

A large, stylized graphic of a tooth, rendered in a light blue and white color scheme, positioned behind the main title.

denta

Jurnal
Kedokteran
Gigi

Vol.10 No.1 Februari 2016

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	iii
Bioviabilitas Ekstrak <i>Gracilaria sp</i> terhadap Stem Sel Mesenkimal sebagai Terapi Adjuvant Periodontitis <i>Talsha Irzaputri A, Yoifah Rizka W, Sarianofern</i>	1
Efektifitas Ekstrak <i>Nannochloropsis oculata</i> Terhadap Peningkatan Kepadatan Kolagen pada Proses Penyembuhan Alveolar Osteitis <i>Ajeng Saghita Enggardini, Syamsulina Revianti, Noengki Prameswari</i>	9
Efektifitas Kombinasi Pemberian Minyak Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>) dan Aplikasi Hidroksiapatit terhadap Ekspresi FGF-2 pada Proses Bone Healing <i>Tiaranita Ramadhani, Rima Parwati Sari, Widyastuti</i>	20
Efektifitas Kombinasi Terapi Oksigen Hiperbarik dan Gel Teripang Emas (<i>Stichopus hermannii</i>) terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblas pada Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Safina Majdina, Dian Mulawarmanti, Yoifah Rizka</i>	31
Efektifitas Sabun Cair Ekstrak Kulit Nanas Sebagai Pembersih Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Heat Cured Terhadap Pertumbuhan <i>Candida Albicans</i> <i>Tiffany Augusta Posuma, Meinar Nur Ashrin, Dwi Andriani</i>	42
Hubungan Antara Ph Plak Terhadap Terjadinya Early Childhood Caries (Ecc) pada Daerah Endemik Gizi Buruk <i>Pindobilowo, Febriana Setiawati, Riska Rina Darwita</i>	50
Pengaruh Pemberian Ibuprofen Preoperatif Terhadap Sebaran Sel Radang Kronis Pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi <i>Fanny Marisca Alviony, Eddy Hermanto, Widaningsih</i>	55
Pengaruh Kafein Terhadap Ekspresi RANKL dan Jumlah Osteoklas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti <i>Herniyati</i>	62
The Effectiveness Of Anchovy Concentration (<i>Stolephorus insularis</i>) as Antimicrobial to <i>Streptococcus mutans</i> (In Vitro) <i>Almira Fa'Izah, Istien Wardani, Diana Soesilo</i>	71

The Effect Of Sea Cucumber Powder And Hyperbaric Oxygen Therapy On The Expression Of Tumor Necrosis Factor Alfa In Rats With Diabetes Mellitus Induced By <i>Porphyromonas gingivalis</i>	79
<i>Caroline Prajnaparamitha Anggraini, Kristanti Parisihni, Widyastuti</i>	
The Secondary Metabolites Screening and the Effectiveness (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr of the Queen Pineapple Stems in Decreasing the Number of <i>Enterococcus faecalis</i>'s Colonies	89
<i>Shinta Nurmaraya Febrianti, Twi Agnita Cevanti, Henu Sumekar</i>	
Immediate Removable Partial Denture For Aesthetic Anterior Maxillary Tooth Rehabilitation	100
<i>Benita Aryani Hendrata, Paulus Budi Teguh</i>	
Pengaruh Efek Iatrogenik Dalam Perawatan Ortodonti	109
<i>Tuti Alawiyah</i>	

LAPORAN PENELITIAN

Bioviabilitas Ekstrak *Gracilaria sp* terhadap Stem Sel Mesenkimal sebagai Terapi Adjuvant Periodontitis

*(The Bioviabilitas of Gracilaria sp Extract Againsts
Mesenchymal Stem Cell as Adjuvant Therapy of Periodontitis)*

Talsha Irzaputri A*, Yoifah Rizka **, Sarianofern***

*Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Radiologi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: *Gracilaria* Seaweed extracts are known to have an antibacterial content that can inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria. *P. gingivalis* are dominant in chronic periodontitis as a cause of periodontal tissue damage that can be inhibited by using materials that contain antibacterial effect. Terms of materials to be applied in the oral cavity must be biocompatible, through toxicity tests, one with bioviability test. In this study bioviability test performed on media mesenchymal stem cells. **Purpose:** To determine bioviability *Gracilaria* seaweed extract against mesenchymal stem cells as adjuvant therapy of periodontitis. **Materials and Methods:** study design was post test only control group design. Mesenchymal stem cells in 96 wells were divided into a control group of cells (n=6), media controls (n=6), and treatment (n=6). The treatment group was given *Gracilaria* seaweed extract with a concentration of 2.5%, 5%, 10%, 20% and 40%. Stem cells were incubated 24 hours before and after treatment. Once given MTT, optical density read with an ELISA reader then calculated the percentage of living cells. Toxic material when living cells <50% and not toxic when living cells >50%. Living cell data were analyzed by statistical test Kruskal Wallis and Man Whitney. **Result:** Viability cell at 2.5% concentration is 68.59%, 5% concentration = 29.67%, 10% concentration = 4.43%, 20% concentration = 2.5% and 40% concentration = 0.96 %. **Conclusion:** Extract of seaweed *Gracilaria* proven not toxic at 2.5% concentration and proved toxic at 5%, 10%, 20% and 40% concentration

Keywords: Bioviability, *Gracilaria sp*, mesenchymal stem cell

Correspondence: Yoifah Rizka, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: yoi.riez@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: Ekstrak rumput laut *Gracilaria* diketahui memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas Gingivalis*. *P.Gingivalis* dominan pada periodontitis kronis sebagai penyebab kerusakan jaringan periodontal yang dapat dihambat dengan menggunakan bahan yang mengandung efek anti bakteri. Syarat bahan untuk dapat diaplikasikan dalam rongga mulut harus bersifat biokompatibel, melalui uji toksisitas, salah satunya dengan uji bioviabilitas. Pada penelitian ini uji bioviabilitas dilakukan pada media stem sel mesenkimal. **Tujuan:** Untuk mengetahui bioviabilitas ekstrak rumput laut *Gracilaria* terhadap stem sel mesenkimal sebagai terapi adjuvant periodontitis. **Bahan dan Metode:** Rancangan penelitian adalah post test only control group design. Stem sel mesenkimal dalam 96 sumuran dibagi menjadi kelompok kontrol sel ($n=6$), kontrol media ($n=6$), dan perlakuan ($n=6$). Kelompok perlakuan diberi ekstrak rumput laut *Gracilaria* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20% dan 40%. Stemsel diinkubasi 24 jam sebelum dan sesudah perlakuan. Setelah diberi MTT, optical density dibaca dengan ELISA reader lalu dihitung persentasel yang hidup. Bahan bersifat toksik bila sel hidup $<50\%$ dan tidak toksik bila sel hidup $>50\%$. Data sel yang hidup tersebut dianalisa dengan uji statistik Kruskal wallis dan Man Whitney. **Hasil:** Viabilitas sel pada konsentrasi 2,5% adalah 68,59%, konsentrasi 5% = 29,67%, konsentrasi 10% = 4,43%, konsentrasi 20% = 2,5% dan konsentrasi 40% = 0,96%. **Simpulan:** Ekstrak rumput laut *Gracilaria* terbukti tidak toksik pada konsentrasi 2,5% dan terbukti toksik pada konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40%.

Keywords: Bioviabilitas, *Gracilaria* sp, stem sel mesenkimal

Korespondensi: Yoifah Rizka W, Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: yoi.riez@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang masih dialami masyarakat awam. Di Surabaya khususnya, dari 59 puskesmas terjadi 2,98% kasus pada tahun 2011 (Diskes Surabaya, 2011). Hal ini disebabkan oleh kurangnya tingkat kesadaran menjaga kebersihan rongga mulut. Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan periodontal yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik. Salah satu klasifikasi periodontitis ialah periodontitis kronis. Periodontitis kronis merupakan bentuk yang paling umum dari periodontitis, yang disebabkan oleh bakteri plak, salah satu bakteri yang paling banyak ditemui pada periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*.¹

Terapi periodontal dapat dilakukan dengan cara bedah dan non-bedah. Terapi non-bedah merupakan prosedur perawatan periodontal yang bertujuan untuk menghilangkan faktor penyebab dan faktor yang dapat menambah keparahan penyakit gingiva dan periodontal dengan kontrol plak, *scaling*, *root planing*, dan pemberian antimikroba atau antibiotik.¹

Terapi alternatif pada penyakit periodontal perlu dilakukan sebab terapi mekanis yaitu *scaling* dan *root planing* saja dianggap belum berhasil untuk menghilangkan jumlah koloni bakteri spesifik, sehingga diperlukan pemberian antibiotik sistemik atau lokal.² Penggunaan antibiotik jangka panjang dapat menimbulkan beberapa efek hipersensitivitas, reaksi toksik, dan banyak bakteri yang resisten

terhadap antibiotik,³ yang mengakibatkan keterbatasan penggunaannya dalam terapi sehingga diperlukan obat alternatif untuk terapi penyakit periodontal yang memiliki efek antibakteri yang tidak menimbulkan efek samping bagi penderita dengan penggunaan jangka panjang dan dapat langsung bekerja pada daerah sasaran.

Dalam bidang medis, pengobatan bisa didapat dari berbagai macam jenis sumber daya hayati salah satunya adalah *Gracilaria sp.* yang merupakan salah satu jenis dari rumput laut. *Gracilaria* termasuk golongan alga merah (*Rhodophyceae*) yang banyak dimanfaatkan dan bernilai ekonomis.⁴ Menurut penelitian Siregar, (2012) ekstrak *Gracilaria* memiliki kandungan senyawa bioaktif antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid dan steroid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*. Melki, (2011) membuktikan bahwa ekstrak *Gracilaria* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* pada konsentrasi 0,05%, 1%, 5%, 10%, dengan konsentrasi hambat minimum 0,05%.⁵ Penelitian oleh Talib (2014) membuktikan bahwa ekstrak rumput laut *Gracilaria sp* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 0,05%, 1%, 5%, 10%, yang menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak *Gracilaria* semakin besar daya hambatnya terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.⁶

Ekstrak rumput laut *Gracilaria* ini mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai terapi adjuvant pada kelainan periodontal, namun untuk dapat diaplikasikan di dalam

rongga mulut suatu bahan kedokteran gigi harus di uji toksik terlebih dahulu. Bahan-bahan kedokteran gigi harus *biokompatibel* yaitu tidak memiliki efek toksik atau efek merugikan pada fungsi biologis.⁷ Uji viabilitas sel merupakan bagian dari uji toksisitas yang digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu bahan kimia, toksin natural, dan sel mediator imun untuk membunuh suatu sel.^{8 9} Pengkajian toksisitas suatu zat diperlukan untuk menetapkan potensi suatu zat sebagai racun.¹⁰ Maka penelitian ini merupakan penelitian lanjutan untuk melihat jumlah sel yang hidup dari pemberian ekstrak *Gracilaria*.

Uji bioviabilitas dilakukan pada *mesenchymal stem cells*. *Mesenchymal stem cells* dapat digunakan untuk menguji obat baru dan untuk menguji toksisitas,¹¹ sebab stem sel mesenkimal bersifat belum berdiferensiasi (*undifferentiated*), mampu berproliferasi (*self renewal*) dan dapat berdiferensiasi menjadi sel-sel tubuh yang dibutuhkan.¹²

Berdasarkan penelitian Talib (2014) didapatkan zona hambat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* yaitu 7,372mm (0,05%), 7,95mm (1%), 11,57mm (5%), dan 13,86mm (10%).⁶ Dibandingkan dengan kontrol positif (tetrasiklin) yaitu 40,868 mm. Hal tersebut menunjukkan kecenderungan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak *Gracilaria* maka semakin besar daya hambatnya terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Oleh karena itu peneliti menggunakan konsentrasi mulai 2,5%, 5%, 10%, dan ditingkatkan menjadi 20%, dan 40%, konsentrasi tersebut didapat dari pengenceran dua kalilipat dan diharapkan agar hasil dari konsentrasi tersebut dapat mendekati kontrol

positif (tetrasiklin) dan semakin menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil penelitian ini diperlukan untuk mengetahui efek toksik yang mungkin ada dalam *Gracilaria*, jika *Gracilaria* terbukti aman dan tidak menimbulkan efek toksik pada jaringan yang normal, maka ekstrak *Gracilaria* dapat dikembangkan sebagai bahan alternatif terapi pada pengobatan penyakit periodontal.

BAHAN DAN METODE

Penelitian pembuatan ekstrak *Gracilaria* dilakukan di Laboratorium fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Surabaya (UBAYA) dan perlakuan terhadap *mesenchymal stem cells* dilakukan di Laboratorium *stem cell* di *Institute of Tropical Disease Centre* Universitas Airlangga Surabaya. Rumput laut jenis spesies *Gracilaria* dikeringkan dibawah panas matahari selama 4 hari dengan suhu yang stabil. Sampel yang telah kering (*simplisia*) dipotong-potong kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk *simplisia*. *Simplisia* ditimbang sebanyak 50 gram dan dimasukkan ke dalam tabung elenmeyer. Lalu dilakukan perendaman (*macerasi*) dengan larutan metanol 70% sebanyak 100ml dan direndam selama 2 hari. Larutan disaring menggunakan kertas saring dan dikeringkan di atas pemanas listrik hingga terbentuk ekstrak kental. Media *mesenchymal stem cells* dalam 96 sumuran dibagi menjadi kelompok kontrol sel ($n=6$), kontrol media ($n=6$), dan perlakuan ($n=6$). Kelompok sel merupakan sediaan dari *mesenchymal stem cells* dan kelompok media merupakan sediaan *alpha MEM*,

kelompok perlakuan diberi ekstrak rumput laut *Gracilaria* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20% dan 40%, konsentrasi tersebut didapat dari pengenceran dengan media *alpha MEM*. Kemudian dilakukan uji bioviabilitas dan dibaca nilai absorbansinya secara spektrofotometri menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 620 nm. Nilai *optical density* (absorbansi) masing-masing sampel pada setiap konsentrasi terhadap nilai kontrol dilakukan perhitungan nilai rata-rata presentase sel-sel yang hidup.

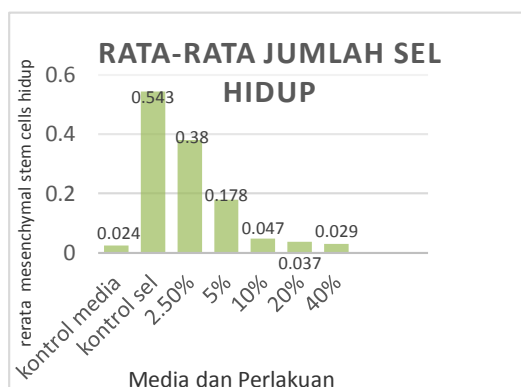
HASIL

Data viabilitas sel dari ekstrak *Gracilaria* terhadap stem sel mesenkimal berdistribusi tidak normal (uji *Shapiro-Wilk* didapatkan $p>0.05$) dan antar kelompok memiliki variansi yang tidak homogen (*Levene's test* $p=0.000$), data tidak berdistribusi secara tidak normal sehingga dilakukan uji non parametrik yaitu *Kruskal Wallis* dengan hasil $p<0,05$ yang menunjukkan bahwa ada perbedaan viabilitas sel yang bermakna antar kelompok perlakuan. Untuk melihat perbedaan viabilitas sel pada masing-masing kelompok, data kelompok perlakuan dilakukan uji *Man Whitney* dengan pemaknaan $p<0,05$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok media dengan semua kelompok perlakuan, kelompok sel dengan kelompok konsentrasi 2,5%; 5%; 10%, konsentrasi 20% dengan semua perlakuan, konsentrasi 5% dengan semua perlakuan, konsentrasi 10% dengan 40%, dan konsentrasi 20% dengan 40% ($p= 0,004$). Dari hasil perhitungan *ELISA Reader*

didapatkan pengukuran jumlah sel yang hidup dari konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40% menunjukkan hasil rerata jumlah sel hidup 0,379, 0,179, 0,04, 0,036, 0,028, dan didapatkan hasil presentase jumlah sel hidup dari perhitungan dengan menggunakan rumus viabilitas sel yaitu 68,59%, 29,67%, 4,43%, 2,5% dan 0,96%. Dari presentase jumlah sel yang hidup dapat dikatakan semakin tinggi presentase konsentrasi ekstrak *Gracilaria* semakin rendah jumlah sel hidup.

Tabel 1. Tabel Hasil uji statistik deskriptif

Kelompok	N	Rata-Rata	Std. Deviasi
P1	6	0,543	0,027
P2	67	0,024	0,003
P3	6	0,380	0,0029
P4	6	0,178	0,014
P5	6	0,047	0,005
P6	6	0,037	0,04
P7	6	0,029	0,005



Gambar 2. Grafik rata-rata Viabilitas Sel

PEMBAHASAN

Penyakit periodontal merupakan suatu respon inflamasi karena adanya infeksi bakteri pada jaringan pendukung gigi yang melekat lama pada jaringan periodontal sehingga terbentuk *biofilm* plak.¹³ Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan periodontal yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik. Salah satu klasifikasi periodontitis adalah periodontitis kronis. Periodontitis kronis merupakan bentuk yang paling umum dari periodontitis, yang disebabkan oleh bakteri plak, salah satu bakteri yang paling banyak ditemui pada periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*.¹

Eliminasi bakteri penyebab mencakup kontrol plak, *scaling*, *root planing*, dan pemberian antibiotika. Pemberian antibiotika perlu dilakukan karena perawatan secara mekanis yaitu *scaling* dan *root planing* dikatakan belum berhasil karena terdapat mikroorganisme spesifik. Antibiotika dapat menjadi terapi tambahan pada terapi mekanik periodontal,¹⁴ namun penggunaan antibiotik jangka panjang dapat menimbulkan beberapa efek hipersensitivitas, reaksi toksik, dan dengan banyaknya bakteri yang resisten terhadap antibiotik,³ sehingga pada penelitian ini dipilih ekstrak *Gracilaria* sebagai terapi tambahan untuk mengurangi efek resistensi dari antibiotik karena ekstrak *Gracilaria* tersebut memiliki sifat antibakteri.

Gracilaria memiliki komponen kimia yaitu karbohidrat, protein, lemak, serat kasar, abu, mineral yang meliputi kalsium, fosfor, natrium dan zat besi. Selain itu terdapat vitamin B1, B2 dan Vitamin C.¹⁶ Selain itu pada rumput laut *Gracilaria* memiliki kandungan karoten, dimana karotenoid

memiliki fungsi biologis yang sangat penting sebagai antioksidan, dan imunostimulator yang dapat mencegah penyakit, anti-inflamasi, anti stres, anti penuaan diri, dan pelindung kulit dari sinar ultraviolet. *Gracilaria* juga memiliki kemampuan menangkap radikal bebas atau antiradikal¹⁷. *Gracilaria* memiliki kandungan senyawa bioaktif antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, dan steroid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*.¹⁸

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *mesenchymal stem cells*. *Stem cell* adalah sel yang menjadi awal mula dari pertumbuhan sel lain yang menyusun keseluruhan tubuh organisme, termasuk manusia.¹² Teknik jaringan menggunakan *mesenchymal stem cells* adalah pilihan terapeutik dengan beberapa keunggulan, *Mesenchymal stem cells* memiliki kualitas regenerasi tinggi jaringan yang rusak tanpa membentuk jaringan fibrous dan resiko rendah terhadap penolakan autoimun, *mesenchymal stem cells* dapat berdiferensiasi menjadi mesodermal, endodermal, dan ektodermal, oleh karena itu *mesenchymal stem cells* merupakan sumber daya yang baik untuk rekayasa jaringan.¹⁵ *mesenchymal stem cells* merupakan sel yang multipoten sehingga dapat berdiferensiasi menjadi golongan yang sama dan dapat berdiferensi menjadi penyusun jaringan periodontal.¹²

Penelitian ini menggunakan uji bioviabilitas yang merupakan bagian dari uji toksisitas yang digunakan untuk mengevaluasi secara biologi efek suatu material kedokteran gigi yang diperlukan secara langsung terhadap jaringan dalam kultur sel untuk prosedur skrining standar yang

direkomendasikan yang menjadi perhatian utama pada sifat iritasi lokal.⁹ Uji toksisitas ialah uji untuk menentukan suatu bahan memiliki potensi menjadi toksik pada organisme biologis dan sejauh mana efeknya.¹⁹

Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dari jumlah sel yang hidup antara kelompok perlakuan kecuali kelompok kontrol sel dengan konsentrasi 2,5% dan 40% ini disebabkan karena ekstrak *Gracilaria* memiliki kandungan beberapa bahan aktif yaitu senyawa alkaloid, flavonoid yang bersifat sitotoksik, dimana semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak kandungan alkaloid dan flavonoid yang terdapat pada *Gracilaria* dan menyebabkan rendahnya jumlah sel yang hidup.

Senyawa alkaloid memiliki efek farmakologi pada manusia dan hewan sebagai zat antibakteri. Ini disebabkan karena alkaloid mempunyai kemampuan dalam menghambat biosintesis dinding sel, hal ini dapat mengakibatkan metabolisme bakteri terganggu. Dan juga dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri pada sel tersebut.²⁰ Senyawa alkaloid dapat menyebabkan DNA *intercalase* yang akan menghambat proses transkripsi dan replikasi DNA serta proses proliferasi sel dan akhirnya menyebabkan kematian sel,²¹ senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri, mekanisme lainnya yaitu

gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.²² Senyawa flavonoid dapat menghambat aktivitas DNA topoisomerase di dalam nukleus. Topoisomerase yang dihambat dapat menyebabkan proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA terhambat. Hal ini menyebabkan proliferasi sel terhambat dan akan menyebabkan kematian sel.^{23, 24}

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Gracilaria* dengan konsentrasi 2,5% tidak memiliki sifat toksik terhadap stem sel mesenkimal dan bersifat toksik pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40%. Hal ini menunjukkan kecenderungan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin banyak kandungan alkaloid dan flavonoid, sehingga mengakibatkan semakin besar pula efek toksik terhadap stem sel mesenkimal yang menyebabkan rendahnya viabilitas sel.

SIMPULAN

Ekstrak *Gracilaria* memiliki bioviabilitas terhadap *mesenchymal stem cell* pada konsentrasi 2,5%, dan tidak memiliki bioviabilitas terhadap *mesenchymal stem cells* pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40%.

DAFTAR PUSTAKA

- Newman MG, Takei HH, Klokkevoid PR, Carranza FA. 2012. Clinical Periodontology, 11th edition. St. Louis: Saunders. p. 484-483, 238-236, 205-194, 38-3.
- Krismariono A. 2005. Perawatan Infeksi Periodontal dengan Pemberian Antibiotika secara Lokal. Jurnal PDGI, 55: 38-37.
- Manson JD, Eley BM. 2012. Buku Ajar Periodonti. Jakarta: Hipokrates. p. 49-44.
- Ghufran MH, Kordi. 2010. A to Z Budidaya Biota Akuatik untuk Pangan, Kosmetik, dan Obat-obatan. Yogyakarta: ANDI. p. 65-63.
- Melki, dkk. 2011. Uji Antibakteri Ekstrak *Gracilaria* sp. (Rumput Laut) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya, Indralaya-Indonesia. Available from http://eprints.unsri.ac.id/1257/2/Melki_ujiantibakteriekstrakGracilariasp.pdf. Diakses 24 Maret 2014.
- Talib AW. 2014. Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut Spesies *Gracilaria* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Hang Tuah, Surabaya. H. 45-44,37.
- Anusavice K.J. 2004. Philips Buku Ajar Ilmu Bahan Kedokteran Gigi. Jakarta: EGC. p. 66-64.
- Rode. 2008. Apoptosis, Cytotoxicity and Cell Proliferation, 4th ed. Roche Diagnostics GmbH. p. 90. Available from https://lifescience.roche.com/wcsstore/RASCatalogAssetStore/Articles/05242134001_05.08.pdf. Diakses 30 Maret 2014.
- Yuliati A. 2005. Viabilitas Sel Fibroblas BHK-21 Pada Permukaan Resin Akrilik Rapid Heat Cured. Majalah Kedokteran Gigi. (Dent. J.), 38(2): 72-68. Available from: <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/DENTJ-38-2-06.pdf>. Diakses 14 April 2014.
- Murtini JT, dkk. 2010. Uji Toksisitas Sub Kronik *Spirulina platensis* Secara In-Vivo: Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 5(2). Available from http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCUQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.sidik.litbang.kkp.go.id%2Findex.php%2Fsearchkatalog%2FdownloadDataById%2F2038%2F5-Jovita_Tri_M.pdf&ei=MgWCU5eSJ8no8AXV8IK4BA&usg=AFQjCNE9u Cm2ilBiPxM3yUNRXxDi-PRZfQ&bvm=bv.67720277,d.dGc. Diakses 14 Mei 2014.

11. Wobus AM, Loser P. 2011. Present State and Future Perspectives of Using Pluripotent StemCells In Toxicology Research. Available from:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3026927/pdf/204_2010_Article_641.pdf. Diakses 21 Maret 2014.
12. Halim D, dkk. 2010. STEM CELL- Dasar Teori & Aplikasi Klinis. Jakarta: Erlangga. p. 13-4,35-30.
13. Nield-Gehrig, Willmann DE. 2003. Foundation of Periodontics for the dental hygienist, USA; Lippincott William and Wilkins. p. 258-256, 38-34,26-30.
14. Perry DA, Beemsterboer PL. 2007. Periodontology For The Dental Higienist, ed 3.p.262-259, 202-203.
15. Mitrano TI, Grob MS, Carrion F, Lampeti EN, Luz PA, Fierro FS, Quintero A, Chapparo A, Sanz A. 2010. Culture and Characterization of Masenchymal Stem Cells From Human Gingival Tissue. *Journal of Periodontology Online*, 81(6): 917-25.
16. Hijaz MN, 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Karaginan Dalam Alga Merah Jenis *Eucheuma spinosum* dan *gracillaria verrucosa*. Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Negeri Islam Malang. h.28-29. Available from: <http://lib.uin-malang.ac.id/files/thesis/fullchapter/04530016.pdf> accessed April 9, 2014
17. Julyasih SM, Wirawan I.G.P, Harijani W, Widajati W, 2009. Aktivitas Antioksidan Beberapa Jenis Rumput Laut (Seaweeds) Komersial Di Bali.Seminar Nasional Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Available from: [http://eprints.upnjatim.ac.id/3929/1/K. Sri Marhaeni Julyasih, I.G.P Wirawan, Wiwik Sri Harijani, dan Wiludjeng Widajati.pdf](http://eprints.upnjatim.ac.id/3929/1/K._Sri_Marhaeni_Julyasih,_I.G.P_Wirawan,_Wiwik_Sri_Harijani,_dan_Wiludjeng_Widajati.pdf) accessed March 23, 2014
18. Siregar AF, dkk, 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcussluteus*. *Journal Of Marine Research. Volume 1, Nomor 2*,h.152-160 Available at http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CDQ_QFjAC&url=http%3A%2F%2Fportalgaruda.org%2Fdownload_article.php%3Farticle%3D74644%26val%3D4716&ei=RyIwU7S0EsWHRQeV3YHQDg&usq=AFQjCNG3gtAzHifzXJIoLmmJqW2A3YGE4g&sig2=Pn1XxO3RWCv_jm1z_vUpbg&bvm=bv.62922401,d.bmk accessed March 24,2014
19. Leusch F, Chapman H, 2011. The role of toxicity testing in identifyingtoxic substances: A framework for identification of suspected toxic compounds in water. Report. Pp. 7. Griffith University. Available from: http://www.dhhs.tas.gov.au/_data/assets/pdf_file/0007/78136/Griffith_University_-_ToxicityTesting_Report.pdf accessed May 16, 2014
20. Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. 2009. Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, h. 585
21. Rozenkranz V, Wink M. 2007. Induction of apoptosis by alkaloids, non-protein amino acids, and cardiac glycosides in human promyelotic HL-60 cells. Institute fur Pharmazie and Molekulare Biotechnologic, Univercity Heidelberg, Germany. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17708454> Diakses 5 Juni 2014.
22. Sabir A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp terhadap Bakteri *Streptococcusmutans* (in vitro). *Majalah KedokteranGigi (Dent J)* 38:135-141. Available from: <http://herbalnet.healthrepository.org/bitstream/123456789/2653/1/uji%20anti%20bakteri%20trigona.pdf> accessed March 20, 2014
23. Sukadirman, Ekasari W, Hapsari PP. 2006. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *Media Kedokteran Hewan*, 22(2): 111-104. Available from: <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/MKH-22-2-20.pdf>. Diakses 5 Juni 2014.
24. Pebriana RB, Wardhani BWK, Widayanti E, Wijayanti NL, Wijayanti TR, Riyanto S, Meyanto E. 2008. Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*cosmos caudatus kunth*.) Terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmacon*, 9 (1): 26-21. Available from: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/5.-Ratna-B.-KENIKIR.pdf>. Diakses5 Juni2014.

LAPORAN PENELITIAN

Efektifitas Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Peningkatan Kepadatan Kolagen pada Proses Penyembuhan Alveolar Osteitis.

*(The Effectiveness *Nannochloropsis oculata*'s Extract To The Increase Density of Collagen In The Healing Process of Alveolar Osteitis)*

Ajeng Saghita Enggardini*, Syamsulina Revianti, Noengki Prameswari*****

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Biologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Biomedik Fakultas Kedokteran gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Alveolar osteitis was one complication after tooth extraction. This condition remains a common post operative problem that results in severe pain and inhibit socket healing. *Nannochloropsis oculata*'s extract contains alkaloids, carotenoids, flavonoids, terpenoids and tocopherols that could accelerate the wound healing process. **Purpose:** Examine the effectivity of *Nannochloropsis oculata* extract to the increased density of collagen in alveolar osteitis healing process. **Materials and Methods:** This research design was post-test only control group design, using 64 male Wistar rats then divided into two major groups. Group 1 (irrigation) and group 2 (dressing). In each group contains a negative control group (irrigation PBS or dressing PBS), positive control group (irrigation Saline 0,9% or dressing Alvogyl), and the treatment group (irrigation or dressing used *Nannochloropsis oculata* extract 2,5% and 5%). After treatment on the 3rd and 7th day, rats were euthanized then collagen density was measured at histopathology slide used Masson's Trichom with magnification 100x under light microscope, then it what measured. Data was analyzed with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test. **Result:** There were significant differences of collagen density beetwen irrigation treatment groups (0,045), but there were not significant differences beetwen dressing treatment groups (0,243). Dressing method was more effective to increase collagen density than irrigation groups (0,026). **Conclusion:** Dressing treatment used *Nannochloropsis oculata* extract concentration 5% was most effective to increased the collagen density in alveolar osteitis healing process on 7th days.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, collagen, alveolar osteitis

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: Alveolar osteitis merupakan salah satu komplikasi pasca pencabutan gigi. Kondisi ini biasanya menjadi masalah pasca pencabutan yang menyebabkan rasa nyeri dan menghambat penyembuhan soket. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* mengandung alkaloid, carotenoid, flavonoid, terpenoid dan tocopherol yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. **Tujuan:** Mengetahui efektivitas ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan alveolar osteitis. **Bahan dan Metode:** Rancangan penelitian ini adalah post test only control group design, dengan menggunakan 64 tikus Wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok besar, yaitu pemberian irigasi dan dressing. Pada masing-masing kelompok terdapat kelompok kontrol negatif (irigasi PBS atau dressing PBS), kelompok kontrol positif (irigasi Saline 0,9% atau dressing Alvogyl) dan kelompok perlakuan (irigasi atau dressing ekstrak *Nannochloropsis oculata* 2,5% dan 5%). Kemudian kepadatan kolagen diukur pada hari ke 3 dan ke 7 setelah perlakuan. Kepadatan kolagen yang diukur pada soket pasca pencabutan gigi. Setelah dilakukan treatment pada hari ke 3 dan ke 7, semua tikus dikorbankan lalu kepadatan kolagen diukur melalui preparat histopatologi anatomi dengan pengecatan Masson's Trichom dan pembesaran 100x, kemudian dilakukan perhitungan kepadatan kolagen. Data yang diperoleh dianalisis Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney. **Hasil:** Terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara kelompok perlakuan irigasi (0,045), tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dressing (0,243). Metode dressing lebih efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen jika dibandingkan dengan kelompok irigasi (0,026). **Simpulan:** Pemberian dressing ekstrak *Nannochloropsis oculata* konsentrasi 5% paling efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan alveolar osteitis pada hari ke 7.

Keywords: *Nannochloropsis oculata*, kolagen, alveolar osteitis

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

PENDAHULUAN

Alveolar osteitis merupakan salah satu komplikasi yang paling banyak dipelajari pada bidang kedokteran gigi dan menjadi suatu penelitian untuk mencari metode pengobatan dan pencegahan yang tepat. Alveolar osteitis adalah bentuk komplikasi yang terjadi setelah pencabutan gigi dengan adanya peradangan yang melibatkan seluruh atau sebagian tulang yang membatasi soket gigi disertai rasa nyeri hebat sampai sedang. Rasa nyeri akan berkembang pada hari ketiga atau keempat setelah pencabutan gigi. Pada

alveolar osteitis yang kronis setelah pencabutan, rasa nyeri akan terasa dimulai dari 24-72 jam disertai dengan halitosis.^{1, 2, 3, 4}

Alveolar osteitis dapat disebabkan karena pemberian vasokonstriktor pada anestesi lokal. Epinefrin sebagai vasokonstriktor dapat mengurangi perdarahan, menurunkan aliran darah, dan meningkatkan fibrinolisis serta mengganggu suplai tekanan oksigen di dalam jaringan sehingga proses penyembuhan menjadi terhambat. Proses penyembuhan terhambat karena terjadinya fibrinolisis yang berakibat pada gagalnya pembentukan salah satu

komponen matriks ekstraseluler yaitu kolagen. Kolagen menjadi faktor penting pada proses penyembuhan dan memberikan integritas serta memberi kekuatan pada jaringan terutama saat fase proliferasi dan fase *remodeling*. Apabila distribusi kolagen terganggu maka berakibat pada terhambatnya proses penyembuhan luka.^{5, 6}

Metode perawatan *alveolar osteitis* terbagi menjadi dua metode yaitu metode terapi konservatif dan metode bedah konservatif. Terapi konservatif meliputi irigasi dengan menggunakan saline hangat yang bertujuan sebagai antimikroba dan menghilangkan nyeri dan pasta intra-alveolar sebagai bahan *dressing* salah satunya *eugenol* dikombinasikan dengan *zinc oxide* tidak dianjurkan karena cenderung akan melekat kuat pada tulang serta menghambat penyembuhan soket sehingga dipilih bahan lain yakni *Alvogyl* sebagai bahan yang dirasa cukup aman. Metode bedah konservatif meliputi tindakan kuret soket. Saat ini metode perawatan *alveolar osteitis* masih menjadi suatu penelitian untuk menentukan bahan dan metode mana yang lebih efektif dalam menyembuhkan soket dalam waktu yang tidak lama. Untuk itu perlu dikembangkan suatu obat alternatif yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan efek samping seminimal mungkin.^{7, 8, 9, 10}

Pemanfaatan sumber daya hayati yakni sebagai obat alternatif masih sangat sedikit. Salah satu jenis mikroalga yang jarang dan sedikit dimanfaatkan yaitu mikroalga jenis *Nannochloropsis oculata* (*eustigmatophyceae*). Penelitian terdahulu, Goh *et al* (2010) kandungan yang dimiliki oleh *Nannochloropsis oculata* yang dapat dimanfaatkan

adalah kandungan antioksidan. Mikroalga ini berwarna kehijauan, tidak berflagel, sel berbentuk bola dan chloroplas seperti cangkir. Ekstrak *Nannochloropsis oculata* dapat menghasilkan senyawa turunan oksidasi lemak yaitu *Oxylipin*. Hasil dari senyawa ini menghasilkan senyawa sekunder antara lain *alkaloid*, *flavonoid* dan *terpenoid*. Selain senyawa tersebut ekstrak *Nannochloropsis oculata* juga menghasilkan *carotenoid* dan *tocopherol*.^{11, 12, 13}

Berdasarkan penelitian terdahulu, Fadhillah (2013) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80% ekstrak *Nannochloropsis oculata* efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada saluran akar. Pada Penelitian Revianti dan Parisihni (2013) menunjukkan bahwa secara *in vitro* diketahui bahwa ekstrak *Nannochloropsis oculata* pada konsentrasi 2,5% tidak memiliki efek toksik dan aman terhadap kultur stem sel fibroblas. Pada penelitian Kafaie dkk (2012) menunjukkan *Nannochloropsis oculata* tidak memiliki efek toksisitas akut dan sub-kronis terhadap sel plasma pada tikus pada dosis rendah sampai tinggi yaitu 6 g/kg BB sampai 12 g/kg BB. Pada penelitian Duncan *et al* (1999) menunjukkan bahwa CTGF tidak memiliki efek mitogenik dan kemotaksis pada fibroblas tetapi juga merangsang sintesis kolagen tipe I dan fibronectin yang merupakan bagian dari matriks ekstraseluler.^{15, 16, 17, 18}

Pada penyembuhan luka, matriks ekstraseluler menyebabkan migrasi keratinosit yang langsung berhubungan dengan terjadinya *re-epithelialization* sehingga penyembuhan luka dapat berlangsung dengan cepat. Pada proses

penyembuhan luka matriks ekstraseluler oleh metaloproteinase diperlukan untuk menghilangkan jaringan yang rusak, matriks sementara (fibronectin, fibrin dan vitronectin) dan migrasi sel. Selama *re-epithelialization*, keratosit basal bermigrasi membentuk kolagen tipe I, III, IV, VI dan VII), yang pada tahap awal penyembuhan luka kolagen tipe III dan fibronectin disimpan kemudian kolagen tipe III diganti dengan tipe I. Pada tahap perbaikan dan *remodelling* jaringan agar berlangsung efektif, selain kolagen tipe I dan III sebagai pengatur mekanisme penyembuhan luka, adapun MMPs lain yang mampu menurunkan fibronectin, kolagen tipe IV, laminin dan glikosaminoglikan yang diperlukan untuk perbaikan dan *remodelling* jaringan.¹⁴

Berdasarkan penelitian terdahulu maka peneliti ingin menguji keefektifan *Nannochloropsis oculata* terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan *alveolar osteitis*. Peneliti menggunakan konsentrasi 2,5% dan konsentrasi 5% pada ekstrak *Nannochloropsis oculata* dengan alasan pada penelitian terdahulu konsentrasi 2,5% tidak memiliki efek toksik terhadap kultur stem sel fibroblas secara in vitro sedangkan pada penelitian ini dilakukan secara in vivo, selain itu kedua konsentrasi ini dipilih oleh peneliti untuk mengetahui pada konsentrasi mana yang lebih efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka pencabutan. Jika mikroalga *Nannochloropsis oculata* terbukti dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan *alveolar osteitis* maka bahan ini dapat dikembangkan sebagai obat alternatif baru di bidang kedokteran gigi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini tergolong jenis penelitian *true experimental laboratories*¹¹ dengan desain penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Lokasi penelitian di: 1) Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah – Surabaya; 2) Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr.Sutomo – Surabaya. Hewan coba menggunakan 64 ekor *Rattus Norvergicus* strain *Wistar*, dengan kriteria yaitu :kelamin jantan, umur 3 bulan, berat badan 150-200 gram, sehat fisik, gigi incisive 1 sebelah kiri rahang bawah utuh, tidak karies dan tidak fraktur.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang hewan coba, tang modifikasi, spuit insulin, kasa steril, pinset anatomi, pinset chirugis, tabung tempat gel *Nannochloropsis oculata*, *paper pint*, *handle* and *scalpel*, *handscone*, spidol warna (merah, hitam dan biru), tabung *erlenmeyer* untuk tempat whole ekstrak *Nannochloropsis oculata*, *micro pipet*, *mikromotor* dan *saliva ejector*, tabung untuk spesimen mukosa soket tikus *Wistar*, dan mikroskop cahaya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: ekstrak *Nannochloropsi oculata* (irigasi dan *dressing*), aquadest, CMC-Na 400 mg, *Alvogyl*, pakan tikus, alkohol 70%, larutan antiseptik, *ketamin hydrochloride*, *Xylazine hydrochloride*, *Buffer formalin* 10%, dan bahan-bahan untuk membuat

sediaan histopatologis beserta bahan pewarnaan *Masson's Trichrom*.

