedahan tikus untuk mengambil bahan uji (*scalpel*, pinset, gunting, kapas), tabung untuk sampel dan hasil uji, tabung *sentrifuge*, mikropipet, mikroplate, ELISA *washer*, inkubator, micro ELISA reader.

Bahan yang digunakan adalah : suspensi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, antibiotik *Minocycline* 0.1%, ekstrak mikroalga hijau *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625%, makanan standar tikus Wistar, minuman tikus Wistar (minuman yang diberikan berupa air PDAM biasa

secara *ad libitum*), eter, ketamin dan *xylazine*, *Sodium Carboxymethylcellulose* 2%, PBS pH 7,6, TNF- α ELISA kit.

Setelah memperisapkan tikus sesuai dengan kriteria sampel, pada hari pertama, 36 tikus di aklimatisasi selama 7 hari dalam kandang ukuran 40cm x 30 cm x 14 cm dan ditempatkan dalam ruangan yang cukup udara dan cahaya. Kemudian pada hari ke-7, tikus dibagi dan diberi tanda menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok 1, 2, 3, 4, 5, dan 6. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus yang diletakkan dalam 1 kandang.³²

Pada hari ke-8, setelah semua tikus dibagi menjadi 6 kelompok, kelompok ke-1 diinduksi dengan PBS 70 μ l secara injeksi pada lingual jaringan gingiva molar ke-2 kemudian di tetesi kembali dengan campuran PBS dan CMCNa 2% sebanyak 700 μ l. Pada kelompok ke-2 sampai ke-6, tikus diinduksi dengan bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 1×10^9 CFU yang diencerkan dalam 70 μ L PBS secara injeksi pada lingual jaringan gingiva molar ke-2 kemudian ditetesi kembali dengan campuran 1×10^9 CFU bakteri Aa yang diencerkan dalam 700 μ L PBS dengan 2% *Sodium Carboxymethylcellulose* pada rongga mulut dengan mikropipet. Pemberian dilakukan sebanyak 3 kali dalam 4 hari yang diulangi pada 48 jam dan 96 jam kemudian setelah induksi pertama dilakukan.³³

Selanjutnya pada hari ke-12, Kelompok ke-1 dan ke-2, diberikan PBS-CMCNa 2% sebanyak 0.14 ml dengan cara dioleskan pada bagian bukal dan lingual gingiva rahang bawah masing-masing 70 μ l pada tiap tikus sebanyak 1 kali sehari selama 25 hari. Sedangkan pada kelompok ke-3 diberi antibiotik *minocycline* 0.1%

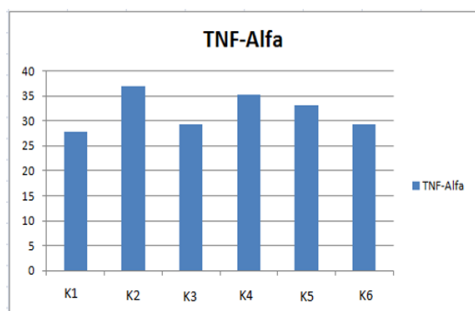
sebanyak 0.14 ml secara topikal pada bagian bukal dan lingual gingiva rahang bawah masing-masing 70 μ l pada tiap tikus sebanyak 1 kali sehari selama 25 hari. Pada kelompok 4,5,6 diberi ekstrak *Nannochloropsis oculata* sebanyak 0.14 ml secara topikal pada bagian bukal dan lingual gingiva rahang bawah masing-masing 70 μ l pada tiap tikus sebanyak 1 kali sehari selama 25 hari dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625%.^{33,34} Akhirnya pada hari ke-37 semua kelompok tikus dikorbankan dan di ambil jaringan gingivanya. Setelah itu dilakukan pengukuran kadar TNF- α dengan metode ELISA. Setelah didapatkan data hasil pengukuran, dilakukan tabulasi dan analisis data.³⁴

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan 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 signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 17.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku kadar TNF- α jaringan gingiva tikus pada setiap kelompok percobaan dengan satuan pg/ml.

Kelompok	Rata-rata $\pm$ Standar deviasi
K1	27.8889 $\pm$ 8.40283
K2	36.9444 $\pm$ 7.96776
K3	29.2778 $\pm$ 4.67818
K4	35.2778 $\pm$ 7.81855
K5	33.1111 $\pm$ 8.19125
K6	29.1778 $\pm$ 5.56745



Gambar 2. Rata-rata kadar TNF- α pada masing-masing kelompok

Kemudian dilakukan uji normalitas pada setiap kelompok dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, karena jumlah sampel <50 . Hasil uji *Shapiro-Wilk* pada penelitian ini menunjukkan bahwa distribusi data dinyatakan tidak normal. hasil uji

Levene didapatkan nilai signifikansi 0.861 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen.

Hasil data di atas diketahui memiliki distribusi data yang tidak normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, dilanjutkan dengan uji *Kruskal wallis*.

Hasil uji *Kruskal wallis*, diperoleh nilai $p=0.172$ ($p > 0.05$) yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan). Selanjutnya, untuk melihat perbedaan kadar TNF- α masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan pengujian *Mann whitney* dengan signifikansi $p < 0.05$.

Tabel 2. Tabel hasil uji *Mann whitney*

Kelompok	Rata-rata $\pm$ Standar deviasi	Kelompok	Rata-rata	Sig.
K1	27.8889	K2	36.9444	0.037*
		K3	29.2778	0.261
		K4	35.2778	0.078
		K5	33.1111	0.200
		K6	29.2778	0.522
		K3	29.2778	0.092
K2	36.9444	K4	35.2778	0.749
		K5	33.1111	0.337
		K6	29.2778	0.109
K3	29.2778	K4	35.2778	0.128
		K5	33.1111	0.423
		K6	29.2778	0.810
K4	35.2778	K5	33.1111	0.631
		K6	29.2778	0.261
K5	33.1111	K6	29.2778	0.378

Berdasarkan data hasil uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* dengan nilai signifikan 0.172 ($p > 0.05$). Didapatkan data kadar TNF- α jaringan gingiva secara keseluruhan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan, Namun bila dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* untuk melihat signifikansi data masing-masing kelompok, ternyata terdapat

perbedaan yang signifikan hanya pada kelompok K1 dan K2 ($p < 0,05$), sedangkan pada kelompok yang lain tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

PEMBAHASAN

Periodontitis menduduki urutan ke dua utama yang masih merupakan

masalah di masyarakat Indonesia.³ Periodontitis menyebabkan kerusakan yang progresif dan apabila tidak dirawat dapat berlanjut sampai pada tahap destruksi tulang sehingga menyebabkan kegoyangan pada gigi dan berujung pada kehilangan gigi.⁵

Penyebab periodontitis adalah bakteri anaerob, salah satunya adalah bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang sekarang dikenal dengan nama *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang dominan pada periodontitis agresif. Beberapa metode perawatan periodontitis agresif yang sering dijumpai dapat berupa terapi nonbedah, bedah maupun kombinasi keduanya yang disertai pemberian antimikroba/antibiotik.⁵ Banyaknya peningkatan resistensi antibiotik sekarang ini mendorong untuk menemukan senyawa antibakteri baru melalui keanekaragaman hayati biota laut Indonesia, salah satunya adalah mikroalga hijau *Nannochloropsis oculata*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi yang berbeda-beda terhadap penurunan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Sampel penelitian adalah tikus Wistar putih (*rattus novergicus strain wistar*) jantan dengan berat badan berkisar 250-300 gram dan berusia 6 bulan (setara dengan 18 tahun manusia). Tikus Wistar dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme dan aktivitas biologis yang sama dengan manusia, serta banyak gejala kondisi manusia yang dapat direplikasi pada tikus, sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia.³⁵ Selain itu, penelitian ini menggunakan hewan

coba berjenis kelamin jantan karena dasar pertimbangan pada manusia yaitu jika menggunakan tikus berkelamin betina dikhawatirkan tikus tersebut akan mengalami menstruasi dimana terjadi ketidakseimbangan hormon yang akan mempengaruhi hasil penelitian.³²

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan bahwa tikus kelompok K2 dengan induksi dan tetesan bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* menyebabkan peningkatan kadar TNF- α yang signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok K1 yang tidak diberi induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Actinobacillus actinomycetemcomitans merupakan bakteri penyebab penyakit periodontitis agresif, yang dapat menyebabkan kerusakan yang progresif. Bakteri ini akan mengeluarkan LPS (Lipopolisakarida) dan merangsang sel-sel radang pada jaringan periodontal untuk menghasilkan sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , dan prostaglandin E2 (PGE2). Sitokin tersebut akan menyebabkan peningkatan produksi matriks metalloproteinase (MMPs) yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan matriks ekstraseluler pada jaringan periodontal.³⁶ Sitokin IL-1, IL-8, dan TNF- α juga mampu mempengaruhi kerja reseptor RANKL yang terdapat di osteoblas untuk berikatan dengan RANK sehingga menyebabkan osteoklas teraktivasi.³⁷ Peningkatan aktivitas osteoklas disertai dengan kerusakan matriks ekstraseluler yang terus menerus dapat memicu kerusakan jaringan periodontal yang menyebabkan resorpsi tulang.⁵

Pada beberapa kasus terapi dengan pemberian antibakteri merupakan upaya untuk mengatasi

faktor penyebab selain terapi mekanis. Salah satu antibakteri atau antibiotik yang sering digunakan adalah minosiklin. Minosiklin mempunyai efek bakteriostatik dan aktifitas *inhibitory* MMP (*matriksmetaloproteinase*). Minosiklin yang merupakan analog tetrasiklin, aktif melawan bakteri dengan spektrum luas dari periodontal patogen.³⁸

Minosiklin dan golongan tetrasiklin merupakan satu-satunya antibiotik yang mempunyai kapasitas sebagai *chelating agent*. Molekul minosiklin berikatan dengan logam dengan afinitas yang tinggi (kemampuan untuk mengikat elektron yang besar).³⁹ *Chelating Agent* adalah molekul yang memiliki kemampuan untuk membentuk lebih dari satu ikatan dengan logam ion, sehingga meningkatkan stabilitas dari kompleks ion yang mengikat kalsium intrasel. Penurunan kalsium intraseluler akan menghambat kerusakan oksidatif dalam sel. Minosiklin membentuk ikatan kompleks dengan ion logam seperti kalsium, magnesium, zinc dan besi.³⁴

Enzim MMPs merupakan anggota suatu sub famili besar enzim proteolitik (*proteinase*) yang tergantung pada zinc dan kalsium. Enzim MMPs merupakan protein utama yang terlibat dalam kerusakan jaringan periodontal. Enzim MMPs ditemukan pada neutrofil, makrofag, fibroblas, sel epitelial, osteoblas dan osteoklas, yang mendegradasi molekul matriks ekstraseluler seperti kolagen, elastin, dan gelatin. Enzim MMPs juga diproduksi oleh bakteri patogen *Porphyromonas gingivalis* dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* walaupun bukan merupakan faktor utama pada perkembangan penyakit

periodontal.⁵ Minosiklin dengan sifat *chelating agent* dapat mengikat ion kalsium dan ion Zn yang terletak di sisi aktif dari MMPs dan menghasilkan efek antiproteolitik yang dapat menghambat kerusakan jaringan periodontal.³

Pada penelitian ini didapatkan juga bahwa tikus kelompok K3 dengan induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan pemberian antibiotik minosiklin 0.1% sebanyak 0.14 ml selama 25 hari menunjukkan penurunan kadar TNF- α yang tidak signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok K2. Hal ini dikarenakan dosis minosiklin yang digunakan pada penelitian ini terlalu kecil untuk dapat membunuh semua bakteri, dosis tersebut mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Abuzar (2012) yang membuktikan bahwa minosiklin mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0,1% secara *in vitro*.¹⁴ Sedangkan pada penelitian ini pemberian minosiklin dilakukan secara *in vivo*, sehingga obat harus melalui proses metabolisme tubuh, yaitu ADME (Absorpsi Distribusi Metabolisme dan Ekskresi). Selain itu, untuk dapat mempercepat penurunan kadar TNF- α yang merupakan mediator pro inflamasi harus didukung dengan pemberian antiinflamasi. Perubahan TNF- α dapat juga dipengaruhi oleh respon host, karena TNF- α merupakan reaksi dari respon imun; respon imun/ respon *host* masing-masing individu berbeda.

Pada perkembangannya penggunaan antibiotik yang tidak beraturan dapat menyebabkan residu dalam jaringan organ yang dapat menyebabkan timbulnya alergi, resistensi, dan mungkin keracunan sehingga cukup berbahaya bagi

manusia.⁴⁰ Selain itu minosiklin yang merupakan turunan dari tetrasiklin, memiliki kekurangan yaitu pada pemakaian jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya disgenesis berupa perubahan warna gigi permanen.⁴¹ Maka dari itu, untuk mencegah terjadinya efek samping tersebut perlu dikembangkan suatu bahan yang berasal dari bahan alami serta memiliki daya antibakteri yang baik, salah satunya adalah mikroalga hijau *Nannochloropsis oculata*.

Pada penelitian ini terbukti bahwa tikus kelompok K4, K5, dan K6 dengan induksi bakteri *Actinobacillus ctinomycetemcomitans* dan diterapi dengan pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* masing-masing dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% sebanyak 0.14 ml secara topikal pada tikus selama 25 hari menunjukkan penurunan kadar TNF- α yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan tikus kelompok 2.

Begitu pula pada kelompok K4, K5, dan K6 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan bila dibandingkan dengan K3. Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% memiliki pengaruh yang sama dengan antibiotik minosiklin dalam menurunkan kadar TNF- α . Hal ini disebabkan karena dosis antibiotik minosiklin dan ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang digunakan pada penelitian ini tidak cukup besar untuk berfungsi sebagai antiinflamasi dan untuk membunuh semua bakteri, sehingga bakteri yang masih ada melepaskan LPS yang dapat mengaktivasi makrofag untuk melepaskan TNF- α .

Nannochloropsis oculata memiliki kandungan senyawa aktif yang berkhasiat sebagai anti inflamasi, yaitu flavonoid, omega-3 dan oxypilins. Senyawa flavonoid merupakan salah satu bahan aktif yang terdapat pada ekstrak *Nannochloropsis oculata*. Flavonoid dapat berfungsi sebagai agen antiinflamasi. Flavonoid berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi yang dilakukan melalui penghambatan siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga terjadi pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan perlukaan. Reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan kemampuan proliferasi dari TGF- β tidak terhambat, sehingga proses proliferasi dapat segera terjadi.⁴² Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses inflamasi terjadi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi ezim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial.⁴³

Mekanisme *oxylipin* dalam menghambat inflamasi yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat serta sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial. Sebagai antioksidan, *oxylipin* mempunyai gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya, dimana akan menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida, misalnya xantin oksidase dan protein kinase. Selain itu, senyawa aktif ini juga menghambat siklooksigenase, lipooksigenase, mikrosomal monooksigenase, glutathion-S-transferase, mitokondrial suksinoksidase, NADH oksidase.^{44,45}

Omega 3 sebagai antiinflamasi memiliki mekanisme dengan

mengatur ekspresi gen dan sinyal transduksi gen sitokin proinflamatori melalui transkripsi mRNA sitokin yang menyebabkan penurunan sitokin proinflamatori (interleukin dan TNF- α).^{37,46}

Hasil kelompok K6 kadar TNF- α nya lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok K4 dan K5 namun tidak signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% tidak dapat menurunkan kadar mediator pro inflamasi yaitu TNF- α . Hal ini disebabkan karena dosis ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang digunakan pada penelitian ini tidak cukup besar untuk dapat berfungsi sebagai antiinflamasi. Selain itu, untuk uji antiinflamasi sebaiknya menggunakan indikator sitokin proinflamasi yang lain selain TNF- α seperti halnya, Interleukin-1, Interleukin-6, dan Interferon- gamma.