Enam puluh empat ekor *Rattus novergicus strain wistar* jantan (3 bulan) berat badan 200 gram dibagi menjadi 2 kelompok besar, yaitu pemberian irigasi dan dressing. Pada masing-masing kelompok terdapat kelompok kontrol negatif (irigasi PBS atau *dressing* PBS), kelompok kontrol positif (irigasi Saline solution 0,9% atau *dressing alvogyl*) dan kelompok perlakuan (irigasi atau *dressing ekstrak Nannochloropsis oculata* 2,5% dan 5%), dikandangan tiap 4 ekor (ukuran kandang 60x40x34 cm), diberi sekam dan ditutup dengan anyaman kawat. Marmut diberi makanan yang banyak mengandung serat kasar, umbi-umbian jagung, serta hijau-hijauan yang lain secara ad libitum. Kandang ditempatkan pada suhu kamar, tidak langsung terkena sinar matahari, di tempat yang tidak bising, penerangan yang cukup. Diadaptasikan selama 24 jam sebelum diberikan perlakuan.

Setelah pembagian kelompok, tikus ditimbang lalu diberi anestesi menggunakan kombinasi Ketamine dan Xylazine (4:1) sebanyak 0,1 ml tiap tikus. Ditunggu selama 1-1,5 jam dari penyuntikan/setengah dari *duration of action*, lalu dilakukan pencabutan gigi *incisive* kiri rahang bawah menggunakan tang modifikasi dan elevator. Untuk menghilangkan kelebihan darah, soket pasca pencabutan diirigasi menggunakan *Aquadest steril* sebanyak 1,5 ml dan dikeringkan menggunakan kasa steril. Lalu aplikasi obat antikoagunal

(Adrenalin 1:1000 0,1 ml) menggunakan paper poin steril selama 1 menit pada soket pasca pencabutan dan ditunggu selama 3 hari untuk terjadinya *Alveolar osteitis*. Setelah dipastikan terjadi komplikasi tersebut, masing masing tikus diberi perlakuan yang berbeda sesuai kelompoknya.

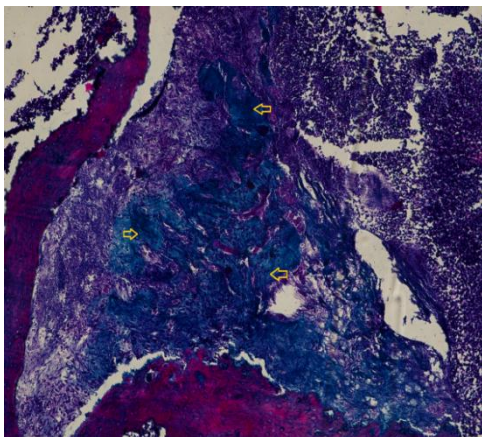
Pada hari ke 3 dan ke 7 pasca perlakuan, tikus dieuthasia dan dibiopsi untuk mrngambil rahang bawah kanan, Kemudian organ difiksasi dalam larutan *buffer formalin* dan dilunakkan dengan EDTA. Hewan coba yang telah dilakukan dekaputasi lalu dikuburkan.

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%

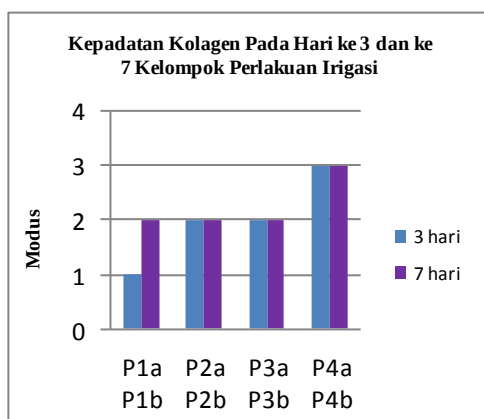
($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 17.



Gambar 1. Perhitungan kepadatan kolagen pada foto preparat *Masson's Trichom* dengan pembesaran 100x

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

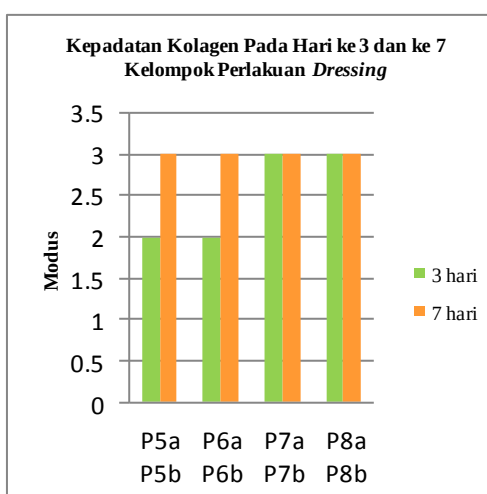
Hari	Kelompok	Modus
3 hari	P1a	1
3 hari	P2a	2
3 hari	P3a	2
3 hari	P4a	3
7 hari	P1b	2
7 hari	P2b	2
7 hari	P3b	3
7 hari	P4b	3



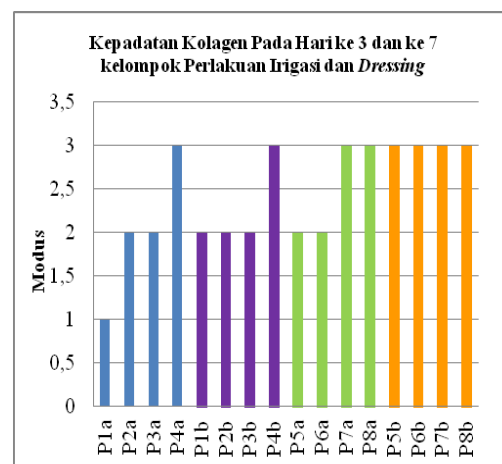
Gambar 2. Grafik kepadatan kolagen kelompok perlakuan irigasi selama 3 dan 7 hari

Tabel 2. Hasil uji statistik deskriptif modus kepadatan kolagen kelompok perlakuan *dressing*.

Hari	Kelompok	Modus
3 hari	P5a	2
3 hari	P6a	2
3 hari	P7a	3
3 hari	P8a	3
7 hari	P5b	3
7 hari	P6b	3
7 hari	P7b	3
7 hari	P8b	3



Gambar 3. Grafik kepadatan kolagen kelompok perlakuan *dressing* 3 dan 7 hari



Gambar 4. Grafik kepadatan kolagen kelompok perlakuan irigasi dan *dressing*.

Selanjutnya dilakukan uji nonparametrik pada kelompok

perlakuan irigasi dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk membandingkan lebih dari dua kelompok data sampel dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$.

Tabel 3. Hasil analisis *Kruskal-Wallis* kelompok perlakuan irigasi

Variabel	Asymp. Sig.
Kepadatan kolagen	0,045*

Keterangan: $p < 0.05$ signifikan

Pada hasil analisis *Kruskal-Wallis* tabel 3 kelompok perlakuan irigasi, diperoleh nilai $p = 0,045^*$ ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan pada semua kelompok.

Tabel 4. Hasil analisis *Kruskal-Wallis* kelompok perlakuan *dressing*

Variabel	Asymp. Sig.
Kepadatan kolagen	0,243

Keterangan: $p < 0.05$ signifikan

Pada hasil analisis *Kruskal-Wallis* tabel 4 kelompok perlakuan *dressing*, diperoleh nilai $p = 0,243$ yang artinya tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan pada semua kelompok.

Tabel 5. Hasil analisis *Kruskal-Wallis* kelompok perlakuan *dressing*

Variabel	Asymp. Sig.
Kepadatan kolagen	0,026*

Keterangan: $p < 0.05$ signifikan

Pada hasil analisis *Kruskal-Wallis* tabel 5 kelompok perlakuan irigasi dan *dressing*, diperoleh nilai $p = 0,026^*$ ($p < 0,05$), yang artinya terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan pada semua kelompok.

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

Tabel 6. Hasil uji beda dengan *Mann-Whitney U* pada hari ke 3 kelompok perlakuan irigasi

Kelompok	Modus	Kelompok	Modus	Asymp. p. Sig
P1a	1	P2a	2	0,343
		P3a	2	0,096
		P4a	3	0,032*
P2a	2	P3a	2	0,617
		P4a	3	0,155
P3a	2	P4a	3	0,186

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 6 didapatkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan irigasi saline 0,9% dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 5% selama 3 hari.

Tabel 7. Hasil uji beda dengan *Mann-Whitney U* pada hari ke 7 kelompok perlakuan irigasi

Kelompok	Modus	Kelompok	Modus	Asymp. . Sig
P1b	2	P2b	2	1
		P3b	2	0,096
		P4b	3	0,040*
P2b	2	P3b	2	0,096
		P4b	3	0,040*
P3b	2	P4b	3	0,495

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 7 didapatkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan irigasi saline 0,9% dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 5% selama 7 hari; kelompok perlakuan PBS dengan ekstrak

Nannochloropsis oculata 5% selama 7 hari.

Tabel 8. Hasil uji beda dengan *Mann-Whitney U* pada hari ke 3 dan ke 7 kelompok perlakuan irigasi

Kelompok	Modus	Kelompok	Modus	Asymp. Sig.
P1a	1	P1b	2	0,495
P2a	2	P2b	2	0,617
P3a	2	P3b	2	0,495
P4a	3	P4b	3	1

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 8 didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara kelompok perlakuan irigasi selama 3 dan 7 hari.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 9 didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara kelompok perlakuan *dressing* selama 3 hari.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 10 didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara kelompok perlakuan *dressing* selama 7 hari.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 11 didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan antara kelompok perlakuan *dressing* selama 3 dan 7 hari.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney U* pada tabel 12 didapatkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan irigasi saline 0,9% dengan *dressing alvogyl* selama 7 hari.

PEMBAHASAN

Alveolar osteitis merupakan komplikasi yang paling sering terjadi setelah pencabutan gigi permanen dan terjadi disintegrasi pada bekuan darah intra alveolar yang dimulai antara hari pertama dan ketiga dengan ditandai nyeri sedang sampai berat, halitosis dan rasa busuk. Sisa-sisa bekuan darah dan respon inflamasi yang ditandai oleh neutrofil dan limfosit dapat meluas ke sekitar alveolus. *Alveolar osteitis* dapat disebabkan karena pemberian vasokonstriktor pada anestesi lokal. Epinefrin sebagai vasokonstriktor meningkatkan fibrinolisis yang berakibat pada gagalnya pembentukan salah satu komponen matriks ekstraseluler sehingga proses penyembuhan menjadi terhambat.

Alveolar osteitis adalah soket pada daerah bekas pencabutan gigi insisive kiri rahang bawah yang diberi epinefrin 0,1 ml dengan menggunakan *paper point* selama 1 menit setelah 3 hari akan tampak adanya gumpalan darah berwarna abu-abu kehitaman dengan tulang terbuka disertai edema dan nanah di sekitar gingiva.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* terhadap peningkatan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan *alveolar osteitis*. *Nannochloropsis oculata* yang digunakan berasal dari Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Nannochloropsis oculata* merupakan salah satu mikroalga yang termasuk dalam kelas *Eustigmatophyceae* dengan memiliki salah satu flagela berambut tipis dan dinding sel yang tersusun dari selulosa. *Nannochloropsis oculata* mengandung protein, klorofil, karbohidrat, lipid dan

beta karoten serta kandungan yang dapat membantu proses penyembuhan luka.^{19, 20}

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba yaitu tikus *Wistar* jantan usia 3 bulan dengan berat badan 150-200 gram. Pemilihan tikus *Wistar* sebagai hewan coba karena memiliki sistem metabolik yang hampir sama dengan manusia. Jenis kelamin jantan dipilih dengan pertimbangan lebih mudah dikontrol dan tidak terpengaruh oleh faktor hormonal seperti pada tikus berjenis kelamin betina yang karena faktor hormonal dapat mempengaruhi hormon pertumbuhan, salah satunya TGF yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka.²¹

Kelompok penelitian dibedakan menjadi dua kelompok besar yaitu kelompok perlakuan irigasi dan *dressing*. Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang bermakna pada kelompok perlakuan irigasi saline 0,9% dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 5% selama 3 hari; kelompok perlakuan irigasi saline 0,9% dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 5% selama 7 hari dan kelompok perlakuan PBS dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* 5% selama 7 hari. Hal ini disebabkan karena dalam pemberian saline 0,9% pada hari ke 3 dirasa kurang karena masih adanya sisa debris dan bakteri yang menempel pada luka sehingga berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka. Saline 0,9% merupakan cairan fisiologis yang ada di seluruh tubuh, tidak bersifat toksik, tidak mempengaruhi sel darah merah dan aman digunakan pada kondisi apapun serta melindungi jaringan granulasi agar tetap lembab sehingga jaringan granulasi tidak kering dan

dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Pemberian saline 0,9% dapat membantu proses pembentukan kolagen namun pada hari ke 3 dinilai kurang efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen karena proses penyembuhan *alveolar osteitis* berjalan setelah 4-5 hari, masih adanya sisa bakteri yang menempel pada luka dan belum dapat menghilangkan rasa nyeri yang timbul akibat dari komplikasi ini.

Berbeda dengan pemberian ekstrak *Nannochloropsis oculata* 5% pada hari ke 3 dan 7 menunjukkan bahwa pada hari ke 3 ekstrak efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen sedangkan pada hari ke 7 ekstrak lebih efektif dalam meningkatkan kepadatan kolagen. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi ini kandungan yang dimiliki oleh ekstrak mampu mempercepat terjadinya sintesis kolagen selain itu kolagen dapat terdeteksi pada hari ke 3 dan akan mencapai puncaknya pada hari ke 7 sehingga skor kepadatan kolagen tertinggi didapatkan pada hari ke 7.

Kelompok perlakuan irigasi pada hari ke 3 dan ke 7 menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok irigasi hal ini menunjukkan bahwa pemberian irigasi saline 0,9% memiliki efektivitas yang sama dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata*.

Pada kelompok perlakuan *dressing* diketahui tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok *dressing alvogyl* dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata* pada hari ke 3 dan ke 7, yang menunjukkan bahwa *alvogyl* memiliki efektivitas yang sama dengan ekstrak *Nannochloropsis oculata*. *Alvogyl* memiliki kandungan butamben yang menghasilkan efek anestetik, *eugenol*

sebagai analgesik dan *iodoform* sebagai antimikroba yang dapat bekerja langsung pada soket gigi, dari efek yang ditimbulkan mampu merangsang pembentukan kolagen sehingga proses penyembuhan *alveolar osteitis* dapat berlangsung cepat. Sedangkan pada ekstrak *Nannochloropsis oculata* juga memiliki kandungan yang dapat mempercepat sintesis kolagen, antiinflamasi, aman dan tidak toksik.²²

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang bermakna pada kelompok perlakuan irigasi saline 0,9% dengan *dressing alvogyl* selama 7 hari. Hal ini dapat disebabkan karena kandungan *alvogyl* yang lebih kompleks jika dibandingkan dengan kandungan saline yang sebagian besar berupa mineral dan sifat dari sediaan *dressing* yang mudah melekat, terabsorpsi dan memiliki daya sebar yang luas pada daerah luka sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka.

Kandungan ekstrak *Nannochloropsis oculata* yaitu *flavonoid* berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mempercepat sintesis dan deposit kolagen sehingga TGF- β mengalami peningkatan. TGF- β berperan pada *re-epithelization*. Selama *re-epithelialization*, membran dan basal keratinosit membentuk kolagen. Sintesis kolagen berlangsung pada fase *remodelling*. Pada hari ke-3 setelah luka kolagen baru terdeteksi dan akan mencapai puncaknya pada hari ke 7 sehingga pada penelitian terdapat perbedaan skor kepadatan kolagen pada hari ke 3 dan ke 7. Pembentukan kolagen akan terus meningkat pada minggu ke 2-4.²³

Kandungan *alkaloid* juga berperan penting dalam penyembuhan

luka, senyawa ini memiliki mekanisme kerja menghambat dengan cara mengganggu komponen penyusun dari peptidoglikan pada sel bakteri yang mengakibatkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri serta adanya kandungan *terpenoid* yang memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi dan mampu menghambat terbentuknya dinding sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak mampu terbentuk secara sempurna.^{24,25}

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, ekstrak *Nannochloropsis oculata* konsentrasi 5% memiliki efektivitas yang sama dengan irigasi saline 0,9% dan *dressing alvogyl* sehingga dapat digunakan sebagai bahan irigasi dan *dressing* sebagai bentuk perawatan pada komplikasi *Alveolar osteitis*. *Nannochloropsis oculata* pada konsentrasi 5% menunjukkan hasil yang hampir sama dengan kelompok kontrol positif (saline 0,9% dan *alvogyl*) bila dibandingkan dengan konsentrasi 2,5%. Selain itu ekstrak *Nannochloropsis oculata* konsentrasi 5% aman untuk digunakan dan dapat secara optimal dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada proses penyembuhan *alveolar osteitis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cardoso CL, Rodrigues M, Ferreira JO, Garlet GP, De Parvalbo PSP. 2010. Clinical Concepts of Dry Socket. J Oral Maxillofacial Surgeons, 68: 1932-1922.
2. Noroozi AR, Philbert RF. 2009. Modern Concepts in Understanding and Management of the "Dry socket" Syndrome: Comprehensive Review of the Literature. New York: Departement of

- Oral and Maxillofacial Surgery, 107(1): 35–30.
3. Peterson L. 2003. Oral and Maxillofacial Surgery, 4th ed, Mosby-Elsevier. P. 237.
4. Wray D, Stenhouse D, Lee D, Clark A. 2003. Textbook of General and Oral Surgery. Philadelphia: Churchill Livingstone. P. 25.
5. Ashari Y, Istiati, Arijani E. 2012. Pemberian Salep Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen pada Mukosa Oral Marmut. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga. H. 34.
6. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. 2009. The Wound Healing Process: an Overview of The Cellular and Molecular Mechanisms. The Journal of International Medical Research, 37(5): 1542-1528.
7. Katanec D, Blazecovic A, Pavelies B, Kuna T. 2003. Postextraction Pain Treatment Possibilities. Acta Stomat Croat, 37(4): 475-471.
8. Bagheri S and Jo C. 2008. Clinical Review of Oral and Maxillofacial Surgery. Georgia: Mosby-Elsevier. P. 92.
9. Cawson R and Odell E. 2008. Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier. P. 104.
10. Bowe D, Rogers S, Stassen L. 2011. The Management of Dry Socket/Alveolar Osteitis. The Irish Dental association, 57(6): 310-305.
11. Budiman. 2010. Penentuan Intensitas Cahaya Optimum Pada Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Nannochloropsis Oculata*. Tesis. Institut Teknologi Surabaya. H. 1.
12. Goh LP, Loh SP, Fatimah MY, Perumal K. 2009. Bioaccessibility of Carotenoids and Tocopherols in Marine Mikroalgae, *Nannochloropsis* sp. And *Chaetoceros* sp. Mal J Nutr, 15(1): 86-77.
13. Darsana. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escheria Coli* secara In Vitro. Skripsi. Denpasar: Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana. H. 346.
14. O'Toole EA, 2001. Extracellular Matrix and Keratinocyte Migration. London: Blackwell Science Ltd, 26: 530-525.
15. Fadhillah A. 2013. Daya Hambat Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis*. Skripsi. Surabaya. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah. H. 56.
16. Revianti S, Parisihni K. 2013. InVitro Cytotoxicity Investigation of *Nannochloropsis oculata* Extractto Human Gingival Fibroblast Stem Cells. Surabaya: Journal of Programe Book and Abstracts at International Seminar Dental Expo 2nd Dentisphere Faculty of Dentistry Hang Tuah University.
17. 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): 1225-1220.
18. Duncan MR, Frazier K, Abramson S, William S, Klapper H, Huang X, Grotendorst G. 1999. Connective Tissue Growth Factor Mediates Transforming Growth Factor b-induced Collagen Synthesis: Downregulation by Camp. The FASEB journal, 13: 1786-1774.
19. Ernest P. 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Skripsi. Depok. Fakultas Teknik Kimia, Universitas Indonesia. H. 9.
20. Widianingsih, Hartati R, Endrawati H, Iriani V. 2012. Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata* Pada Kultur dengan Berbagai Fotoperiod. Ilmu Kelautan, 17(3) : 124-119.
21. Florman M. 2004. Etiology, Prevention & Management of Post-Extraction Complications Continuing Dental Education Course.
22. Kolokythas A, Olech E, Miloro M. 2010. Alveolar Osteitis: A Comprehensive Review of Concepts and Controversies. Chicago: Departement of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, 8: 20.
23. 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. Semarang: Universitas Diponegoro. H. 20-17.
24. 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.
25. Rinawati ND. 2011. Daya antibakteri tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete* L) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Tugas akhir, Surabaya: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November. P. 9

LAPORAN PENELITIAN

Efektivitas Kombinasi Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dan Aplikasi Hidroksiapatit terhadap Ekspresi FGF-2 pada Proses Bone Healing

*(Effectivity of Combination of Sardine Fish Oil (*Sardinella longiceps*) and Hydroxyapatite Application on The Expression of FGF-2 in Bone Healing Process)*

Tiaranita Ramadhani*, Rima Parwati Sari**, Widyastuti***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

** Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

*** Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: Bone healing on defect requiring the cells to form new bone. Fibroblast growth factor -2 belong to one of signaling control that play part in differentiation of fibroblast to osteoblast cell. Hydroxyapatite application on bone healing will aid bone regeneration as structure. Application of *Sardinella longiceps* oil that contain EPA and DHA as immunodulator could accelerate and optimize inflammatory phase in bone healing. **Purpose:** The aimed of this study to determine the effectivity of the combination of *Sardinella longiceps* oil and application of hydroxyapatite on the expression of fibroblast growth factor -2 (FGF-2) in bone healing process. **Materials and Methods:** The experimental units (male wistar rat, n=20) were divided into two groups, control (K) and treatment (P) groups. Treatment groups were given *Sardinella longiceps* oil per oral seven days before the surgery to make the defect, and continued for seven days later. Control groups were not given *Sardinella longiceps* at all. All of the wistar rat were have two defects in their right femur, which is use hydroxyapatite (K+ and P2) and no use hydroxyapatite (K- and P1). Defect was made as big as half diameter of round bur in femur. Rats were sacrificed seven days after surgery, and femur were sliced transversally and performed immunohistochemistry staining with Anti-bFGF Polyclonal antibody (Bioss®). Examination were done under light microscope. Data were analyzed using one-way Anova for FGF-2 expression. **Result:** *Sardinella longiceps* oil increased the mean of FGF-2 expression on P2 group : $15,29 \pm 5,251$, compare to K- : $5,57 \pm 2,070$, K+ : $12,14 \pm 3,976$ and P1 : $8,14 \pm 1,676$ ($P < 0.05$). **Conclusion:** The combination of *Sardinella longiceps* oil and hydroxyapatite application effective the expression of fibroblast growth factor-2 in the process of bone healing.

Keywords: Sardine fish oil, hidroxyapatite, fibroblast growth factor-2, bone healing

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

ABSTRAK

Latar belakang: Penyembuhan pada kerusakan tulang membutuhkan sel-sel untuk membentuk tulang baru. Fibroblast growth factor-2 termasuk sinyaling kontrol pada diferensiasi fibroblas menjadi sel osteoblas. Aplikasi hidroksiapatit pada proses penyembuhan tulang dapat membantu proses regenerasi tulang sebagai kerangka. Pemberian minyak ikan lemuru yang mengandung EPA dan DHA sebagai immunodulator yang dapat mempercepat dan mengoptimalkan fase inflamasi pada fase penyembuhan tulang. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dan aplikasi hidroksiapatit terhadap ekspresi fibroblast growth factor-2 (FGF-2) pada proses bone healing. **Bahan dan Metode:** Unit eksperimen (tikus wistar jantan, n=20) dibagi menjadi 2 kelompok, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberikan minyak ikan lemuru secara per oral selama 7 hari sebelum dilakukan defek, dan dilanjutkan 7 hari setelah dilakukan defek. Kelompok kontrol tidak diberikan minyak ikan lemuru. Semua tikus wistar yang telah diberikan 2 defek difemur kanan, ada yang diaplikasikan hidroksiapatit (K+ dan P2) dan tidak diaplikasikan hidroksiapatit (K- dan P1). Defek dibuat sebesar setengah diameter round bur di femur. Tikus dikorbankan 7 hari setelah pembedahan dan femur di potong secara transversal dan dilakukan pengecatan IHC menggunakan Anti-bFGF Polyclonal antibody (Bioss®). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya. Data dianalisis menggunakan one-way Anova. **Hasil:** Berdasarkan pada hasil uji ANOVA dan uji LSD, terjadi peningkatan rata-rata ekspresi FGF-2 pada kelompok P2 : $15,29 \pm 5,251$, dibandingkan dengan K- : $5,57 \pm 2,070$, K+ : $12,14 \pm 3,976$ dan P1 : $8,14 \pm 1,676$ ($P < 0.05$). **Simpulan:** Kombinasi minyak ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dan aplikasi hidroksiapatit efektif secara signifikan terhadap ekspresi fibroblast growth factor-2 FGF-2 pada proses bone healing pada hari ke-7.

Kata kunci: Minyak ikan lemuru, hidroksiapatit, fibroblast growth factor-2, penyembuhan tulang

Korespondensi: 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

Tulang merupakan jaringan kuat yang memberi bentuk pada tubuh. Osteoblas, osteoklas, osteosit; mineral, matriks dan air termasuk dalam sel tulang yang menjadi unsur-unsur yang membentuk tulang.^{1,2} Dalam bidang kedokteran gigi, kerusakan tulang (*Bone defect*) dapat disebabkan oleh penyakit periodontal, dan juga oleh trauma mekanik yang sering dilakukan dalam perawatan dalam kedokteran gigi, antara lain pasca proses ekstraksi, aplikasi dental implan, pembedahan

preprostetik dan kondisi patologis lainnya.^{3,4} Kerusakan tulang akan menyebabkan kerusakan pada sel, matriks tulang, dan pembuluh darah.⁵

Terdapat 3 tahap dalam proses penyembuhan tulang yaitu fase inflamasi, reparatif, dan remodeling. Fase inflamasi yaitu adanya formasi hematoma, pengumpulan darah melalui akumulasi dari PMNs, limfosit, platelet, blood monosit, makrofag, neutrofil, dan osteoklas. Makrofag akan mengeluarkan sitokin, baik sitokin pro inflamasi (TNF- α , IL-1, IL-6,) maupun sitokin inflamasi (IL-10)

dan menstimulasi angiogenesis. Makrofag juga mengeluarkan *growth factor* antara lain *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Transforming Growth Factor* (TGF), dan *Angiopoietin 1* (Ang-1) yang selanjutnya menstimulasi angiogenesis.^{5,6}

Fibroblast growth factor (FGF) sangat penting pada pembentukan tulang dan osteogenesis yang merupakan sinyaling kontrol pada pembentukan tulang untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas. FGF dan VEGF dikeluarkan oleh *growth factor* pada proses bone healing.⁶ *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Bone Morphogenic Protein-2* (BMPs), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGs), dan TGF menstimulus osteoprogenitor sel untuk berproliferasi serta berdiferensiasi menjadi osteoblas yang selanjutnya akan memproduksi tulang yang baru.^{7,8} *Basic Fibroblast Growth Factor* (FGF-2) termasuk anggota dari FGF yang penting dalam regenerasi jaringan pada proses angiogenesis dan juga dapat meningkatkan ekspresi penanda osteogenik dan mineralisasi serta menunjukkan peran dalam regenerasi tulang.^{9,10}

Fase proliferasi yaitu pada fase reparasi, fase ini dimulai saat fase inflamasi melepas sitokin dan *growth factor* sehingga terjadi proliferasi fibroblas untuk membentuk matriks ekstraseluler dan pembentukan garam kalsium melalui suatu perlekatan, sehingga terbentuk tulang baru (*woven bone*). Fase remodelling termasuk fase terakhir dari penyembuhan tulang yang mana terjadi aposisi dan pembentukan tulang oleh osteoblas dan osteoklas, dan juga kalus eksterna akan perlahan-

lahan menghilang.^{5,11}

Teknologi *bone graft* akhir-akhir ini berkembang dan digunakan sebagai alternatif untuk memperbaiki dan mengganti kerusakan tulang yang disebabkan oleh trauma, reseksi tumor, degenerasi patologis, dan deformasi kongenital. Ketika diberi *bone graft*, tulang mengalami suatu perbaikan tulang seperti hemostatis, inflamasi, proliferasi dan revaskularisasi, *soft callus*, *hard callus*, dilanjutkan dengan remodeling.^{12,13}

Alloplast merupakan *graft* sintetik yaitu tulang yang terbuat dari bahan keramik dan memiliki struktur mirip tulang, salah satu contohnya adalah Hidroksiapatit (HA) yang memiliki kemampuan untuk osteokonduktif.^{14,15,16} HA juga memberikan struktur (*scaffold*) *bonegraft* yang sama dengan komposisi tulang yang dapat mempercepat proses regenerasi tulang.¹⁷ Pemberian HA dapat memberikan efek penyembuhan yang baik dengan cara memperantarai faktor-faktor angiogenesis, merangsang makrofag dan FGF di daerah luka. Hidroksiapatit merangsang makrofag pada daerah kerusakan, dan makrofag dengan sel-sel radang membantu memperkuat proses angiogenesis pada daerah luka.¹⁸ Penggunaan Hidroksiapatit dalam bentuk *bonegraft* sebagai pembentuk formasi tulang masih belum mampu mempercepat penyembuhan tulang secara keseluruhan, sehingga diperlukan senyawa tambahan yang dapat mempengaruhi sistem imun tubuh yang dapat membuat penyembuhan tulang berjalan dengan baik.¹⁹ Omega-3 termasuk bahan alami yang membantu dalam memodulasi sistem imun dan juga dapat mempengaruhi

kerja dari efek sitokin.²⁰ Omega-3 dan Omega-6 terdapat senyawa *resolving E1* dan *lipoxin* yang dapat mempengaruhi sistem imun agar penyembuhan tulang dapat berjalan dengan baik, hal ini disebabkan oleh karena faktor inflamasi pada penyembuhan tulang menyebabkan kerusakan tulang semakin parah jika terjadi dalam waktu lama melalui pelepasan sitokin. Pemberian omega-3 secara sistemik yang dilakukan pada hewan coba berfungsi sebagai imunomodulator yang menghambat mediator proinflamatori. Kandungan omega-3 banyak ditemukan pada minyak ikan.^{19,21}

Ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) termasuk salah satu ikan yang memiliki kandungan asam lemak relatif tinggi terutama kandungan omega-3 berkisar 11,33%-40,26%. Omega-3 mengandung *docohexaenoic acid* (DHA) dan *eicosapentaenoic acid* (EPA) sebesar 13% dan 18%.^{22,23,24} Limbah minyak ikan lemuru didapatkan dari hasil sampingan proses pengalengan dan penepungan di daerah Muncar, Banyuwangi, Jawa Timur. Namun limbah minyak ikan ini masih belum optimal pemanfaatannya.^{23,25}

Berdasarkan pemaparan masalah diatas penulis mengambil judul “Kombinasi Aplikasi Hidroksiapatit dan Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) terhadap Ekspresi *Fibroblast Growth Factor 2* (FGF-2) pada proses *bone healing*”.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini penelitian *true eksperimental* dengan rancangan *post test only control group design*.

Unit eksperimen yang

digunakan pada penelitian ini 20 ekor tikus wistar jantan dengan berat badan berkisar 250-300 gram. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung penyimpanan *os femur dextra*, gunting dan pisau bedah, pinset anatomis dan respiratorium, mikrotom untuk memotong, mikroskop cahaya, spuit 3cc, *round bur (straight handpiece)* merk MG ukuran 18, mikromotor 1200 rpm, sonde makan, *dappen glass*, *separating disc*. Bahan yang digunakan adalah hidroksiapatit (*alloplast*), minyak ikan lemuru, benang jahit *silk* dan jarum, kapas, aquades untuk minuman tikus diganti setiap hari, makanan tikus, formalin *buffer* 10%, *ketamine hydrochloride*, *xylazine hydrochloride*, *povidine iodine* 10%, alkohol, *novalgin*, dan *EDTA* 10%.

Prosedur pada penelitian ini dimulai dengan penyesuaian tikus selama satu minggu. 20 ekor tikus wistar dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang mengalami penyesuaian tanpa diberi minyak ikan lemuru dan kelompok perlakuan yang beri minyak ikan lemuru dengan dosis suplemen yaitu 9mg/200 grBB/hari selama 7 hari. Masing-masing kelompok kontrol dan perlakuan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok dengan aplikasi HA dan tanpa aplikasi HA.²⁶

Tikus yang sudah mengalami penyesuaian dibagi berdasarkan kelompok. Pembuatan defek dilakukan pada *os femur dextra*. Pertama dilakukan anestesi dengan memberikan *ketamine* 1 mL dan *xylazine* 0,5 mL dicampur dan disuntikkan dengan dosis 1,5 mL dicampur dan disuntikkan dengan dosis 1,5 mL/100 grBB pada *femur dextra (intramuscular)*.²⁷ Pada daerah yang akan dibuat defek, bulu dicukur

dan diberikan antiseptik *povidine iodine* 10%.²⁸ Dengan pisau bedah dibuat insisi selebar 2 cm pada jaringan lunak (kulit dan otot) diangkat menggunakan *periosteal elevator* tempat pembuatan defek. Pada os *femur dextra* tikus dengan menggunakan *straight handpiece* dibuat defek berupa 2 lubang pada kelompok 1 dan kelompok 2. Kedua kelompok tersebut dibuat 2 lubang pada masing-masing kelompok setengah diameter *round bur* merk MG dengan ukuran 18 (hasil trial). Lubang 1 dibuat 5mm dari *third trochanter femur* tikus.²⁹ Jarak antar lubang 1 dan ke 2 adalah 5mm (hasil trial).

Kelompok kontrol, defek pada bagian atas femur tidak diaplikasikan apa-apa (K-), sedangkan pada bagian bawah femur diaplikasikan hidroksiapatit (K+). Pada kelompok perlakuan, defek pada atas femur tidak diaplikasikan hidroksiapatit karena sebagai kelompok yang diberi minyak ikan lemuru (P1) dan defek pada bagian bawah diaplikasikan hidroksiapatit (P2). Setelah itu, dilakukan penjahitan dan untuk mengontrol pembengkakan serat rasa sakit diberikan analgesik novalgin dengan dosis 18,75 mg/ 200grBB yang dilarutkan dalam CMC 0,25 hingga mencapai 0,2 mL.^{30,31}

Pada kelompok perlakuan, minyak ikan lemuru dengan dosis antiinflamasi 0,56 gr/200grBB secara sistemik selama 7 hari pasca pembedahan.³¹ Setelah 7 hari pasca pembedahan, dilakukan pengambilan sediaan dan *euthanasia* pada hewan coba. terlebih dahulu tikus dianastesi dengan ketamine 1 mL dan xylazine 0,5 mL dicampur dan disuntikkan dengan dosis 1,5 mL 100 grBB pada femur *dextra* (*intramuscular*). Femur *dextra* diambil dan dipotong dengan

separating disc, kemudian dimasukkan kedalam *buffer* formalin 10%. Setelah itu, dilakukan *euthanasia* dengan *neck (cervical)* dislocation lalu dikubur dalam keadaan tidak sadar.³²

Sediaan tulang *femur* tikus yang sudah diambil dilakukan dekalsifikasi yang selanjutnya akan dilakukan pembuatan sediaan imunohistokimia. Pengecatan imunohistokimia menggunakan *Anti-bFGF Polyclonal antibody* (Bioss®).

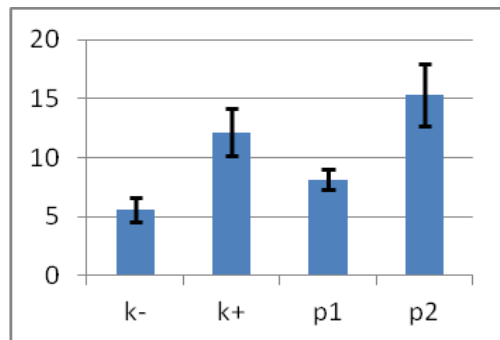
Pengamatan imunohistokimia dilakukan dengan mengamati jumlah sel fibroblas pada daerah defek yang mengekspresikan FGF-2 dengan pembesaran 400X.³³ Data dari hasil hitung sel fibroblas pada masing-masing kelompok ditabulasi. Uji statistik yang digunakan adalah uji parametrik *One-way Anova*.

HASIL

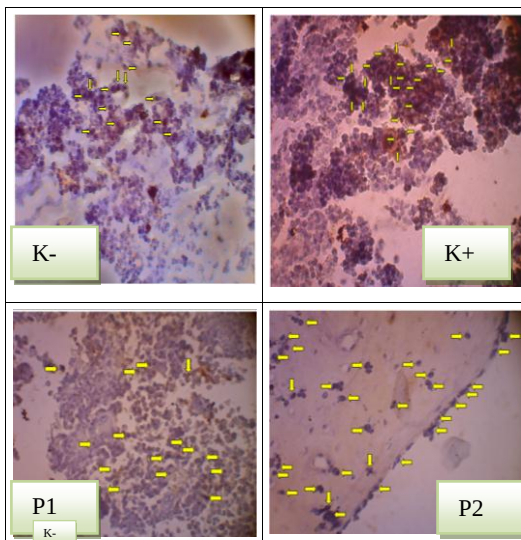
Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan taraf signifikansi 95% ($p=0,05$) dengan menggunakan program SPSS versi 20.

Tabel 1. Rata-rata dan standar deviasi ekspresi FGF-2 pada *femur* tikus

Kelompok	Rata-rata ± Standar Deviasi
K -	5,57 ± 2,070
K +	12,14 ± 3,976
P1	8,14 ± 1,676
P2	15,29 ± 5,251



Gambar 1. Diagram batang rerata dan standar deviasi ekspresi FGF-2 pada femur tikus.



Gambar 2. Ekspresi FGF-2 pada femur tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pengecatan IHC dan pembesaran 400x. Tanda panah menunjukkan fibroblas yang mengekspresikan FGF-2.