Pada penelitian ini, baik minosiklin 0,1% maupun *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% tidak dapat menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, sehingga tidak dapat digunakan sebagai terapi penyakit periodontal khususnya periodontitis agresif yang didominasi oleh bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* pada konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% mampu menurunkan kadar TNF- α secara tidak signifikan pada tikus

dengan induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* yang paling efektif dalam menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* adalah konsentrasi 2.625%, walaupun tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan konsentrasi 2.375%, 2.5%, dan 2.625% memiliki pengaruh yang sama dengan minosiklin dalam menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Macedo TCD, Costa MDCN, Filho ISG, Vianna MIP, Santos CT. 2006. Factors Related to Periodontal Disease in a Rural Population. Brazilian Oral Research, 20(3): 88-74.
2. Tampubolon SN. 2005. Dampak Karies Gigi dan Penyakit Periodontal terhadap Kualitas Hidup. Pidato Pengukuhan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia. Available from http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/20526/3/ppgb_2005_nurmala_situ_morang.pdf.txt. Diakses 29 Oktober 2013.
3. Wahyukundari MA. 2009. Perbedaan Kadar Matrix Metalloproteinase-8 Setelah Scalling dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontitis Kronis. Jurnal PDGI, 58(1): 2-1.
4. Wangsarahardja K. 2005. Penyakit Periodontal Sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner. Universa Medicina, 24(3): 136.
5. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. 2012. Carranza's Clinical Periodontology, 11thed., Philadelphia: WB Saunders Company. P. 494-492, 373, 201, 194, 44-41.
6. Susilowati, Imam M. 2011. Dinamika Ekspresi Gen Matrix Metalloproteinase-8 dan Tissue Inhibitor Metalloproteinase-1 pada Pemakaian Piranti Ortodontik Lepas. Departement of Orthodontics, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanudin Makassar, Indonesia. H. 9. Available from

- <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCMQFjAA&url=http%3A%2F%2Frepository.unhas.ac.id%2Fbitstream%2Fhandle%2F123456789%2F606%2FMMP%2520dan%2520TIMP-1%2520Medan.doc%3Fsequence%3D1&ei=gr0BU4u9E6SpiAf-IYHQBQ&usq=AFQjCNEH7EtLMIFrkLWOIj0RBT2xvYbITg&bvm=bv.61535280,d.aGc>. Diakses 11 Januari 2014.
7. Grigoriadou ME, Spridon OK, Phoebus NM, Jorg RS. 2010. Interleukin-1 as a Genetic Marker for Periodontitis. *Quintessence International*, 41(6): 517.
 8. Morimoto Y, Kawahara KI, Tancharoen S, Kikuchi K, Matsuyama T, Hashiguchi. 2008. Tumor Necrosis Factor- α Stimulates Gingival Epithelial Cells to Release High Mobility-Group Box.1. *Journal of Periodontal Research*, 43(1): 83-76.
 9. Shapira L, Stabholz A, Rieckmann P, Kruse N. 2001. Genetic Polymorphism of the Tumor Necrosis Factor (TNF)-Alpha Promoter Region in Families with Localized Early-Onset Periodontitis. *Journal Periodontal Research*, 36(3): 186-183.
 10. Ejeil AL, Gaultier F, Tchen S, Senni K, Pellat B, Godeau G, Gogly B. 2003. Are Cytokines Linked to Collagen Breakdown During Periodontal Tissue Progression?. *Journal of Periodontology*, 74(2): 201-196.
 11. Schulz S, Machulla HK, Altermann W, Klapproth J, Zimmermann U, Glaser C, Kluttiq A, Stein J, Schaller HG, Reichert S. 2008. Genetic Markers of Tumour Necrosis Factor Alpha in Aggressive and Chronic Periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(6): 500-493.
 12. Brook I. 2003. Microbiology and Management of Periodontal Infections. *General Dentistry*, 51(5): 428-424.
 13. Krismariono A. 2009. Antibiotika sistemik dalam perawatan penyakit periodontal. *Periodontic Journal*, 1(1): 19-15.
 14. Abuzar. 2012. Penentuan Konsentrasi Optimal Obat Kumur Minosiklin Dalam Rentang Konsentrasi 0.0125%-0.2% Terhadap Bakteri Mixed Periodontopathogen. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, Indonesia. H. 3.
 15. Yek EC, Cintan S, Topcuoglu N, Kulekci G, Issever H, Kantarci A. 2010. Efficacy of Amoxicillin and Metronidazole Combination for the Management of Generalized Aggressive Periodontitis. *Journal of Periodontology*. Vol 81(7): 974-964.
 16. Williams RC. 2007. Host Modulation for the Treatment of Periodontal Disease. *Inside Dentistry*. Vol 3(1): 5-2.
 17. Nassar CA, Nassar PO, Nassar PM, Spolidorio LC. 2005. Selective Cyclooxygenase-2 Inhibition Prevents Bone Resorption. *Brazilian Oral Research*, 19(1): 40-36.
 18. Tipton DA, Flin JC, Stein SH, Dabbous MKh, 2003. Cyclooxygenase-2 Inhibitors Decrease Interleukin-1 β -Stimulated Prostaglandin E2 and IL-6 Production by Human Gingival Fibroblasts. *Journal of Periodontology*, 74(12): 1763-1754.
 19. Mlachkova PA. 2009. Effectiveness of Additional Therapy with NSAID (aulin) on Distribution of Shallow and Periodontal Pockets in Patients with Chronic Periodontitis. *Journal of IMAB* Vol 15(2): 55.
 20. Widjojo J. 2003. Obat Antiinflamasi Non-Steroid Sebagai Penyebab Terbanyak Perdarahan Saluran Cerna. *MKB*, 35(1): 2-1.
 21. Yanuhar U. 2009. Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap Kadar Radikal Bebas pada Ikan Kerapu (*Cromileptesaltivelis*) yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 1(2): 191-185.
 22. Yanuhar U, Maizar A, Irawan B, Nurdiani R. 2011. Eksplorasi dan pengembangan bahan aktif mikroalga laut (*Nannochloropsis oculata*) sebagai antibakteri *Vibrio alginolyticus* dan respons imun secara *in vivo* pada ikan kerapu. *Humbuck grouper*. Berk. Penelitian Hayati Edisi Khusus: 6C (1-5).
 23. Singh S. 2012. Structural Modeling and Simulation Studies of Human Cyclooxygenase 1 (HsCOX1) with Anti-inflammatory Terpenoids: Implications in Drug Targeting and Designing. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 3(1): 12-1.
 24. Bruunsgaard H, Henrik EP, Bente KB, Kristiina N, Jari K, Jukka TS. 2003. Long-Term Combined Supplementations with α -Tocopherol and Vitamin C Have No Detectable Anti-inflammatory Effects in Healthy Men. *The Journal of Nutrition*, 133(4): 1172-1170.
 25. Mukhija M, Sundriyal A. 2013. Phytoconstituents Responsible for Anti-

43. Kurniawati A. 2005. Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Metanol *Graptophyllum griff* pada Tikus Putih. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*, 11-13: 170-167.
44. Fitriyani A, Winarti L, Muslichah, Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*, 16(1): 42-32.
45. Hertiani T, Pramono S, Supardjan. 2000. Uji Daya Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun *Plantogo major* L. *Majalah farmasi Indonesia*, 11(4): 246-234.
46. Ernest P. 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat Terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* Sp. Skripsi, Fakultas Teknik Kimia Universitas Indonesia Jakarta, Indonesia. Available from <http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Ffontar.ui.ac.id%2Ffile%3Ffile%3Ddigital%2F20308618-S%2B42592-Pengaruh%2Bkandungan-full%2Btext.pdf&ei=olYIU4PrPMrtrQezuIGgCA&usg=AFQjCNFwPOkDBYKCxFuUBZcC2Ljq-MBnig&bvm=bv.61725948,d.bmk>. Diakses 10 juli 2013.