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik deskriptif didapatkan data-data seperti yang terlihat pada gambar 1, dimana ekspresi FGF-2 pada masing-masing kelompok menunjukkan adanya perbedaan nilai rata-rata. Gambar tersebut menunjukkan bahwa dengan kombinasi pemberian minyak ikan lemuru dan hidroksiapatit terjadi peningkatan jumlah osteoblas.

Sebelum dilakukan uji hipotesis, maka setiap kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan

uji *Shapiro-Wilk*, karena pada penelitian ini jumlah sampel < 50 . Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan hasil uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0,100, 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 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. Setelah itu, didapati nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan ekspresi FGF-2, minimal antar sepasang kelompok. Perbedaan pasangan antar kelompok dilakukan analisis perbandingan ganda (*multiple comparison*) dengan LSD.

Tabel 2. Tabel hasil uji LSD

Kelompok	K+	P1	P2
K-	.002*	.188	.000*
K+		.046*	.111
P1			.001*

Keterangan: $p < 0,05$ ada perbedaan bermakna $p > 0,05$ tidak ada perbedaan bermakna

*terdapat perbedaan bermakna

Berdasarkan hasil uji *LSD* didapatkan perbedaan ekspresi FGF-2 yang bermakna ($p < 0,05$) yaitu pada kelompok K- dengan kelompok K+, kelompok K+ dengan kelompok P1, kelompok K- dengan kelompok P2 dan kelompok P1 dengan kelompok P2. Sedangkan kelompok K- dengan P1

dan kelompok K+ dengan P2 memiliki perbedaan ekspresi FGF-2 yang tidak bermakna ($p>0,05$).

PEMBAHASAN

Unit eksperimen yang digunakan pada penelitian ini adalah hewan coba tikus wistar jantan karena jenis kelamin jantan tidak ada pengaruh hormonal yang dikawatirkan dapat mempengaruhi respon imun yang berakibat pada mekanisme penyembuhan. Sedangkan menggunakan tikus dikarenakan metabolisme tikus hampir sama dengan manusia dan memiliki tingkat stress yang lebih rendah dibanding hewan coba lainnya. Selain itu, pada penelitian ini bahan *scaffold* diaplikasikan pada *Os femur* tikus wistar dan secara klinis diamati dari sudut pandang histologis. *Os femur* tikus wistar memiliki bentukan *trabecular bone* yang menonjol di bawah tulang kortikal yang identik dengan tulang alveolar pada manusia sehingga dapat digunakan sebagai aplikasi untuk mempelajari regenerasi tulang rahang pada kedokteran gigi regeneratif.^{34,35}

Proses penyembuhan tulang terdapat 3 fase yang dimulai dari fase inflamasi yang terjadi selama 1-7 hari ditandai dengan ketika terjadi cedera pada daerah kortikal tulang, periosteum terangsang dan pembuluh darah pada sekitar daerah cedera menjadi pecah.^{13,36} Selain itu pada fase ini terjadi migrasi sel makrofag, monosit, limfosit, sel PMN dan fibroblas ke daerah yang mengalami kerusakan melalui prostaglandin selaku mediator inflamasi. Pada fase ini akan menghasilkan jaringan granulasi, pembuluh darah muda dan

migrasi sel-sel mesenkimal.³⁷ Pada saat terjadi inflamasi, terjadi penurunan jumlah sel inflamasi pada *defect* sehingga akan dilanjutkan dengan fase proliferasi yang ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang terdiri dari fibroblas, pembuluh darah baru, matriks ekstraseluler dan kolagen.³⁸

Fase proliferasi atau reparatif dimulai saat fase inflamasi melepas sitokin dan *growth factor* (PDGF, VEGF, FGF, TGF dan Ang-1) sehingga terjadi proliferasi fibroblas untuk membentuk matriks ekstraseluler dan pembentukan garam kalsium melalui suatu perlekatan, sehingga terbentuk tulang baru (*woven bone*). *Growth factor* juga dilepaskan oleh platelet dan fibroblas, termasuk FGF-2 dihasilkan juga oleh monosit, keratinosit maupun fibroblas. Fase ini menghasilkan perkembangan jaringan yang pada akhirnya akan digantikan oleh tulang. Ketika jaringan diresorpsi, sel seperti fibroblas, kondroblas, dan osteoblas akan mulai terbentuk oleh *pluripotent mesenchymal cells*.^{5,39,37} Akhir fase inflamasi untuk transisi ke fase proliferasi, makrofag merangsang sitokin dan *growth factor* salah satunya FGF-2. Fase proliferasi dimulai 3 hari pasca pencabutan gigi.⁴⁰ Pada penelitian yang dilakukan oleh Takayama et al (2001) proses perbaikan secara normal, FGF-2 dapat dilihat 1 sampai 8 minggu pasca kerusakan tulang pada hewan coba tikus dan pada penelitian pasca pencabutan gigi maarmut, ekspresi FGF-2 dapat dilihat pada hari ke 3. Ekspresi FGF-2 merupakan sinyaling kontrol dari diferensiasi sel fibroblas, fibroblas pertama kali muncul pada hari ke 3 dan memuncak pada hari ke 7 di daerah luka.⁴⁰ Proses *bone healing* pada penelitian ini dapat diasumsikan

ekspresi FGF-2 dihitung pada hari ke 7 paska pembuatan defek pada *femur* tikus wistar.

Fase remodeling merupakan fase paling lama dari penyembuhan tulang yang ditandai dengan perubahan lambat dari bentuk tulang untuk suatu fungsi dan kekuatan yang normal atau hampir normal. Pada fase ini terjadi aposisi dan pembentukan tulang oleh osteoblas dan resorpsi tulang yang rusak oleh osteoklas.^{11,41}

Hidroksiapatit (HA) merupakan komponen mineral utama penyusun mineral tulang dan jaringan keras pada mamalia yang memiliki sifat osteokonduktif dan biokompatibel yang berintegrasi dengan tulang host dan berperan sebagai pengganti tulang dengan membentuk kerangka (*scaffold*). FGF -2 merupakan sinyaling kontrol dalam pembentukan tulang yang berfungsi untuk meregulasi replikasi sel osteoprogenitor, diferensiasi fibroblas pada periosteum menjadi osteoblas, dan apoptosis sebagai pengisi dari *scaffold*. Sel-sel progenitor akan menempel pada *scaffold* dan akan berdiferensiasi menjadi osteoblas dan memberikan tempat untuk deposisi matriks tulang serta jalur pembuluh darah sebagai suplai nutrisi.^{6,18,42,43,44} *Fibroblast growth factor* (FGF) terbukti merangsang pertumbuhan tulang, sintesis kolagen pada *bone healing* baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.⁴⁵ Dari teori tersebut dapat menjadi alasan ekspresi FGF-2 pada K(+) dengan aplikasi hidroksiapatit lebih meningkat dibandingkan dengan K(-) yang tidak diaplikasikan hidroksiapatit.

Pemberian minyak ikan lemuru yang kaya akan Omega-3 memiliki kandungan 13,7% EPA, 8,9 DHA dan 26,8 % total omega-3 yang berasal dari

total minyak, memiliki peran sebagai imunomodulator pada proses *bone healing*.⁴⁶ Omega-3 dapat mempengaruhi proses inflamasi. Pada proses inflamasi, makrofag akan mengeluarkan sitokin, baik sitokin proinflamasi maupun sitokin inflamasi serta *growth factor* (GF). Antiinflamasi akan meningkat sehingga dapat menekan proinflamasi. Minyak ikan lemuru juga akan mempengaruhi *growth factor*, sehingga meningkatkan *fibroblast growth factor* (FGF) yang memiliki fungsi dalam diferensiasi osteoblas.^{47,48}

Omega-3 juga mengandung senyawa *resolvingE1* dan *lipoxin* yang dapat mempengaruhi system imun agar penyembuhan tulang dapat berjalan dengan baik. Senyawa bioaktif RvE1 yang menghambat PGE2 dalam meresorpsi tulang. Selain itu, RvE1 juga dapat mengurangi inflamasi, migrasi sel dendritik, peritonitis dan produksi IL-2).^{19,49} Pada kelompok K(-) ekspresi FGF-2 lebih sedikit dibandingkan dengan P1 yang diberikan perlakuan minyak ikan lemuru. Secara statistik perbedaan keduanya tidak terlihat perbedaan yang signifikan, tetapi setidaknya terdapat perbedaan ekspresi FGF-2 pada kedua kelompok tersebut.

Kelompok K(+) yang diaplikasikan hidroksiapatit secara topikal langsung pada *defect* memiliki sifat osteokonduktif sehingga membentuk kerangka (*scaffold*) sehingga osteoblas dapat melekat pada kerangka tersebut. Pemberian HA secara kuratif membantu pada fase remodeling. Hal tersebut yang mungkin dapat menjadikan hasil penelitian menjadi terdapat perbedaan yang bermakna antara K(+) dengan P1, pada K(+) yang diaplikasikan

hidroksiapatit menunjukkan ekspresi FGF-2 lebih meningkat dibandingkan dengan P1 yang diaplikasikan minyak ikan lemuru. Karena pada P1, pemberian minyak ikan lemuru diberikan secara sistemik dan preventif yaitu diberikan seminggu sebelum pembedahan dan kuratif sebagai immunomodulator agar dapat mempercepat fase inflamasi. Pada pemberian sistemik ini memungkinkan untuk efek dari minyak ikan lemuru tidak langsung mengenai defek dan harus melalui aliran darah terlebih dahulu.

Penelitian ini, kombinasi pemberian minyak ikan lemuru dengan aplikasi hidroksiapatit menunjukkan peningkatan ekspresi FGF-2 paling baik dibandingkan dengan kelompok lainnya. Karena pada P2, HA yang diaplikasikan secara topikal memiliki sifat osteokonduktif sebagai *scaffold* yang dapat merangsang osteoblas yang berasal dari diferensiasi fibroblas oleh FGF-2 pada periosteum. Pemberian minyak ikan lemuru secara sistemik sebagai immunomodulator dapat mempercepat fase inflamasi tanpa membentuk *scaffold*, sehingga didapatkan kombinasi dari hidroksiapatit dengan pemberian minyak ikan lemuru memiliki pengaruh paling besar terhadap ekspresi FGF-2 pada proses *bone healing* dibandingkan kelompok yang lain. Proses penyembuhan tulang, aplikasi hidroksiapatit dan pemberian minyak ikan lemuru dapat dijadikan obat alternatif.

SIMPULAN

Pada penelitian ini secara umum dapat disimpulkan bahwa kombinasi minyak ikan lemuru (*Sardinella*

longiceps) dan aplikasi hidroksiapatit paling efektif dibandingkan dengan penyembuhan secara normal, aplikasi hidroksiapatit saja, dan pemberian minyak ikan lemuru saja.

DAFTAR PUSTAKA

1. Price SA, Wilson LM. 2006. Patofisiologi, Ed. 6. Jakarta: EGC.
2. Liza RH. 2004. Densitas Mineral Tulang Pada Wanita Menopause 5 Tahun. Tesis, Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas 208-21. Kedokteran Universitas Sumatra Utara. H. 28-26.
3. Matthew P, William V, Caroline s, Zhu Z, Tejeda K.. 2001. Surgical aids to Prosthodontic, Including Osseintegrated Implant in Pedlar J., 2001, Oral and Maxillofacial Surgery. Edinberg. Churchill Livingstone.
4. Cochran DL. 2008. Inflammation and bone loss in periodontal disease. J Periodontol, 79(8): 1569-76.
5. Sfeir C, Ho L, Doll BA, Azari K, Hollinger JO. 2005. Fractur Repair. Humana Press Inc.: 44-21.
6. Marie PJ. 2003. Fibroblast Growth Factor Signaling Controlling Osteoblast Differentiation. PubMed NCBI, 316: 32-23.
7. 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.
8. Hardhani PR, Lastianny SP, Herawati D. 2013. Pengaruh Penambalan platelet-rich plasma pada Cangkuk Tulang terhadap Kadar Osteocalcin Cairan Sulkus gingival pada Terapi Poket Infraboni. Jurnal PDGI, 62: 82-75.
9. Jeong I, Yu H, Kim M, Jang H, K H, 2010. FGF2-Adsorbed Macroporous Hydroxyapatite Bone Granules Stimulate In Vitro Osteoblastic Gene Expression and Differentiation. J Mater Sci: Mater Med, 21: 1342-1335.
10. Yun R Y *et al.*. 2010. Fibroblast Growth Factor: Biology, Function, and Application for Tissue Regeneration. Journal of Tissue Engineering. Article ID 218142. P. 18-1.
11. Rasjad C. 2008. Pengantar Ilmu Bedah Ortopedi. Jakarta: PT Yarsif Watampone H. 367-364.

12. Zhang X, Awad HA, O'Keefe RJ, Guldberg RE, Schwartz EM. 2008. A Perspective: Engineering Periosteum for Structural Bone Graft Healing. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 466(8): 406-365.
13. Slutsky DJ, Herman M. 2005. Rehabilitation of Distal Radius Fractures: A Biomechanical Guide. *Hand Clin* 21: 455-68.
14. Schwartz Z. 2001. Tissue Banking of Bone Allograft Used in Periodontal Regeneration. *Journal Periodontal*, (72): 834-8.
15. Hung NN. 2012. Basic Knowledge of Bone Grafting. *Pediatric Orthopaedic Journal*. Available From <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/33456.pdf>. Diakses 14 April 2015.
16. Ichsan MZ. 2011. Hidroksiapatit. Available from http://skp.unair.ac.id/repository/webpdf/web_hidroksiapatit_MIRANDA_ZAWAZI_ICHSAN.pdf. Diakses 9 Maret 2015.
17. Nandi S K, Roy S, Kundu B, Basu D, Mukherjee P. 2010. Orthopaedic Applications of /bonegraft and Graft substitutes: A Review. *Indian Journal Medicine*, 132: 30-15.
18. Putri AKN, Ulfah N, dan Bargowo L. 2013. Efek Angiogenesis pada Proses Regenerasi Jaringan Tulang Terhadap Aplikasi Serbuk Natural Hidroksiapatit Kitosan Konsentrasi 30:70 dan 70:30. *Periodontic Jurnal*, 5(1): 25-19.
19. Micelli C. 2015. Efektivitas Kombinasi Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dan Aplikasi Hidroksiapatit Terhadap Ekspresi Osteokalsin pada Proses Penyembuhan Tulang. Skripsi. Universitas Hangtuah Surabaya.
20. Weiss LA, Connor EB, Mu'hlen DV. 2005. Ratio of n-6 to n-3 Acids and Bone Adults: the Rancho Bernardo Study. Fatty Acid and Bone Mineral Density. *Am J Clin Nutr.*, 81(4): 934-8.
21. Lawrence T. 2009. The Nuclear Factor NF- κ B Pathways in Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspect Biol.*, 1(6):a001651. doi: 10.1101/cshperspect.a001651.
22. 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*, 1(6): 16-12.
23. Saputra D R, Huda A M, Setyorini D Y, Hakam M. 2015. Potensi Minyak Asam Lemak Omega-3 Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Sebagai Pencegah dan Terapi Alternatif Osteoarthritis pada Wanita Pasca-Menopause. *BIMKGI*, 3(1): 42-31.
24. Purnomo S. 2015. Efektivitas Kombinasi Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dan Aplikasi Hidroksiapatit Terhadap Jumlah Pembuluh Darah pada Proses Penyembuhan Tulang. Skripsi. Universitas Hangtuah Surabaya.
25. Ahmadi KGS, Wakyu M. 2007. Aktivasi Kimiawi Zeolit Alam Untuk Pemurnian Minyak Ikan dari Hasil Sampingan Penepungan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 8(2): 4-3.
26. Harris WS. 2004. Fish Oil Supplementation: Evidence for Health Benefits. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 71(3): 221-208.
27. Fleckhell, Paul. 2009. *Laboratory Animal Anesthesia Edisi Ketiga*. Elsevier. P. 187.
28. Rokn AR, Khodadoostan MA, Ghahroudi AARR, Motahhary P, Fard MJK, Bruyn HD, Afzalifar R, Soolar E, Soolari A. 2011. Bone Formation with Two Types of Grafting Materials : A Histologic and Histomorphometric Study. *Open Dent. Journal*, 5: 104-96.
29. Kopschina MI, Marinowicz 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.
30. 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): 149-57.
31. Hartono, Puji. 2013. Pengaruh Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) pada Remodeling Alveolaris Gigi Kelinci New Zealand White yang Digerakkan Secara Ortodontik (Kajian pada Interleukin-1, Tumot Nekrosis Faktor- α , Ekspresi Osteopontin dan Alkaline Fosfatase). Disertasi, Universitas Gadjah Mada. H. 51.
32. Parmana A D, Sumaryono B, Rahayu R P. 2014. Ekspresi FGF-2, Jumlah Sel Fibroblas dan Pembuluh Darah Kepiler Setelah Pemberian Gel Spirulina (Blue-green Algae) pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cabaya*). *Oral Pathology & Maxillofacial Dental Journal*, 1(1): 6-1.

33. Asakura T, Nagano A, Tanioka Y, Sakurai N, Sezutsu H, Kiba H. 2011. Bone Regeneration on The Epicondyle of The Femur Supported by Silk Fibroin-based Scaffold : A Model System for Dental Surgery. *Journal of Insect Biotechnology and Sericoloy* 80, 30-25.
34. Hughes RN. 2007. Sex Does Matter: Comments on The Prevalence Of Male-Only Investigations Of Drug Effects On Rodent Behaviour. *Behavioural Pharmacology*. Vol 18:583-589.
35. Sharon RS. 2011. Effect of Soybean Extract After Tooth extraction on osteoblast Number. *Dent.j*, 44(2): 116-111.
36. Kalfas IH. 2001. Principles of Bone Healing. *Neurosurg Focus*, 10: 4-1.
37. Larjava H. 2012. Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management. Singapore: Markono Print Media. P. 184-175, 65-62.
38. Kumar, Vinay et al. 2009. Robins & contran Dasar Patologis Penyakit. Edisi 7, Jakarta: EGC. H. 103-101, 99, 93.
39. Dielgelmann RF, Evans MC. 2004. Wound Healing: an Overview Of Acute, Fibrotic And Delayed.
40. Basyar E. 2004. Pengaruh Stimulus elektrik Kontinyu dan Intermiten pada Penyembuhan Fraktur. Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. H. 7-5.
41. Kanczler JM dan Oreffo ROC. 2008. Osteogenesis and Angiogenesis: The Potential For Engineering Bone. *European Cells and Materials*, 15: 114-100.
42. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 2003. Biokimia Harper, Ed. 25. Jakarta: EGC
43. Scaglione S, Giovanni P, Bianchini P, Sandri M, Marotta R, Firpo G, Valbusa U, Tampieri A, Diaspro A, Bianco P, Quarto R. 2012. Order Versus Disorder: In Vivo Bone Formation within Osteoconductive Scaffolds. *Scientific Reports*, 2(274): 6-1.
44. Yilgor P, Tuzlakoglu K, Reis RL, Hasirci N, Hasirci V. 2009. Incorporation of A Sequential BMP-2/BMP-7 Delivery System Into Chitosan-Based Scaffold for Bone Tissue Engineering. *Biomaterial*, 30(21): 3551-9.
45. Estiasih, T. 2009. Minyak Ikan Teknologi dan Penerapannya untuk Pangan dan Kesehatan. Graha Ilmu. Yogyakarta.
46. Wildan F. 2000. Perbandingan Kandungan Omega-3 dan Omega-6 dalam Minyak Ikan Lemuru dengan Teknik Kromatografi. *Temu Teknis Fungsional dan Penelitian*. H. 58.
47. Purnomo S. 2015. Efektivitas Kombinasi Pemberian Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) dan Aplikasi Hidroksiapatit Terhadap Jumlah Osteoblas pada *bone Healing*. Skripsi. Universitas Hangtuah Surabaya. H. 3-1.
48. Arita M, Yoshida M, Hong S, Tjonahen E, Glickman J N, Blumberg R S, Serhan C N, Petasis N A. 2005. Resolvin E1, an endogenous lipid mediator derived from omega-3 eicosapentaenoic acid, protects against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *The National Academy of Sciences of the USA*, 102(21): 7671-767.

LAPORAN PENELITIAN

Efektifitas Kombinasi Terapi Oksigen Hiperbarik dan Gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblas pada Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

(The Effectiveness of Combination Hyperbaric Oxygen Therapy and Sea Cucumber Gel in the Increasing of Osteoblasts in Rats with DM Induced P.gingivalis)

Safina Majdina*, Dian Mulawarmanti **, Yoifah Rizka***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: The prevalence of diabetes mellitus (DM) is quite high in the world and Indonesia. Diabetes mellitus with poor glycemic control periodontitis as a complication the largest in the oral cavity which causes damage to the alveolar bone. Osteoblasts synthesize osteoid collagen to form bone as raw material. Oxygenation high pressure is able to increase the amount of alveolar bone osteoblasts in patients with DM. Sea cucumber contains growth factors that play a role in the differentiation of osteoblasts to bone formation. **Purpose:** To determine the effectiveness of combination hyperbaric oxygen therapy 2.4 ATA and sea cucumber gel 3% in the increasing of osteoblasts in rats with DM induced *P.gingivalis*. **Materials and Methods:** The study design was factorial design group. Rats are induced with STZ single dose 65 mg/kg BB to make DM and are induced with *P.gingivalis* 1×10^9 sel/ml to make them suffer periodontitis. Twenty male Wistar rats were divided into five groups. K- (without treatment); K1 (Streptozotocin + *P.gingivalis*); K2 (Streptozotocin + *P.gingivalis* + sea cucumber gel); K3 (Streptozotocin + *P.gingivalis* + HBO); K4 (Streptozotocin + *P.gingivalis* + HBO + sea cucumber gel). **Result:** One-way ANOVA here were significant differences ($p < 0.05$) in K2 (24.97 ± 4.99), K3 (22.80 ± 6.45), K4 (28.47 ± 3.20) that compared with K1 (9.22 ± 4.95). **Conclusion:** Each hyperbaric oxygen therapy doses of 2.4 ATA 100% O₂ 3x30 minutes with 5 minute intervals for 7 days and sea cucumber gel (*Stichopus hermanii*) concentration of 3% and a combination of both therapies showed an increase of osteoblasts significantly in rats with diabetes mellitus induced *P.gingivalis*.

Keywords: DM, periodontitis, osteoblasts, hyperbaric oxygen, sea cucumber

Korespondensi: Dian Mulawarmanti, Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, 5912191, Email: dian.mulawarmanti@hangtuah.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Prevalensi diabetes mellitus (DM) cukup tinggi di dunia maupun di Indonesia. Diabetes mellitus dengan kontrol glikemik buruk meningkatkan periodontitis sebagai komplikasi terbesar di rongga mulut yang menyebabkan kerusakan tulang alveolar. Osteoblas mensintesis kolagen untuk membentuk osteoid sebagai bahan dasar tulang. Oksigenasi tekanan tinggi mampu meningkatkan jumlah osteoblas tulang alveolar pada penderita DM. Teripang emas mengandung growth factor yang berperan dalam diferensiasi osteoblas untuk pembentukan tulang. **Tujuan:** Mengetahui efektifitas kombinasi terapi oksigen hiperbarik 2.4 ATA dan gel teripang emas 3% terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada tikus DM yang diinduksi bakteri *P.gingivalis*. **Bahan dan Metode:** Rancangan penelitian adalah factorial group design. Pembuatan tikus DM dengan cara induksi STZ single dose 65 mg/kg BB dan periodontitis dengan cara induksi *P.gingivalis* 1×10^9 sel/ml. Dua puluh tikus Wistar jantan dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok K⁻ (tanpa perlakuan); K1 (*Streptozotocin* + *P.gingivalis*); K2 (*Streptozotocin* + *P.gingivalis* + gel teripang emas); K3 (*Streptozotocin* + *P.gingivalis* + oksigen hiperbarik); K4 (*Streptozotocin* + *P.gingivalis* + oksigen hiperbarik + gel teripang emas). **Hasil:** Hasil uji one-way ANOVA terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) pada kelompok K2 (24.97 ± 4.99), K3 (22.80 ± 6.45), K4 (28.47 ± 3.20) dibanding K1 (9.22 ± 4.95). **Simpulan:** Masing-masing terapi oksigen hiperbarik dosis 2.4 ATA 100% O₂ 3x30 menit dengan interval 5 menit selama 7 hari dan gel teripang emas (*Stichopus hermannii*) konsentrasi 3% serta kombinasi kedua terapi tersebut menunjukkan peningkatan jumlah osteoblas secara signifikan pada tikus diabetes melitus yang diinduksi bakteri *P.gingivalis*.

Kata kunci: DM, periodontitis, osteoblas, oksigen hiperbarik, teripang emas

Korespondensi: Dian Mulawarmanti, Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: dian.mulawarmanti@hangtuah.ac.id

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia karena kerusakan sekresi insulin atau kerja insulin.¹ Jumlah penderita DM terus meningkat. Dari tahun ke tahun WHO memperkirakan 135 juta orang seluruh dunia terkena DM dan diperkirakan 2025 sebanyak 300 juta orang akan terkena DM.² Di Indonesia, prevalensi DM pada orang dewasa usia 20-79 tahun sebesar 5,8% dengan jumlah 9 juta kasus pada tahun 2014.³ Penyakit DM memiliki 5 komplikasi utama antara lain kardiovaskuler, nefropati,

retinopati, neuropati, dan penyakit vaskuler perifer.⁴

Pada diabetes melitus, dengan kontrol glikemik yang buruk terdapat peningkatan *advanced glycation end products* (AGEs) dalam darah, termasuk periodonsium. Periodontitis merupakan komplikasi nomor enam terbesar dari DM dan merupakan yang terbesar pada rongga mulut dengan prevalensi mencapai angka 75%.⁵ Periodontitis adalah penyakit peradangan kronis yang ditandai dengan kerusakan jaringan pendukung gigi. Periodontitis dapat memperparah diabetes karena infeksi yang berasal dari periodontitis selain meningkatkan produksi sitokin, diduga dapat meningkatkan resistensi insulin yang

pada akhirnya memperburuk kontrol glikemik pada penderita diabetes yang juga menderita periodontitis. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan diabetes melitus dan periodontitis berlangsung dalam dua arah.⁶

Kontrol glikemik memegang peranan penting dalam mengobati penyakit periodontal.⁷ Penelitian menunjukkan, bahwa terapi periodontitis lokal seperti *scaling* dan *root planing* saja, tidak menunjukkan adanya perlekatan jaringan ikat baru secara histologis.⁸ Sehingga diperlukan terapi *adjunctive* salah satunya adalah terapi oksigen hiperbarik.

Penelitian terdahulu pada hewan coba dengan diabetes mellitus, menggunakan terapi oksigen hiperbarik dengan dosis 3x30 menit dengan jeda 5 menit selama 7 hari berturut-turut efektif menurunkan kadar gula darah dibandingkan ke 1, 3, dan 5 hari.⁹ Oksigen hiperbarik merupakan terapi dengan bernafas menggunakan oksigen 100% murni di dalam suatu ruangan bertekanan tinggi lebih dari 1 ATA (*Atmosfer absolute*).¹⁰

Peran terapi oksigen hiperbarik dalam perawatan penderita DM adalah menyediakan oksigen bagi jaringan yang hipoksia, mengatur kadar gula darah, meningkatkan pertumbuhan pembuluh darah dan ujung saraf sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka.¹¹ Penelitian oleh Wijaya,¹² membuktikan bahwa pemberian oksigenasi tekanan tinggi dosis 2.4 ATA 100% O₂ 3x30 menit dengan interval 5 menit menghirup udara biasa yang dilakukan selama 5 hari berturut-turut mampu meningkatkan jumlah osteoblas pada tulang alveolar tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* disertai diabetes mellitus. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa sebagian produk dari *Porphyromonas gingivalis* dapat mempengaruhi osteoblas sehingga menghambat pembentukan tulang alveolar.¹³

Teripang emas (*Stichopus hermanii*) mengandung bahan organik dan in-organik serta bersifat terapeutik yang berperan sebagai anti inflamasi.¹⁴ Teripang diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Pada penelitian Muttaqien,¹⁵ diketahui ekstrak etanol teripang emas (*Stichopus hermanii*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Mixed periodontopathogen*.

Teripang emas (*Stichopus hermanii*) mempunyai aktivitas antioksidan seperti EPA dan DHA yang cukup tinggi, ditandai adanya aktivitas *superoksida dismutase* (SOD) yang berperan untuk mencegah terjadinya stress oksidatif pada kondisi hiperglikemi sehingga teripang emas (*Stichopus hermanii*) sangat baik untuk dijadikan obat pilihan untuk anti diabetes.¹⁶ Teripang emas juga mengandung *cell growth factor* (CGF), salah satu komponennya adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang berperan dalam menginduksi neovaskularisasi (angiogenesis) dan diferensiasi osteoblas untuk pembentukan tulang secara *in vivo*.¹⁷

Osteoblas merupakan fibroblas yang mengalami diferensiasi dan sama seperti fibroblas yang berasal dari sel mesenkim.¹⁸ Osteoblas berperan mensintesis kolagen untuk membentuk osteoid sebagai bahan dasar tulang.¹⁹ Osteoblas mensintesis dan memediasi mineralisasi osteoid dengan membentuk suatu lapisan sel diatas permukaan tulang yang berfungsi melindungi dari resorpsi tulang.¹⁸

Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas kombinasi terapi oksigen hiperbarik (OHB) dosis 2.4 ATA 100% O₂ 3 x 30 menit dengan interval 5 menit selama 7 hari berturut-turut dan gel teripang emas (*Stichopus hermannii*) konsentrasi 3% terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada tikus diabetes melitus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian *true eksperimental* dengan rancangan penelitian *factorial group design*. Parameter penelitian ini adalah perbedaan jumlah osteoblas. Sejumlah 20 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus strain Wistar*) dibagi menjadi lima kelompok, kriteria yang dipilih adalah jenis kelamin jantan, usia 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram.

Tikus diaklimatisasi/diadaptasi selama 7 hari. Dibagi menjadi lima kelompok, yaitu K⁻ (tanpa perlakuan), K1 (diinduksi streptozotocin + bakteri *P.gingivalis*), K2 (diinduksi streptozotocin + bakteri *P.gingivalis* + terapi gel teripang emas), K3 (diinduksi streptozotocin + bakteri *P.gingivalis* + terapi oksigen hiperbarik), dan K4 (diinduksi streptozotocin + bakteri *P.gingivalis* + terapi oksigen hiperbarik + terapi gel teripang emas).

Pada hari ke 8 dilakukan timbang berat badan dan cek kadar gula darah awal pada masing-masing kelompok tikus. Kemudian dilakukan induksi streptozotocin setelah pemberian nicotinamide 230 mg/kg BB selama 15 menit. Dosis STZ adalah 65 mg/kg BB. Kemudian diberi

minum dekstroza 10% untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection*.²⁰

Pada hari ke 11 tikus diberi kanamycin (20 mg), ampicilin (20 mg) setiap hari selama 4 hari dalam air minum, dan rongga mulutnya diusap 0.12% *chlorhexidine* glukonat untuk menekan mikrobiota mulut yang asli.²¹ Kemudian pada hari ke 14 dilakukan cek gula darah setelah induksi STZ.

Pada hari ke 15 dilakukan induksi *P.gingivalis* sebanyak 0.2 ml dari 1x10⁹ sel/ml bakteri secara topikal disepanjang tepi gingival labial, buko palatal/lingual dari molar rahang atas ke molar rahang bawah serta di permukaan anal menggunakan *cotton bud*. Frekuensi induksi *P.gingivalis* sebanyak 3 kali dalam 4 hari dan diinkubasi selama 3 minggu.²²

Pada hari ke 39 setelah induksi bakteri, kelompok K2 mendapatkan terapi gel teripang emas 3% secara topikal yang dioleskan sepanjang tepi gingiva labial, buko palatal/lingual dari molar ke molar rahang atas dan bawah sebanyak 0.1 ml/hari menggunakan *microbrush* selama 7 hari.²³ Pada hari ke 46 kelompok K3 mendapatkan terapi oksigen hiperbarik yang dimasukkan kedalam *chamber* dan diberikan 100% oksigen murni kemudian dilakukan peningkatan tekanan dalam *chamber* sampai 2.4 ATA selama 3x30 menit dengan interval 5 menit selama 7 hari.²⁴ Pada kelompok K4 terapi oksigen hiperbarik diberikan terlebih dahulu kemudian dilanjutkan pemberian gel teripang emas 3%.

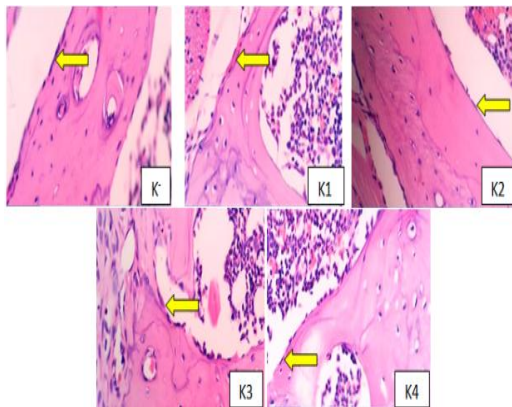
Pada hari ke 53 tikus dieuthanasia dan dilakukan *cervical dislocation* lalu didekaputasi untuk diambil mandibulanya.²⁵ Kemudian dilakukan dekalsifikasi menggunakan EDTA 10%.²⁶ Selanjutnya dilakukan

pengecatan *Hematoxylin Eosin* lalu diamati menggunakan mikroskop dan dihitung jumlah sel osteoblas yang terlihat pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dan dihitung dengan per enam lapangan pandang oleh 3 orang pengamat.^{26,27}

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji statistik parametrik.

HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan analisis data dengan menggunakan uji statistik *one way ANOVA* dengan taraf signifikan 95% ($p = 0.05$) dan diolah dengan program IBM SPSS versi 20.

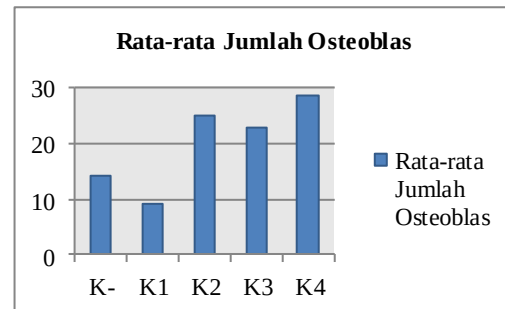


Gambar 1. Gambaran Histopatologi Anatomi Jumlah Osteoblas dengan Sediaan HE pada Pembesaran 400x

Ket.: osteoblas ditunjuk tanda panah kuning

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku osteoblas pada setiap kelompok perlakuan

Kelompok	Rata-rata $\pm$ Std Deviasi
K-	14.12 $\pm$ 7.54
K1	9.22 $\pm$ 4.95
K2	24.97 $\pm$ 4.99
K3	22.80 $\pm$ 6.45
K4	28.47 $\pm$ 3.20



Gambar 2. Rata-rata jumlah osteoblas tulang alveolar masing-masing kelompok

Kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* (karena sampel ≤ 50) dan didapatkan semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0.05$).

Data kemudian di uji homogenitasnya menggunakan uji *Levene's Test* ($p > 0.05$).

Data menunjukkan 0.630 ($p > 0.05$) sehingga disimpulkan seluruh kelompok mempunyai varian data yang homogen. Kemudian dilakukan uji parametrik *One-way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok perlakuan.

Tabel 2. Hasil uji *one-way ANOVA*

Variabel	Sig.
Osteoblas	0.001

Berdasarkan Tabel 2, didapatkan nilai $p < 0.05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan jumlah osteoblas yang bermakna atau signifikan.

Tabel 3. Hasil uji *Post-Hoc LSD*

Kelompok	K1	K2	K3	K4
K-	0.237	0.016*	0.046*	0.003*
K1		0.001*	0.004*	0.000*
K2			0.593	0.393
K3				0.174

Keterangan: * (terdapat perbedaan signifikan)

Berdasarkan Tabel 3, terdapat perbedaan signifikan jumlah osteoblas pada kelompok K⁻ dengan K2, K3, K4 dan kelompok K1 dengan K2, K3, K4.

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian, terjadi penurunan jumlah osteoblas pada kelompok K1 (9.22 ± 4.95) dibanding dengan K⁻ (14.12 ± 7.54), meskipun tidak signifikan (tabel 5). Hal ini disebabkan peningkatan kadar gula darah pada kelompok tikus diabetes mellitus (DM) dengan periodontitis yang mengakibatkan peningkatan akumulasi *Advanced Glycation End products* sehingga terjadi perubahan sel dan komponen matriks ekstraseluler, seperti perubahan fungsi abnormal dari sel endotel, pertumbuhan kapiler dan proliferasi pembuluh darah.²⁸ Pada kondisi hiperglikemia, peningkatan ekspresi oleh *advanced glycation end products* (AGE_s) diikuti juga peningkatan reseptor AGE (rAGE). Apabila AGE_s berikatan dengan rAGE maka akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Peningkatan kondisi stress oksidatif yang berlebih memicu pelepasan sitokin pro inflamasi (IL-1, IL-6, dan TNF- α). Pelepasan produksi sitokin proinflamasi dan mediator kimia seperti TNF- α akan menstimulasi penurunan jumlah osteoblas dan peningkatan aktivasi osteoklas sehingga mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang *alveolar crest*.^{29,30}

Teripang emas (*Stichopus hermanii*), merupakan bahan alami dari biota laut yang mempunyai manfaat tinggi bagi kesehatan.³¹ Teripang emas mengandung asam lemak ω -3 seperti EPA (asam

eikosapentaenat) dan DHA (asam dekosaheksaenat) yang dapat menurunkan produksi sitokin proinflamasi sehingga menurunkan stimulasi resorpsi tulang dan meningkatkan aktivitas osteoblas dalam pembentukan tulang.³² Teripang emas (*Stichopus hermanii*) juga mempunyai aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dan ditandai adanya aktivitas *superoksida dismutase* (SOD) yang berperan untuk mencegah terjadinya stress oksidatif pada kondisi hiperglikemia sehingga teripang emas (*Stichopus hermanii*) sangat baik dijadikan obat pilihan untuk anti diabetes.¹⁶ Selain bahan organik, teripang emas (*Stichopus hermanii*) juga memiliki bahan an-organik yang berperan sebagai anti inflamasi.¹⁴ Pada kondisi periodontitis, bahan an-organik seperti kalsium sangat bermanfaat bagi pembentukan gigi dan tulang.³³ Kalsium dalam tulang disimpan dalam bentuk hidroksiapatit (CaHPO₄). Pembentukan hidroksiapatit pada proses mineralisasi dimulai dari terbentuknya osteosit dan osteoblas. Osteoblas mempunyai kemampuan mengikat mineral tulang sehingga saat terjadi mobilisasi dan proliferasi osteoblas dapat meningkatkan sintesis matriks tulang untuk pembentukan tulang baru.³⁴ Adanya peningkatan jumlah osteoblas yang bermakna, ($p=0.001$) tampak pada kelompok K2 (24.97 ± 4.99) dibanding K1 (9.22 ± 4.95) (tabel 5). Ini membuktikan teripang emas yang mengandung *cell growth factor* (CGF), salah satu komponennya adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF) berperan dalam menginduksi neovaskularisasi (angiogenesis) dan diferensiasi osteoblas untuk pembentukan tulang secara *in vivo*.¹⁷

Oksigen hiperbarik (OHB) merupakan terapi bernafas menggunakan oksigen 100% murni di dalam suatu ruangan bertekanan tinggi lebih dari 1 ATA (*Atmosfer absolute*).¹⁰ Dasar dari terapi hiperbarik sedikit banyak mengandung prinsip fisika. Teori Toricelli mendasari terapi oksigen hiperbarik digunakan untuk menentukan tekanan udara 1 atm (*atmosfer*) sama dengan 760mmHg, yang di dalamnya mengandung nitrogen (N₂) 79% dan oksigen (O₂) 21%.³⁵ Prinsip yang dianut secara fisiologis dapat dijelaskan melalui mekanisme oksigen yang terlarut dalam plasma.

Oksigen dalam darah diangkut dalam bentuk larut dengan cairan plasma dan bentuk ikatan dengan hemoglobin, bagian terbesar ($\pm 97\%$) terikat dengan hemoglobin dan sebagian kecil (3%) dalam bentuk larut. Oksigen dalam bentuk larut ini sangat penting pada terapi OHB, disebabkan sifatnya yang lebih mudah diterima jaringan lewat difusi langsung daripada oksigen yang terikat dengan hemoglobin.³⁶ Pada tabel 5 menunjukkan peningkatan jumlah sel osteoblas yang bermakna, ($p=0.004$) pada kelompok tikus K3 (22.80 ± 6.45) dibandingkan kelompok tikus K1 (9.22 ± 4.95). Hal ini disebabkan oksigen hiperbarik juga memiliki peran penting dalam sintesis osteoblas. Dengan terapi oksigen hiperbarik akan terjadi peningkatan oksigen (O₂) di dalam sel yang memicu meningkatnya produksi ROS dan RNS sebagai molekul sinyaling. Namun, ROS meningkat dalam kadar yang relevan untuk menginduksi antioksidan yang kemudian menyebabkan mobilisasi oleh stem sel progenitor untuk mensintesis pembentukan sel osteoblas sehingga mempercepat proses

penyembuhan dan resorpsi tulang alveolar menjadi terhambat.^{37,38}

Pada kelompok K3 (22.80 ± 6.45) dibandingkan dengan K2 (24.97 ± 4.99) juga menunjukkan peningkatan jumlah osteoblas yang tidak bermakna, ($p=0.593$) (tabel 5). Hal tersebut disebabkan karena mekanisme kerja yang mirip antara terapi oksigen hiperbarik dengan gel teripang emas dalam hal peningkatan osteoblas, dimana keduanya sama-sama mempengaruhi FGF yang merupakan faktor mitogenik untuk sel progenitor osteoblas sehingga jumlah osteoblas dapat meningkat pada level yang hampir sama. Kandungan heparin sulfat (HS) pada teripang emas (*Stichopus hermannii*) dapat memodulasi faktor pertumbuhan seperti FGF sedangkan paparan oksigen tekanan tinggi pada terapi OHB menyebabkan FGF juga distimulus untuk merangsang pembentukan osteoblas baru pada jaringan iskemik. Salah satu dasar terapi oksigen hiperbarik adalah merangsang pembentukan osteoblas melalui mekanisme multifaktorial, yaitu dengan meningkatkan tekanan parsial oksigen dalam plasma, menurunkan HIF-1 α , dan penurunan jumlah neutrofil pada daerah luka. Meningkatnya kadar oksigen pada jaringan disekitar luka akan membantu menaikkan kadar oksigen pada daerah lain yang hipoksia, sehingga oksigen tersebut dapat menjadi katalisator untuk memicu terjadinya diferensiasi osteoblas.^{39,35,40}

Pemberian kombinasi oksigen hiperbarik (OHB) dengan terapi teripang emas (*Stichopus hermannii*) sangat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *mixed periodontopathogen* karena mengandung bahan organik dan in-

organik serta bersifat terapeutik yang berperan sebagai anti inflamasi.^{15,14} Peran oksigen juga penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri *P.gingivalis* tidak mampu untuk bertahan hidup dengan paparan oksigen lebih dari 6% oksigen. Pada paparan OHB terjadi aktivitas NADH oksidase menghasilkan peroksida (H_2O_2) yang merupakan racun bagi mikroorganisme anaerobik karena konsentrasinya dalam jumlah besar. H_2O_2 tidak dapat didetoksifikasi secara memadai pada *P. gingivalis* sehingga terjadi efek bakterisidal.⁴¹ Teripang juga memiliki kandungan bioaktif seperti saponin, kondroitin sulfat, dan glikosaminoglikan (GAG) lengkap.⁴² Selama proses perbaikan jaringan, GAG mengeluarkan Asam Hialuronat (AH) yang merupakan bagian penting dari matriks ekstraseluler dan berperan mempengaruhi kecepatan migrasi sel pada proses penutupan luka, reepitelisasi, inflamasi, adhesi, dan proliferasi sel.⁴³ Asam hialuronat dapat meningkatkan TGF- β yang merupakan *growth factor* yang mempengaruhi peningkatan migrasi fibroblast dalam proliferasi dan merupakan prekursor diferensiasi osteoblas sehingga proses proliferasi berlangsung cepat.⁴⁴ Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok K4 (28.47 ± 3.20) dibandingkan dengan K1 (9.22 ± 4.95) dan K⁻ (14.12 ± 7.54) (tabel 5) diperoleh adanya perbedaan peningkatan jumlah osteoblas yang bermakna, ($p=0.000$) dan ($p=0.003$).

Sedangkan hasil penelitian pada kelompok tikus K4 (28.47 ± 3.20) dibandingkan dengan K3 (22.80 ± 6.45) (tabel 5) menunjukkan peningkatan yang tidak bermakna, ($p=0.174$) pada jumlah osteoblas. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena adanya pengaruh dari teripang

emas (*Stichopus hermanii*) yang mampu menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat hidrolisis karbohidrat, disakarida, menghambat absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa, selain itu senyawa antioksidan yang ada pada teripang emas (*Stichopus hermanii*) mampu menangkap radikal bebas sehingga menghambat kerusakan yang lebih parah.⁴⁵ Terapi oksigen hiperbarik juga dapat menghambat peningkatan kadar gula darah dengan melemahkan atau menurunkan adiposit hipertrofi sehingga resistensi insulin menurun.⁴⁶ Dengan demikian, pengaruh dari terapi teripang emas (*Stichopus hermanii*) tidak berbeda jauh dengan efek terapeutik yang ditimbulkan pada terapi oksigen hiperbarik (OHB).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa kombinasi terapi oksigen hiperbarik dosis 2.4 ATA 100% O_2 3x30 menit dengan interval 5 menit selama 7 hari dan gel teripang emas (*Stichopus hermanii*) konsentrasi 3% memberikan efek paling baik dalam meningkatkan jumlah osteoblas secara signifikan pada tikus diabetes melitus yang diinduksi bakteri *P.gingivalis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Martinez AB, Febles JG, Esporin JS. 2014. Diabetes and Periodontal Disease. Review of The Literature. Am J Dent, 27: 67-63.
2. Yulianti E. 2009. Mikroalbuminuria pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Hipertensif. Jurnal Penelitian Saintek, 14(1): 96-77. Available from <http://journal.uny.ac.id/index.php/saintek/>

- article/viewFile/695/562. Diakses 18 Maret 2015.
3. International Diabetes Federation. 2014. Diabetes in Indonesia-2014. Available from <http://www.idf.org/membership/wp/indonesia>. Diakses 23 Maret 2015.
4. Saini R, Saini S, Sugandha RS. 2011. Periodontal Disease: The Sixth Complication of Diabetes. *Journal of Family and Community Medicine*, 18(1): 31.
5. Nandya, Maduratna E, Augustina EF. 2011. Status Kesehatan Jaringan Periodontal pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 dibandingkan dengan Pasien Non Diabetes Mellitus berdasarkan GPI. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Available from <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/e-Journal%20Status%20kesehatan%20jaringan%20periodontal.pdf>. Diakses 18 Maret 2015.
6. Daliemunthe SH. 2003. Hubungan Timbal Balik Antara Periodontitis dengan Diabetes Mellitus. *Dentika J Dent*, 8(2): 120-5.
7. American Diabetes Association. 2014. Diabetes and Oral Health Problems. *Journals Diabetes*, 37(1): 80-14.. Available from <http://www.diabetes.org/living-with-diabetes/treatment-and-care/oral-health-and-hygiene/diabetes-and-oral-health.html>. Diakses 23 April 2015.
8. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. 2012. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed. Missouri: Elsevier Saunders. P. 387, 201, 45-34.
9. Prabowo S, Nataatmadja M, Hadi JP, Dikman I, Handajani F, Tehupuring SEJ, Soetarso I, Suryokusumo MG, Aulanni'am A, Herawati A, West M. 2014. Hyperbaric Oxygen Treatment in a Diabetic Rat Model is Associated with a Decrease in Blood Glucose, Regression of Organ Damage and Improvement in Wound Healing. *Health*, (6): 1950-8.
10. Mahdi H, Sasongko, Siswanto, Hinarya D, Suharsono, Soepriyoto, Setiawan W, Hanjaya M, Guntoro, Susanto A. 2009. Ilmu Kesehatan Penyelaman dan Hiperbarik. Surabaya: Lakesla. H. 342-68.
11. Baromedical. 2011. Guide to Hyperbaric Oxygen Therapy. Bumaby: Baro Medical Research Center Inc. Available from <http://baromedical.ca/pdfs/BaroMedical%20%20Guide%20to%20HBO%20therapy.pdf>. Diakses 22 Maret 2015.
12. Wijaya LF. 2014. Pengaruh Oksigenasi Tekanan Tinggi Terhadap Osteoblas Tulang Alveolar Tikus yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Disertai Diabetes Mellitus. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya. Indonesia.
13. Zhang W, Ju J, Rigney T, Tribble G. 2014. *Porphyromonas gingivalis* Infection Increases Osteoclastic Bone Resorption and Osteoblastic Bone Formation in a Periodontitis Mouse Model-Research Article. *BMC Oral Health*: 9-1.
14. Shahrulazua A, Samsudin AR, Iskandar MA, Amran AS. 2013. The In-Vitro Effects of Sea Cucumber (*Stichopus sp1*) Extract on Human Osteoblast Cell Line. *Malaysian Orthopaedic Journal*, 7(1): 48-41.
15. Muttaqien W. 2011. Daya Hambat Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Mixed Periodontal. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya. Indonesia.
16. Fitriah, Theodorus, Kamaluddin MT. 2013. Efek Pemberian Serbuk Teripang (*Stichopus variegatus*) Jangka Panjang Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Hiperglikemik. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 45(1): 10-1.
17. Kassem M and Marie PJ. 2011. Senescence-associated Intrinsic Mechanisms of Osteoblast Dysfunctions-Review Article. *Journal Aging Cell*, 10(2): 191-7.
18. Ganong WF. 2008. Review of Medical Physiology. 22nd ed. McGraw-Hill Companies. P. 205-55.
19. Junqueira LC, Carneiro. 2011. *Histologi Dasar*. 12th ed. Jakarta: EGC. P. 118-21.
20. Srinivasan K and Ramarao P. 2007. Animal Models in Type 2 Diabetes Research: An Overview. Available from http://www.researchgate.net/profile/Ramarao_Poduri/publication/6336329_Animal_models_in_type_2_diabetes_research_a_n_overview/links/0912f509e6e9ec2765000000.pdf. Diakses 28 Mei 2015.
21. Kesavalu L, Sathishkumar S, Bakthavatchalu V, Matthews C, Dawson D, Steffen M, Ebersole JL. 2007. Rat Model of Polymicrobial Infection, Immunity, and Alveolar Bone Resorption in Periodontal Disease. Available from

- <http://iai.asm.org/content/75/4/1704.short>. Diakses 20 Mei 2015.
22. Praptiwi H. 2008. Inokulasi Bakteri dan Pemasangan Cincin atau Ligatur untuk Induksi Periodontitis pada Tikus. *Majalah Kedokteran Gigi*, 15(1): 81-4.
 23. Larasati AR, Soesilawati P, Arundina I. 2013. Efek Ekstrak Air Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Peningkatan Re-epitelisasi Ulkus Traumatikus Mukosa Rongga Mulut Tikus Wistar. *Oral Biology Journal*, 5(2): 46-41.
 24. Dwipayana R dan Prijambodo B. 2010. The Effect of Hyperbaric Oxygen on The Healing of Rat's Flexor Muscle Injury. *Majalah Orthopaedi Indonesia*, 38(1): 84-77.
 25. Sharp T and Saunders G. 2004. Methods of Euthanasia. P. 26-1. Available from <http://www.shellharbour.nsw.gov.au/filed/ata/pdf/methodsofeuthanasia.pdf>. Diakses 8 Juni 2015.
 26. Sularsih. 2010. Penggunaan Kitosan dalam Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Rattus Novergicus. Tesis. Universitas Airlangga Surabaya. H. 48.
 27. Kristyoadi SA, Napitupulu O, Soemantri B. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Jumlah Osteoblas pada Tulang Tibia Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Ovariectomy. Skripsi. Malang: Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. h. 3. Available from [old.fk.ub.ac.id/artikel/id/filedownload/ke_dokteran/Surya_AbadiK\(0910710121\).pdf](http://old.fk.ub.ac.id/artikel/id/filedownload/ke_dokteran/Surya_AbadiK(0910710121).pdf). Diakses 5 Mei 2015.
 28. Manson JD and Eley BM. 2010. Periodontic. Sixth Edition. Elsevier Saunders. P. 48-34.
 29. Mealey BL and Oates TW. 2006. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *J Periodontolgy*, 77(8): 1289-303.
 30. Serio FG and Duncan TB. 2009. The Pathogenesis and Treatment of Periodontal Disease. Continuing Dental Education. P. 16-1. Available from http://www.ineedce.com/courses/2079/pdf/1104cei_pathogenesis_zila_web.pdf. Diakses 22 Maret 2015.
 31. Rasyid A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus hermanii*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 4(2): 360-68.
 32. Arwidhyana Z. 2008. Aktivitas Antiosteoporotik Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) pada Tulang Alveolar Mandibula Tikus Wistar Betina. Abstrak. Skripsi. Universitas Jember. Indonesia. H. 1.
 33. Wulaningtyas RAM. 2012. Kekuatan Impak Tulang Mandibula Tikus Wistar Jantan yang Diberi Diet Tambahan Ikan Teri. Skripsi. Universitas Jember. Indonesia. H. 25-6.
 34. Nasution MA. 2011. Pengaruh Latihan Fisik dengan Pemberian Suplemen Kalsium terhadap Kualitas Mandibular pada Mencit. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Indonesia. H. 3.
 35. Wibowo A. 2015. Oksigen Hiperbarik: Terapi Percepatan Penyembuhan Luka. *Jurnal Kedokteran. Unila*, 5(9): 124-8. Available from <http://joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/joke/article/view/645/649>. Diakses 13 Januari 2016.
 36. Huda N. 2010. Pengaruh Hiperbarik Oksigen Terhadap Perfusion Perifer Luka Gangren pada Penderita DM di RSAL Dr. Ramelan Surabaya. Tesis. Fakultas Ilmu Keperawatan Universitas Indonesia. H. 53-46. Available from <http://lontar.ui.ac.id/file?file=digital/20283057-T%20Nuh%20Huda.pdf>. Diakses 12 Maret 2015.
 37. Thom SR. 2011. Hyperbaric Oxygen – Its Mechanisms and Efficacy. NIH Public Access. Author Manuscript, 127(1): 16-1.
 38. Thom SR. 2009. Oxidative Stress is Fundamental to Hyperbaric Oxygen Therapy. The Physiology and Pathophysiology of the Hyperbaric and Diving Environments. *J Appl Physiol*, 106: 988-95.
 39. Eckes B, Nischt R, and Krieg T. 2010. Cell-Matrix Interactions in Dermal Repair and Scarring. Available from <http://www.fibrogenesis.com/content/3/14>. Diakses 28 Maret 2015.
 40. Al-Hadi HW. 2013. The effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on Osteoclast and Osteoblast Function. England: School of Biomedical and Biological Sciences Faculty of Science and Technology. P. 105-41.
 41. Diaz PI, Zilm PS, Rogers AH. 2002. *Fusobacterium Nucleatum* Supports the Growth of *Porphyromonas gingivalis* in Oxygenated and Carbon-Dioxide-Depleted Environments. *J Microbiology*, 148: 467-72.
 42. Brodbar S, Anwar F, Saari N. 2011. High-Value Components and Bioactives

- from Sea Cucumbers for Functional Foods-A Review. *Marine Drgs*, 9: 1805-1761. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210605/pdf/marinedrugs-09-01761.pdf>. Diakses 9 April 2015.
43. Gomes JAP, Amankwah R, Powell-Richards A, Dua HS. 2004. Sodium Hyaluronate (Hyaluronic acid) Promotes Migration of Human Corneal Epithelial Cells in Vitro. *Br J Ophthalmo.*, 88(6): 821-25.
 44. Kveiborg M, Flyvbjerg A, Eriksen EF, Kassem M. 2001. Transforming Growth Factor-1 Stimulates the Production of Insulin-Like Growth Factor-1 and Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3 in Human Bone Marrow Stromal Osteoblast Progenitors. *Journal of Endocrinology*, 169: 549-61.
 45. Isamantoro, Kamaludin, M.T., Theodorus, Sulastri H. 2013. Efek Nefroprotektif Teripang Emas pada Tikus Jantan Dewasa Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. *Majalah Kesehatan* 2013 No.1. Universitas Sriwijaya Palembang, Indonesia. H. 52-8.
 46. Fujita N, Nagatomo F, Murakami S, Kondo H, Ishihara A, Fujino H. 2012. Effects of Hyperbaric Oxygen on Metabolic Capacity of The Skeletal Muscle in Type 2 Diabetic Rats with Obesity. *The Scientific World Journal*, Article ID 637978. P. 9.

LAPORAN PENELITIAN

Efektifitas Sabun Cair Ekstrak Kulit Nanas Sebagai Pembersih Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Heat Cured Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*

(The Effectivity of Pineapple Peel Extract Liquid Soap as Acrylic Resin Heat Cured Denture Cleanser Towards the Growth of Candida albicans)

Tiffany Augusta Posuma*, Meinar Nur Ashrin**, Dwi Andriani***

*Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

***Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

ABSTRACT

Background: *Candida albicans* acts as a trigger to denture stomatitis. Prevention of denture stomatitis can be done by cleaning dentures with mechanic and chemical methods. Bromelin enzymes from pineapple can be use as a chemical substance to purify dentures for its ability to prevent the growth of *Candida albicans* with its proteolytic activity. **Objectives:** to determine the influence of soap from pineapple peel extract as acrylic resin heat cured denture cleanser in *Candida albicans* impure. **Materials and Methods:** The experiment is post test only group design. The subject is divided into 6 groups. Control group (aquadest), Positive control group (soap with lime extract brand X), and four treatment groups (soap from pineapple peel extract with 0%, 3,5%, 7%, and 14% concentration). Each group is brushed with an electric tooth brush for 5'. Then each sample is inserted into Saboraud Dextrose Broth and 0,1 ml is taken and is vortexed for 30' then is incubated in Saboraud Dextrose Agar for 24 hours. The colony is counted with the colony counter in CFU/ml. The data will be tested with One Way ANOVA and continued with LSD test. **Result:** The mean of *Candida albicans* colony in K-, P1, P2, P3, P4, K+ is 44.00; 32.25; 2.25; 6.00; 11.50; 19.00. There is a difference between the control groups and all the treatment groups ($p < 0,05$). **Conclusions:** Soap from pineapple peel extract with the concentration 3,5% is the most effective soap as an acrylic resin heat cured denture cleanser to influence the growth of *Candida albicans*

Key words: *Candida albicans*, bromelin enzyme, pineapple

Correspondence: Meinar Nur Ashrin, Department of Prostodontics, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: meinar.ashrin@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: Salah satu faktor yang terlibat dalam Denture Stomatitis adalah *Candida albicans*. Pencegahan Denture Stomatitis dapat dilakukan dengan pembersihan gigi dengan cara mekanik dan kimia. Disini pembersihan gigi tiruan secara kimia yaitu menggunakan enzim bromelin yang diisolasi dari tanaman nanas yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena aktivitas proteolitiknya. **Tujuan:** Untuk mengetahui pengaruh efektivitas Sabun Cair Ekstrak Kulit Nanas sebagai pembersih basis gigi tiruan resin akrilik heat-cured terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. **Bahan dan Metode:** Jenis penelitian adalah true experimental dengan rancangan penelitian post test only group design. Subyek pada penelitian dibagi menjadi 6 kelompok. 1 kelompok kontrol negative yang ditetesi dengan aquadest, 1 kelompok kontrol positif yang ditetesi dengan sabun ekstrak jeruk nipis merk X, dan 4 kelompok perlakuan yang ditetesi dengan sabun ekstrak kulit nanas 0%, 3,5%, 7%, dan 14%. Masing-masing kelompok dilakukan penyikatan dengan sikat gigi elektrik selama 5'. Tiap sampel dimasukkan kedalam Sabouraud Dextrose Broth yang kemudian diambil 0,1 ml setelah di Vortex 30' dan dibiakkan pada Sabouraud Dextrose Agar dengan inkubasi selama 24 jam. Setelah itu dihitung menggunakan Colony Counter dengan satuan CFU/ ml. Data kemudian diolah dengan uji One way ANOVA dan dilanjutkan uji LSD. **Hasil:** Rata-rata koloni *Candida albicans* pada K-, P1, P2, P3, P4, K+ adalah 44.00; 32.25; 2.25; 6.00; 11.50; 19.00. Terdapat perbedaan jumlah koloni *Candida albicans* yang bermakna antara kelompok kontrol dan semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). **Simpulan:** Sabun cair ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 3,5% paling efektif sebagai pembersih basis gigi tiruan resin akrilik heat cured memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Kata kunci: *Candida albicans*, enzim bromelin, nanas

Korespondensi: Meinar Nur Ashrin, Bagian Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5945864, 5912191, Email: meinar.ashrin@gmail.com

PENDAHULUAN

Prevalensi denture stomatitis di Indonesia cukup tinggi. 64% dari 50 pasien pemakai gigi tiruan terdeteksi adanya *Candida albicans*.¹ Masalah utama yang sering dialami oleh pengguna gigi tiruan adalah Denture Stomatitis. Genus *Candida* sering terlibat sebagai faktor terjadinya denture stomatitis.² Denture stomatitis dapat dicegah dengan melakukan pembersihan gigi tiruan secara rutin. Kombinasi metode mekanik penyikatan dan metode kimia lebih efektif menurunkan jumlah *Candida albicans*.³ Penggunaan pembersih enzim Polident yang dikombinasikan dengan penyikatan paling efektif

menurunkan *Candida sp* bila dibandingkan dengan pembersihan dengan enzim polident, penyikatan, perendaman dengan chlorhexidine, UV light, dan air.³

Salah satu pembersihan denture secara kimia adalah menggunakan enzim. Pemanfaatan bahan enzim dapat diperoleh dari tanaman.⁴ Enzim yang dapat digunakan dan dapat diisolasi dari tanaman adalah enzim bromelin dari nanas. Penggunaan nanas menghasilkan limbah berupa kulit, batang, dan bonggol. Limbah-limbah ini kaya akan enzim bromelin yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena aktivitas proteolitiknya.

Hasil uji efek anti jamur sabun cair yang dibuat dari ekstrak batang nanas 7% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang efektif dengan daya hambat yang tidak jauh berbeda dengan *Lactacyd*.⁵ Ekstrak Bonggol Nanas *Cayenne* dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* yang efektif pada konsentrasi minimal 15%.⁶ Enzim bromelin dapat diekstrak dari kulit, batang dan bonggol nanas dengan aktivitas enzim tertinggi ada pada kulit, diikuti batang, dan yang terendah pada bonggol.⁷ Penelitian dan pemanfaatan bonggol dan batang Nanas sudah banyak dilakukan, namun penelitian dan pemanfaatan kulit nanas masih belum pernah dilaporkan.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin menguji efektifitas pemakaian sabun cair ekstrak kulit nanas sebagai pembersih basis gigi tiruan resin akrilik *heat cured* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Parameter yang dilihat pada penelitian ini adalah perbedaan jumlah koloni *Candida albicans*. Sejumlah 24 sampel lempeng resin akrilik *heat cured* dibagi menjadi enam kelompok, dimana kriteria yang digunakan adalah dengan ukuran 10x10x1 mm, permukaan sampel yang halus, tidak porus, utuh, dan rata.

Prosedur penelitian ini dimulai dengan lempeng resin akrilik steril yang direndam dalam suspensi *Candida albicans*, dan diinkubasikan selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan

dengan pembagian lempeng akrilik menjadi 6 kelompok (K- yaitu kelompok kontrol(-), K+ sebagai kelompok kontrol(+) dan P1, P2, P3, P4 sebagai kelompok perlakuan)

Kelompok (K+) dilakukan penyikatan dengan aquades 0,1 ml selama 5 detik per sisi. Kelompok (P1) dilakukan penyikatan dengan sabun ekstrak 0% 0,1 ml selama 5 detik per sisi. Kelompok (P2) dilakukan penyikatan dengan sabun ekstrak 3,5% 0,1 ml selama 5 detik per sisi. Kelompok (P3) dilakukan penyikatan dengan sabun ekstrak 7 % 0,1 ml selama 5 detik per sisi. Kelompok (P4) dilakukan penyikatan dengan sabun ekstrak 14% 0,1 ml selama 5 detik per sisi. Kelompok (K-) dilakukan penyikatan dengan sabun *antibacterial* dengan ekstrak jeruk nipis 0,1 ml selama 5 detik per sisi.

Setelah dilakukan penyikatan, setiap sampel pada tiap kelompok dibilas dengan PBS sebanyak dua kali, dimasukkan dalam media *Sabouraud Dextrose Broth* dan di *vortex* selama 30 s. Kemudian 0,1 ml diambil, dilakukan *spreading* pada *Sabouraud Dextrose Agar* dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* dilakukan menggunakan *colony counter*.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan tingkat kesalahan $\alpha=0,05$. Data dianalisis menggunakan uji statistik parametrik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *LSD test* dan *Post Hoc*.

Pembuatan Sampel Resin Akrilik⁸

Membuat master model dari malam berbentuk lempeng dengan panjang 10 mm, lebar 10 mm dan tebal 1 mm. Aduk gips lunak diatas vibrator

lalu dimasukkan ke dalam kuvet besar hingga mencapai setengah tinggi kuvet. Setelah *setting*, aduk gips keras dan dimasukkan ke dalam kuvet besar diatas *vibrator*. Master model diletakkan diatas permukaan gips keras, didiamkan sampai mengeras. Setelah gips mengeras, permukaan gips dan master model diolesi vaselin dan bagian atas kuvet diisi dengan adonan gips keras diatas *vibrator*. Malam dibuang dengan cara menuangkan air panas sampai tidak ada malam yang tersisa setelah gips mengeras.

Mould diisi dengan resin akrilik dengan mengaduk bubuk dan cairan resin akrilik (sesuai dengan aturan pabrik) dimasukkan dan diaduk dalam mangkuk porselen sampai mencapai fase *dough*. Adonan akrilik dimasukkan ke dalam *mould* dari gips keras yang telah diolesi dengan *cold mould seal* lalu kuvet ditutup dan ditekan menggunakan *press*. Proses polimerisasi dilakukan dengan merebus kuvet pada suhu 75°C selama 90 menit, dilanjutkan sampai suhu 100°C selama 30 menit. Setelah selesai, kuvet dibiarkan dingin lalu lempeng resin akrilik dikeluarkan, dibentuk sesuai ukuran (10x10x1) mm dan dipulas.

Pembuatan Sabun Ekstrak Enzim Bromelin dari Kulit Nanas^{5,9}

Kulit nanas yang digunakan adalah kulit nanas yang berasal dari buah nanas yang masih mengkal, ditandai dengan warna kulitnya hijau kekuningan. Kulit nanas dicuci dengan aquades, dipotong kecil-kecil dan dihomogenisasi dengan menggunakan *buffer* Natrium Asetat (pH 6,5), dan disaring. Ekstrak kasar disentrifugasi selama 25 menit pada 3500 rpm, dan

disimpan pada 4°C. Presipitasi ekstrak kasar enzim Bromelin dilakukan dengan penambahan Amonium Sulfat sebanyak 60% sambil diaduk menggunakan pengaduk magnet, dan diinkubasi semalam pada 4°C. Selanjutnya disentrifugasi, dan endapan yang dihasilkan dicuci dengan *buffer* Natrium Asetat.

Formulasi sabun dibuat dengan mencampur ekstrak kulit nanas yang didapatkan dengan basis sabun Asam Stearate 2,5 g, Adeps Lanae 0,5 g, Triethanolamin 0,15 g, Gliserin 0,7 g, Parfum Rosae 0,05 ml, dan Aquades hingga 100 ml.

Pembuatan Suspensi *Candida albicans*¹¹

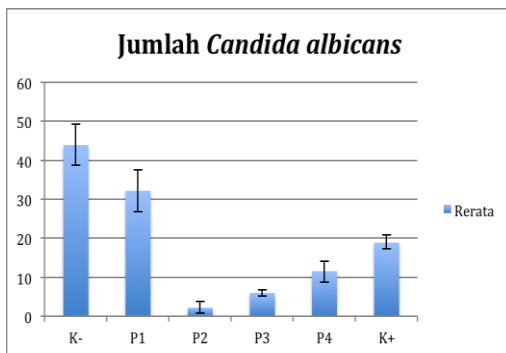
Candida albicans yang digunakan adalah ATCC 10231 diambil sebanyak 1 ose, dimasukkan dalam larutan BaCl₂ 0,048 M 0,5 ml dan H₂SO₄ 0,18 M 9,95 ml (1x 10⁶ CFU/ml) yang setara dengan 0,5 Mc Farland diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Disesuaikan untuk kontaminasi lempeng resin akrilik.

HASIL

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

Tabel 1. Nilai rerata dan standar deviasi jumlah koloni *Candida albicans* kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok	Replikasi	Mean	Std. Deviation
K-	4	44.00	5.292
P1	4	32.25	5.377
P2	4	2.25	1.500
P3	4	6.00	.816
P4	4	11.50	2.646
K+	4	19.00	1.826



Gambar 1. Nilai rerata dan standar deviasi jumlah koloni *Candida albicans* kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Masing-masing kelompok dengan replikasi 4 diuji normalitasnya dengan menggunakan uji statistik *Shapiro-Wilk* (sampel yang digunakan ≤ 50) dan didapatkan hasil uji *Shapiro-Wilk* memiliki nilai signifikan $p > 0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa perbedaan jumlah koloni *Candida albicans* pada tiap kelompok terdistribusi normal.

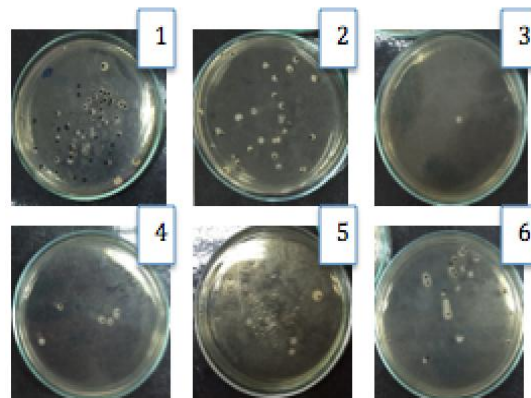
Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi $p > 0,05$ sehingga didapatkan hasil data daya anti *Candida albicans* antar kelompok adalah homogen.

Data penelitian yang terdistribusi normal dan variansnya homogen kemudian dianalisis dengan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan jumlah koloni *Candida albicans* yang bermakna antar kelompok

Didapatkan hasil signifikansi yaitu .000 atau diartikan $p < 0,05$ sehingga ada perbedaan daya anti *Candida albicans* yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok negatif. Analisis *Post Hoc* dengan uji LSD dilakukan untuk melihat perbedaan daya anti *Candida albicans* yang bermakna pada masing-masing kelompok.

Berdasarkan hasil Uji LSD dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan nilai jumlah koloni *Candida albicans* yang bermakna pada kelompok K- dengan kelompok P1, kelompok P2, kelompok P3, kelompok P4 dan kelompok K+. Kelompok P2 dengan kelompok P3, kelompok P4, dan kelompok K+; Kelompok P3 dengan kelompok P4 dan kelompok K+; Kelompok P4 dengan kelompok K+ ($p < 0,05$)

Hasil Perbenihan



Keterangan : (1) Aquadres (2) sabun 0% (3) Sabun 3,5% (4) Sabun 7% (5) Sabun 14%, (6) Sabun X

PEMBAHASAN

Hasil pengolahan data yang dapat dilihat pada Tabel 1 didapatkan signifikansi pada kelompok resin akrilik yang ditetesi dengan aquadres kemudian disikat dengan sikat gigi elektrik sebagai kontrol negatif (K-) dan kelompok resin akrilik yang ditetesi dengan sabun dengan ekstrak jeruk nipis sebagai kontrol positif (K+) didapatkan perbedaan bermakna ($P < 0,05$) dikarenakan aquadres sebagai kontrol negatif tidak memiliki daya anti *Candida albicans*. Sedangkan sabun dengan ekstrak jeruk nipis

memiliki campuran ekstrak jeruk nipis yang memiliki daya anti bakteri.¹¹

Berdasarkan Tabel 1, rerata jumlah koloni *Candida albicans* terendah ada pada kelompok P2 dengan $2,25 \times 10^6$ CFU/ml dan tertinggi pada kelompok P1 dengan $32,25 \times 10^6$ CFU/ml. Hal ini dikarenakan pada kelompok P1 tidak terkandung enzim Bromelin namun hanya terdiri dari basis sabun saja. Sedangkan pada kelompok P2, terdapat enzim Bromelin dengan konsentrasi 3,5%. Bila dibandingkan rerata sabun cair ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 3,5% ($2,25 \times 10^6$ CFU/ml) dengan rerata sabun cair ekstrak kulit nanas dengan konsentrasi 7% ($6,00 \times 10^6$ CFU/ml) dan 14% ($11,50 \times 10^6$ CFU/ml) menunjukkan bahwa pada sabun cair ekstrak kulit nanas 3,5% paling efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans*.

Hal ini karena enzim bromelin yang terkandung dalam sabun merupakan enzim protease yang merupakan golongan enzim hidrolase. Enzim hidrolase diketahui melibatkan reaksi air pada ikatan spesifik enzim dengan substrat.¹² Pada penelitian ini volume sabun untuk tiap konsentrasi dibuat 10 ml. Hal ini menyebabkan makin berkurangnya volume air yang digunakan dengan bertambahnya konsentrasi enzim yang digunakan sehingga kurangnya air pada sabun cair 7% dan 14% menyebabkan penurunan aktivitas enzim bromelin.

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan hasil pengolahan data pada kelompok resin akrilik yang ditetesi dengan aquades kemudian disikat dengan sikat gigi elektrik sebagai kontrol negatif serta perlakuan yang menggunakan sabun cair ekstrak kulit nanas pada konsentrasi 0% (P1), 3,5% (P2), 7%

(P3), 14% (P4). Pada kelompok P1 didapatkan signifikansi yang berbeda ($P < 0,05$) hal ini menyatakan bahwa basis sabun cair yang digunakan pada penelitian ini mempunyai daya anti *Candida albicans*. Penurunan jumlah koloni *Candida albicans* pada penyikatan resin akrilik dengan tetesan sabun cair ekstrak kulit nanas 0% disebabkan karena asam stearate yang terkandung pada basis sabun berfungsi sebagai surfaktan yang mengandung sifat antikuman.¹³ Pada kelompok resin akrilik yang disikat dengan sikat gigi elektrik dengan tetesan sabun cair ekstrak kulit nanas 3,5% (P2), 7% (P3) dan 14% (P4) didapatkan pula signifikansi yang berbeda ($P < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa sabun cair ekstrak kulit nanas pada konsentrasi tersebut mempunyai daya anti *Candida albicans*. Penurunan jumlah koloni *Candida albicans* pada penyikatan resin akrilik dengan sabun cair ekstrak kulit nanas pada konsentrasi tersebut disebabkan pecahnya ikatan *Glutamin-Alanin* dan *Arginine-Alanin* yang merupakan Asam Amino penyusun protein sehingga mengurangi pembentukan plak pada gigi tiruan resin akrilik yang merupakan tempat koloni *Candida albicans*.¹⁴

Didapatkan pula pada Tabel 1 signifikansi yang bermakna ($P < 0,05$) antara kelompok yang disikat dengan tetesan sabun X (K+) dengan kelompok perlakuan yaitu kelompok yang disikat dengan tetesan sabun cair ekstrak kulit nanas (P1, P2, P3, P4). Rerata jumlah koloni *Candida albicans* pada kelompok K+ lebih kecil daripada kelompok P1. Hal ini karena pada kelompok K+ sabun X yang digunakan mengandung ekstrak jeruk nipis yang berguna sebagai anti bakteri sedangkan pada kelompok P2 hanya menggunakan bahan basis sabun

tanpa adanya enzim. Akan tetapi, rerata jumlah koloni *Candida albicans* pada kelompok K+ lebih banyak dibandingkan dengan kelompok P2, P3, P4. Hal ini menunjukkan bahwa sabun cair ekstrak kulit nanas lebih efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* dibanding dengan sabun X yang mengandung ekstrak jeruk nipis. Penurunan jumlah koloni *Candida albicans* pada K+ lebih sedikit daripada P2, P3 dan P4 karena ekstrak jeruk nipis pada sabun X hanya memiliki daya anti bakteri namun tidak memiliki daya anti *Candida* bila dibandingkan dengan enzim bromelin dalam ekstrak kulit nanas yang dapat memecah biofilm tempat *Candida albicans* dapat melekat sehingga memiliki daya anti bakteri maupun anti *Candida*.^{12,15}

SIMPULAN

Penelitian ini secara umum dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh efektivitas sabun dari ekstrak kulit nanas terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada bahan basis gigi tiruan resin akrilik *heat cured* dengan konsentrasi 3,5%, 7% dan 14% memiliki efektivitas anti jamur dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Konsentrasi 3,5% paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Elizabeth M. 1996. Prevalensi *Candida* spesies di daerah *tissue surface* dari basis gigi tiruan penuh rahang atas. *Rimbawan Ib*. P. 1217-26.
2. Jorgensen EB. 2000. Ecology of *Candida*-associated Denture Stomatitis. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12(1): 170-85.
3. Lee HE, Li CY, Chang HW, Yang YH, Wu JH. 2011. Effects of different denture cleaning methods to remove *Candida albicans* from acrylic resin denture based material. *Journal of Dental Sciences*, 6(4): 216-20.
4. Dharmautama, Machmud E, Maruapey AM. 2013. Penggunaan Pasta Pembersih Gigitiruan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan *Candida albicans* pada gigitiruan. FKG Universitas Hassanuddin. Makassar. H. 2-1.
5. Anggraini D, Rahmides WS, Malik M. 2012. Formulasi Sabun Cair dari Ekstrak Batang Nanas (*Ananas comosus. L*) untuk Mengatasi Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 1(1): 30-3.
6. Brigitasari P, Dharmautama. 2013. Ekstrak Bonggol Nanas *Cayenne* Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans* pada Plat Resin Akrilik *heat curing*. *Dentofasial Jurnal Kedokteran Gigi*, 12(2): 86-9.
7. Mahopatra A, Rao VM, Ranjan M. 2013. Comparative study of the increased production & characterization of Bromelin from the peel, pulp & stem pineapple (*Anannas commas*). *International Journal of Advancements in Research & Technology*, 2(8): 249-77.
8. Naini dan Salim. 2008. The effect of *Psidium guajava Linn leaf* extract on *Candida albicans* adherence and the transversal strength of acrylic resin. *Dent J*, 41(1): 25-9.
9. Kumaunang M, Kamu V. 2011. Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kulit Nenas (*Anenas comosus*). *Jurnal ilmiah sains*, 11(2): 201-198.
10. Agtini MD. 2010. Presentase Pengguna Proteza di Indonesia. *Media Litbang Kesehatan*, 20(22): 50-6.
11. Sari M. 2014. Pengaruh Perendaman Bahan Basis Gigi tiruan *Valplast* dalam Larutan Ekstrak Bawang Putih terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. Skripsi. FKG Universitas Hasanuddin. P. 20-17.
12. Chanthapton, Sumonrat, Suphitchaya C, Tipparat H. 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. Against food-related microorganisms. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(1): 125-31.
13. Kusuma S. 2010. Enzim. Karya Ilmiah: Universitas Padjadjaran. P. 7.
14. Furi T & Coniwanti P. 2012. Pengaruh Perbedaan Ukuran Partikel dari Ampas

Tebu dan Konsentrasi Natrium Bisulfit
(NaHSO_3) pada Proses Pembuatan

Surfaktan. Jurnal Teknik Kimia, 4 (18):
51.