LAPORAN PENELITIAN

Perbedaan Kitosan Berat Molekul Rendah dan Tinggi Terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi

(The Differences Effect Between Low and High Molecular Weight Chitosan on Number of Lymphocyte Cells in the Wound Healing Process of Dental Extraction)

Felinda Gunawan*, Sularsih**, Soemartono***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

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

***Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Molecular weight is one of the chitosan characteristic that affects the effectiveness application for wound healing of dental extraction. Chitosan could improve wound healing process because of its anti inflammation property and improve proliferation phase. Lymphocyte cell is one of the main cells that act during inflammatory phase. **Purpose:** the aim of this experiment is to account lymphocyte cell in wound healing of dental extraction using chitosan with different molecular weight. **Materials and Methods:** 54 Male Rattus Norvegicus were divided into 3 groups. Group I is control group (without chitosan). Group II was given low molecular weight chitosan. Group III was given high molecular weight chitosan. Rats were sacrificed by decapitation on day 5 and day 7 post extraction then they were examined histopatologically to see the change in lymphocyte cell number. **Result:** Data were statistically analyzed with One Way ANOVA and LSD with degree of significant $p < 0,05$ showed significant difference between high molecular weight chitosan group and low molecular weight chitosan group after 5 and 7 days observation. **Conclusion:** High molecular weight chitosan was found more effective to decrease lymphocyte cell amounts more than low molecular weight chitosan in wound healing of dental extraction process.

Keywords: Chitosan, molecular weight, lymphocyte cell, wound healing

Correspondence: Sularsih, Departement of Materials Science and Techmology Dentistry, Imu Material dan Teknologi, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: l4rs_dentist@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: Berat molekul merupakan salah satu karakteristik dari kitosan yang mempengaruhi efektifitas aplikasi untuk penyembuhan luka pencabutan. Kitosan dapat menunjang proses penyembuhan luka karena dapat sebagai anti-inflamasi dan mendukung tahapan proliferasi. Sel limfosit merupakan salah satu sel yang berperan utama dalam proses inflamasi. **Tujuan:** Mengetahui perbedaan pengaruh antara kitosan berat molekul rendah dan tinggi terhadap jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi. **Bahan dan Metode:** 54 *Rattus Norvegicus* jantan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I adalah kelompok kontrol (tanpa kitosan), kelompok II diberi kitosan gel berat molekul rendah, kelompok III diberi kitosan gel berat molekul tinggi. Dilakukan pengamatan pada hari ke-5 dan ke-7. Tikus didekaputasi dan mandibula tikus diambil kemudian dibuat sediaan histopatologi untuk melihat jumlah sel limfosit. **Hasil:** Analisa statistik One Way ANOVA dan LSD dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kitosan berat molekul tinggi dan rendah pada pengamatan hari ke-5 dan ke-7. **Simpulan:** Kitosan berat molekul tinggi lebih efektif terhadap penurunan jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

Kata kunci: Kitosan, berat molekul, sel limfosit, penyembuhan luka

Korespondensi: Sularsih, Bagian Imu Material dan Teknologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: l4rs_dentist@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase terintegrasi yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan.^{1,2,3} Peristiwa setiap tahap harus terjadi secara tepat dan teratur. Ada banyak faktor yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka yang mengganggu satu atau lebih tahapan dalam proses ini, sehingga menyebabkan perbaikan jaringan menjadi terganggu.² Proses penyembuhan luka pencabutan gigi melibatkan proses perbaikan pada jaringan keras yaitu tulang alveolar dan jaringan lunak yaitu ligamen periodontal dan gingiva.^{4,5,6}

Kehilangan gigi akan menyebabkan gangguan fungsi fonetik, mastikasi, dan estetik.⁷ Prostetik konvensional seperti *bridge* dan *partial denture* maupun implan digunakan untuk merestorasi,

mengembalikan fungsi dan estetik dari gigi yang telah dicabut.⁸ Percepatan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi merupakan hal utama yang perlu diperhatikan pada pencabutan gigi agar dapat segera merestorasi gigi yang hilang.⁹

Berbagai metode dikembangkan dalam penanganan luka untuk menghasilkan penyembuhan luka yang optimal, salah satunya adalah pendekatan penyembuhan menggunakan biomaterial. Kitosan merupakan biomaterial yang telah teruji dapat menunjang proses penyembuhan luka.^{3,9,10,11,12} Kitosan merupakan biopolimer karbohidrat alami hasil dari deasetilasi dari chitin, komponen utama dari cangkang *Crustacea sp.* seperti kepiting, udang, dan *crawfish* yang banyak didapat dari limbah *seafood*.^{12,13,14} Kitosan merupakan kopolimer dari Nasetil-glukosamin

dan N-glukosamin. Sejak penemuannya sekitar 200 tahun lalu, kitosan sebagai polimer alam kationik, telah banyak digunakan sebagai *topical dressing* pada manajemen luka karena memiliki sifat antimikroba, tidak toksik, biokompatibel, *biodegradable*, hemostatik dan memodulasi fungsi sel-sel inflamasi dan kemudian mempercepat granulasi dan proses penyembuhan berikutnya sehingga terjadi percepatan penyembuhan luka.¹⁴

Efektivitas bahan kitosan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu berat molekul, derajat deasetilasi, viskositas, kelarutan, dan pH.^{9,13,14} Beberapa peneliti telah menemukan bahwa percepatan proses penyembuhan luka oleh kitosan terkait dengan struktur kimianya. Parameter utama yang mempengaruhi karakteristik kitosan adalah berat molekul dan derajat deasetilasi. Di pasaran, kitosan yang diproduksi secara komersial tersedia dalam beraneka ragam sumber kitosan dengan *range* berat molekul yang bermacam-macam. Oleh karena itu, karakteristik ini penting untuk dijadikan pertimbangan efektivitasnya dalam aktivitas biomedis untuk mengoptimalkan aplikasi dan hasil yang diinginkan. Kitosan dengan berat molekul tinggi dan derajat deasetilasi tinggi telah ditemukan lebih efektif daripada kitosan berat molekul sedang atau rendah dalam penyembuhan luka bakar.¹¹ Dengan menurunnya berat molekul, ukuran partikel juga makin menurun.¹⁵ Kitosan berat molekul tinggi memiliki viskositas yang tinggi, sedangkan kitosan berat molekul rendah memiliki viskositas yang lebih rendah dan panjang rantai molekul yang pendek.¹⁶ Kitosan dapat segera menimbulkan efek pada proses

penyembuhan luka karena absorpsi yang sangat cepat oleh jaringan saat diaplikasikan secara topikal pada luka.¹¹ Kitosan berat molekul rendah lebih mudah diabsorpsi secara *in vivo* daripada kitosan berat molekul tinggi.¹²