LAPORAN PENELITIAN

Hubungan Antara Ph Plak Terhadap Terjadinya Early Childhood Caries (Ecc) pada Daerah Endemik Gizi Buruk

*(Relationship Between Ph Plaque To Early Childhood Caries
(Ecc) Occurance In Endemic Area Of Malnutrition Status)*

Pindobilowo*, Febriana Setiawati**, Riska Rina Darwita**

*Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Prof.Dr.Moestopo (Beragama)

**Pencegahan dan Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia

ABSTRACT

Background: One of the prevention for Early Childhood Caries (ECC) is maintain daily food through limiting cariogenic food's consumption, controlling eating frequency, improving oral and dental health. Dental caries would be prevented by controlling eating frequency, improving oral and dental health, so pH plaque can also be controlled. **Purpose:** Analyze the relationship between the pH plaque to ECC occurrence in an endemic area of malnutrition status. **Materials and Methods:** Cross section study on 287 children aged 6-48 months in an endemic area of malnutrition in the district Neglasari, Tangerang city in 2013, interviewing the mother, and intraoral examination in children, multistage cluster random sampling method. **Result:** ECC highest proportion found in plaque pH from 6.0 to 6.4 as much as 79.2% with a value of $p = 0.000$ ($p < 0.05$) and is one of the better predictors of the occurrence of ECC. **Conclusions:** There is a significant relationship between pH plaque to ECC occurrence, this variable is accordant with the prevention of ECC because it is included in the model predictors of ECC.

Keywords: ECC, pH plaque, cariogenic consumption.

Correspondence: Pindobilowo, Laboratory of Dental Public Health, Faculty of Dentistry, Prof. Dr Moestopo (Beragama) University, Bintaro Permai Raya No.3, Jakarta, Telepon 021-73885254, Email: pindobilowo@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Salah satu tindakan pencegahan Early Childhood Caries (ECC) adalah menjaga pola makan yaitu dengan membatasi makanan kariogenik, menjaga frekuensi makan, dan selalu menjaga kesehatan gigi dan mulut, karena dengan mengontrol pola makan dan menjaga kesehatan gigi dan mulut maka pH plak dapat terkontrol sehingga gigi akan terhindar terhadap karies, serta di dukung oleh perbaikan status gizi anak dan peran ibu dalam mencukupi gizi selama masa kehamilan. **Tujuan:** Untuk menganalisa hubungan pH plak terhadap terjadinya ECC pada daerah endemik status gizi buruk. **Bahan dan Metode:** Cross sectional pada 287 anak usia 6-48 bulan pada daerah endemik gizi buruk di Kecamatan x tahun 2013, wawancara pada ibu dan pemeriksaan intraoral pada anak, metode sampling multistage cluster random sampling. **Hasil:** Proporsi ECC terbanyak terdapat pada pH plak 6,5-6,9 sebanyak 79,2% dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,005$) dan merupakan salah satu prediktor yang baik terhadap terjadinya ECC. **Simpulan:** Terdapat hubungan yang bermakna pH plak terhadap terjadinya ECC, variabel ini sesuai dengan pencegahan terjadinya ECC karena termasuk dalam model prediktor ECC, besar variasi model ini 56,9% dengan akurasi prediksi 81,9%

Kata kunci: ECC, pH plak, frekuensi makan, konsumsi kariogenik

Korespondensi: Pindobilowo, Laboratorium Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Prof. Dr Moestopo (Beragama), Bintaro Permai Raya No.3, Jakarta, Phone 021-73885254, Email: pindobilowo@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Karies merupakan penyakit multifaktorial yang mempunyai beberapa faktor yang berperan satu sama lain sehingga menimbulkan suatu gejala klinis. Terjadinya *Early Childhood Caries* (ECC) disebabkan karena Konsumsi anak usia balita yang bersifat kariogenik. Makanan yang bersifat kariogenik kebanyakan mengandung karbohidrat atau glukosa. Pada penelitian Ismail (1998) dan Sohn dkk (2006) mengungkapkan bahwa konsumsi susu selama tidur dengan menggunakan botol susu, konsumsi ASI yang tidak terkontrol, dan sering mengkonsumsi makanan ringan manis berkontribusi terhadap timbulnya ECC.¹

Penelitian di RRC prevalensi ECC pada usia 2 tahun adalah 26,6%, sedangkan pada usia 3 tahun adalah 45%, dan di Tanzania prevalensi ECC

pada usia 1-4 tahun antara sekitar 1,5% dan 12,8%²². Pada penelitian oleh Margo (2005) Prevalensi ECC usia 6–48 bulan Kecamatan Neglasari Kota Tangerang adalah 40%.^{2,3}

Melihat fenomena tersebut maka pencegahan ECC harus dilakukan sedini mungkin. Salah satu pencegahan yang dapat dilakukan yaitu dengan mengontrol terjadinya plak gigi pada anak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat hubungan pH plak gigi anak terhadap terjadinya ECC.

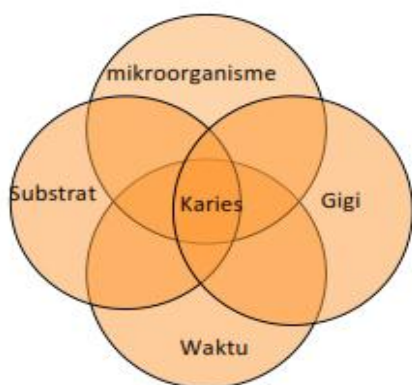
TINJAUAN PUSTAKA

Early Childhood Caries (ECC) di tandai dengan *white spot* dan terjadi pada usia anak prasekolah yaitu pada usia 0-71 bulan yang akan terus berkembang sampai dapat

mengakibatkan kerusakan pada mahkota gigi.³

Awal gigi sulung erupsi adalah pada umur $\pm 6,5$ bulan (Usri,2006) dan gigi sulung lengkap di dalam rongga mulut adalah pada usia ± 3 tahun. Salah satu faktor yang mempengaruhi terjadinya *ECC* adalah adanya metabolisme mikroorganisme acidogenik yang dapat mempengaruhi daya tahan email karena terurainya ion-ion yang di sebabkan karena *refined carbohydrate* (Kawashita, 2011).⁴

Proses karies gigi akan terjadi bila keempat faktor yaitu *host* (pejamu), *agent* (mikroflora) *environment* (substrat) dan waktu. Terjadinya karies gigi disebabkan karena sinergi dari keempat faktor tersebut. Apabila bila terdapat *host* yang rentan yang terpapar oleh mikroorganisme (misalnya: *Streptococcus mutans*) dan di dukung oleh substrat (misalnya: karbohidrat) disertai oleh jangka waktu yang sesuai, maka proses karies akan terjadi.⁵



Gambar 1. Faktor terjadinya karies⁵

Dental pH plak

Pada keadaan pH menurun atau pada kondisi asam maka kemampuan untuk larut dapat meningkat sampai penguraian karena produksi asam pada

bakteri yang melekat dan berkolonisasi pada permukaan gigi.¹

Menurut Bahar (2011) bahwa derajat penurunan pH tergantung pada ketebalan plak, jumlah dan gabungan bakteri yang terdapat pada plak serta efisiensi kemampuan *buffer saliva* serta frekuensi konsumsi karbohidrat dan semakin lama pemulihan pH menuju kondisi normal, maka semakin besar kemungkinan untuk terjadinya karies.¹

BAHAN DAN METODE

Variabel terikat adalah *Early Childhood Caries*, sedangkan variabel bebas adalah usia, gender, penghasilan keluarga, berat badan bayi lahir, Indeks BB/TB, pH plak anak, frekuensi konsumsi kariogenik anak, jenis konsumsi kariogenik anak, dan waktu konsumsi kariogenik anak.

Lokasi penelitian di Kecamatan Neglasari Kota Tangerang. Jumlah sampel 287 anak. Populasi pada penelitian ini adalah ibu dan anak balita usia 6-48 bulan. Desain penelitian nya adalah *cross sectional*. Metode sampling yang digunakan adalah *multistage cluster random sampling*.

Pengumpulan data dilakukan dengan cara wawancara dan pengisian kuesioner kepada ibu Pemeriksaan klinis gigi anak yaitu karies dan pH plak. Alat pemeriksaan *intra oral*, diantaranya: kaca mulut dan sonde untuk mengetahui gigi yang mengalami karies, serta pH plak indikator untuk melihat risiko karies gigi anak.

Pengolahan data dilakukan setelah data dikumpulkan dari lapangan kemudian dilakukan tahap pengolahan data dilakukan tahapan

sebagai berikut: Menyunting data, mengkode data, dan entry data (komputerisasi). Data yang telah dikumpulkan dan diolah dengan menggunakan program komputer SPSS 17, kemudian di uji hipotesis dengan menggunakan uji *Chi-square* dan analisis *logistic regression*.

HASIL

Variabel bivariat antara variabel pH terhadap terjadinya ECC

Pada variabel bivariat, variabel pH plak gigi anak mempunyai nilai $p = 0,000$ ($p \leq 0,05$), sehingga mempunyai hubungan yang bermakna. Variabel bebas yang bermakna lainnya adalah usia anak, variabel penghasilan keluarga, berat badan bayi lahir, indeks BB/TB, frekuensi konsumsi kariogenik anak, jenis konsumsi kariogenik anak, waktu konsumsi kariogenik anak. Sedangkan variabel gender tidak memiliki hubungan yang bermakna.

Tabel 1. Hubungan antara pH plak gigi anak terhadap ECC

		ECC +		ECC -	
TOTAL					
Anak	N (%)	N (%)		N (%)	
pH plak anak					P 0,000
pH > 7	2 (11,8%)	15 (88,2%)		17 (5,9%)	
pH 6,5-6,9	22 (28,9%)	54 (71,1%)		76 (26,5%)	
pH 6,0-6,4	57 (79,2%)	15 (20,8%)		72 (25,1%)	
pH 5,5-5,9	46 (68,7%)	21 (31,3%)		67 (23,3%)	
pH 5,0-5,4	39 (70,9%)	16 (29,1%)		55 (19,2%)	
TOTAL	166 (57,8%)	122 (42,2%)		287 (100%)	

Analisis multivariat antara prediktor terhadap terjadinya ECC

Pada analisis *double logistic regression*, variabel yang disertakan pada analisis multivariat adalah variabel bivariat yang mempunyai nilai kemaknaan $p \leq 0,25$. Pada model akhir *double regression* ganda didapatkan lima variabel terhadap terjadinya ECC, yaitu: variabel umur anak, penghasilan keluarga, pH plak, frekuensi konsumsi kariogenik anak, dan indeks BB/TB anak. Pada penelitian ini variabel yang paling dominan adalah umur anak kemudian diikuti pH plak gigi anak, frekuensi konsumsi kariogenik anak, indeks BB/TB dan penghasilan keluarga.

PEMBAHASAN

Prevelensi ECC keseluruhan adalah 57,8% dengan def-t 2,4. Pada hasil analisis dengan menggunakan analisis *chi-square* terlihat adanya hubungan bermakna antara pH plak gigi anak terhadap terjadinya ECC dan pH plak termasuk variabel yang paling dominan. Hal ini terjadi karena sebagian besar pada anak balita usia 6-48 bulan di Kecamatan Neglasari Kota Tangerang. Kebiasaan anak yang ditemui di wilayah tersebut diantaranya: minum susu menggunakan dot sampai tertidur dan melumatkan makanan dalam jangka waktu lama. Berdasarkan data yang di

dapat, proporsi terbanyak terhadap *ECC* adalah pada minum susu sambil tertidur yaitu 54,2% dan kebiasaan melumatkan makanan di mulut yaitu 59%.

Hal ini sesuai dengan penelitian Kawasita dkk (2011) bahwa pemberian air susu menggunakan dot pada malam hari sambil tertidur terbukti dapat menyebabkan *ECC*, ini disebabkan karena penurunan produksi saliva pada malam hari. Sementara kebiasaan melumatkan makanan akan menyebabkan penurunan pH yang berlangsung lama sehingga pemulihan pH menuju kondisi normal juga semakin lama, hal ini menyebabkan terurainya *hidroksiapatit* karena hasil fermentasi oleh bakteri yang melekat pada permukaan gigi.^{4,6}

SIMPULAN

Kesimpulan umum pada penelitian ini adalah terdapat hubungan pH plak gigi terhadap terjadinya *Early Childhood Caries (ECC)* pada daerah endemik status gizi rendah. Jumlah sampel sebanyak 287 anak, prevalensi *ECC* keseluruhan adalah 57,8% dengan def-t 2,4.

Variabel pH plak gigi mempunyai hubungan yang bermakna terhadap terjadinya *ECC* dengan menggunakan analisis *Chi-squer*. Pada penelitian ini didapatkan pula model prediktor *ECC* dengan lima variabel yang berperan terhadap terjadinya *ECC* berdasarkan urutan yang paling dominan, yaitu: usia anak, pH plak gigi anak, frekuensi konsumsi kariogenik anak, indeks BB/TB dan penghasilan keluarga

DAFTAR PUSTAKA

1. Bahar A. 2011. Paradigma baru pencegahan karies gigi. Edisi pertama. Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia. H. 48-43, 25-21.
2. Johannson L, Holgerson P, Kressin N.R, Nuun M.E, Tanzer. 2010. Snacking habits and caries in young children. *Kanger*. 44: 430-421.
3. Setiawati F. 2012. Disertasi: Peran pola pemberian air susu ibu (ASI) dalam pencegahan Early Childhood Caries (ECC) di DKI Jakarta. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. H. 58-56, 29-25.
4. Kawasita Y, Kitamura M, Saito T. Early Childhood Caries. *Hidawi Publishing Corporation International Journal of Dentistry*. 2011; article 725320: 7-1.
5. Irene A. 2008. Disertasi: Model simulator risiko karies gigi pada anak prasekolah. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 25,11.
6. Nuun, Braunstein. 2009. Healty eating index is a predictor of ECC. *Journal Dental Research*. 88(4): 366-361.

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Pemberian Ibuprofen Preoperatif Terhadap Sebaran Sel Radang Kronis Pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi

(The Effectivity of Preoperative Ibuprofen Against The Spread of Chronic Inflammatory Cells in the Process of Wound Healing After Tooth Extraction)

Fanny Marisca Alviony *, Eddy Hermanto **, Widaningsih ***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya

**Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Wound is destruction of part of the body's tissues caused by agent like germs, parasites, fungi, sharp force trauma, temperature changes, chemicals, electric shock. Inflammatory phase in the process of wound healing has very important role. In the chronic inflammation there are chronic inflammatory cell infiltration, namely macrophages, lymphocytes, plasma cells, eosinophils, mast cells, basophils accompanied by the proliferation of blood vessels and fibrosis. Ibuprofen is anti-inflammatory and analgesic drugs that usually given after tooth extraction. **Purpose:** This study was aimed to examine the effect of preoperative ibuprofen against the spread of chronic inflammatory cells in the process of wound healing after tooth extraction. **Materials and Methods:** The experimental unit used were 20 male Wistar rats divided into two groups, group1 (NaCMC 0.2%), group2 (Ibuprofen 7,2mg / 200grBB). NaCMC 0.2% for the group K and Ibuprofen for group X given 1 hour before incisor tooth extraction and then the bottom left tooth of mice were be lifted. The Socket were then sutured and left up to 7 days. Data were analyzed by Chi-Square test. **Results:** Chi-Square test showed significant difference between group K and X $p = 0.003$ ($p < 0.05$). **Conclusion:** Preoperative administration of ibuprofen were lower the spread of chronic inflammatory cells in the process of wound healing after tooth extraction.

Keywords: Tooth extraction, wound healing, Ibuprofen, distribution of chronic inflammatory cells

Correspondence: Eddy Hermanto, Department of Oral Surgery, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 081221779919, Email: eddyhermanto_tarka@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Luka adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh yang disebabkan oleh agen kuman, parasit, jamur, trauma benda tajam, perubahan suhu, zat kimia, sengatan listrik. Fase inflamasi pada proses penyembuhan luka sangat berperan penting. Pada inflamasi kronis terdapat infiltrasi sebaran sel radang kronis yaitu makrofag, limfosit, sel plasma, eosinofil, sel mast, basofil yang disertai dengan proliferasi pembuluh darah serta fibrosis. Ibuprofen merupakan obat antiinflamasi dan analgesik yang umum diberikan setelah tindakan pencabutan gigi. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ibuprofen preoperatif terhadap sebaran sel radang kronis pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. **Bahan dan Metode:** Unit eksperimental yang digunakan adalah 20 ekor tikus Wistar jantan dan dibagi menjadi 2 kelompok, Kelompok 1 (NaCMC 0,2%), Kelompok 2 (Ibuprofen 7,2mg/200grBB). NaCMC 0,2% untuk kelompok K dan Ibuprofen untuk kelompok X diberikan 1 jam sebelum pencabutan gigi kemudian gigi insisivus kiri bawah tikus dilakukan pencabutan. Soket kemudian dijahit dan dibiarkan sampai 7 hari. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Chi-Square. **Hasil:** Uji Chi-Square menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antar kelompok K dan X $p=0,003$ ($p<0,05$). **Simpulan:** Pemberian ibuprofen preoperatif menurunkan sebaran sel radang kronis pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

Kata Kunci: Pencabutan gigi, Penyembuhan luka, Ibuprofen, Sebaran sel radang kronis

Korespondensi: Eddy Hermanto, Bagian Bedah Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 081221779919, Email: eddyhermanto_tarka@yahoo.com

PENDAHULUAN

Pencabutan gigi merupakan suatu proses pengeluaran gigi dari tulang alveolar. Tindakan ini juga merupakan operasi bedah yang melibatkan jaringan bergerak dan jaringan lunak dari rongga mulut yang dibatasi oleh bibir dan pipi serta adanya gerakan lidah dan rahang.¹

Tindakan pencabutan gigi dapat meninggalkan bekas luka, dan menyebabkan inflamasi yang menimbulkan rasa kurang nyaman. Inflamasi merupakan respons terhadap jejas pada jaringan hidup yang memiliki vaskularisasi.² Rangsangan inilah yang menyebabkan pelepasan mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin, dan prostaglandin yang menimbulkan

reaksi radang berupa panas, nyeri, merah, bengkak dan gangguan fungsi.³

Pada proses inflamasi kronis terdapat infiltrasi sel radang kronis yaitu makrofag, limfosit dan sel plasma, eosinofil, sel mast, dan basofil yang disertai dengan pembuluh darah serta fibrosis.^{4,5} Adanya sel makrofag, sel mast, dan sel yang lain berperan dalam mensekresi sitokin dan mediator yang memicu terjadinya respon inflamasi. Beberapa dari mediator berperan dalam penarikan sel radang ke area luka. Sel radang yang teraktivasi segera melakukan perannya masing-masing seperti fagositosis dan menstimulasi antibody.⁵

Inflamasi menyebabkan rasa sakit, hal ini merupakan alasan utama seseorang datang untuk menghilangkan rasa sakitnya dengan pemberian obat analgesik dan

antiinflamasi.⁶ Antiinflamasi terbagi atas 2 golongan yaitu antiinflamasi steroid dan antiinflamasi non steroid. Jenis obat antiinflamasi untuk mengatasi rasa nyeri yang paling sering digunakan yaitu *Non Stereoidal Anti-inflammatory Drugs (NSAID)*.⁶ NSAID efektif mengurangi nyeri dengan intensitas ringan sampai sedang. Pemberian NSAID preoperatif bertujuan untuk mengurangi rasa sakit hebat dan memberikan kenyamanan pasca pencabutan gigi.^{7,8,9}

NSAID berfungsi sebagai antiinflamasi sekaligus juga memiliki efek antipiretik dan analgesik sedangkan kortikosteroid juga berfungsi sebagai antiinflamasi. NSAID umumnya cocok diberikan untuk nyeri ringan dan nyeri sedang ataupun nyeri kronik saat pasca bedah tetapi tidak untuk nyeri hebat seperti akibat terpotongnya saraf aferen.¹⁰ Sedangkan kortikosteroid jarang sekali dijadikan obat first-line. Pemberian kortikosteroid selalu dihindari dikarenakan efek sampingnya yang banyak dan dapat terjadi pada setiap cara pemberian, oleh karena itu kortikosteroid hanya diberikan apabila manfaat terapi melebihi risiko efek samping yang akan terjadi (*risk-benefit ratio*).¹¹

NSAID memiliki beberapa efek samping. Efek samping yang paling umum dari penggunaan NSAID adalah induksi ulser lambung atau usus yang kadang-kadang mungkin disertai dengan anemia akibat kehilangan darah. Salah satu jenis NSAID adalah ibuprofen.^{12,13}

Ibuprofen merupakan turunan sederhana asam fenil propionate. Pada dosis sekitar 2400 mg per hari, efek antiinflamasi ibuprofen setara dengan 4000 mg aspirin. Ibuprofen oral sering diresepkan dalam dosis yang lebih

kecil (<2400mg/hari); pada dosis ini ibuprofen efektif sebagai analgesik tapi tidak sebagai anti-inflamasi. Sediaan ibuprofen 400 mg dalam bentuk gel cair cepat meredakan dan cukup efektif dalam nyeri gigi pasca operasi.¹⁴

NSAID ibuprofen bekerja dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase COX-1 dan COX2 non-selektif, dimana penghambatan terhadap enzim siklooksigenase 2 (COX 2) akan menyebabkan konversi asam arakhidonat menjadi prostaglandin terganggu.¹⁵ Adanya hambatan terhadap prostaglandin inilah yang menyebabkan gangguan pada proses migrasi dari neutrofil dan makrofag, sehingga menyebabkan gangguan pula pada sekresi sitokin dan terjadinya penurunan sebaran sel radang kronis.¹⁶

Nyeri saat tindakan pencabutan gigi merupakan faktor utama yang menyebabkan ketidaknyamanan pada pasien, sehingga penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengurangi rasa nyeri, dan memberikan rasa nyaman pada pasien dengan penggunaan NSAID ibuprofen preoperatif.^{8,13}

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *true experimental laboratory* dengan rancangan penelitian *post test only control group design* dan teknik pengambilan sampel *simple random sampling*.¹⁷ Unit eksperimental yang digunakan adalah *Rattus Novergicus Strain Wistar* dewasa, jenis kelamin jantan, umur 3-4 bulan, dengan berat badan antara 200-250 gram.¹⁸

Sejumlah 20 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok, Kelompok 1 (NaCMC 0,2%) dan Kelompok 2 (Ibuprofen 7,2mg/200grBB).¹⁹ Tikus Wistar di aklimatisasi 1 minggu dan ditimbang. Setelah 1 minggu tikus dianastesi dengan ketamine dan xylazine.²⁰ NaCMC 0,2% untuk kelompok K dan Ibuprofen untuk kelompok X diberikan 1 jam sebelum pencabutan gigi secara peroral kemudian gigi insisivus kiri bawah tikus dilakukan pencabutan. Soket kemudian dijahit dan dibiarkan sampai 7 hari. Tikus dikorbankan untuk pengambilan spesimen rahang.²¹ Pembuatan preparat dengan pengecatan Haematoxylin Eosin (HE). Pengambilan gambar dengan 3 lapang pandang kemudian dilakukan perhitungan sebaran sel radang kronis dengan sistem skoring.^{22,23}

Untuk memperoleh data, data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Chi-Square* ($p=0.05$).²⁴

HASIL

Dari hasil penelitian didapatkan hasil uji statistik, sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil median/modus sebaran sel radang kronis pada hari ke 7

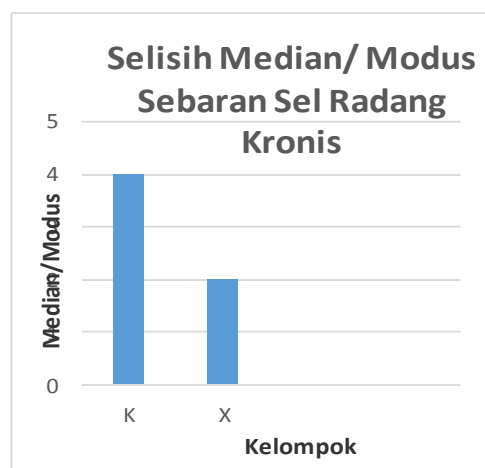
Median/Modus Kelompok	X(2)
K(4)	.003*

Tabel 2. Hasil Uji *Chi-Square*

Kelompok	Median/Modus
K	4
X	2

Berdasarkan hasil uji *Chi-Square* didapatkan nilai $p=0,003^*$ ($p<0,05$) hal ini menunjukkan terdapat

perbedaan yang bermakna pada sebaran sel radang kronis antara kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (X).



Gambar 1. Grafik perbandingan selisih median/modus sebaran sel radang kronis pada masing-masing kelompok perlakuan

Berdasarkan data diatas nilai median tertinggi adalah kelompok K yaitu 4, dan nilai median terendah pada kelompok X yaitu 2. Hal ini menunjukkan sebaran sel radang kronis pada kelompok kontrol lebih banyak ditemukan dibandingkan pada kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs (NSAID) merupakan obat-obat antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik yang memiliki berbagai macam jenis obat dan merupakan suatu kelompok senyawa yang heterogen, namun mempunyai kerja terapeutik dan efek samping tertentu yang sama.¹²

Pada penelitian ini kelompok kontrol didapatkan sebaran sel radang kronis yang banyak pada hari ke-7. Hal ini membuktikan bahwa fase

inflamasi pada kelompok kontrol berjalan normal dari terjadinya luka sampai hari ke-7. Pada proses penyembuhan luka yang normal terdapat infiltrasi sel radang kronis yaitu makrofag, limfosit, dan sel plasma, eosinofil, sel mast, dan basofil yang disertai dengan proliferasi pembuluh darah serta fibrosis. Sel-sel radang ini akan menuju ke daerah luka untuk melakukan perannya masing-masing seperti fagositosis dan sintesis antibodi.^{4,5,25} Berdasarkan penelitian Kharismawati (2016) pada hari ke-7 kelompok kontrol yang diberi NaCMC 0,2% ditemukan sel fibroblas lebih banyak dibandingkan kelompok perlakuan yang diberi ibuprofen preoperatif, hal ini membuktikan bahwa pada kelompok kontrol fase inflamasi dan fase proliferasi berjalan normal sampai hari ke-7.²⁶

Kelompok pemberian ibuprofen merupakan kelompok penelitian yang dilakukan untuk melihat proses penyembuhan luka dengan memberikan NSAID ibuprofen preoperatif. Pemilihan NSAID ibuprofen didasarkan karena NSAID memiliki efek analgesik dan antiinflamasi yang besar. selain itu juga memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan obat NSAID lainnya.^{27,28}

Ibuprofen akan mengganggu proses penyembuhan luka pada fase inflamasi yaitu dapat dilihat dengan cara mengamati sebaran sel radang kronis. Penggunaan ibuprofen memiliki efek samping pada penyembuhan luka yang dilihat dengan adanya *bleeding time* yang panjang akibat dari penghambatan enzim siklooksigenase 1 (COX-1) dan pemblokiran tromboxan A₂ (TXA₂), sehingga menurunkan agregasi trombosit pada daerah luka. Adanya

gangguan pada fase hemostasis inilah yang akan mempengaruhi fase inflamasi, proliferasi dan remodeling pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.²⁹

Ibuprofen merupakan inhibitor enzim COX-1 dan COX-2 non-selektif, dimana penghambatan terhadap COX-2 menyebabkan konversi asam arakhidonat menjadi PGE₂ terganggu, gangguan terhadap produksi prostaglandin inilah yang dapat mencegah timbulnya rasa sakit dan akan menghambat sel radang untuk bermigrasi ke daerah luka sehingga menyebabkan fase inflamasi juga terhambat.^{13,29} Pemberian ibuprofen yang berperan sebagai antiinflamasi ini akan meredakan terjadinya peradangan dengan menekan migrasi dari neutrofil dan makrofag serta mengurangi produksi prostaglandin. Gangguan pada proses migrasi dari neutrofil dan makrofag ini menyebabkan gangguan pula pada sekresi sitokin sehingga terjadi penurunan sebaran sel radang kronis.^{5,16,27} Penyembuhan luka tidak akan berjalan tanpa adanya fase inflamasi. Apabila fase inflamasi dihambat maka fase proliferasi dan fase remodeling juga akan terhambat. Pada pengamatan hari ke-7 pada kelompok perlakuan didapatkan sebaran sel radang kronis lebih sedikit ditemukan daripada kelompok kontrol pada daerah soket yang telah dilakukan tindakan pencabutan gigi. Penurunan sebaran sel radang kronis pada hari ke-7 ini menunjukkan adanya penghambatan proses penyembuhan luka. Berdasarkan penelitian Kharismawati (2016) penggunaan ibuprofen preoperatif menurunkan jumlah sel fibroblas pada hari ke-7, dimana pada hari ke-7 merupakan puncak dari sel fibroblas untuk melakukan perannya

dalam proses perbaikan dan pembentukan jaringan, hal ini dikarenakan adanya penurunan dari sebaran sel radang kronis termasuk makrofag yang memproduksi sitokin dan *growth factor* sehingga mengakibatkan produksi fibroblas juga ikut menurun. Adanya penurunan jumlah sel fibroblas ini membuktikan bahwa penurunan dari sebaran sel radang kronis akan menunda fase inflamasi untuk mencapai puncak inflamasi, sehingga berakibat fase proliferasi juga tertunda.²⁶

Pada penelitian ini sebaran sel radang kronis yang menurun dilihat juga dengan indikator osteoblas pada penelitian yang sama. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Amaliya (2016) pada pemberian ibuprofen preoperatif menunjukkan adanya penurunan jumlah sel osteoblas dibandingkan pada kelompok kontrol. Hal ini akan memberikan pengaruh terhadap proses pematangan atau perbaikan pada jaringan keras yaitu pada fase proliferasi dan fase remodeling yang akan mengalami keterlambatan. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan sebaran sel radang kronis akan menunda fase inflamasi pada proses penyembuhan luka.³⁰

SIMPULAN

Pemberian ibuprofen preoperatif memiliki pengaruh terhadap penurunan sebaran sel radang kronis dalam proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sultan, F. 2014. Prevalensi Terjadinya Kesalahan Operator pada Tindakan Ekstraksi Gigi di RSGM Kande. Skripsi. Universitas Hasanudin.
2. Mitchell, dkk. 2008. Buku Saku Dasar Patologis Penyakit Robbins dan Cotran. Jakarta: EGC. Ed 7. P. 29.
3. Rahardjo R. 2008. Kumpulan Kuliah Farmakologi. Jakarta: EGC. Ed 2. P. 501-500.
4. Abbas AK, Lichtman AH. 2006. Basic Immunology, Functions and Disorders of The Immune System 2th ed. United States of America: Elsevier Saunders. P. 43-21.
5. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. 2012. Robbins Basic Pathology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. P. 30-20.
6. Meliala KRTL, Rizaldy P. 2007. Breakthrough in Management of Acute Pain. Journal Denta Media., 20 (4): 155-151.
7. Fajriani. 2008. Pemberian Obat-obatan Anti-inflamasi Non Steroid pada Anak. *Indonesian Journal of Dentistry*. 15(3): 204-200. Available from <http://www.jdentistry.ui.ac.id/index.php/JDI/article/download/27/23>. Diakses 27 Maret 2015.
8. Ma'ruf. 2011. Efek Ketorolak 30 mg Intravena Sebagai Preemptif Analgesia Pada Operasi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. H. 3-1.
9. Rahmatsyah. 2008. Perbandingan Efek Analgesia Parecoxib Dengan Ketorolak Sebagai Preemptif Analgesia Pada Anestesi Umum. Tesis. Fakultas Kedokteran Sumatera Utara. H. 10-1.
10. Hidayat TSN. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera Pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat Dalam Pada Tikus. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Available from [http://journal.unair.ac.id/filerPDF/TQS-Hasil Akhir Penelitian Full.pdf](http://journal.unair.ac.id/filerPDF/TQS-Hasil%20Akhir%20Penelitian%20Full.pdf). Diakses 1 April 2015.
11. Sitompul R. 2011. Kortikosteroid dalam Tata Laksana Uveitis : Mekanisme Kerja, Aplikasi Klinis, dan Efek Samping. *Jurnal Indon Med Assoc*, 61(6): 266. Available from <http://indonesia.digitaljournals.org/index.php/idnmed/article/download/671/668>. Diakses 21 Mei 2015.
12. Gilman & Goodman. 2007. Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi. Jakarta: EGC. Ed 10 Vol 1.P. 667-666, 658-649.
13. Katzung, Betram G. 2010. Farmakologi Dasar dan Klinik. Jakarta: EGC. Ed 10. P. 299-298, 597-589.

14. Katzung Betram G. 2002. Farmakologi Dasar dan Terapi. Jakarta: Salemba Merdeka.
15. Katzung, Bertram G. 1997. Farmakologi Dasar dan Klinik. Jakarta : EGC. Ed VI. P. 566.
16. MacKay D and Miller AL. 2003. Nutritional Support for Wound Healing Alternative Medicine Review, 8(4): 377-359.
17. Sugiyono. 2013. Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif. Bandung: Alfabeta.
18. Rasyid A. 2008. Biota Laut Sebagai Sumber Obat-obatan. Oseana. XXXIII (1); 11-8.
19. Ridho MR. 2010. Pengaruh Pemberian Dekametason Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari terhadap Kerusakan Tubulus Ginjal Tikus Wistar. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Available from <http://core.ac.uk/download/pdf/11722581.pdf>. Diakses 18 Mei 2015.
20. Sularsih. 2011. Penggunaan Kitosan dalam Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Rattus Norvegicus. Thesis, Program Magister Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, Surabaya. P. 47-30.
21. Leary Steven, *et al.* 2013. AVMA Guidelines for The Euthanasia of Animals: 2013 eddition. Schaumburg: American Veterinary Medical Association. p: 26-38
22. Saito CTM, Bernabe PFE, Okamoto T, Murata SS, Hamata MM, Sundefeld MM, 2008. Evaluation of Tissue Response to Periodontal Dressing: Histological Study in Tooth Socket of Rats. J Appl Oral Sci. 16(3):219-25.
23. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B and Issever H. 2004. Reactions of Connective Tissue to Mineral Trioxide Aggregate and Amalgam. J Endod 30: 99-95.
24. Dahlan SM. 2010. Besar Sample dan Cara Pengambilan Sample. Edisi Ketiga Jakarta: Salemba Medika. P: 69-68.
25. Sabirin IPR, Ani MM, Bethy SH. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. Available from http://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb/article/download/169/pdf_95. Accessed April 1, 2015.
26. Kharismawati A. 2016. Pengaruh Pemberian Preoperatif NSAID (Ibuprofen) Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Ekstraksi Gigi. Skripsi. Universitas Hang Tuah Surabaya.
27. Ibara Luciana, Miguel Angel, Luiz Guilherme, Teresa Lucia, 2002. Histometric Study of Socket Healing after Tooth Extraction in Rats Treated with Diclofenac. BrazDent Journal, 13 (2): 94-93.
28. Velnar, Bailey T, Smrkoj V. 2011. The Wound Healing Process: an Overview of the Celullar and Molecular Mechanism. The Journal of International Medical Research, 37: 1542-1528.
29. Mansjoer S. 2003. Mekanisme Kerja Obat Antiradang. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
30. Amaliya DN. 2016. Pengaruh Pemberian Ibuprofen Preoperatif Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Ekstraksi Gigi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya.

LAPORAN PENELITIAN

Pengaruh Kafein Terhadap Ekspresi RANKL dan Jumlah Osteoklas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti

(The effect of Caffeine in RANKL Expression and the Number of Osteoclast in Orthodontic Tooth Movement)

Herniyati

Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

ABSTRACT

Background: Orthodontic tooth movement depends on bone remodeling involving osteoclasts and osteoblasts. RANKL has an important role in osteoclastogenesis and increased during orthodontic tooth movement. Caffeine contained in coffee, tea, and carbonated drinks can increase osteoclastogenesis. **Purpose:** To analyze the effect of caffeine on the expression of RANKL and the number of osteoclasts in orthodontic tooth movement. **Materials and Methods:** The experimental laboratories research used 16 rats were divided into 2 groups: the control group (K): rats given orthodontic mechanical force (OMF) and the treatment group (P): rats given OMF and caffeine at 1,37mg / 100 g twice a day. OMF was conducted by ligature wires were applied on permanent maxillary right first molar and both permanent maxillary incisivus. Subsequently, the permanent maxillary right first molar moved to mesial with Ni-Ti orthodontic closed coil spring. Observations were made by histological examination to calculate the number of osteoclasts and immunohistochemical examination to determine the expression of RANKL. **Result:** the administration of caffeine increased the number of osteoclast in both compression and tension areas ($p < 0.05$). The number of osteoclast in compression area larger than those which in tension area ($p < 0.05$). The administration of caffeine improved the expression of RANKL in both compression and tension areas ($p < 0.05$). The expression of RANKL in compression area larger than those which in tension area ($p < 0.05$). **Conclusion:** The administration of caffeine increased the expression of RANKL and osteoclast numbers on orthodontic tooth movement, therefore it may be an alternative to accelerate orthodontic treatment.