Sel limfosit bermigrasi pada luka mengikuti sel-sel inflamasi dan makrofag. Sel limfosit T muncul secara signifikan pada hari ke-5 luka sampai hari ke-7 dan puncaknya saat fase proliferasi akhir (*lateproliferative*)/ fase awal remodeling (*earlyremodelling*).^{2,17} Peran sel limfosit dalam proses penyembuhan luka adalah melepaskan limfokin yang mempengaruhi populasi dari sel-sel radang lainnya.^{3,18} Sel limfosit T merupakan sel limfosit dengan jumlah tertinggi yang berperan dalam perekrutan makrofag ke daerah luka dengan mengeluarkan limfokin berupa *macrophage aggregating factor* (MAF) dan *macrophage chemotactic factor* (MCF).³ Limfosit juga mempengaruhi sel fibroblas untuk menunjang tahap proliferasi dengan dengan menghasilkan sitokin, seperti IL-2 dan *fibroblast activating factor*.¹⁷

Beberapa studi telah dilaporkan pada penggunaan kitosan sebagai akselerator yang dapat mempercepat penyembuhan luka. Larutan kitosan dari limbah kepiting secara nyata dapat membantu penyembuhan luka pada kulit mencit. Secara mikroskopik kitosan dapat mempercepat infiltrasi sel radang, pertumbuhan jaringan ikat, dan re-epitelisasi. Kitosan mampu meningkatkan jumlah sel limfosit pada pengamatan hari ke-2 dan penurunan jumlah limfosit pada hari ke-4 hingga ke-6 luka insisi kulit mencit.³ Kitosan gel 1% dengan derajat deasetilasi >75% yang diaplikasikan pada luka

pencabutan gigi *Rattus Norvegicus* telah terbukti dapat meningkatkan jumlah sel osteoblas, sel fibroblast dan kolagen tipe I pada lama pengamatan 7 dan 14 hari.⁹ Kitosan dengan konsentrasi 0.25%, 0.5%, 0.75% dan 1% bersifat tidak toksik.¹⁹

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti ingin membuktikan pengaruh penggunaan kitosan yang memiliki berat molekul tinggi dan rendah terhadap penurunan jumlah sel limfosit pada pengamatan hari ke-5 dan ke-7 dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Teknik pengambilan sampel adalah secara *simple random sampling*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 54 ekor *Rattus Norvegicus* jantan strain Wistar usia 3 bulan, berat badan 150-200 gr dibagi dalam 3 kelompok: kelompok kontrol (P₁), kelompok kitosan berat molekul rendah (P₂), kelompok kitosan berat molekul tinggi (P₃). Masing-masing kelompok dibagi dua, kelompok pengamatan hari ke-5 dengan kelompok pengamatan hari ke-7. Sehingga menjadi 6 perlakuan: kontrol hari ke-5 (P_{1.1}), kontrol hari ke-7 (P_{1.2}), kitosan berat molekul rendah hari ke-5 (P_{2.1}), kitosan berat molekul rendah hari ke-7 (P_{2.2}), kitosan berat molekul tinggi hari ke-5 (P_{3.1}), kitosan berat molekul tinggi hari ke-7 (P_{3.2}). Alat digunakan pada penelitian ini terdiri atas : pinset, tang modifikasi elevator khusus untuk mencabut gigi tikus, *Needle holder*, gunting,

Disposable syringe 1cc dan 3cc, *Absorbable sutures*, toples tempat sampel, sarung tangan, masker, *berker glass*, timbangan, pinset, rotary microtome, label, *slide*, *cover glass*, petridish, sarung tangan, mikroskop, kamera. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : Bahan penelitian hewan coba pada penelitian ini terdiri atas kitosan cangkang kepiting SigmaAldrich *low molecular weight*, kitosan cangkang kepiting SigmaAldrich *high molecular weight*, Asam asetat 1%, NaOH, Alkohol 70%, ketamin hydrochloride dan xylazine hydrochloride, buffer formalin 10%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol 100% (absolute), NaOH 50%, *Xylene*, buffer paraffin, asam nitrat 5%, pewarnaan *haematosiklin eosin (HE)*.

Pembuatan kitosan gel dilakukan melarutkan 1 gr bubuk kitosan dalam 100 ml asam asetat 1% pH sekitar 4,0 sesuai dengan aturan pabrik dalam *bekker glass* sehingga menjadi sediaan bentuk gel. Kemudian gel ditetesi dengan NaOH sehingga didapatkan pH dalam kisaran netral.⁹

Semua alat disterilkan dengan panas kering 160°C selama 1 jam. Hewan coba dianestesi menggunakan ketamine dengan dosis 25 mg/kg BB dan xylazine dengan dosis 10 mg/kg BB yang dilarutkan dalam larutan *isotonic saline solution* steril lalu diambil 0,2 ml/ 200 gram BB dan disuntikkan pada paha kanan atas secara intramuskular. Kemudian dilakukan pencabutan gigi insisif kiri rahang bawah pada tikus menggunakan alat modifikasi tang dan elevator. Pastikan tidak ada sisa gigi yang tertinggal di dalam soket gigi. Soket gigi kemudian diirigasi menggunakan *saline solution*. Kitosan gel dengan berat molekul rendah dan

tinggi dalam *syringe* berdiameter kecil dimasukkan ke dalam soket tempat luka pencabutan gigi, kemudian dilanjutkan menjahit lukanya dengan teknik simpul tunggal menggunakan *absorbable sutures*.⁹

Pada masing-masing kelompok 9 ekor didekaputasi pada hari ke-5 dan 9 ekor pada hari ke-7. Kemudian diambil spesimen rahang bawah kiri tikus dan segera di euthanasia.^{6,20} Spesimen rahang dibuat dalam bentuk preparat potongan sagital dengan pengecatan HE. Setelah itu dilakukan pemeriksaan histopatologi pada 1/3 apikal soket dengan pembesaran 400x pada 3 lapang pandang kemudian dihitung jumlah sel limfosit. Hasil perhitungan diambil rata-ratanya.⁹

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan nilai $p=0,05$ menggunakan program SPSS versi 20.

HASIL

Data hasil penelitian rerata dan simpang baku jumlah sel limfosit dapat dilihat pada Tabel 1.

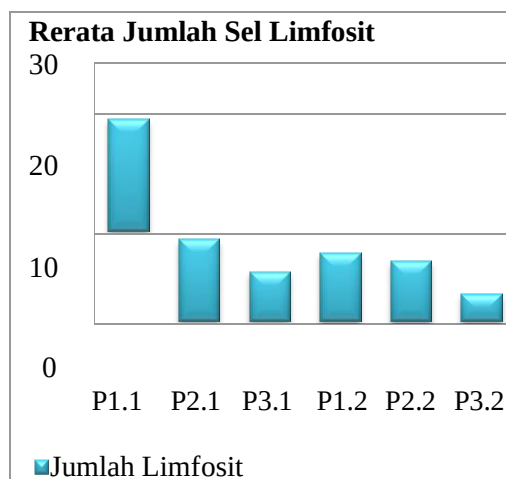
Sebelum dilakukan uji hipotesis, maka setiap kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Kolomogorov-Smirnov*. Hasil uji *KolomogorovSmirnov* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan hasil uji *Levene* didapatkan nilai signifikansi 0.075 sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen ($p > 0,05$).

Tabel 1. Rerata dan simpang baku jumlah sel limfosit pada luka pencabutan gigi

Kelompok	Rerata $\pm$ Simpang Baku
P1.1	23,11 $\pm$ 8,492
P2.1	16,89 $\pm$ 7,590
P3.1	10,22 $\pm$ 4,265
P1.2	14,00 $\pm$ 8,216
P2.2	12,44 $\pm$ 4,362
P3.2	5,67 $\pm$ 1,803

Uji hipotesis menggunakan uji *One way ANOVA* dengan $p < 0.05$ untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian kitosan dengan berat molekul rendah dan tinggi terhadap perbedaan rerata jumlah sel limfosit pada luka pencabutan gigi.

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada jumlah sel limfosit pada setiap kelompok perlakuan. Selanjutnya, uji LSD digunakan untuk menentukan perbedaan yang paling bermakna antar kelompok perlakuan.

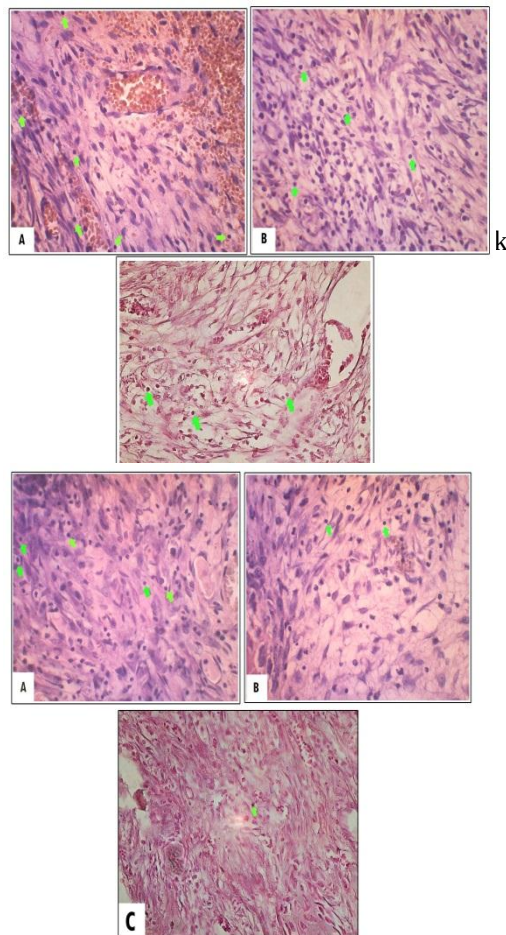


Gambar 1. Grafik perbandingan rerata jumlah sel limfosit pada masing-masing kelompok perlakuan

Hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Tabel hasil uji *LSD*

Kelom-pok	Mean	Kelom-pok	Mean	Sig
P1.1	23.11	P1.2	14.00	0.004*
		P2.1	16.89	0.041*
		P2.2	12.44	0.001*
		P3.1	10.22	0.000*
P1.2	14.00	P3.2	5.67	0.000*
		P2.1	16.89	0.335
		P2.2	12.44	0.603
		P3.1	10.22	0.209
P2.1	16.89	P3.2	5.67	0.007*
		P2.2	12.44	0.141
		P3.1	10.22	0.029*
P2.2	12.44	P3.2	5.67	0.000*
		P3.1	10.22	0.458
P3.1	10.22	P3.2	5.67	0.027
				0.131

**Gambar 2.** Sel limfosit pada kelompok pengamatan hari ke-7

(tanda hijau). Pembesaran 400x

- (A) Kelompok P_{1.2} (kontrol)
 (B) Kelompok P_{2.2} (BM rendah)
 (C) Kelompok P_{3.2} (BM tinggi)

PEMBAHASAN

Luka pencabutan gigi melalui serangkaian proses penyembuhan luka. Agar dapat segera merestorasi gigi yang hilang, percepatan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi merupakan hal utama yang perlu diperhatikan pada pencabutan gigi.^{6,9} Kitosan merupakan biomaterial yang telah teruji dapat menunjang proses penyembuhan luka.^{3,5,9,14,11}

Kitosan merupakan biopolimer alami derivat dari deasetilasi kitin, yang didapatkan pada pada binatang bercangkang *Crustacea sp* seperti kepiting.^{12,13,14} Kitosan merupakan polimer yang tersusun dari kopolimer dari glukosamin (D-GlcN) dan N-asetilglukosamin (D-GlcNA).¹² Kitosan banyak digunakan sebagai *topical dressing* pada luka karena memiliki sifat antimikroba, tidak toksik, biokompatibel, *biodegradable* dan hemostatik. Selain itu, kitosan memiliki kemampuan memodulasi fungsi dari sel-sel inflamasi seperti sel limfosit serta mendukung proses granulasi dan organisasi luka.^{3,14} Berat molekul merupakan salah satu karakteristik utama pada kitosan yang mempengaruhi proses penyembuhan luka. Peran awal kitosan dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi adalah sifatnya yang hemostatik. Sifat kation kitosan adalah linier polielektrolit, bermuatan positif.²¹ Kitosan yang bermuatan positif memiliki kemampuan untuk mengikat membran darah merah yang bermuatan negatif sehingga dengan cepat dapat terbentuk *blood clot* pada fase hemostasis dan mempercepat proses penyembuhan luka.²²

Mukoadesif secara umum diartikan sebagai adesi (perlekatan) bahan dengan mukosa.⁵ Lapisan

mukosa terdiri atas glikoprotein disebut mucin yang kaya akan muatan negatif. Seperti yang telah disampaikan sebelumnya bahwa kitosan bermuatan positif sehingga akan menghasilkan ikatan dengan muatan negatif mucin.²¹ Pada kitosan berat molekul tinggi, ukuran partikel besar dan memiliki viskositas tinggi sehingga aplikasi kitosan gel lebih mudah juga penetrasi pada lapisan mucin juga meningkat sehingga mukoadhesi lebih kuat, mudah melekat pada jaringan dibanding berat molekul rendah.^{5,22}

Pada saat proses penyembuhan luka pencabutan gigi, sel limfosit banyak terdapat pada jaringan granulasi yang ada pada hari ke-3 hingga hari ke-7 pasca pencabutan gigi.⁵ Pada penelitian ini jumlah limfosit kelompok kontrol hari ke-5 dan kontrol hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini karena jumlah sel limfosit T meningkat signifikan pada hari ke-5 luka sampai hari ke-7 dan berkurang secara signifikan pada hari ke-7 luka di mukosa rongga mulut.^{17,23}

Jumlah sel limfosit pada kelompok berat molekul rendah hari ke-5 dengan hari ke-7 tidak berbeda signifikan. Pada kelompok kitosan berat molekul tinggi hari ke-5 dengan ke-7 juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Jumlah sel limfosit pada kelompok berat molekul rendah dan tinggi sama-sama makin menurun. Hal ini dikarenakan luka telah mengalami penyembuhan lebih cepat dan peradangan berkurang sehingga menunjang percepatan proses penyembuhan luka.³

Jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol dengan berat molekul rendah dan tinggi menunjukkan perbedaan yang

signifikan pada pengamatan hari ke-5. Jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol dengan berat molekul tinggi berbeda signifikan pada pengamatan hari ke-7, tetapi antara kelompok kontrol dengan kelompok berat molekul rendah tidak signifikan. Jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol lebih besar dibanding kedua kelompok kitosan pada hari ke-5 dan ke-7. Pada kelompok kitosan dengan berat molekul tinggi menunjukkan jumlah sel limfosit yang paling sedikit. Hal ini membuktikan bahwa pemberian kitosan membuat kerja limfosit menjadi lebih efektif sehingga mempercepat penyembuhan luka. Sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Djameluddin (2009) bahwa pemberian kitosan dari limbah cangkang krustasea meningkatkan jumlah sel limfosit pada hari ke-2 dan jumlah sel limfosit menurun pada hari ke-4 dan ke-6 luka insisi kulit mencit.