Keywords: RANKL, osteoklastogenesis, orthodontic tooth movement, caffeine

Correspondence: Herniyati, Department of Orthodontist, Faculty of Dentistry, Jember University, Kalimantan 37, Jember, Phone 0331-333536, Email: herniyati@unej.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: Pergerakan gigi ortodonti tergantung pada remodeling tulang yang melibatkan osteoklas dan osteoblas. RANKL memiliki peran penting pada osteoklastogenesis dan meningkat selama pergerakan gigi ortodonti. Kafein yang terkandung dalam minuman kopi teh, dan minuman berkarbonasi dapat meningkatkan osteoklastogenesis. **Tujuan:** untuk menganalisis efek pemberian kafein terhadap ekspresi RANKL dan jumlah osteoklas pada pergerakan gigi ortodonti. **Bahan dan Metode:** Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris, 16 tikus wistar dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok K: tikus diberikan gaya mekanis ortodonti (GMO) dan kelompok P: tikus diberikan GMO dan kafein sebesar 1,37mg / 100g BB dua kali sehari pagi dan sore. GMO pada tikus dilakukan dengan cara pada gigi molar-1(M-1) rahang atas (RA) kanan dan pada kedua gigi insivus RA diberi kawat ligatur dengan diameter 0,20 mm. Kemudian M-1 RA kanan digerakkan ke mesial dengan Niti closed coil spring. Pengamatan dilakukan pada hari ke 15 dengan pemeriksaan histologi untuk menghitung jumlah osteoklas dan pemeriksaan imunohistokimia untuk menentukan ekspresi RANKL. **Hasil:** Pemberian kafein meningkatkan jumlah osteoklas pada daerah tekanan dan daerah tarikan ($p < 0,05$). Jumlah osteoklas pada daerah tekanan lebih besar daripada daerah tarikan ($p < 0,05$). Pemberian kafein meningkatkan ekspresi RANKL pada daerah tekanan dan daerah tarikan ($p < 0,05$). Ekspresi RANKL pada daerah tekanan lebih besar daripada daerah tarikan ($p < 0,05$). **Simpulan:** Pemberian kafein meningkatkan ekspresi RANKL dan jumlah osteoklas pada pergerakan gigi ortodonti, sehingga dapat menjadi alternatif mempercepat perawatan ortodonti.

Kata kunci: RANKL, Osteoclastogenesis, Pergerakan gigi ortodonti, kafein.

Korespondensi: Herniyati, Bagian Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Kalimantan 37, Jember, Telepon 0331-333536, Email: herniyati@unej.co.id

PENDAHULUAN

Pergerakan gigi karena kekuatan ortodonti tergantung pada remodeling ligamen periodontal dan tulang alveolar. Gerakan ortodonti merupakan proses berkelanjutan dan seimbang yang ditandai dengan resorpsi tulang pada daerah tekanan dan deposisi tulang pada daerah tarikan. Kekuatan ortodonti akan mengubah aliran darah dan lingkungan elektrokimia lokal pada ruang periodontal. Perubahan mendadak ini menyebabkan remodeling jaringan yang menggambarkan reaksi biokimia dan seluler yang terjadi pada bagian yang mengalami mineralisasi (tulang alveolar) dan yang tidak mengalami mineralisasi (periodonsium) jaringan parodontal. Beberapa biomarker

mewakili aktivitas ini, yaitu, proses inflamasi, resorpsi dan pembentukan tulang, perubahan ligamen periodontal, pembuluh darah dan respon saraf.¹

Pada daerah terkompresi atau tertekan, gaya mekanis akan merangsang osteoklas untuk melakukan resorpsi tulang alveolar. Setelah proses resorpsi selesai maka osteoklas akan mengalami apoptosis sehingga proses resorpsi berhenti. Di lain pihak, pada daerah tarikan atau teregang, osteoblas teraktivasi untuk melakukan aktivitas pembentukan tulang baru (aposisi). Jika gaya mekanis ortodonti memadai maka proses resorpsi dan aposisi tulang alveolar ini dalam keadaan seimbang.²

Osteoklas adalah sel yang mendegradasi tulang.³ Diferensiasi osteoklas diatur oleh dua sitokin

penting yaitu *Macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF) dan RANKL M-CSF adalah faktor penting yang bertanggung jawab atas kelangsungan hidup dan proliferasi sel prekursor osteoklas. Hal ini juga menyebabkan ekspresi RANK dalam sel prekursor osteoklas untuk membangkitkan respon efisien terhadap jalur sinyal RANKL-RANK.^{3,4}

RANKL adalah anggota dari keluarga TNF yang diekspresikan oleh sel mesenchymal dari sel keturunan osteoblas dan sel T yang aktif (RANKL yang larut) dalam keadaan inflamasi skeletal.⁵ Ekspresi RANKL dirangsang dalam sel-sel osteoblas oleh banyak faktor yang merangsang dan mengatur pembentukan dan aktifitas osteoklas.⁶ Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi protein RANKL meningkat pada sel ligamen periodontal manusia di daerah tekanan tergantung dari besarnya kekuatan (RANKL meningkat pada sisi tekanan dengan kekuatan 7oz). Temuan ini juga dilaporkan sebelumnya pada sel ligamen periodontal manusia in vitro⁷ dan pada sel ligamen periodontal manusia in vivo,⁸ serta pada sel yang tertekan dalam cairan sulkus manusia,⁹ sehingga temuan ini mendukung peran RANKL dalam osteoklastogenesis yang dimediasi oleh sel PDL yang menerima kekuatan tekan.

Perawatan ortodonti membutuhkan waktu yang relatif lama. Pengembangan metode baru untuk mempercepat pergerakan gigi ortodonti telah dilakukan antara lain dengan obat-obatan, namun sekarang belum ada obat yang aman dapat mempercepat pergerakan gigi ortodonti.¹⁰

Kafein (1,3,7-methylxanthine), anggota keluarga *methylxanthine*, merupakan zat psikoaktif yang paling umum dikonsumsi dengan kehadirannya dalam kopi, teh, dan minuman berkarbonasi seperti cola.¹¹ Hasil penelitian pada tikus yang diberikan gaya mekanis ortodonti menunjukkan bahwa pemberian kafein dosis rendah, 2,5 mg/100 g BB meningkatkan jumlah osteoklas dan resorpsi tulang pada sisi tekanan pada hari ke 14.¹²

Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis efek kafein terhadap ekspresi RANKL dan jumlah osteoklas pada pergerakan gigi ortodonti, dengan menggunakan dosis kafein setara dengan yang terkandung dalam satu cangkir kopi robusta.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratories. 16 ekor tikus (*Sprague Dawley*) jantan usia 3-4 bulan berat badan 250-300 gram dan dinyatakan sehat. Tikus dipilih yang memiliki susunan gigi lengkap, kondisi rongga mulut dan jaringan periodontal baik. Tikus dibagi secara random ke dalam 2 kelompok: kelompok kontrol (K): tikus diberikan gaya mekanis ortodonti (GMO) dan 2ml aquades dan kelompok perlakuan (P): diberikan GMO dan kafein sebesar 1,37mg/100 g BB (setara dengan yang terkandung dalam 1 cangkir kopi orang dewasa) dilarutkan dalam 2ml aquades diberikan dua kali sehari , pagi dan sore. GMO pada tikus dilakukan dengan cara tikus di anestesi menggunakan ketamin, Pada gigi molar-1 (M-1) rahang atas (RA) kanan dan pada kedua gigi insivus RA

diberi kawat ligatur dengan diameter 0,20 mm. Kemudian M-1 RA kanan digerakkan ke mesial menggunakan *Tension Gauge* untuk menghasilkan kekuatan 10 g/cm^2 dengan *Nickel Titanium Orthodontic closed coil spring* panjang 6 mm¹³. Pengamatan dilakukan dengan cara tikus dikorbkan pada hari ke 15 dan diambil kedua gigi M1-1 dan M-2 RA kanan beserta jaringan periodontalnya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan histologi untuk menghitung jumlah osteoklas dan pemeriksaan iminohistokimia untuk menentukan ekspresi RANKL. Data dianalisis dengan menggunakan *Student's t-test*, *paired t-test*, dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Pemasangan *closed coil spring* pada tikus ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pemasangan *closed coil spring* pada tikus

HASIL

Hasil Penghitungan ekspresi RANKL

Hasil penelitian efek kafein pada ekspresi RANKL ditunjukkan pada Tabel 1. Gambar histologi hasil pemeriksaan iminohistokimia ekspresi RANKL pada sel osteoblas pada daerah tekanan dan tarikan ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel 1. Rerata $\pm$ Simpang baku ekspresi RANKL dan hasil uji beda antar kelompok penelitian pada daerah tekanan dan daerah tarikan

Kelompok	n	RANKL (Rerata $\pm$ Simpang baku)		p
		Daerah Tekanan	Daerah Tarikan	
Kontrol (K)	8	$3,88 \pm 0,83$	$2,88 \pm 0,84$	0,007*
Perlakuan (P)	8	$11,75 \pm 1,17$	$3,13 \pm 0,54$	0,000*
p		0,000*	0,559**	

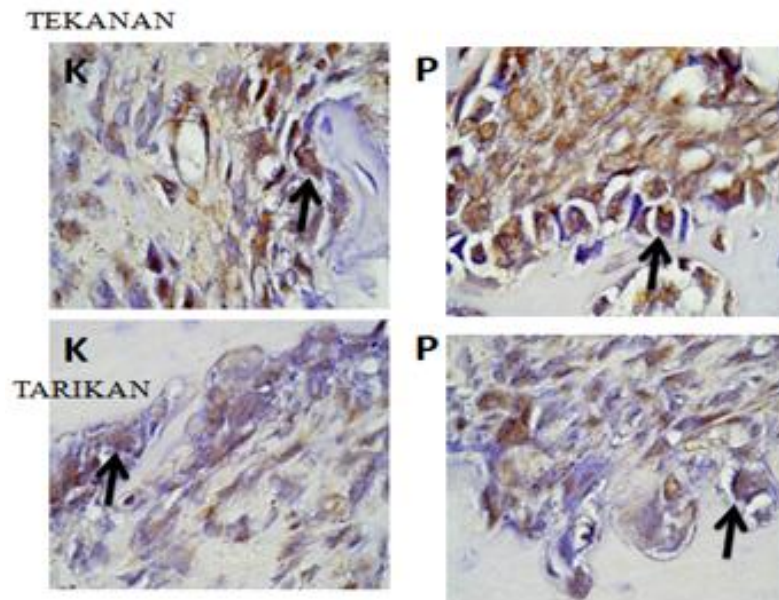
* $p < 0.05$ = signifikan

** $p > 0,05$ = tidak signifikan

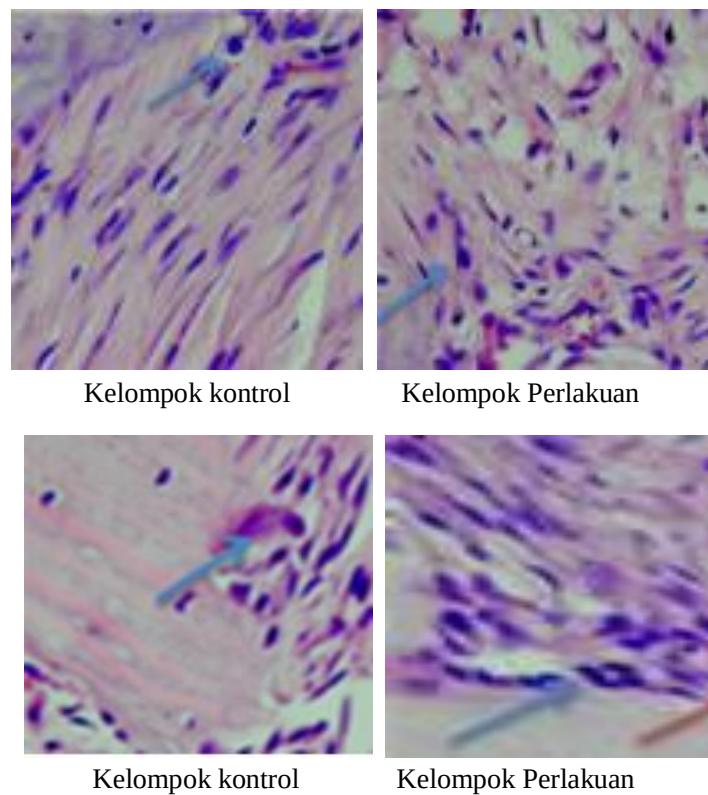
Tabel 1 menunjukkan rerata dan simpang baku ekspresi RANKL pada daerah tekanan dan tarikan. Jumlah ekspresi RANKL pada daerah tekanan pada kelompok K dan kelompok P berturut-turut adalah $3,88 \pm 0,83$ dan $11,75 \pm 0,17$, sedangkan pada daerah tarikan berturut-turut adalah $2,88 \pm 0,84$ dan $3,13 \pm 0,54$.

Pengujian berdasarkan *t-test* pada daerah tekanan menunjukkan

ekspresi RANKL pada kelompok P lebih besar daripada kelompok kontrol ($p < 0.05$), sedangkan pada daerah tarikan pada kelompok P lebih besar daripada kelompok kontrol namun tidak signifikan ($p > 0.05$). Ekspresi RANKL pada kelompok K dan kelompok P menunjukkan pada daerah tekanan lebih besar secara signifikan daripada daerah tarikan ($p < 0.05$).



Gambar 2. Ekspresi RANKL pada osteoblas daerah tekanan dan tarikan kelompok Kontrol (K) dan Perlakuan (P) (Imunohistokimia, pembesaran 400x).



Gambar 3. Osteoklas pada Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan daerah tarikan tulang alveolar tikus. Osteoklas ditandai dengan tanda panah warna biru (Pengecatan HE, pembesaran 400x).

Tabel 2. Rerata dan Simpang Baku Jumlah Osteoklas dan Hasil Uji Beda Jumlah Osteoklas Antar Kelompok Penelitian dan Antara Daerah Tekanan Dengan Daerah Tarikan

Kelompok	n	Osteoklas (Rerata ± Simpang baku)		p
		Daerah Tekanan	Daerah Tarikan	
Kontrol (K)	8	3,00 ± 1,20	3,38 ± 0,92	0,442*
Perlakuan (P)	8	11,75 ± 1,67	4,88 ± 1,36	0,000*
p		0,000*	0,021*	

* p < 0,05 = signifikan

** p > 0,05 = tidak signifikan

Tabel 2 menggambarkan deskripsi data dalam bentuk rerata dan simpang baku jumlah osteoklas pada daerah tekanan dan tarikan. Jumlah osteoklas pada daerah tekanan pada kelompok K dan kelompok P berturut-turut adalah 3,00 ± 1,20 dan 11,75 ± 1,67, sedangkan pada daerah tarikan berturut-turut adalah 3,38 ± 0,92 dan 4,88 ± 1,36.

Pengujian berdasarkan *paired t-test* menunjukkan bahwa jumlah osteoklas pada kelompok K pada daerah tarikan lebih besar daripada daerah tekanan tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$), sedangkan pada kelompok P jumlah osteoklas pada daerah tekanan lebih besar secara signifikan daripada daerah tarikan ($p < 0,05$). Hasil uji beda berdasarkan *t-test* jumlah osteoklas antar kelompok penelitian pada daerah tekanan dan daerah tarikan menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kafein meningkatkan jumlah osteoklas pada daerah tekanan dan daerah tarikan dibandingkan yang tidak diberikan kafein. Kafein meningkatkan jumlah osteoklas pada daerah tekanan lebih banyak daripada daerah tarikan

PEMBAHASAN

Pergerakan gigi yang disebabkan oleh aplikasi gaya ortodonti ditandai

dengan perubahan perbaikan dalam jaringan gigi dan periodontal.¹⁴ Aplikasi kekuatan ortodonti menghasilkan daerah tekanan dan daerah tarikan pada ligamen periodontal yang mengakibatkan remodeling ligamen, tulang alveolar dan gingiva.⁹ Kekuatan ortodonti menghasilkan respon seluler dan molekuler mengakibatkan pergerakan gigi. Perbedaan pola ekspresi penanda pemodelan tulang dan perubahan histologis terjadi pada daerah tekanan dan daerah tarikan ligamen periodontal yang tergantung pada besar dan durasi kekuatan ortodonti. Respon biologis dalam PDL dan tulang merupakan proses peradangan aseptik yang dimediasi oleh prostaglandin dan cytokines.¹⁵

Kafein meningkatkan ekspresi RANKL pada daerah tekanan maupun daerah tarikan lebih besar dibandingkan dengan yang tidak diberikan kafein. Hal ini disebabkan karena kafein mengikat reseptor adenosin, dan memodulasi beberapa reseptor lain termasuk reseptor glukokortikoid, insulin, estrogen, androgen, vitamin D, cannabinoid, glutamat dan reseptor adrenergik, yang semuanya diekspresikan pada osteoblas atau sel osteoprogenitor dan memiliki fungsi penting selama diferensiasi osteoblas.¹⁶ Menurut Lacey reseptor vitamin D merangsang ekspresi RANKL pada sel seperti

osteoblas dan sel stroma sumsum tulang, sedangkan Leibbrandt dan Penninger, 2008¹⁸ menyatakan bahwa RANKL diekspresikan dalam osteoblas dan sel stroma dalam merespon PTH dan stimulasi oleh dihidroksi aktif vitamin D3 (1,25 Vit D3).^{17,18} RANKL selanjutnya akan berikatan dengan RANK pada prekursor osteoklas, yang memicu diferensiasi dan proliferasi osteoklas sehingga osteoklas menjadi aktif. Osteoklas yang aktif akan mengakibatkan resorpsi tulang.¹⁹ Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa kafein meningkatkan osteoklastogenesis melalui peningkatan RANKL.²⁰ Selanjutnya studi in vivo pada hewan juga menunjukkan bahwa kafein mampu mengurangi *bone mineral density* (BMD) pada tikus dengan peningkatan osteoklastogenesis.¹⁸

Peningkatan jumlah osteoklas juga terbukti pada penelitian ini dan peningkatan jumlah osteoklas terjadi pada daerah tekanan maupun daerah tarikan, dan pada daerah tekanan lebih banyak daripada daerah tarikan sebagaimana jumlah ekspresi RANKL pada daerah tekanan yang juga lebih besar dibandingkan daerah tarikan. Studi in vivo telah menunjukkan adanya RANKL dan RANK pada jaringan periodontal selama pergerakan gigi molar tikus, dan bahwa sel-sel PDL bawah stres mekanik dapat menginduksi osteoklastogenesis melalui peningkatan regulasi ekspresi RANKL selama pergerakan gigi ortodonti.⁴ Disamping itu Hasil penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa aplikasi kekuatan ortodonti pada daerah tekanan menyebabkan osteoblas meningkatkan ekspresi RANKL yang selanjutnya

meningkatkan osteoklastogenesis, sehingga resorpsi tulang juga meningkat.²¹

Osteoklas merupakan sel berinti yang dibentuk melalui fusi prekursor mononuklear dari garis keturunan hematopoetik. Diferensiasi osteoklas awalnya tergantung pada sinyal melalui c-fms, reseptor untuk *makrofag Coloni stimulating factor* (MCSF), di sel prekursor mononuklear, yang mengatur ekspresi RANK.²² RANKL adalah pengatur pembentukan dan aktivasi osteoklas, di mana banyak hormon dan sitokin menghasilkan efek RANKL diekspresikan pada sel osteoblas dan yang mengikat reseptor RANK pada sel osteoklas. Ikatan ini menyebabkan diferensiasi yang cepat dari prekursor osteoklas menjadi osteoklas dewasa osteoresorptive.²³ Pembentukan dan aktivasi osteoklas melibatkan peran faktor transkripsi NFATC1. NFATC1 merupakan regulator utama RANKL yang menginduksi diferensiasi osteoklas dan memainkan peran penting dalam fusi dan aktivasi osteoklas melalui peningkatan regulasi berbagai gen yang bertanggung jawab untuk perlekatan osteoklas, migrasi, pengasaman, degradasi anorganik dan organik matriks tulang.²⁴

Osteoklas aktif akan mengakibatkan peningkatan resorpsi tulang.^{19,4} Resorpsi tulang selanjutnya akan menyebabkan pergerakan gigi ortodonti, yang kemudian diikuti oleh remodeling tulang alveolar dan ligamen periodontal.¹⁴ Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pada ligamen periodontal normal tikus tidak terdapat prekursor osteoklas mononuklear. Osteoklas aktif yang terdapat pada ligamen periodontal disebabkan karena tekanan alat ortodonti. Prekursor mononuklear

dalam sumsum tulang berdiferensiasi menjadi prekursor osteoklas mononuklear, kemudian bermigrasi ke ligamen periodontal di daerah tekanan di mana mereka berdiferensiasi menjadi osteoklas multinuklear yang aktif. Osteoklas multinuklear kemudian melakukan resorpsi tulang.²⁵

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa pemberian kafein meningkatkan ekspresi RANKL dan jumlah osteoklas pada pergerakan gigi ortodonti, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk mempercepat perawatan ortodonti.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks PJ, Nilforoushan D, Manolson MF, Simmons CA, and Gong SG. 2009. Molecular markers of early orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, 79(6): 1113–1108.
- Nimeri G, Kau CH, Aboe-kheir NS, and Corona R. 2013. Acceleration of tooth movement during orthodontic treatment – a frontier in Orthodontic. *Progress in Orthodontic*, 42-14.
- Kim JH and Kim N. 2014. Regulation of NFATc1 in Osteoclast Differentiation. *J Bone Metab*, 21(4): 241-233.
- Yamaguchi M. 2009. RANK/RANKL/OPG During Orthodontic Tooth Movement. *Orthod Craniofac Res*, 12: 119-113.
- Teitelbaum SL. 2007. Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *Am J Patho*, 170(2): 427–35.
- Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. 2006. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med*, 12(1) 17–25.
- Zhang F, Wang CL, Koyama Y, Mitsui N, Shionome C, Sanuki R, Suzuki N, Mayahara K, Shimizu N, Maeno M. 2010. Compressive force stimulates the gene expression of IL-17s and their receptors in MC3T3-E1 cells. *Connect Tissue Res*, 51(5): 359–69.
- Garlet TP, Coelho U, Silva JS, Garlet GP. 2007. Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. *Eur J Oral Sci*, 115(5): 355–62.
- Grant M, Wilson J, Rock P, Chapple I. 2013. Induction of cytokines, MMP9, TIMPs, RANKL and OPG during orthodontic tooth movement. *Eur J Orthod*, 35(5): 644–51.
- Shenava S, Nayak KUS., Bhaskar V, Nayak A. 2014. Accelerated Orthodontics-A Review. *International Journal of Scientific Study*, 1(5): 39-35.
- Sukendro S. 2013. *Keajaiban Dalam Secangkir Kopi*. Yogyakarta: Penerbit Media Pressindo. H. 17.
- Peng S, and Chun HY. 2011. Effect of caffeine on alveolar bone remodeling during orthodontic tooth movement in rats. *Journal of Tongji University (Medical Science)*. 03.
- Sella R.C, de Mendonça MR, Osmar AC OA, Li AT. 2012. Histomorphologic Evaluation of Periodontal Compression and Tension sides During Orthodontic Tooth Movement in Rats. *J Orthod*, 17(3): 108-17.
- Krishnan V, Davidovitch Z. 2006. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 129(4): 469–e1.
- Tzannetou S, Efstratiadis S, Nicolay O, Gribic J, Lamster I. 2008. Comparison of levels of inflammatory mediators IL-1beta and betaG in gingival crevicular fluid from molars, premolars, and incisors during rapid palatal expansion. *Am J Orthod Dentofac Orthoped*, 133(5): 707-699.
- Reis AS, Riberio LGR, Ocarino NM, Goes AIM, and Serakides R. 2015. Osteogenic potential of osteoblasts from neonatal rats born to mothers treated with caffeine throughout pregnancy. *BMD Musculoskeletal Disorder*, 16: 10.
- Hennemann S, Hoff JWVD, and Maltha JC. 2008. Microbiology of Tooth Movement. *Eur J Orthod*, 30: 306-299.
- Leibbrandt, A. and Penninger JM. 2008. RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 1143: 150-123.
- Meikle CM. 2006. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics*, 28: 221-40.

20. Jianru Yi, Zhang L, Yan B, Yang L, Li Y, and Zhao Z. 2012. Drinking coffee may help accelerate orthodontic tooth movement, Department of Dental Implants, State Key Laboratory of Oral Diseases, West China Stomatology Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China, 3(2): 75-72.
21. Jianru Y, Boxi Y, Meile L, Yu W, Wei Z, Yu L, and Zhihe Z. 2016. Caffeine may enhance orthodontic tooth movement through increasing osteoclastogenesis induced by periodontal ligament cells under compression. *Archives of Oral Biology*, 64: 60-51.
22. Crockett, JC., Mellis, DJ., Scott DI. and Helfrich MH. 2011. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporos. In.*, 1: 20-1.
23. Nakano Y, Yamaguchi M, Fujita S, Asano M, Saito K, and Kasai K. 2011. Expressions of RANKL/RANK and M-CSF/c-fms in root resorption lacunae in rat molar by heavy orthodontic force. *Eur J Orthod*, 33(4): 335-43.
24. Zhao Q, Wang Xi, Liu Y, He Aimin, Jia Ruokun. 2010. NFATc1: Functions in osteoclasts, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(5) 579-576.
25. Xie R, Jagtman AMK, and Maltha JC. 2008. Osteoclast differentiation during experimentally tooth movement by Short-term applications: An immunohistochemical study in rats. *Acta Odontologica Scandinavica*, 66: 320-314.

RESEARCH ARTICLE

The Effectiveness Of Anchovy Concentration (*Stolephorus insularis*) as Antimicrobial to *Streptococcus mutans* (In Vitro)

Almira Fa'Izah,* Istien Wardani,** Diana Soesilo***

* Undergraduate Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**IKGA Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Dental and oral diseases which are often found in children is dental caries. *Streptococcus mutans* is the main cause of caries. Caries can be prevented by using a topical application of fluoride. The Anchovy (*Stolephorus insularis*) contains protein, vitamins (A, B₁, C), and minerals (Fe, Ca, K, F). Calcium fluoride (CaF₂) within the anchovy can inhibit the occurrence of dental caries. **Purpose:** The aim of this study was to determine the antimicrobial ability of anchovy extract (*Stolephorus insularis*) to *Streptococcus mutans*. **Materials and Methods:** This study was a laboratory experimental research with post test only control group design. Diffusion method were applied with 2 controls: negative control used DMSO 1%, positive control used NaF solution, and 3 concentrations of anchovy extract (*Stolephorus insularis*) 3%, 6%, and 12%, each group were composed of 6 samples. Antimicrobial was assessed by measuring the diameter of the clear zone around the discs contained the anchovy extract (*Stolephorus insularis*). Data were analyzed by Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney test. **Result:** The results from this study showed clear zone around the discs of the anchovy extract (*Stolephorus insularis*). The more concentration of the extract showed the more antimicrobial zone diameter. The average zone of antimicrobial at the concentration of 3% were 7,11 mm, 6% 9,5 mm, 12% 10,78 mm, for the negative control DMSO 1% 6 mm and the positive control NaF solution 8,16 mm. The largest diameter of the clear zone was at concentration of 12% ($P < 0,05$). **Conclusion:** The anchovy extract (*Stolephorus insularis*) had an antimicrobial effect to the growth of *Streptococcus mutans*.

Key words: Anchovy extract (*Stolephorus insularis*), *Streptococcus mutans*, caries prevention, antimicrobial effect.

Correspondence: Istien Wardani, Bagian IKGA, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah., Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, 5912191, Email: istienwardani@yahoo.com

BACKGROUND

Dental and oral diseases which are often found in societies is dental caries. This disease not only affects adults, but also often suffered by children.¹ Based on the basic health research (Riskesdas) in 2007 the prevalence of active caries in Indonesia amounted to 46.5%.² Meanwhile, according to the data from Health Ministry of Republic Indonesia (Kemenkes) in 2009, as many as 89% of Indonesian children under the age of 12 years suffer from dental caries.¹

The main problem in the oral health of children is dental caries. Dental caries is an infectious disease that is closely related to the consumption of foods and beverages that contain cariogenic ingredients.² In children the necessary precautions through plaque control, dietary habits (consumption of foods and drinks containing sugar), oral hygiene, fluoride usage, sealant, and mouthwash.³

Dental caries is an infectious disease that came from the demineralization in hard tissue of the crown and root surface of the tooth that can be prevented.³ Caries is progressive because of the accumulation of activity that can be detected by tissue damage from the tooth surface (pit, *fissure*, and the interproximal zone) to extend into the pulp tissue. The main factor that caused caries is the host (teeth), the microorganisms (bacteria), the substrate, and the time.¹

Demineralization of dental caries caused by susceptible (host), the bacteria that caused caries, and the substrate for bacteria. Caries bacteria include *Streptococcus*, *Lactobacilli*, and *Actinomyces*.⁴ The

microorganisms produce organic acids especially lactic acid by fermenting carbohydrates on the surface of the teeth resulting in decreased salivary pH (below 5,5) which resulted demineralised totth surface and then forming small holes called dental caries.⁴ *Streptococcus mutans* is very meaningful recognized as the cause of dental caries.⁵

Emphasizing prevention of caries in the oral environment returns imbalance as a protective mechanism of remineralization.⁶ One of caries prevention is by using fluorine as a topical application, mouthwash, and toothpaste.⁷

The use of fluoride recommended by doctor and dentist so that the teeth become harder and more resistant to caries.⁵ The purpose of the use of fluorine is an attempt to protect the teeth from caries. *Fluor* works by inhibiting the metabolism of plaque bacteria that can ferment carbohydrates through changes hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) the enamel becomes fluorapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$).³ Fluorapatite formation can decrease solubility in acidic email, speed up the remineralization process, and inhibit the action of bacterial enzymes (antimicrobial activity). *Fluor* residing in biofilms will inhibit bacteria work in synthesizing enzyme enolase so that bacteria can not produce acid.⁸ The mechanism of caries inhibition by fluoride can be achieved at lower concentrations ($< 100 \mu\text{g/ml}$). If the fluoride is used too much, can lead to accumulation of fluoride in the matrix, forming a “mottled enamel”.⁵ The recommended fluoride adequacy rate was 1.5–4 mg/day.⁹

One of the natural ingredients that contain high concentrations of fluoride is anchovy (*Stolephorus insularis*) as many as 15,7-38,3 ppm mainly in the form of CaF_2 compound.¹⁰ Besides containing fluorine, *Stolephorus insularis* also contains energy, protein, fat, carbohydrates, calcium, iron, phosphorus, vitamin A, vitamin B, and vitamin C.¹¹

CaF_2 compound can give most fluoride results because of its ability gradually removing fluorine and also acts as a fluorine backup. However, these compounds are not widely used in dentistry because it is difficult to obtain in dosage forms and expensive.⁸ So that the fluorine content of *Stolephorus insularis* studied by students of Dentistry University of Indonesia in dosage forms the substrate as a topical application in vivo.

Stolephorus insularis very easily obtained in Indonesia and most people eat.¹⁰ This is because *Stolephorus insularis* is one of the most abundant resources in Indonesia especially nearshore area.¹² Sedati coastal subdistrict, Sidoarjo regency is an area of inshore waters, so *Stolephorus insularis* is one of the local resources.

Antimicrobials are compounds of biological or chemical that is capable of disrupting the activity of microbial growth.¹³ Fluor in bacteria works bacteriostatic, inhibits cell proliferation by inhibiting the synthesis of nucleic acid which is a very vital part for cell development. The mechanism works by binding to the enzyme-RNA polymerase (the subunits) that inhibit the synthesis of RNA DNA.¹⁴

Based on the reasons above, the researcher wanted to know the

effective concentration of *Stolephorus insularis* extract as antimicrobials against the growth of *Streptococcus mutans* bacteria.

MATERIALS AND METHODS

This research is kind of true experimental, with the study design post test only control group design. The sampling technique using simple random sampling, is to divide the subjects into five groups, each group was given a different treatment. On the negative control group K(-) using a DMSO 1% solution, on the positive control group K(+) using NaF solution, on the treatment group P1 were given *Stolephorus insularis* 3% extract, P2 were given *Stolephorus insularis* 6% extract, P3 were given *Stolephorus insularis* 12% extract.

The tools used are mask, rubber gloves, test tube rack, test tubes, petridish, micropipet, bacti zepper (sterilizer osse), osse, autoclave, incubator, anaerobic jar, gasket, anaerobic indicator, blender, scales, porcelain bowl, spatula glass, oven, waterbath, rotary evaporator, caliper with precision 0,05 mm, circular disc Ø 6 mm, cotton swab, syringe, densicheck (bacterial turbidity measuring device), cryotube, cryotube rack, tweezer, biological safety cabinet (place to conduct experiments on bacteria). Materials used are *Streptococcus mutans* bacteria in the MH blood agar, *Stolephorus insularis* extracts with various concentrations (3%, 6%, 12%), NaF solution, ethanol 96%, DMSO 1% solution, NaCl sterile liquid, TYC agar.

The process of making *Stolephorus insularis* extracts performed at the Laboratory of

Phytochemistry Faculty of Pharmacy, University of Widya Mandala Surabaya. Purchase *Streptococcus mutans* bacteria and experimental research conducted at the Laboratory of Microbiology of the Center for Health Surabaya.

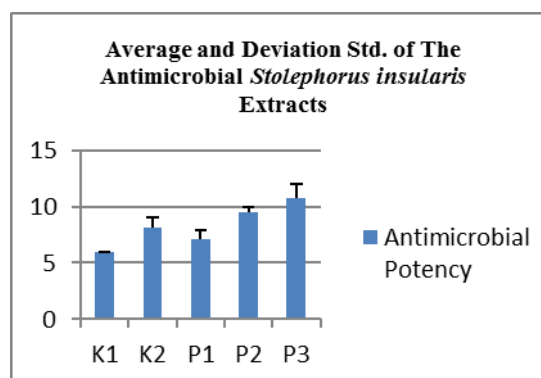
The initial step of this study begins by creating a culture of *Streptococcus mutans* in NaCl liquid sterile which is comparable to 0,5 McFarland standart. Then prepare for sterile TYC media into five research groups, each sample consisting of two control groups and three treatment groups. *Streptococcus mutans* bacteria taken from NaCl liquid that has been synchronized with the turbidity of Mc Farland 0,5 solution and then rubbed on the entire surface of the plate in TYC agar by using a sterile swab. After that, the disc is dipped in each solution was treated for 10 seconds. Then the disc affixed to the TYC agar which have inhaled the *Streptococcus mutans* bacteria in accordance with the zone that has been provided. Incubated for 2x24 hours at 37°C in anaerobic jar in the incubator. After that, measured the diameter of the antimicrobial zone is formed in the form of clear zone around the disc three times using callipers (mm).

RESEARCH RESULT

Data obtained from the research results were tabulates and analyzed descriptively that aims to obtain an illustration of the distribution and summarizing data to clarify the presentation of the results, then test hypotheses using analytic statistical significant level of 95% ($p < 0,05$) using SPSS version 20.

Table 1. Results of average and standart deviation of the antimicrobial potency in each treatment group

Groups	Average $\pm$ Deviation Std.
K 1	$6 \pm 0,00$
K 2	$8,16 \pm 0,93$
P1	$7,11 \pm 0,74$
P2	$9,50 \pm 0,50$
P3	$10,78 \pm 1,24$



Picture 1. Diagram of average results and the deviation standart of antimicrobial potency in each treatment groups

Before performing hypothesis testing research results, then normality test first, because the normality test is one of the requirements parametric test. Normality test used is *Shapiro-Wilk* test, because the number of research subjects are less than 50 subjects. This test aims to determine whether the data obtained normal distribution or not with a significance level of 0.05 ($p = 0,05$). If the data were normally distributed ($p > 0,05$) can proceed with parametric test, and if the data are not normally distributed ($p < 0,05$), then followed by a non parametric test.

The test results for normality using the *Shapiro-Wilk* test in table 2 shows all groups, those are group K2, P1, P2, and P3 normal distributed ($p > 0,05$).

Homogeneity test is also one of the prior conditions to the parametric test. The homogeneity test using *Levene test*. Data can be said to satisfy

the homogenous variance when $p > 0,05$. If $p < 0,05$ then the data does not have a homogenous variances thus qualified to perform parametric tests are not met.

Significance Test homogeneity of variance showed score 0,000 ($p < 0,05$), It can be concluded that there is a difference of variance between groups of data are compared.

From the results of homogeneity test data, It can be concluded that the data have variances those are not homogenous. Thus, the parametric test requirements are not met.

Therefore the terms of parametric test are not met, the data are normal distributed and the data are not homogenous, then tested the non-parametric *Kruskal-Wallis*. *Kruskal-Wallis* test was used to determine the potency antimicrobial differences in *Streptococcus mutans* each treatment groups.

Based on the *Kruskal-Wallis* test results in table 4 of significance value of 0,000 ($p < 0,05$), then there is a difference in the antimicrobial potency of each groups.

Mann-Whitney test is the continuous non-parametric test from *Kruskal-Wallis* test which is useful to know that the group has significant difference potency antimicrobial by comparing between the two groups with a significance level of $p < 0,05$.

Table 5 The results of *Mann-Whitney* test

Groups	K1	K2	P1	P2	P3
K1		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K2			6,000	3,000	0,000*
P1				0,000*	0,000*
P2					6,500
P3					

* There are significant differences

The results of *Mann-Whitney* test in table 5 showed there are significant difference of antimicrobial potency ($p < 0,05$) in group K1 with the entire treatment group, group K2 with group P3, and group P1 with group P2 and group P3. While the K2 group with P1 and P2 group showed no significant difference potency antimicrobial ($p > 0,05$). So also in the P2 group with P3 group showed no significant difference potency antimicrobial ($p > 0,05$).

DISCUSSION

This study used *Stolephorus insularis* extract with concentration of 3%, 6%, and 12%. Selection is based on the concentration in vivo studies using substrate *Stolephorus insularis* with 5% concentration which can be used as a topical application of fluoride.⁸ MIC fluoride against *Streptococcus mutans* (0,75%)¹⁵ with the highest fluoride content of 38.3 ppm *Stolephorus insularis*,¹⁰ so the researcher tried concentration of 3% as the initial concentration. Then researcher increased the concentration be doubled to 6% and 12%.

Making *Stolephorus insularis* extract using ethanol at 96% concentration because this solvent is universal (can dissolve polar and nonpolar compound) so expected by using ethanol 96%, active substance required may be fully extracted.¹⁷ Then *Stolephorus insularis* powder which already dissolved in 96% ethanol, evaporated by using a rotary evaporator until It becomes thick. Rotary evaporator is used as a solvent vaporizer because It can vaporize until below its boiling point with the aid of a pressure drop so that the chemical

compound contained in the solvent is not damaged or decomposed.¹⁶

The method used in this research is the diffusion method because the method can be used to test aerobic and facultative anaerobic bacteria.¹⁸ *Streptococcus mutans* bacteria is facultative anaerobic bacteria.¹⁹

The used of *Streptococcus mutans* bacteria due to these bacteria are the most dominant agent of human dental caries.²⁰ Caries can be triggered by consumption of foods and beverages that contain cariogenic ingredients² which is often favored by children.

Streptococcus mutans incubation using anaerobic jar and gaskit because It can create an anaerobic atmosphere perfectly,¹⁸ allowed to stand at a temperature of 37° for 48 hours.²⁰

TYC media used as a medium to determine their inhibition in this study. TYC media contains sucrose which is as high as 50 gr/L, so that *Streptococcus mutans* can ferment to multiply.²²

The negative control used was DMSO 1% because It doesn't have antibacterial properties that will affect inhibition of bacteria and the extracts tested are natural materials.²³ In addition, the solution serves as a solvent DMSO is rapidly absorbed into the epithelial extract without damaging the cells and is often used in medicine and health.²⁴ On the positive control using NaF solution because this solution is the topical application material most often used to prevent caries, that is inhibit the growth and development the oral flora that play a role in the caries process.²⁵ The use of fluoride as a topical application has been done a long time and has been

shown to inhibit acid formation and growth of microorganisms.²⁶

The results of this study showed that *Stolephorus insularis* extract had antimicrobial power against the *Streptococcus mutans* bacteria in all treatment groups with a concentration of 3%, 6%, and 12%. At a concentration 3% and 6% antimicrobial power of *Stolephorus insularis* extract not much different than antimicrobial power of NaF solution as a positive control. At a concentration of 12%, the antimicrobial power of *Stolephorus insularis* extract is greater than NaF solution. It's because *Stolephorus insularis* contains antimicrobial substances such as fluoride. Fluoride can inhibit the growth and development of microorganisms,²⁵ inhibits many *Streptococcus* oral bacterial enzyme system,¹⁹ thus inhibiting the activity of cariogenic bacteria in the metabolism of carbohydrates to form acids and polysaccharides adhesive.²⁶

Based on the results obtained *Kruskal-Wallis* test, $p = 0,000$ ($p < 0,05$) which showed a significant difference in all groups, then followed by *Mann-Whitney* test to see the significance of the two data groups. Based on the research, It seemed that the greater concentration of *Stolephorus insularis* extract also has a greater diameter of antimicrobial zone. It's because the higher concentration of *Stolephorus insularis* extract, the concentration of active ingredient contained therein are also getting bigger, so the antimicrobial zone is also greater. The averages of antimicrobial at a concentration 3% (7,11 mm), 6% (9,5 mm), 12% (10,78 mm), negative control DMSO 1% (6

mm), and positive control NaF (8,16 mm).

This study was a qualitative difference that shows the power of antimicrobial *Stolephorus insularis* extract against the growth of *Streptococcus mutans* bacteria at a concentration of 3%, 6%, dan 12%, and an initial study. The results showed that the highest concentration of the antimicrobial power which is 12% greater than antimicrobial power of NaF as a positive control. Henceforth, quantitative research needs to be done to determine the decrease in the number of bacterial colonies.

CONCLUSION

Based on the results of the study, the anchovy extract (*Stolephorus insularis*) has effective antimicrobial power against the *Streptococcus mutans* bacteria at a concentration of 12%.

BIBLIOGRAPHY

1. Wala HC, Wicaksono DA, Tambunan E. 2014. Gambaran Status Karies Gigi Anak Usia 11-12 Tahun pada Keluarga Pemegang Jamkesmas di Kelurahan Tumatangtang I Kecamatan Tomohon Selatan. Kandidat Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sam Ratulangi Manado. H. 2
2. Worotitjan I, Mintjelungan CN, Gunawan P. 2013. Pengalaman Karies Gigi serta Pola Makan dan Minum pada Anak Sekolah Dasar di Desa Kiawa Kecamatan Kawangkoan Utara. Jurnal e-GIGI (eG), 1(1): 60.
3. Angela A. 2005. Pencegahan Primer pada Anak yang Berisiko Karies Tinggi. Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J.), 38(3): 134-130.
4. Aini BN. 2013. Pengaruh Cara Pengolahan dan Jumlah Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* (Kajian *in Vitro*). Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. H. 1.
5. Houwink B, *et al.* 1993. Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan, Alih Bahasa Suryo S & Abyono R. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. H. 230-229.
6. Sasmita IS, Pertiwi ASP. 2013. Identifikasi, Pencegahan, dan Restorasi sebagai Penatalaksanaan Karies Gigi pada Anak. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Bandung. H. 4
7. Herdiyanti Y, Sasmita IS. 2010. Penggunaan *Fluor* dalam Kedokteran Gigi. Program Profesi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran. H. 7
8. Zabrina S. 2012. Pengaruh Aplikasi Substrat Ikan Teri Jengki (*Stolephorus insularis*) terhadap Tingkat Retensi *Fluor* pada Email Gigi Tikus *Sprague Dawley* (*in Vivo*). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. H. 22, 2-1.
9. Oktanovia SY. 2013. Ikan Teri Dapat Meningkatkan Ketahanan Email Gigi. Makalah Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. H. 9
10. Gunawan HA. 2006. Pengaruh Tingkat pH Larutan Teri terhadap Perubahan Dimensi dan Kelarutan Kristal Apatit. Jurnal Anatomi Indonesia, 1(1): 29-25.
11. Daradjatun AN. 2014. Pemanfaatan Tepung Kepala Ikan Teri Jengki (*Stolephorus insularis*) sebagai Bahan Substitusi Tepung Ikan dalam Pakan Buatan Ikan Lele Masamo (*Clarias sp.*). Skripsi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. H.7.
12. Mardjudo A, Rahman ARA. 2014. Usaha Perikanan Ikan Teri (*Stolephorus sp.*) dengan Alat Tangkap Bagan Tancap di Desa Bukit Aru Indah Kecamatan Sebatik Timur Kabupaten Nunukan Provinsi Kalimantan Utara. Jurnal Ilmiah AgriBA (2): 198.
13. Andayani T, Hendrawan Y, Yulianingsih R. 2014. Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Pengawet Alami pada Ikan Teri (*Stolephorus indicus*). Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, 2(2): 123.
14. Karina, VN. 2012. Perbedaan Daya Antibakteri Bahan Perekat Braket Ortodonsi antara Semen Ionomer Kaca dengan Resin Komposit Berfluor terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. H. 18-17.

15. Pratiwi R. 2005. Perbedaan Daya Hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. H. 67.
16. Tamara R. 2014. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya. H. 60.
17. Amalia S. 2012. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Pegangan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai Alternatif Medikamen Saluran Akar terhadap *Porphyromonas gingivalis* (secara In Vitro). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara. H. 3.
18. Bauman RW. 2004. Microbiology International Edition. San Francisco: Pearson Education Inc and Pearson Benjamin Cummings. H. 299-297.
19. Handini AD. 2013. Perbedaan Topikal Aplikasi Bahan Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) dan Bahan Sodium Fluoride terhadap Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* pada Saliva Anak Usia 6-12 Tahun. Skripsi, Fakultas kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. H. 16-15, 13.
20. Adrianto WDA. 2012. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha Wight*) dalam Pasta Gigi terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. H. vii.
21. Wilson DE dan Chosewood LC. 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services. H. 291
22. Wan AKL, Seow WK, Walsh LJ, Bird PS. 2002. Comparison of Five Selective Media for The Growth and Enumeration of *Streptococcus mutans*. Australian Dental Journal, 47(1): 26-21.
23. Patel JD, Anshu KS, Vipin K. 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.
24. Alfath CR, Yulina V, Sunnati. 2013. Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima (*Granati fructus cortex*) pada *Streptococcus mutans In Vitro*. Journal of Dentistry Indonesia, 20 (1): 8-5.
25. Setyo D. 2009. Topikal Fluor. Available from <https://www.scribd.com/doc/30062773/T-OPIKAL-FLUOR>. Accessed. December 25, 2015
26. Amnur AND. 2014. Pengaruh Pasta Gigi Mengandung *Xylitol* dan *Fluoride* Dibandingkan Pasta Gigi Mengandung *Fluoride* terhadap Plak Gigi. Skripsi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Diponegoro. H. 20.

RESEARCH ARTICLE

The Effect Of Sea Cucumber Powder And Hyperbaric Oxygen Therapy On The Expression Of Tumor Necrosis Factor Alfa In Rats With Diabetes Mellitus Induced By *Porphyromonas gingivalis*

Caroline Prajnaparamitha Anggraini*, Kristanti Parisihni**, Widyastuti***

*Undergraduate Dentistry Faculty Hang Tuah University Surabaya

***Oral Biology Faculty Hang Tuah University Surabaya

****Periodontia Faculty Hang Tuah University Surabaya

ABSTRACT

Background: Periodontitis have a bidirectional relationship with diabetes mellitus, both can increase oxidative stress that trigger an increase of pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α . Sea cucumbers have anti-inflammatory component that act to inhibit the release of inflammatory mediators. Hyperbaric oxygen therapy reduce oxidative stress. **Purpose:** The aim of this study is to investigate the effect of the sea cucumber powder and hyperbaric oxygen therapy on the expression of TNF- α in rats with diabetes mellitus induced by *P.gingivalis* bacteria. **Materials and Methods:** The study was an experimental laboratories research with factorial design. Twenty wistar rats were divided into 5 groups. K0 negative control, K1 positive control. K1-K4 groups were induced with streptozotocin for diabetes condition and *P.gingivalis* bacteria for periodontitis condition. K2 group was treated with sea cucumber 3% for 7 days, K3 with OHB 2.4 ATA 3 x 30' interval 5' for 7 days, and K4 group was treated with combination of sea cucumber and OHB. At the 51st day all rats were sacrificed, then the expression of TNF- α on periodontal macrophages were examined by immunohistochemistry stain. Data were analyzed by Kruskal Wallis followed by Mann-whitney. **Result:** Expression of TNF- α were increased in K1 (11.50 $\pm$ 1.291) compare K0 ($p < 0.05$). Sea cucumber treatment, OHB, and combination treatment decreased expression of TNF- α significantly in amount of 2.50 $\pm$ 0.577 (K2), 8.25 $\pm$ 2.217 (K3), 3.00 $\pm$ 0.816 (K4). **Conclusion:** Sea cucumber powder and OHB therapy affected the expression of TNF- α in rats with diabetes mellitus induced by *P. gingivalis* bacteria.

Keyword: Sea cucumber powder, TNF- α , periodontitis, diabetes mellitus, OHB therapy

Correspondence: Kristanti Parisihni, Department Oral Biology, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5945864, Email: tanti_kris@yahoo.co.id

BACKGROUND

The relationship between periodontitis and diabetes mellitus has long been discussed, both diseases have a relatively high incidence. Diabetes is a risk factor which increasing the severity of periodontitis. Instead, periodontitis may be a risk factor for glycemic control in people with diabetes.^{1,2} Approximately 177 million people worldwide have diabetes mellitus and diabetes has been confirmed as a major risk factor for periodontitis. The risk of periodontitis increased approximately three-fold in individuals with diabetes compared with non-diabetic individuals.^{3,4}

Individuals with diabetes have high glucose levels in the gingival fluid and blood more than individuals without diabetes. Increased glucose levels in the gingival fluid and blood in individuals with diabetes can change microflora environment, induce qualitative changes of bacteria that contribute to the severity, periodontal disease in patients with uncontrolled diabetes. Poor glycemic control led to increasing of oxidative stress, advanced glycation end products (AGEs), hyperresponsive innate immune system that contribute to damage factor diabetic periodontitis. In addition, the function of the normal immune cells, such as chemotaxis, cell adherence, phagocytosis, cytokine production and secretion, are all affected by hyperglycemia.^{5,6}

Diabetics have more severe periodontal disease because of the presence of glucose which induce accumulation of advanced glycation end products (AGEs) and affect the activity of migration and phagocytic activity of mononuclear and polymorphonuclear, so the formation of a more pathogenic

subgingival flora.⁷ Many bacteria associated with periodontal disease including *Porphyromonas gingivalis* one of the most important periodontal pathogens. At the time of periodontal infection, the balance of bacterial flora in the oral cavity become changed, so the species of pathogenic bacteria is grow and survive, even when confronted with the immune response.⁶ Lipopolysaccharide (LPS) is one of most important microbial virulence factors in generating a host-mediated periodontal tissue destruction than that, lipopolysaccharide is a potent stimulator of various inflammatory mediators, including IL-1 β and TNF- α .⁸

Tumor necrosis factor (TNF α) is reported have a role as a key to the pathogenesis of diabetes mellitus type 2. Research in animals and in vitro human, TNF- α inhibits the action of insulin. In animal and human cell models in vitro, TNF- α inhibits insulin. In one study, an increase in circulating levels of TNF- α is associated with insulin resistance and type 2 diabetes. Individuals with periodontitis disease have high TNF- α response, monocytes from individuals with diabetes and periodontitis release massive amounts of TNF- α .^{9,8}

Treatment of periodontitis with diabetes mellitus did not only include local factors, but also systemic factors such as handling blood sugar.⁷ Researchers showed that the local periodontitis treatment such as scaling and root planing histologically not indicate new connective tissue attachment.⁵ Periodontitis treatment of diabetes that has been done is the tissue surrounding dental treatments, antibiotics, and blood sugar control. While the primary pathological condition in people with diabetes

mellitus is a disorder of the healing process.^{10,11}

Sea cucumbers have long been used as a traditional medicine. One species of sea cucumbers which used as medicine is *Stichopus hermanii* that contains nutrients in wound healing, as an anticoagulant and antithrombotic, decrease cholesterol level and blood fat, anti-cancer, anti-tumor, immunostimulant, antirheumatic, antimalarials, antiviral, antifungal and antibacterial.¹² The content of omega-3 (EPA and DHA) in *Stichopus hermanii* can decrease cholesterol levels because infection of mix periodontopathogen bacteria and served to accelerate the healing of wounds and also as an anti-inflammatory that inhibits the production of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$.^{13,14} According to research of Rizal (2012)¹⁵, *Stichopus hermanii* is contained by flavonoids. The content of flavonoids as antioxidants that indirectly supporting anti-inflammatory effects by inhibiting the release of inflammatory mediators.^{15,16}

Sea cucumbers are one of the marine life that used in the health field. Sea cucumbers have shown a beneficial effect on periodontal therapy as well as patients with diabetes mellitus. In addition to cucumbers, one therapy that is emerging today is hyperbaric oxygen therapy (OHB).

Hyperbaric Oxygen Therapy (OHB) is a treatment in patients with giving 100% pure oxygen by inhalation method in hyperbaric hyperoxia at the air pressure of more than 1 atmosphere Absolute (ATA) and has been used as adjuvant therapy in various diseases.¹⁰

Hyperbaric Oxygen Therapy (OHB) shown a beneficial effect on periodontal tissues by increasing oxygen pressure in the pocket. In periodontitis

patients with diabetes mellitus who use OHB therapy there is decreased levels of malondialdehyde (MDA), which is one biomarker of oxidative stress.^{17,18} In addition, OHB therapeutic effects on monocytes and macrophages are causing disruptions to production of proinflammatory cytokines, resulting in a reduction in pro-inflammatory cytokines in conditions of oxidative stress.¹⁹

The research results of Fitria et al (2013),²⁰ cucumbers therapy for 7 days effectively decrease blood sugar levels as well as the golden sea cucumber is used as an antibacterial and antifungal in inhibiting the growth of bacteria. The research results of Prabowo et al (2014),²¹ OHB therapy 100% 2.4 ATA 3 x 30 minutes a day with a pause of 5 minutes for 7 days decreased blood sugar levels in diabetes mellitus type 2. It is necessary to investigate the combination of sea cucumber powder gold and OHB therapy against $\text{TNF-}\alpha$ expression in diabetes mellitus induced *P. Gingivalis* bacteria.

MATERIALS AND METHODS

The research is true experimental research with factorial design study. Parameters were examined in this study was the expression of $\text{TNF } \alpha$ in diabetes mellitus and periodontitis. The samples were 20 Wistar rats (*Rattus norvegicus* Wistar strain) were divided into five groups, where the selected criteria is the type males, aged 3-4 months with a body weight of 150-200 grams.

The tools used in this research is the syringe 5 cc and syringes 3cc, syringes insulin 1 mL, blood glucose test strips, gauges blood sugar, animal cages, food and drink rat, scales,

measuring cups and a stirrer, test tubes, test tube rack, micropipette, micro brush, glass, glass slide, surgical scissors, microscope, chamber of animals, immunohistochemistry kit.

Materials used nicotinamide 230 mg/kg, 200 mg canamycin, 200 mg ampicillin, 0.6% chlorhexidine gluconate, streptozotocin (to make the rats diabetes mellitus), 10% dextrose, citric acid buffer 0.05M pH 4.5, aluminum foil, bacteria *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, powder golden sea cucumber (*Stichopus hermannii*), phosphate buffered saline (PBS), 4.13% EDTA, xylol, TNF- α antibody (sc-52 746-Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), H₂O₂, aquadest, Wistar rats, Wistar rats standard food, beverages Wistar rats (ordinary tap water), 100% pure oxygen in a hyperbaric chamber.

The division of research subjects.

Those wistar rats were divided into five group: first, negative control group (K0); second, groups of diabetic periodontitis rats (K1); third, group of diabetic periodontitis rats with treatment golden sea cucumber (K2); fourth, groups of diabetic periodontitis rats with treatment of hyperbaric oxygen (K3); and five, groups of diabetic periodontitis rats with treatment combination golden sea cucumber and hyperbaric oxygen (K4).

Making the golden sea cucumber powder. Dissected sea cucumber to remove all visceral organs, then blow-dry sea cucumber using freeze dryer at a temperature of 2-8 ° C with a pressure of 5 mTorr. The dried sea cucumbers are weighed and then blended into a powder. Making the golden sea cucumber powder gel using a mixture of

sodium carboxymethylcellulose (CMCNa) 2%.²²

Diabetes Induction procedures for Wistar rats. Day 7 after adaptation, induction of streptozotocin (STZ). DM induction is done by giving nicotinamide (NAD) of approximately 230 mg / kg, dissolved in the liquid PBS 10 minutes and then given STZ intra-peritoneal for 15 minutes injected a single dose of 65 mg / kg in rat that had fasted overnight between 8-12 hours. Then rats were incubated for 7 days. Otherwise DM rats when blood glucose levels over 220 mg / dl.²³

Procedure Premedication before induction of bacteria. All the rats were given canamycin (20 mg) and ampicillin (20 mg) daily for 4 days in drinking water, and oral cavity swabbed with 0.12% chlorhexidine gluconate as antiseptic.²⁴

Procedure Preparation and Induction Bacteria. Induction of bacteria using ATCC *P.gingivalis* imposing 33277 with 2 ml of 1 x 10⁹ cells / ml of live bacteria in PBS, and peroral administration. Most bacteria applied using cotton bud along the gingival sulcus and inserted of anal to the colorectal region with syringe canula. Then incubation for 3 weeks since giving bacteria counted first.²⁵

After the rats in the induction of STZ and *P.gingivalis* bacteria, rats were given a therapeutic treatment. For K2 and K4 given group therapy treatment gel golden sea cucumber powder 3% applied topical as much as 0.1 mg / day for 7 days using microbrush on inflamed sulcus gingival. K3 and K4 group treated OHB therapy, administration of 100% oxygen 2.4 ATA 3 x 30 minutes a

day with a pause of 5 minutes for 7 days.^{26,21}

On day 8 after therapy gel golden sea cucumber and OHB, all groups were sacrificed then performed euthanasia by the neck (cervical) dislocation, the dosage is taken on the part of the mandible. After that, do the decalcification phase part of the mandible for 4 weeks using 4.13% EDTA. Furthermore, the tissue processing and staining by immunohistochemistry (IHC) was performed using the streptavidin-biotin-peroxidase labeled streptavidin-biotin (Dako, Carpinteria, USA), and then observed using a microscope with 1000x magnification and calculated as much as 20x field view.

Data were analyzed using parametric statistical test one way ANOVA, with a test for normality using the Shapiro-Wilk test, then continued homogeneity statistic test using Levene test. Then the calculation results

compared (comparing the expression of TNF- α in each treatment group).

RESULT

Before doing hypothesis test between groups, first of all each group tested the normality by using statistical test of Shapiro-Wilk, because in this study sample size <50 and the results obtained is Shapiro-Wilk test has a significant value of $p > 0.05$, so that the distribution of data on this research is abnormal.

Table 1. The average and expression deviation standard of TNF- α in each group

Group	Average $\pm$ Deviation Std.
K0	5.00 $\pm$ 0.816
K1	11.50 $\pm$ 1.291
K2	2.50 $\pm$ 0.577
K3	8.25 $\pm$ 2.217
K4	3.00 $\pm$ 0.816

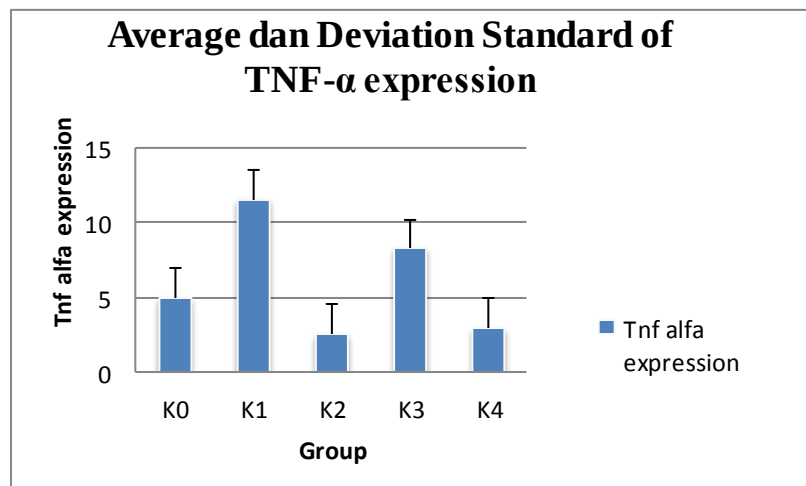


Figure 1. Average and Deviation Standard of TNF- α expression in each group

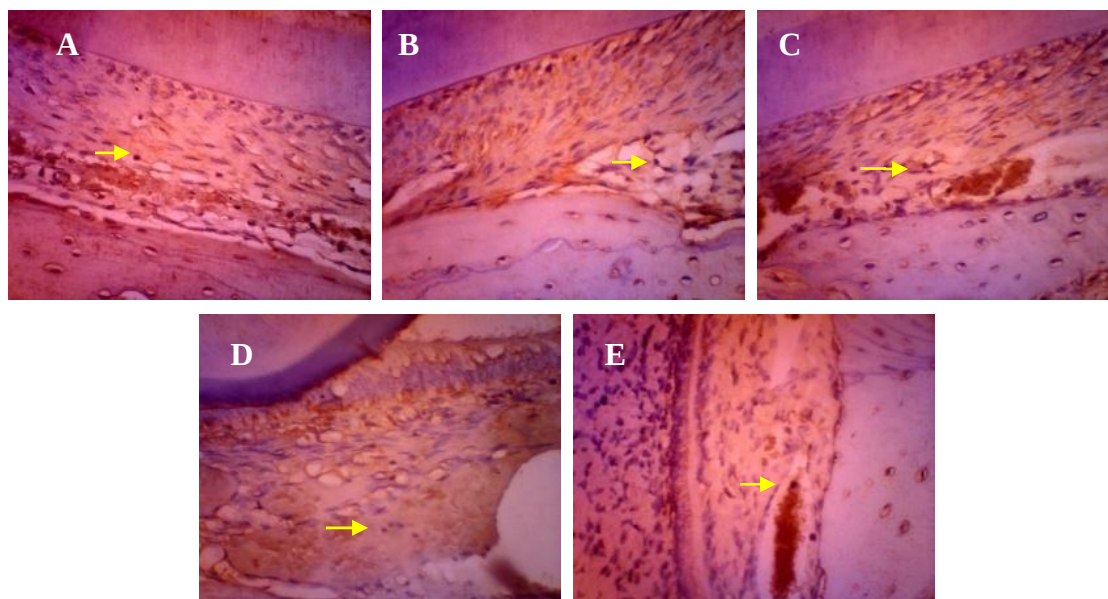


Figure 2. TNF- α expression in macrophages in the periodontal ligament rat (*Rattus norvegicus*) with 400x magnification. A. K0 (normal); B. K1 (diabetes + bacteria); B. K2 (diabetes + bacteria + sea cucumbers); D. K3 (diabetes + bacteria + OHB); E. K4 (diabetes + bacteria + OHB + sea cucumber). Expression of TNF- α are marked with brown color in macrophages (arrows).

It was found that the expression of TNF- α have variances were not homogenous because $p = 0.041$ ($p < 0.05$). Therefore, it can be concluded that there is a difference of variance between sets of data are compared.

The research data were not normally distributed, and found that the data are not homogeneous, then doing non parametric Kruskal Wallis hypothesis test to determine the expression of TNF- α .

Table 2. *Kruskal Wallis* test Result

	Sig.
TNF- α expression	0.002

In the table 2. obtained significance value of 0.002 ($p < 0.05$). It shows a significant difference in each group under these conditions, followed by Mann-Whitney test to find out where is the difference in each group with a significance level $P < 0.05$.

Tabel 3. *Mann-Whitney* test Result

	K0	K1	K2	K3	K4
K0		0.020*	0.019*	0.028*	0.027*
K1			0.019*	0.059	0.020*
K2				0.019*	0.343
K3					0.020*

*there is significant difference

DISCUSSION

Nicotinamide (NAD) is an antioxidant which exerts protective effect on the cytotoxic action of STZ by scavenging free radicals and causes only minor damage to pancreatic beta cell mass producing type 2 diabetes.²³

Streptozotocin is a drug that has a specific toxicity in pancreatic β cells. Streptozotocin cause DNA alkylation and β cell death because STZ enter cells through the glucose transporter GLUT2, toxic mechanism is not specific for β

cells and can cause damage to other tissues including the liver and kidneys.^{27,28} Damage to the pancreatic beta cells causes the body can not produce insulin, causing blood glucose levels to rise (a state of hyperglycemia). Conditions of hyperglycemia can result in the formation of reactive oxygen species (ROS) which would then trigger an active nuclear factor kappa β (NF κ β) that play a role in the increased production of pro-inflammatory cytokines.^{23,29} According to research from Swaroop et al (2012)³⁰ showed that TNF- α can play a potentially important pathophysiological role in the development of insulin resistance. Results of research on groups of bacterial-induced diabetic rats found increased expression of TNF- α compared with normal rats, it was shown that the group of bacterial-induced diabetic rats occurred diabetes.

Porphyromonas gingivalis is an anaerobic gram-negative rod bacteria and include black-pigmented bacteria, these bacteria cause inflammation and tissue damage in diseases periodontal.^{31,32} *P.gingivalis* get into crevices using fimbriae and attached gingival epithelial cells digingiva, proteases have the ability to destroy periodontal tissue directly or indirectly, and LPS can cause inflammatory responses and resulting in the production of cytokines in periodontal tissue, cause the activation of genes and cause bone damage alveolar.^{31,6} Based on the results of the research showed that there were significant differences ($p=0.020$) on TNF- α expression between groups of normal rats and a group of bacterial-induced diabetic rats (see Table 5). The test results showed that the expression of TNF- α in the group of bacterial-induced diabetic rats

($11:50 \pm 1.291$) increased compared with normal rats (5.00 ± 0.816), this is due to streptozotocin-induced rats to make samples of rats became diabetic and bacteria capable *P.gingivalis* inducing the sample into periodontitis.

Some research it is known that the golden sea cucumber (*Stichopus hermanii*) as a potential therapy in the field of dentistry, besides the golden sea cucumber (*Stichopus hermanii*) itself has long been used as a traditional medicine. Golden sea cucumber powder used on research using the golden sea cucumber (*Stichopus hermanii*) which are found in waters of Indonesia.³³

Based on the results of the research showed that there were significant differences on the expression of TNF- α between groups of normal rats, groups of bacterial-induced diabetic rats and rats treated groups of sea cucumbers (see table 5). The test results showed that the expression of TNF- α in groups of rats treated cucumbers decreased compared to the group of normal rats and a group of diabetic rats induced bacteria, because the content of the golden sea cucumber that is therapeutic as it helps wound healing, antibacterial, antifungal, antitumor, antianaphylactic, anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant.³⁴

Teripang gold (*Stichopus hermanii*) examined contains the active ingredient antibacterial, antifungal (antifungal), antitumor and anticoagulant (anti-clotting) and it also contains compounds that can reduce cholesterol and lipid, anticancer and antitumor compounds, as well as antibacterial compounds.³⁵ Golden sea cucumber has a various kinds of content, one of the active ingredients of the golden sea cucumber is Triterpenoid

strong role as an immunostimulatory. In general Triterpenoid group capable of damaging the cell membrane, deactivate enzymes and proteins denature so that the cell wall is damaged due to a decrease in permeability. Changes permeability of the cytoplasmic membrane allows ions important organic entry into the cell resulting in poor growth and even to kill cells.^{36,35} In addition, the gold content of sea cucumbers that PUFAs (DHA and EPA) may block the formation of prostaglandins and proinflammatory cytokines (IL-6, IL-1 β and TNF- α).^{37,38}

Hyperbaric oxygen increases the formation of oxygen free radicals, then oxidize proteins and lipid membranes of bacteria, destroys DNA and inhibits bacterial metabolic functions. The enzyme superoxide dismutase, catalase, glutathione and glutathione reductase inhibiting free radical formation, until the oxygen concentration exceeded enzyme concentration.³⁹ Based on the results of the research showed that there were significant differences between groups of normal rats and rats treated group OHB, but there is no significant difference between groups of bacterial-induced diabetic rats and rats treated group OHB. The test results obtained by the expression of TNF- α in groups of rats treated group OHB increased compared to normal rats, but decreased the expression of TNF- α in groups of rats treated OHB compared with bacterial-induced diabetic rats.

Based on the results of the study showed that there were significant differences between groups of bacterial-induced diabetic rats and mice combination treatment group due to the content of one of the golden sea cucumber are flavonoids that act as antioxidants and indirectly support the

anti-inflammatory effects by inhibiting the release of mediators inflamasi.¹⁶ Penurunan expression TNF- α at 2.4 ATA hyperbaric oxygen 100% oxygen 3x30 minutes with 5 minute intervals for 7 days clinically recommended, because it can lower blood sugar levels, mRNA expression and activity of antioxidant enzymes significantly.^{21,40,26}

CONCLUSSION

According to the research, it can be concluded that there is the influence of the golden sea cucumber powder 3% and hyperbaric oxygen therapy 3 x 30 minute interval of 5 minutes for 7 days on the expression of TNF- α in rats with diabetes mellitus induced by the bacterium *Porphyromonas gingivalis*.

REFERENCE

1. Malik G, Lehl G, Talwar M. 2011. Association Of Periodontitis With Diabetes Mellitus: A Review. *Journal of Medical*. 1 (1): 14-10. Available from <http://gmch.nic.in/journalgmch/Archives/5%20Review%20article-%20Periodontitis%20with%20Diabetes%20mellitus.pdf>. Diakses 7 April 2015.
2. Akhila S and Malaipappan S. 2014. Periodontitis and Diabetes- A Two Way Connection. *Journal of Dental and Medical Sciences* e-ISSN: 2279-0853, p-ISSN: 2279-0861, 13 (1): 61-58.
3. Petersen PE and Ogawa H. 2005. Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach. *J Periodontol*, 76(12): 2193-2187.
4. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, Taylor R. 2012. Periodontitis and Diabetes: A Two-Way Relationship. *Diabetologia*. PMID: PMC3228943, 55(1): 8-1.
5. Newman MG, Takei HH, Takei HH, Klokkevold P, Carranza F. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology*, 11th ed.,

- Philadelphia : WB Saunders Company. P. 43-41.
6. Morran MP, Alexander LA, Slotterbeck BD, McInerney MF. 2009. Dysfunctional Innate Immune Responsiveness to *Porphyromonas* Gingivalis Lipopolysaccharide in Diabetes. *Oral Microbiol Immunology*, 24: 339-331.
 7. Anil S, Varma SV, Preethanath RS, Anand PS and Al Farraj A. 2012. The Emerging Concepts on The Impact of Periodontitis on Systemic Health. *Periodontal Disease – A Clinician's Guide*. ISBN : 978-953-307-818-2. P. 164-131.
 8. Jiang Z, Cui Y, Gao R, Lia Y, Fuc Z, Zhang B, and Guan C. 2013. Study of TNF- α , IL-1 β and LPS Levels in The Gingival Crevicular Fluid of A Rat Model of Diabetes Mellitus and Periodontitis, 34: 304-295.
 9. Engebretson S, Chertog R, Nichols A, Hey-Hadavi J, Celenti R and Grbic J. 2007. Plasma Levels of Tumour Necrosis Factor- α in Patients With Chronic Periodontitis and Type 2 Diabetes. *J Clin Periodontol*, 34: 24-18.
 10. Mulawarmanti D. 2008. Profil cAMP, NF- $\kappa\beta$, HIF-1 α , i-NOS, dan MMPs Jaringan Periodontal Tikus Wistar Pada Kondisi Hiperglikemia yang Dipapar Hiperoksia Hipebarik. Disertasi. Surabaya : Program Pascasarjana Universitas Airlangga 2008.
 11. Gurdol F, Cimsit M, Oner-Iyidogan Y, Kocak H, Sengun S, and Yalcinkaya-Demirsoz S. 2010. Collagen Synthesis, Nitric Oxide and Asymmetric Dimethylarginine in Diabetic Subjects Undergoing Hyperbaric Oxygen Therapy. *Physiol*, 59: 429-423.
 12. Farouk AE, Ghouse FAH and Ridzwan BH. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. ISSN 1553-3468. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3(2): 65-60.
 13. Sari RP and Revianti S. 2011. The activity of *Stichopus hermannii* extract on triglyceride serum level in periodontitis. *Dental Jurnal Majalah Kedokteran Gigi*, 44(2): 110-106.
 14. Calder PC. 2006. Long-chain Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammation. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*, 50(S2): 61-54.
 15. Rizal MB. 2012. Komposisi Senyawa Organik dan Anorganik Teripang Pasir dan Teripang Emas yang Berperan dalam Proses Pulp Healing. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya. Indonesia.
 16. Hidayati NA, Listyawati S and Setyawan AD. 2008. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol *Lantana camara* L. pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan. ISSN: 0216-6887. *Bioteknologi*, 5(1): 17-10. Available from <http://biosains.mipa.uns.ac.id/C/C0501/C050102.pdf>. Diakses 2 April 2015.
 17. Nogueira-Filho GR, Rosa BT, and David-Neto JR. 2010. Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy on The Treatment of Severe Cases of Periodontitis. *Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc*: 37(2): 114-107.
 18. Mulawarmanti D and Widayastuti. 2008. Effect of Oxygen Hyperbaric Therapy on Malondialdehyde Levels in Saliva of Periodontitis Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Dental Jurnal Majalah Kedokteran Gigi*, 41(4): 156-151.
 19. Thom SR. 2011. Hyperbaric Oxygen-Its Mechanism and Efficacy. *PlastReconstr Surg*, 127(1): 141s-131s. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3058327/>. Diakses 21 Maret 2015.
 20. Fitriah, Theodorus dan Kamaluddin MT. 2013. Efek pemberian serbuk teripang (*Stichopus Variegatus*) jangka panjang terhadap kadar gula darah tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Hiperglikemik. *MKS*, 45(1): 10-5.
 21. Prabowo Sulistiana, Nataatmadja Maria, Poernomo Hadi Janto, Dikman Irmawati, Handayani Fitri, Tehupuring Sihning E. J., Soetarso I, Iswahyudi, Suryokusumo Mohammad Guritno, Aulanni'am Aulanni'am, Herawati Anita, West Malcolm. 2014. Hyperbaric Oxygen Treatment in a Diabetic Rat Model Is Associated with a Decrease in Blood Glucose, Regression of Organ Damage and Improvement in Wound Healing. *Health*, 6, 1958-1950. Available from <http://dx.doi.org/10.4236/health.2014.615228>
 22. Mulawarmanti D, Parisihni K, Wedarti YR. 2014. Catalase Activity of Sea Cucumber Extract (*Stichopus hermannii*) to Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis*. *Regional Oral Biology Scientific Meeting 2014*. Central Library, Universitas Indonesia. P. 30-26.
 23. Srinivasan K and Ramarao P. 2007. Animal models in type 2 diabetes research: An

- overview. Indian J Med Res. 2007 March; 125: 472-451.
24. Kesavalu L, Sathishkumar S, Bakthavatchalu V, Matthews C, Dawson D, Steffen M, and Ebersole JL. 2007. Rat Model of Polymicrobial Infection, Immunity, and Alveolar Bone Resorption in Periodontal Disease. American Society for Microbiology. INFECTION AND IMMUNITY. 75(4): 1712-1704. doi:10.1128/IAI.00733-06.
 25. Praptiwi. 2008. Inokulasi Bakteri dan Pemasangan Cincin Ligatur untuk Induksi Periodontitis pada Tikus. Majalah Kedokteran Gigi, 15(1) : 84-81.
 26. Harnanik T. 2008. Efek Oksigenasi Hiperbarik Terhadap Peningkatan Aktivitas Antioksidan pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. Tesis. Surabaya: Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga. P. 87.
 27. Lenzen S. 2007. The mechanism of Alloxan and Streptozotocin induced Diabetes. Diabetologia (2008), 51 : 226-216.
 28. Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS, DA Gastineau, HJ Hiddinga, A Jahangir, NL Eberhardt, and YC Kudva. 2011. Single Dose Streptozotocin Induced Diabetes: Considerations for Study Design in Islet Transplantation Models. Lab Anim, 45(3): 131–140. doi: 10.1258/la.2010.010090. PMID: PMC3917305. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3917305/>. Diakses 11 Januari 2016.
 29. Mealey BL and Thomas WO. 2006. AAP-Commissioned Review Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. Journal Periodontol, 77 (8): 1303-1289. doi: 10.1902/jop.2006.050459.
 30. Swaroop JJ, Rajarajeswari Dand J.N. Naidu. 2012. Association of TNF- α with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. Indian J Med Res, 135: 130-27.
 31. Kimura S, Ohara-Nemoto Y, Shimoyama Y, Ishikawa T and Sasaki M. 2012. Pathogenic Factors of P. gingivalis and the Host Defense Mechanisms. ISBN 978-953-307-924-0. P. 17-1.
 32. Hussain M, Stover Cordula M, and Dupont A. 2015. P.Gingivalis in periondontal disease and atherosclerosis—sense of action for antimicrobial peptides and complement. Mini Review Article. 2015 February; 6(45): 5-1.
 33. Bordbar S, Anwar F, and Saari N. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods—A Review. Mar. Drugs. 2011 October 10; 9: 1761-1805. doi:10.3390/md9101761. ISSN 1660-3397.
 34. Shahrulazua A, Samsudin AR, Iskandar MA, Amran AS. 2013. The In-Vitro Effects of Sea Cucumber (Stichopus sp1) Extract on Human Osteoblast Cell Line. Malaysian Orthopaedic Journal, 7(1): 41-8. Doi: <http://dx.doi.org/10.5704.MOJ.1303.015>.
 35. Roihanah S, Sukoso, Andayani S. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In vitro*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
 36. Winarni D, Handono CD, Sugiharto. 2013. Efek Imunostimulatori Beberapa Fraksi Teripang Lokal *Phyllophorus* sp terhadap Histopatologi Limpa Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Available from <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/Cipto%20Dwi%20Handono.PDF>. Diakses 13 April 2015.
 37. Kordi MGH. 2010. A to Z Budidaya Biota Akuatik untuk Pangan, Kosmetik dan Obat-obatan. Yogyakarta: Lily Publisher. H. 18.
 38. Heba El Bialy, Ola MG, and Khaled SA. 2011. Conversion of oil waste to valuable fatty acids using Oleaginous yeast. World J Microbiol Biotechnol, 27: 2791-98. Available from http://www.academia.edu/723079/Conversion_of_oil_waste_to_valuable_fatty_acids_using_Oleaginous_yeast. Diakses 4 November 2015.
 39. Wibowo A. 2015. Oksigen Hiperbarik: Terapi Penyembuhan Luka. Int. J. Unila, 5 (9): 128-124. Available from <http://download.portalgaruda.org/article.php?article=328322&val=5503&title=Oksigen%20Hiperbarik:%20Terapi%20Percepatan%20Penyembuhan%20Luka>. Diakses 12 Desember 2015.
 40. Matsunami T, Sato Y, Yuki H, Satomi A, Haruka K, Takuya S, Masayoshi Y. 2011. Original Article Enhancement of reactive oxygen species and induction of apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure. Int J Clin Exp Pathol, 4(3) : 266-255. Available from <http://www.ijcep.com/IJCEP1101009>. Diakses 14 Januari 2016.