Pada kelompok berat molekul tinggi jumlah limfosit menunjukkan perbedaan yang signifikan dibanding kelompok berat molekul rendah pada hari ke-5 dan ke-7. Kitosan berat molekul tinggi memiliki monomer N-asetil yang lebih banyak dibanding kitosan berat molekul rendah.¹¹ Pada fase inflamasi, sel fagosit seperti sel PMN dan sel makrofag mengeluarkan enzim lisosim.²⁴ Enzim lisosim akan mendegradasi kitosan menjadi N-asetil-D-glukosamin dimer aktif dan molekul- molekul yang lebih kecil (monomer).^{9,22} Kemudian monomer N-asetil glukosamin berikatan dengan reseptor utama pada makrofag untuk kitosan yaitu *mannose receptor*.²⁵ Setelah berikatan dengan reseptor, kitosan di internalisasi oleh sel makrofag dan memicu migrasi dan proliferasi sel makrofag. Sel makrofag yang teraktivasi menghasilkan

peningkatan aktivitas metabolik, menstimulasi sekresi *growth factor*, sitokin IL-12, IL-6, dan IL-23, mengenalkan antigen kepada limfosit T, sehingga meningkatkan respon dari limfosit.²⁶ Sel limfosit yang banyak teraktifasi selanjutnya menghasilkan sitokin IL-2 sehingga proses inflamasi dapat berlangsung lebih cepat. Sel limfosit juga menghasilkan *fibroblast activating factor* yang mempengaruhi sel fibroblas yang akan menunjang tahap penyembuhan luka berikutnya.¹⁷ Dengan monomer N-asetil pada kitosan berat molekul tinggi yang lebih banyak dapat meningkatkan kemampuan kitosan pada sel limfosit sehingga menjadi lebih aktif.¹¹ *Blood clot* yang terbentuk juga lebih kuat pada soket bekas pencabutan gigi yang diberi kitosan berat molekul tinggi. Sedangkan pada kitosan berat molekul rendah, ukuran partikel lebih kecil dan memiliki viskositas yang rendah sehingga aplikasi kitosan gel lebih sulit dibanding kitosan gel berat molekul tinggi.^{5,22, 27}

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara pengaruh kitosan gel berat molekul rendah dengan berat molekul tinggi terhadap jumlah sel limfosit. Kitosan berat molekul tinggi lebih efektif terhadap penurunan jumlah sel limfosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Gosain A, DiPietro LA. 2004. Aging and Wound Healing. *World J Surg*, 28: 326-321.
- Guo S, DiPietro LA. 2010. Factors affecting Wound Healing. *J Dent Res*, 89(3): 229-219.
- Djamaluddin AM. 2009. Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Krustasea untuk Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*). Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor. H. 8.
- Farina R, Trombelli L. 2011. Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics. Dentistry & Oral Sciences Source, Ipswich, MA*, 25(1): 43-16.
- Budianto B. 2013. Pengaruh Kitosan Gel 1% yang Memiliki Berat Molekul Tinggi dan Rendah Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi. Skripsi, Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 38,22.
- Steiner GG, Francis W, Burrell R, Kallet MP, Steiner DM, Macias R. 2008. The Healing Socket And Socket Regeneration. Available from www.Endoexperience.com/userfiles/file/unnamed/The%20Healing%20Socket%20And%20Socket%20Regeneration.pdf.
- Ayu DA. 2011. Kesehatan Gingiva pada Pengguna Gigi Tiruan Cekat di Pulang Kodingareng. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Makassar. Available from <http://repository.unhas.ac.id/handle/123456>. Diakses 9 September 2013.
- Chawaf BA. 2011. Healing of human extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after 6 and 12 weeks. Dissertation, Universitätsmedizin Berlin. P.8-1.
- Sularsih. 2011. Penggunaan Kitosan dalam Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Rattus Norvegicus. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya. H. 48-42.
- Budihargono O, Yulianti A, dan Rianti D. 2013. Peningkatan Mobilisasi Sel Polimorfonuklear Setelah Pemberian Gel Kitosan 1% pada Luka Pencabutan Gigi Cavia Cobaya. *Material Dental Journal Universitas Airlangga January*: 6-1.
- Alsarra IA. 2009. Chitosan Topical Gel Formulation in the Management of Burn Wounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45: 21-16.
- Prashanth RN, Tharanathan H. 2007. Chitin/Chitosan: Modifications and Their Unlimited Application Potential an Overview. *Trends in Food Science & Technology* 18, 117131.
- Kim F. 2004. Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different

- Processing Protocols. Thesis, Louisiana State University. H. 7-6.
14. Dai T, et al. 2011. Chitosan Preparations for Wounds and Burns: antimicrobial and Wound Healing Effects. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9(7):879- 857.
15. Chattopadhyay DP and Inamdar MS. 2012. Studies on Synthesis, Characterization and Viscosity Behaviour of Nano Chitosan. *Res. J. Engineering Sci.*, 1(4), 15-9.
16. Maeda Y, Kimura Y. 2004. Antitumor Effects of Various LowMolecular-Weight Chitosans Are Due to Increased Natural Killer Activity of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes in Sarcoma 180– Bearing Mice. *J. Nutr.* 134: 950–945.
17. Suryadi IA, Asmarajaya AAGN, Maliawan S. 2013. Proses Penyembuhan dan Penanganan Luka. Bagian/SMF Ilmu Penyakit Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar. Available from <http://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/download/4885/3671>. Diakses 26 Juni 2013.
18. Agramula G. 2008. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) dalam Proses Persembuhan Luka Mencit. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/3352>. Diakses 25 September 2013. H. 46.
19. Ariani MD, Yuliati A, Adiarto T. 2009. Toxicity Testing of Chitosan from Tiger Prawn Shell Waste on Cell Culture. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*, 42(1): 20-15.
20. Pierce S. 2006. Euthanasia of Mice and Rats. P. 1. Available from <http://www.bu.edu/orccommittees/iacuc/policies-andguidelines/euthanasia-of-rodents/>. Diakses 29 Juli 2013.
21. Albert. 2011. Pengaruh Konsentrasi H2O2 dan Konsentrasi Asam Asetat dalam Proses Pembuatan Kitosan. Skripsi, Universitas Sumatra Utara, Medan. Available from <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/29148>. Diakses 9 Juni 2013.
22. Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Paños I, Miralles B, Acosta N, Galed G dan Heras Á. 2009. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Current Chemical Biology*, 3: 230-203.
23. Larjava H. 2012. Oral Wound Healing : Cell Biology and Clinical Management. Oxford: Wiley-Blackwell. P. 47.
24. Freier T, Koh HS, Kazazian K, Shoichet MS. 2005. Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation. *Biomaterials* 26: 5878-5872.
25. Mori T, Murakami M, Okumura M, Kadosawa T, Uede T, Fujinaga T. 2005. Mechanism of Macrophage Activation by Chitin Derivates. *J. Vet. Med. Sci.*, 67(1): 56-51.
26. Kumar V, Abbas AK, dan Aster JC. 2011. *Robbins Basic Pathology*. 9th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. P. 72-29.
27. Alemdaroglu C, Degim Z, Celebi N, Zor F, Ozturk S, Erdogan D. 2006. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns*, 32: 319-32.

Panduan Penulisan Naskah

Denta “Jurnal Kedokteran Gigi” menerima khusus naskah asli yang belum diterbitkan di dalam maupun di luar negeri.

Ketentuan Naskah Penulisan

1. Naskah dapat berupa hasil penelitian, konseptual ilmiah atau laporan kasus.
2. Naskah yang dikirim sebanyak 2 (dua) rangkap disertai disket/CD/flash disk.
3. Naskah dapat ditulis dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris.
4. Naskah diketik dengan program MS Word dengan huruf Times New Roman dengan besar huruf 12 dan spasi 1 serta panjang halaman 7-15 halaman pada kertas HVS ukuran A4, tidak bolak balik dengan batas pinggir 3-4 cm.
5. Naskah serta ilustrasi yang menyertai menjadi milik sah penerbit dan tidak dibenarkan untuk diterbitkan pada publikasi lain selain izin penerbit. Naskah dapat diedit penyunting bila diperlukan tanpa mengubah maksud isinya.

Sistematika Penulisan

1. Naskah hasil penelitian disajikan dengan sistematika sebagai berikut :
 - (a) Judul
 - (b) Abstrak
 - (c) Pendahuluan
 - (d) Bahan dan Metode
 - (e) Hasil
 - (f) Pembahasan (serta simpulan)
 - (g) Daftar Pustaka
2. Naskah Konseptual Ilmiah disajikan dengan sistematika sebagai berikut :
 - (a) Judul
 - (b) Abstrak
 - (c) Pendahuluan
 - (d) Subjudul-subjudul tinjauan pustaka
 - (e) Pembahasan (serta simpulan)
 - (f) Daftar pustaka
3. Laporan kasus:
 - (a) Judul
 - (b) Abstrak
 - (c) Pendahuluan
 - (d) Kasus dan tata laksana Kasus
 - (e) Pembahasan (serta simpulan)
 - (f) Daftar Pustaka

4. Judul:
 - (a) Dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
 - (b) Harus menggambarkan isi tulisan secara ringkas dan jelas.
 - (c) Jumlah kata 10-15 kata.
 - (d) Ditulis dalam bahasa Indonesia dengan huruf Times New Roman besar-kecil ukuran 17,5 dan tebal, dan dalam bahasa Inggris dengan huruf Times New Roman besar-kecil ukuran 15,5, miring dan terletak di dalam kurung.
5. Nama penulis (tanpa gelar) ditulis dengan huruf Times New Roman ukuran 9,5 dan tebal.
6. Nama lembaga ditulis dengan huruf Times New Roman ukuran 9,5.
7. Abstrak (Times New Roman besar, tebal, font 10,5).
 - (a) Ditulis dalam bahasa Inggris dan bahasa Indonesia.
 - (b) Tidak lebih dari 250 kata.
 - (c) Menggunakan huruf Times New Roman ukuran 10,5 dalam satu alinea, spasi 1.
 - (d) Berisi intisari seluruh tulisan yang terdiri dari:
 - Hasil penelitian: Background, Purpose, Material and Method, Result, Conclusion
 - Studi pustaka: Background, Purpose, Literature Study, Discussion, Conclusion.
 - Laporan kasus: Background, Purpose, Case, Case Management, Conclusion.
 - (e) Dicantumkan 2-5 kata kunci (*keywords*) dan korespondensi (*correspondence*) berisi nama, instansi, alamat, nomor telepon, dan faksimili serta email dengan menggunakan huruf Times New Roman 10,5.
8. Pendahuluan meliputi latar belakang, rumusan masalah serta tujuan penulisan.
9. Bahan dan metode meliputi bahan dan alat yang digunakan, waktu, tempat, rancangan, dan prosedur pelaksanaan penelitian.
10. Hasil dikemukakan dengan jelas dan bila perlu dilengkapi dengan tabel,

- ilustrasi, dan foto yang diberi nomor berurutan dalam teks. Judul tabel ditulis di atasnya. Keterangan gambar diberikan di bawahnya. Foto berwarna/hitam putih menggunakan kertas putih mengkilat dan harus kontras, tajam, jelas.
11. Subjudul-subjudul berisi subtropik studi pustaka dan pembahasan disesuaikan dengan kebutuhan.
 12. Kasus merupakan penjelasan kasus yang meliputi anamnesis, pemeriksaan klinis baik ekstra oral maupun intra oral, pemeriksaan penunjang, dan diagnosis.
 13. Tata Laksana Kasus menjelaskan prosedur penatalaksanaan yang dilakukan pada penderita secara jelas.
 14. Pembahasan menjelaskan hasil penelitian sebagai pembacaan masalah, dikaitkan dengan penelitian terdahulu serta kemungkinan pengembangannya. Memuat kesimpulan yang merupakan bagian akhir tulisan yang menunjukkan jawaban atas tujuan yang telah dikemukakan dalam pendahuluan.
 15. Ucapan terima kasih ditulis apabila memang ada pihak yang telah membantu dalam kegiatan yang dilakukan, maka ucapan terima kasih dapat disampaikan di sini diletakkan pada akhir naskah sebelum daftar pustaka.
 16. Daftar pustaka
 - (a) Daftar pustaka berisi informasi tentang sumber pustaka yang telah dirujuk dalam tubuh tulisan.
 - (b) Untuk setiap pustaka yang dirujuk dalam naskah harus muncul dalam daftar pustaka, begitu juga sebaliknya setiap pustaka yang muncul dalam daftar pustaka harus pernah dirujuk dalam tubuh tulisan
 - (c) Format perujukan pustaka di dalam naskah disusun menurut angka secara berurutan dari nama pertama keluar dalam Daftar Pustaka, mengikuti cara *Vancouver*.
 - (d) Contoh penulisan kepastakaan menurut Vancouver yaitu :
 1. Bills DA, Handelman CS, Be Gole EA. 2005. Bimaxillary dentoalveolar protrusion: Traits and Orthodontics correction. *Angle Orthod*, 75(1): 339-333.
 2. Newman MG, Takei HH, Klokkevoid PR, Carranza FA. 2006. *Clinical Periodontology*, 10th edition, St Louis: Saunders. p 245-241.
 3. Bayu A. 2009. Hutan Mangrove Sebagai Salah Satu Sumber Produk Alam Laut. *Oseana*, 34(2): 23-15. Available from http://isdj.pdii.lipi.go.id/adm_in/jurnal/342091523.pdf. Diakses 13 Juni 2012.
 17. Penulis bertanggung jawab terhadap isi naskah beserta data, pendapat, dan pernyataan di dalamnya. Penerbit, Dewan Redaksi dan Staf Majalah denta tidak bertanggungjawab terhadap kesalahan isi askah termasuk data, pendapat, dan pernyataan di dalamnya.

FORMULIR BERLANGGANAN



FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS HANG TUAH

Alamat redaksi: Jl. Arief Rahman Hakim 150 Surabaya
Telp. 031-5945864, 5945894 psw 219/220 Fax. 031-5946261
E-mail: jurnal.denta@gmail.com/denta@hangtuah.ac.id
Website: www.fkg.hangtuah.ac.id

Negara	1 Tahun	2 Tahun
Pulau Jawa	Rp 70.000,00	Rp 130.000,00
Luar Pulau Jawa	Rp 90.000,00	Rp 150.000,00

Saya ingin berlangganan Denta Jurnal Kedokteran Gigi

Nama:.....
Pekerjaan:.....
Institusi:
Alamat surat:
.....
Kota:
Negara:.....
Telp:
Fax:
E-mail:
Periode langganan: Th..... – Th.....

Saya membayar majalah ini dengan:

- ☐ Tunai
☐ Transfer

Tanda tangan:

No. Rekening	: 00338-01-50-000315-1
Nama Bank	: BTN Batara
Nama Penerima	: Fakultas Kedokteran Gigi