RESEARCH ARTICLE

The Secondary Metabolites Screening and the Effectiveness (*Ananas comosus* (L.) Merr of the Queen Pineapple Stems in Decreasing the Number of *Enterococcus faecalis*'s Colonies

Shinta Nurmaraya Febrianti*, Twi Agnita Cevanti**, Henu Sumekar**

* Undergraduate Dentistry Faculty Hang Tuah University Surabaya

** Conservation Department of Dentistry Faculty Hang Tuah University Surabaya

ABSTRACT

Background: A cause of endodontic treatment failure was sterilization process error so that bacterias still left in the root canal. *Enterococcus faecalis* were resistant to sterilization medicines, it was necessary to develop natural sterilization medicines such as the Queen pineapple stems that had the antibacterial content. **Purpose:** The aim of this research was to determine the effectivity of the Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stems extract in decreasing the *Enterococcus faecalis*'s colonies. **Materials and Methods:** This research was true experimental with the post test only control group design. The Queen pineapple stems extract tested its secondary metabolites contents. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 cultured in Brain Heart Infusion Broth synchronized with Mc Farland 0,5 solution and divided into seven groups (n=7). It used dilution series method, each BHIB tube given by the 100% extract (P1); 50% (P2); 25% (P3); 12,5% (P4) ; 6,25% (P5) ; 3,125% (P6) and without the extract (K(-)), incubated for 24 hours and streaked on Mueller Hinton Agar and incubated for 24 hours, then calculate the colonies' amount of each group. Datas analyzed by Mann-Whitney U-Test because only 50% and 25% concentration can be calculated. **Result:** The result showed that the Queen pineapple stems contained flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, also there were significant differences among the 50% and 25% concentration groups $p < 0.05$. **Conclusion:** The Queen pineapple stems extract's 50% concentration was effective to decrease the number of *Enterococcus faecalis*'s colonies.

Keywords: Endodontic failure, *Enterococcus faecalis*, *Ananas comosus* (L.) Merr., antibacterial, sterilization.

Correspondence: Twi Agnita Cevanti, Department of Conservation, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150 Surabaya, Phone 031-5945864, Email: twicevanti2873@gmail.com

BACKGROUNDS

Endodontic is the part of dentistry involving the diagnosis and the treatment of disease or injury in pulp tissue and periapical tissue. Conventional endodontic divided into three main stages, there are (1) the biomechanical preparation of the root canal (cleaning and shaping), (2) disinfection of the root canal, and (3) the root canal obturation. The endodontic treatment goal is to reduce or eliminate microorganisms and their products from root canal so that teeth can be maintained as long as possible in the mouth and restore the aching teeth to be accepted biologically by the surrounding tissue.^{1,2}

The existence of endodontic treatment failure can be caused by (1) irritation apical tissue fluids that infected in root canal filled not hermetic [63,46%], (2) error while maintenance [14,42%], and (3) error while diagnosis [22,12%].³ Root canal treatment failure is also often caused by errors on the sterilization procedure. One of the sterilization procedure is eliminating the gram-positive organisms.⁴

Biomechanical preparation and root canal irrigation are very important to reduce the number of bacteria during endodontic treatment. They also need to be supported by the administration sterilization because it will help to eliminate bacteria remain after the preparation or at least inhibit the recurrent infection in root canal treatment between visit⁵, neutralize the remnants of debris in root canal, control and prevent pain.⁶

The bacteria that are commonly found in root canal are anaerobic, microaerophile, facultative and obligate anaerobic bacteria⁷, one of them is *Enterococcus faecalis* that is the most commonly found (77%).⁸ Based on research of Gomes *et al*, from the 53 species of bacteria in 60 kind of root canal, bacteria that is most commonly found in root canals with endodontic failure is *Enterococcus faecalis* (27%).⁹

One of plants that have the potential as a natural root canal sterilization medicine is pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) that is widely cultivated in Indonesia subtropical, especially from Queen varieties.¹⁰ Pineapples have very complex content, rich in mineral both macro and micro, organic substances, water and vitamin. It also contains fiber, chlorine, iodine, phenols, magnesium, sodium, potassium, bromelain enzymes, flavonoids, and saponins.^{11,12,13,14} Antibacterial contents of pineapples are bromelain enzymes, flavonoids and saponins.

Bromelain enzymes are the only nutrient can only be found in pineapple plant, which is in the stem, bark, leaves, fruit or stems in different quantities.^{15,11} Bromelain bromelain enzymes in the form of condensed extract are most numerous on the stems, which is about 0,1% to 0,6%.¹⁶ Therefore, in this study, part of the pineapple plant that will be used are the stems. Based on explanation above, it's necessary to know the effects of Queen pineapple stems extract as an alternative medicine root canal sterilization in inhibiting the growth of *Enterococcus faecalis* bacteria.

MATERIAL AND METHODS

The research was true experimental with the post test only control group design.

The parameters were seen in this study are a secondary metabolite content of qualitative and quantitative Queen pineapple stem extract, also the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies that growing on *Mueller Hinton Agar* (MHA) media after being treated. The treatment group in this study were divided by the concentration of the extract stem *Ananas comosus* (L.) Merr. Queen, the group P1 is 100% concentration; P2 is 50% concentration; P3 is 25% concentration; P4 is 12.5% concentration; P5 is 6.25% concentration; P6 is 13.125% concentration; and K (-) is without giving Queen pineapple stem extract.

The procedure begins with the preparation of the stems *Ananas comosus* (L.) Merr obtained from Pineapple Plantation, Kediri. A kilogram of dried stem was extracted using 95% ethanol by maceration for 3 days (flushed every day). Then the extract is filtered using filter paper (1st filtrate) and the rest was re-extract using 95% ethanol and then filtered (2nd filtrate). Furthermore, the 1st and 2nd filtrate were collected, evaporated by the evaporator at 70°C until the volume becomes $\frac{1}{4}$ of the initial volume and followed by drying in a water bath until it becomes a condensed extract.

Condensed extract was divided into three to test the qualitative and quantitative secondary metabolites content, and also the sensitivity test of bacteria. Secondary metabolite content test was done at the Laboratory of Phytochemistry, Widya Mandala

Catholic University Surabaya, which includes examination tannins, alkaloids, saponins and total flavonoids. Qualitative secondary metabolite content test is done by inserting the sample extract stem *Ananas comosus* (L.) Merr tubes with the addition of different reagents for each compound test.^{17,18} Quantitative secondary metabolites content of total flavonoids was done using spectrophotometry.¹⁹

The next step is the extract dissolved in DMSO 1% to obtain the desired concentration. Furthermore, Queen pineapple stem extract stir until mixed with the solvent using a vortex for 10 seconds. After that, it sterilized and filtered with a 0.45 μ m diameter of syringe microporus membrane to maintain the purity and contamination of other microorganisms in the Queen pineapple stem extract.

The *Enterococcus faecalis* bacteria ATCC 29212 was obtained from the Center for Clinical Microbiology Laboratory of Health, Surabaya that cultured in Brain Heart Infusion (BHI) media liquid that has been incubated for 24 hours at 37°C in an anaerobic atmosphere. Turbidity of *Enterococcus faecalis* bacteria suspension equated with Mc Farland 0.5 standard to obtain a bacterial suspension containing 1,5x10⁸ CFU/mL with the naked eyes by holding the test tube side by side and looked at the black-white striped background. If the turbidity of the bacterial suspension is still not the same, the bacteria suspension was diluted or given additional bacteria, then homogenized with *sentrifuge*.²⁰

The next stage is *Enterococcus faecalis* inoculation from BHI liquid media that has been synchronized with a Mc Farland 0.5 solution turbidity (a

bacterial suspension containing 1.5×10^8 CFU/mL), and then wipe the bacterial culture on the entire surface of the MHA media by using a sterile swab.

The determination of the concentration from the ingredient pineapple stem extract (*Ananas comosus* (L.) Merr) Queen of the decrease in the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies and bacterial sensitivity test was using dilution series/dilution.²⁰ First, prepare the sterile tube and labeled P1, P2, P3, P4, P5, P6 and K-. Each tube is filled with liquid BHI media (0.5 mL). Queen pineapple stem extract with 100% concentration on the tube inserted into the P1 tube until 1 mL. A half mL of P1 tube is inserted into the P2 tube up to 1 mL. The dilution from the second tube is $\frac{5}{10} = \frac{1}{2} = 50\%$. Furthermore, from P2 tube was taken 0.5 mL then inserted into the P3 tube so that the dilution is $\frac{1}{4} = 25\%$. In the same way, done until P6 tube, and the 0.5 mL of P6 tube removed. K- tube is the negative control containing liquid BHI media. After the serial dilution finished, put 0.01 mL *Enterococcus faecalis* inoculum on P1 tube until the K- tube. Then, each tube was incubated for 24 hours at 37°C. The reading of the results of serial dilution of material on the growth of *Enterococcus faecalis* bacteria, by visual observation by an expert observer who observes the presence or absence of growth characterized that signed with turbidity or sediment. The dark colored and turbidity of extract material occurs in all the tubes, then streak in each tube by taken 1 osse and implanted in MHA media. Incubating at 37°C for 24 hours, and then observing the growth

of bacteria from streak results and count the number of colonies grow was done manually by creating a line of boxes in petridish and expressed as CFU.

RESULT

The results of the qualitative and quantitative secondary metabolites test and a sensitivity test *Enterococcus faecalis* bacteria to the Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem extract with 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25 and 3.125% concentration and 1% DMSO solution as a control. They were analyzed descriptively that aims to obtain a picture of the distribution and summarizing data to clarify the presentation of the results, then the hypothesis test using *Mann-Whitney U* test with 95% significance level ($p=0,05$) by using SPSS 16.0 version.

Table 1. The results of the secondary metabolites Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem extract.

Compound	Note	Presentage (%)
Flavonoids	Positive	0,00033525
Alkaloids	Positive	*
Saponins	Positive	*
Tannins	Positive	*

Note: *not tested

Based on table 1, Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem extract has the antibacterial content that can decrease the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies.

Table 2. Mean and deviation standard of Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem extract concentration in decrease the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies

Concentration of Extract	Replication	Mean (CFU/mL) $\pm$ Deviation Standard
100% (P1)	7	*
50% (P2)	7	2076.29 $\pm$ 1.512
25% (P3)	7	1.95E4 $\pm$ 1.329
12,5% (P4)	7	∞
6,25% (P5)	7	∞
3,125% (P6)	7	∞
DMSO 1% (K(-))	7	∞

Note: *there is not a bacterial colonies growth

∞ : Can't be calculated

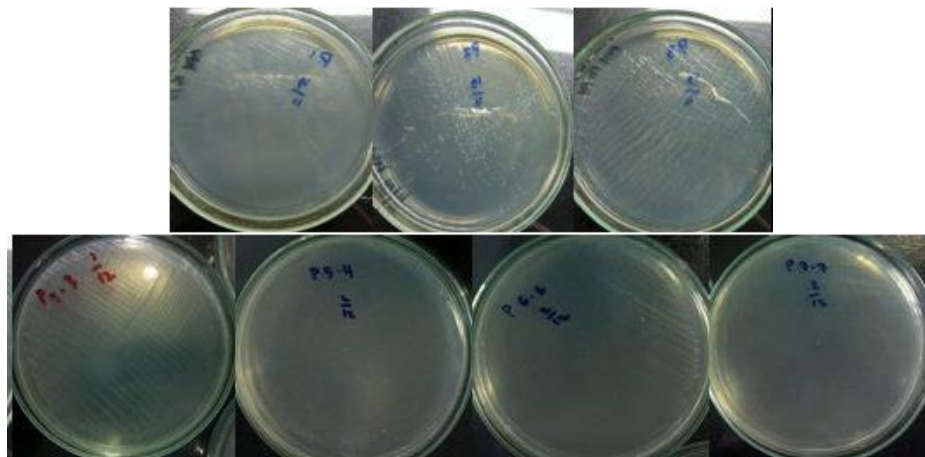


Figure 1. The number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies in MHA media of P1 group (100%) is not found the growth of bacterial colonies, in P2 group (50%) were found the growth of bacterial colonies that far fewer than in P3 group (25%), and in P4 group (12,5%0%), P5 group (6,25%%), P6 group (3,125%), K(-) group (DMSO 1% can not be calculated manually or with Quebec Colony Counter (QCC) because the number of bacterial colonies are too many.

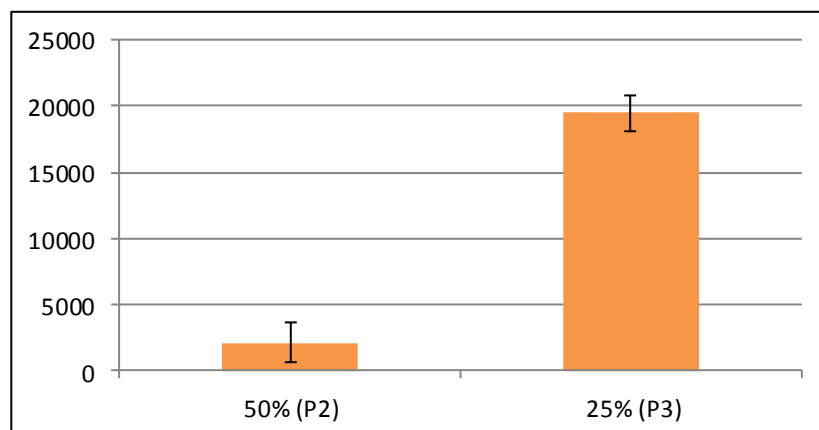


Figure 2. The concentration mean bar chart of Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem extract concentration that were the most effective in decreasing the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies.

Based on figure 1 and figure 2, it appears the decline in the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies that is quite dramatically in the 50% compared to 25% Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem extract.

Test of normality is using the Shapiro-Wilk because the samples used are ≤ 50 with significant value 0,05.²¹

Shapiro-Wilk test results show that the data distribution is not normal ($p < 0,05$). Therefore, it followed by non-parametric tests using the Mann-Whitney U Test, as this study has two groups, unpaired and have a numerical measurement scale.

The results of Mann-Whitney U test show a significant value different that is 0,002 ($p < 0,05$). This shows a significant difference between the treatment groups. It can be concluded "there is a significant difference in the mean reduction in the number of the *Enterococcus faecalis* bacterial colonies between the 50% and 25% concentration group".

DISCUSSION

The main cause of endodontic failure is the ability of microorganisms to survive in the apical root canals that have been treated the endodontic treatment.²² Root canal sterilization medicine administration is an important step in killing the bacteria in the root canals.²³ *Enterococcus faecalis* is a bacteria that can survive in the root canals after endodontic treatment because of the factors virulent.²⁴ The samples used in this study is the *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 bacteria, because it is based on the research of Subbiya et.al. that have similar virulence to the

Enterococcus faecalis that isolated from the root canal.²⁵ Because of the virulence of *Enterococcus faecalis* ability in root canals, it is necessary to develop the materials sterilization from the natural ingredients such as Queen pineapple.

The test materials used in this study is Queen pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) stem obtained in Pineapple Plantation Kediri that were ripe and fresh because it contains the bromelain enzyme which is more than the pineapple fruit that still green or unripe. Election on the pineapple stems as the test material because in the form of condensed extract, the content of bromelain enzymes are most commonly found in pineapple stems those are as much as 0,1-0,6%.¹⁶ Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extracted by maceration method using ethanol 95%. It aims to release antibacterial compounds both polar or non-polar.²⁶ After obtained the 100% Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract with thick and dense consistency, extract divided to secondary metabolite content of qualitative and quantitative test, and then the rest will be split into several concentration by using DMSO 1% solvent.

The secondary metabolite content test which done are a qualitative tests contain tannins, alkaloids and saponins, and also the quantitative test contain total flavonoids. The qualitative test of tannins, alkaloids and saponins showed the positive results, as well as the quantitative test of total flavonoids obtained 0,00033525 %.

The initial concentration of Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract studied were 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25% and 3,125%

refers to research of Anwari and Azizah using the dilution series/dilution method.^{27,28,29} Dilution method can determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC).²⁹

In this study can not be determined the limit of MIC and MBC for the Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract were too thick and turbid. So that in BHI broth media can not be seen the turbidity in front of the black line visually, which is to determine the limits of MIC. From the results of streak from BHI broth media to MHA media, the concentration of Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract that was not found the growth of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies was at 100% concentration group. However, 100% can not be determined as the limit concentratin of MBC because the concentration distance is too far from 50% to 100%. To be more precise in determining the limits of MBC, 100% concentration thinned back into some concentration to reach 50% concentratin.

Although it can not be determined the MIC and MBC limits of Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract, from the results of streak at BHI broth media to MHA media n be found a decrease in the number of *Enterococcus faecalis* bacterial colonies quite dramatically at 50% to 25% concentration. At 12,5%; 6,25%; 3,125% concentration and negative controls can not be calculated manually or with QCC because the amount is too many.

The results show that the greater the concentration of Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract, the greater the decrease in the number of

Enterococcus faecalis bacterial colonies. This is expected because of the greater the concentration used, the content of antibacterial in the extract even greater.

Infected root canal is a condition where the nutrition is inadequate, there are toxins from other bacteria and invasion of endodontic sterilization medicine. In this condition, *Enterococcus faecalis* lost the ability to grow and develop but remain alive, and pathogenic or often called *Viable but Nonculturable* (VBNC) phase. *Enterococcus faecalis* form the protein-collagen (Ace) bonding which act as an adhesion in root canals.^{30,31} The bromelain enzymes as a proteolytic enzyme, capable of breaking the salivary proteins bond in the collagen that used by bacteria as an attachment media becomes binding peptides and amino acids,^{12,32,33} which can lower the surface tension of the bacteria cell wall that cause the cell wall are not selective in passing solutes and other substance that may change physical and chemical properties of the cell membrane and preventing their normal functioning so as to inhibit and kill the bacteria.¹²

The flavonoid compound has the ability to inhibit bacterial growth by causing damage to the bacterial wall permeability, microsomes and lysosomes as a results of the interactions of flavonoids with bacterial DNA.³⁴ Inhibit ability of these flavonoid compounds can prevent *Enterococcus faecalis* resistance. These resistance genes obtained from DNA mutations or acquisition of new genes through the transfer of plasmids and transposons, and stored in the plasmid that can be transferred at any time.³⁵

Although saponins do not attack *Enterococcus faecalis* virulence directly, they can inhibit the growth of bacteria by destroying the cell wall surface. Saponins can cause the leakage of proteins and enzymes from within cell, lowering the surface tension of bacterial cell wall and membrane permeability damage with insert the aglycon into the lipid bilayer so that creating pores with diameter of 40 to 50 Å. Saponin also bind the cytoplasmic membrane that disturb and reduce the stability of the cell membrane that eventually led to the cytoplasm to leak, so that substances inside the cell were out and lead to cell death.^{36,37}

Tannins work by interfering with synthesis of peptidoglycan so that the forming of cell walls become less perfect. This condition will cause damage to the cell wall or cell membrane permeability loss, so that the entry and exit of substances such as water, nutrients, enzymes were unselected. If the enzymes out of the cells, there will be inhibition of the cell metabolism and the formation of ATP needed for the growth and proliferation of cells. Disruption of permeability causes the cell can not perform life activities that are inhibited or even die.^{38,39} Tannins can also bind with lipoteichoic acid (LTA) in the peptidoglycan of gram-positive bacteria that is a virulent factor that cause bacteria can adhere to the surface of the root canal, tissue inflammation and tissue damage. Tannins which bind with LTA cause bacterial growth will be more easily inhibited by antibacterial component.^{40,24}

Action mechanism of alkaloids which disturb the constituent component of peptidoglycan in the

bacterial cell.³⁶ Gram-positives bacteria have a cell wall composed of peptidoglycan thick layer (20-40 layers with thickness from 0,02-0,06 µm) and teichoic acid containing alcohol (gliserol atau ribitol).⁴¹ Teichoic acid consist of two kinds, these are teichoic acid bonded to the peptidoglycan covalently, and membrane teichoic acid (lipoteichoic acid/LTA) bonded to the membrane glycolipids covalently.⁴² cell wall synthesis disturbance caused LTA release which normally regulates the activity of hydrolytic enzymes that play a role in the dynamic changing of the cell wall in the growth and division of cell. When the LTA as a regulator is lost, these enzymes hydrolyze cell wall and causing cell death.^{43,36}

CONCLUSION

In this study, it can be concluded that the Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract have the effectivity to decrease the number of *Enterococcus faecalis*'s colonies at 50% concentration. The qualitative secondary metabolite content of Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract contain flavonoids, tannins, alkaloids and saponins. The quantitative secondary metabolite content of Queen *Ananas comosus* (L.) Merr stems extract contain 0,00033525 % flavoid total.

REFERENCE

1. Anusavice KJ. 1996. Phillips' Science of Dental Materials. Philadelphia: WB Saunders.
2. Wintarsih O, Partosoedarmo M, Santoso P. 2009. Kebocoran Apikal pada Irigasi dengan EDTA Lebih Kecil Dibandingkan yang Tanpa EDTA. Jurnal PDGI, 58: 14.
3. Tarigan G. 2013. Efek Antibakteri Sea Cucumber (*Stichopus variegatus*) sebagai

- Bahan Medikamen Saluran Akar terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (In Vitro). Tesis, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
4. Grossman LI, Oliet S, Rio CED. 1995. Ilmu Endodontik dalam Praktek. Jakarta: EGC.
 5. Cogulu D, Uzel A, Oncag O, Aksoy SC, Eronat C. 2007. Detection of *Enterococcus faecalis* in Necrotic Teeth Root Canals by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *Euro J Dent*, 1(4): 216-21. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2609913/>. Diakses 9 Agustus 2015.
 6. Artayanti PR. 2014. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl) sebagai Bahan Alternatif Sterilisasi Saluran Akar Gigi terhadap Bakteri Mix Saluran Akar Gigi. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Denpasar. H. 9-2.
 7. Zehnder M. 2006. Root Canal Irrigants. *J Endod*, 32(5): 389-98. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16631834>. Diakses 9 Agustus 2015.
 8. Jocelyn. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) sebagai Bahan Alternatif Medikamen Saluran Akar terhadap *Enterococcus Faecalis* (secara In Vitro). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
 9. Gomes BPFA, Pinheiro ET, Gadê-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. 2004. Microbiological Examination of Infected Dental Root Canals. *Oral Microbiology Immunology*, 19: 74.
 10. Yustina, Ita, Yuniarti. 2013. Pemanfaatan Buah Nanas Queen pada Pembuatan Es Krim sebagai Flavour Alami. Madura: Disampaikan pada Seminar Nasional: Menggagas Kebangkitan Komoditas Unggulan Lokal Pertanian dan Kelautan Fakultas Pertanian Unversitas Trunojoyo Madura. H. 751.
 11. Susanti D. 2012. Kajian Pemanfaatan Enzim Bromelin dari Limbah Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) untuk Melunakkan Daging. Tesis Pendidikan Kimia, Universitas Negeri Medan. H. 16,5.
 12. Angraeni DP dan Rahmawati AD. 2014. Efektivitas Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Tesis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. H. 5-3.
 13. Daniswara N. 2008. Perbandingan Efektivitas Air Perasan Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) 100%, Zinc Pyrithione 1% dan Ketokonazol 1% secara Invitro terhadap Pertumbuhan *Pityrosporum ovale*. Skripsi, Fakultas Kedokteran, Unversitas Diponegoro, Semarang.
 14. Rakhmanda AP. 2008. Perbandingan Efek Antibakteri Jus Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) pada Berbagai Konsentrasi terhadap *Streptococcus mutans*. H. 1. Available at http://eprints.undip.ac.id/24278/1/Adi_Putra.pdf. Diakses 18 Maret 2015.
 15. Fruits and Veggies More Matters. 2015. Bromelain in Pineapples can Minimize Joint Pain and Inflammation?. America: Produce for Better Health Foundation. Available at <http://www.fruitsandveggiesmorematters.org/bromelain-in-pineapples-can-minimize-joint-pain-and-inflammation>. Diakses 9 Agustus 2015.
 16. Utami DP. 2010. Pengaruh Penambahan Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) dan Waktu Pemasakan yang Berbeda terhadap Kualitas Daging Itik Afkir. Available at http://eprints.uns.ac.id/4964/1/170783011_201009471.pdf. Accessed March 22, 2015.
 17. Lokaria E, Rozi ZF, Siptiani WSDT. 2013. Uji Fitokimia dan Pengaruh Ekstrak Etanol Batang Betadin (*Jatropha Multifida* L) terhadap Jumlah Leukosit Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Diinduksi Imunos. *Jurnal Perspektif Pendidikan*, 7: 7-6.
 18. Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M, Kurniadi B. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga Universit Press. H. 50-49.
 19. Pratiwi P, Suzery M, Cahyono B. 2010. Total Fenolat dan Flavonoid dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah serta Aktivitas Antioksidannya, *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*, 18(4): 142
 20. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th Ed. St. Louis: Mosby Elsevier. P. 206, 193, 189.
 21. Dahlan MS. 2010. Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Jakarta: Salemba Medika.

22. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owartz CB. 2006. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *J. Endod.*, 32(2): 93-8. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16427453>. Diakses 4 Januari 2016.
23. Kawashima N, Wadachi R, Suda H, Yeng T, Parashos P. 2009. Root Canal Medicaments. *Int. Dent. J.*, 59(1): 11-5. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323305>. Diakses 4 Januari 2016.
24. Kayaoglu G and Ørstavik D. 2004. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship of Endodontic Disease. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.*, 15(5): 314-309.
25. Subbiya A, Mahalakshmi K, Pushpangadan S, Padmavathy K, Vivekanandan P, Sukumaran VG. 2013. Antibacterial Efficacy of *Mangifera indica* L. Kernel and *Ocimum sanctum* L. Leaves against *Enterococcus faecalis* Dentinal Biofilm. *J Conserv Dent*, 16(5): 454-7.
26. Sulastri. 2008. Efek Diuretik Ekstrak Etanol 70% Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta. H. 18.
27. Anwari SS. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, Surabaya.
28. Azizah IN. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga, Surabaya.
29. Andrews JM. 2001. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48: 5.
30. Luis de la M, Marie T, Pezzlo, Janet T, Shigei, Grace LT, Ellena M, Peterson. 2013. Color Atlas of Medical Bacteriology. 2nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press.
31. Beatrice L, Aswal D. 2010. Efek Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa terhadap *Enterococcus faecalis* sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar secara In Vitro. *J Dent*, 15(1).
32. Prasetyo MN, Sari N, Budiati CS. 2012. Pembuatan Kecap dari Ikan Gabus secara Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Sari Nanas. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 1(1): 335.
33. Taufik I dan Desi AW. 2009. Pengaruh Enzim Bromelin dan Waktu Inkubasi pada Proses Hidrolisis Ikan Lemuru menjadi Kecap. *Buana Sains*, 9(2): 184.
34. Siregar AF, Sabdono A, Pringgenies D. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*, 1(2): 158.
35. Marsa RD. 2011. Efek Antibakteri Ekstrak Lerak dalam Pelarut Etanol terhadap *Enterococcus faecalis* (Penelitian In vitro). Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara, Medan. H. 25-24.
36. Rijayanti RP. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. H. 13. Available at <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/view/6330>. Diakses 31 Desember 2015.
37. Karimatannisa NM, Naba'atin I, Andriyanti D. 2013. Pemanfaatan Biji Pepaya (*Carica papaya*) sebagai Alternatif Mengatasi Halitosis. *BIMKGI*, 1(2): 12.
38. Fahreya PS, Shofi MS. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Available at <http://eprints.undip.ac.id/36753>. Diakses 6 Februari 2016.
39. Hendrayati TI. 2012. Perubahan Morfologi *Escherichia coli* akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) secara In Vitro. Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Jember. H. 14-13.
40. Majidah D, Fatmawati DWA, Gunadi A. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jember.
41. Yuliyani M. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Limbah Padat Daun Serai Wangi (*Cymbopogon nardus*) terhadap Bakteri *Pseudomonas*

- aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.
42. Simanjutak E. 2014. Identifikasi dan Pola Kepekaan Bakteri yang Diisolasi dari Pasien Suspek Infeksi Saluran Kemih di RSUP Haji Adam Malik Medan. Karya Tulis Ilmiah, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan
43. Nugroho GW. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Fungi Endofit BJ1 dengan Metode KLT-Bioautografi. Skripsi, Program Studi Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

CASE REPORT

Immediate Removable Partial Denture For Aesthetic Anterior Maxillary Tooth Rehabilitation

Benita Aryani Hendrata*, Paulus Budi Teguh**

*Clinical Student Faculty of Dentistry Hang Tuah University

**Prosthodontic Faculty of Dentistry Hang Tuah University

ABSTRACT

Background: An anterior tooth extraction can cause aesthetic and psychological problems. An Immediate Removable Partial Denture could be the choice of aesthetic rehabilitation because is inserted immediately following the natural tooth extraction. **Purpose:** This paper reported the case of Immediate Removable Partial Denture for aesthetic anterior maxillary tooth rehabilitation in a 41-years old woman teacher. **Case Report:** A 41-years-old woman teacher wasn't confident with her #22 tooth microdontia and malpositioned. In order to rehabilitated her aesthetic problem could be done by immediate #22 tooth extraction. **Case Management:** Removable Partial Denture preparation was done by removing the #22 tooth. The denture was inserted immediately after the extraction. After the denture was inserted, at the 24-hours, 3 days, 1 week, and 1 month should be evaluated to know the bone resorption process and whether the Immediate Removable Partial Denture should be relined or not. **Conclusion(s):** The Immediate Removable Partial Denture provides an aesthetic rehabilitation and increases the patient's self-confidence because the patient has no edentulous period.

Key Words: Immediate Removable Partial Denture, Aesthetic, Anterior Tooth Extraction

Correspondence: Paulus Budi Teguh, Department of Prosthodontic Faculty of Dentistry Hang Tuah University, Jl. Arif Rahman Hakim 150 Surabaya 60111 Indonesia, Telp. 031-5945894, 031-5912191, E-mail: paulusteguh@yahoo.co.id

BACKGROUND

Modern dentistry offers many options for the restoration of partially edentulous patient, like Removable Partial Dentures (RPDs). Many patients choose RPDs due to factors ranging from cost to physiology.¹ RPDs are utilized to improve the aesthetic and masticatory functions.^{2,3} According to Gunadi, et al. (2013), there are two types of RPDs depend on the fabrication and the timing of insertion, Conventional RPDs and Immediate RPDs (Immediate Denture).⁴ Immediate denture could be inserted immediately following the natural teeth extraction, mainly anterior teeth so that minimize the aesthetic problem.

Immediate denture (ID) is a removable partial denture or a complete denture that was constructed for placement immediately after the natural teeth extraction.^{5,6} ID is a necessity to prevent anxiety and embarrassment because patient has no edentulous period and can do the daily activities without worried.^{7,8} ID can restore the phonetic and mastication functions, also preserve the remaining oral tissues.^{9,10}

Currently, there are two popular types of ID, Conventional (*or Classic*) Immediate Denture (CID) and Interim (*or Transitional or Nontraditional*) Immediate Denture (IID).¹¹ In CID, the patient has lost the posterior teeth and the anterior teeth are removed at the day of immediate denture placement. After the placement of the CID and after the healing process is completed, the denture is refitted or relined to serve as the long-term prosthesis. While in IID, the anterior and the posterior teeth remain until the

day of extraction. After the healing process is completed, a new denture is fabricated as the long-term prosthesis.^{12,13}

This paper reported the case of RPDs with CID for aesthetic anterior maxillary tooth rehabilitation.

CASE REPORT

A 41-years old woman teacher visited the Department of Prosthodontic Faculty of Dentistry Hang Tuah University, needed for RPDs to rehabilitate her aesthetic and masticatory functions. The patient was willing to have her 22 tooth being extracted and reshaped without being edentulous because the patient was a teacher and asked for immediate replacement of the extracted tooth in order to continued her professional duties. Beside that, the patient also had lost some of her posterior teeth. The patient was informed about Immediate Removable Partial Denture to maintain her aesthetic and masticatory problems.

Extra-oral examination revealed that temporomandibular joint was normal, face shaped was tapering, eyes, nose, and lip were normal. Intra-oral examination revealed that 22 tooth was microdontia and malpositioned, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 25, 26, 36, 37, 44, 45, 46 teeth had been extracted because of dental caries, calculus on the anterior and posterior region both maxillary and mandibular, caries on cervical mesial side 43 tooth, 27, 33, 34 teeth were supraposition, and also there were diastema and gingival recession on the anterior region mandibular teeth (Fig 1).



Fig 1. Pre Treatment Intra-Oral Condition Of The Maxillary And Mandibular Teeth.



Fig 2. Panoramic radiographic examination revealed that the remaining teeth had lost a few bone resorption.

According to Kennedy classification, maxillary: Class III Kennedy modification 1 with 22 tooth microdontia and malpositioned, mandibular: Class II Kennedy modification 1.

CASE MANAGEMENT

In initial appointment, the patient was interviewed for the dental and medical history related to the chief complaints which accompanied the diagnostic examination. Panoramic radiographic examination was also taken. The patient was informed about the limitations of the Immediate Denture. Primary impressions for the diagnostic casts were made with irreversible hydrocolloid impression material (alginate) in perforated stock trays and were poured using gypsum type III (dental stone). The diagnostic casts served several purposes as an aid to diagnosis and treatment planning.

Mouth preparation followed the preliminary diagnosis and the development of a tentative treatment plan. Mouth preparation included

periodontal treatment planning, scaling and root planing on the anterior and the posterior region both maxillary and mandibular to reduce oedema possibility and prevent the complications after extraction. Restorative procedure, caries on cervical mesial side 43 tooth was filled with Glass Ionomer Cement (GIC). After that, occlusal adjustment 27, 33, 34 teeth that were supraposition on the incisal and occlusal side in accordance to the Curve of Spee, so that the maxillo-mandibular relationship would be harmony and also prevented the traumatic occlusion. Then occlusal rest seat preparation on 17, 27, 47 teeth. The dentinal tubules should be covered by varnish to prevent the sensitive teeth.

The mandibular individual tray was made with ostron blue and was border moulded with green stick compounds and then the spacer was removed, the perforations were made in the tray to enhance the flow of the impression material. The mandibular functional impression was made with silicone impression material and the maxillary functional impression was

made with irreversible hydrocolloid impression material (alginate) to produce the working casts (Fig 4). The working casts were poured using gypsum type III (dental stone).



Fig 4. Maxillary And Mandibular Functional Impressions.

The working casts were surveyed and blocked out. Afterwards, maxillary and mandibular relations were recorded with the occlusion rims in the patient (Fig 5), then the working casts with the occlusion rims were mounted on the articulator (Fig 6).



Fig 5. Maxillary and Mandibular Record With Occlusion Rims In The Patient.

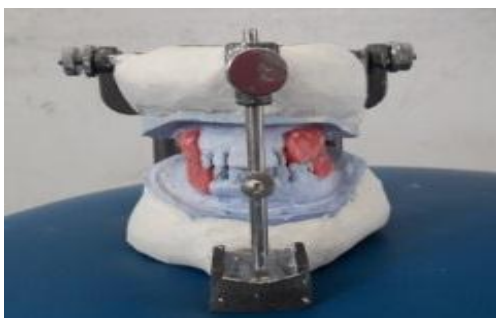


Fig 6. The Mounted Working Casts On The Articulator.

Artificial teeth shade selection based the patient's natural teeth were selected by a shade guide. While artificial teeth shape and size selection based on the patient remaining teeth as a guide. After making the clasps, the artificial teeth arrangement on the posterior region both maxillary and mandibular (Fig 7). The occlusion of the artificial teeth arrangement were evaluated in the patient if the occlusion was harmony or not (Fig 8).

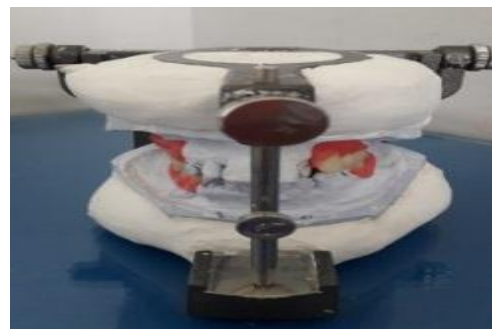
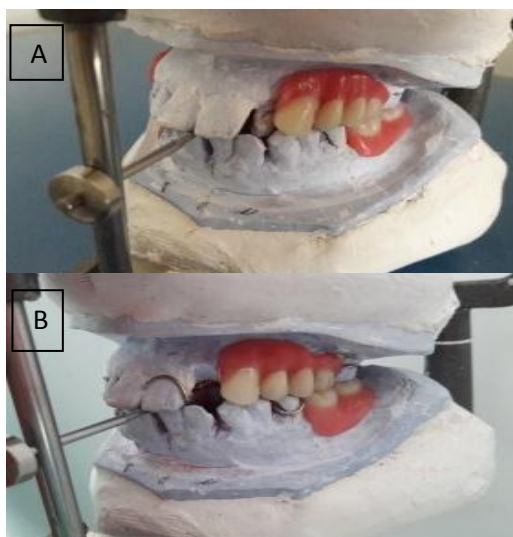


Fig 7. The Artificial Teeth Arrangement On The Articulator.



Fig 8. The Evaluation Of Artificial Teeth Arrangement In The Patient.

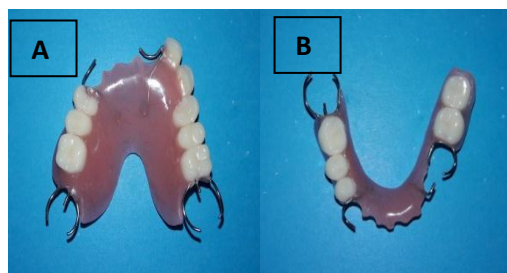
After the evaluation was done, 22 tooth was trimmed on the working cast with a carbide bur. The trimming used the pocket depths as a guide and should be concave. The labial tissue could be trimmed deeper about 1mm than the pocket depths. The aim was to preserve as much bony tissue as possible.

**Fig 9A.** #22 Tooth Before Trimmed.**Fig 9B.** #22 Tooth After Trimmed.

After that, 22 artificial tooth arrangement on the trimming site followed by contouring (Fig 10). After contouring was done, the dentures were then fabricated with heat cured polymethylmethacrylate resin.

**Fig 10.** #22 Artificial Tooth Arrangement On The Trimming Site.

The dentures that had been constructed, were prepared and polished, should be considered about the borders of the denture bases, the facial surfaces, teeth and adjacent areas. All of the sharpened margins were rounded off.

**Fig 11A.** Maxillary RPD With An Immediate Denture.**Fig 11B.** Mandibular RPD.

At the day of the denture placement, the patient was prepared for the extraction. Asepsis on the extraction site with povidon iodine 2%, then 22 tooth was extracted under local anesthetic, nasopalatine nerve block and anterior superior alveolar nerve block with pehacain (lidocain 2% + adrenaline 1:80.000). A hemostat was placed in the extraction socket to reduce the bleeding and the patient was instructed to bite the sterile gauzed firmly for about 20 minutes.

**Fig 12.** Extraction Procedures.

Before the denture's placement, the dentures were cleaned with antiseptic liquid soap. After the bleeding had stopped, the maxillary and mandibular RPDs were inserted and should be considered about if there were sharpened clasps, occlusion, and articulation, mainly if there was a premature contact with an articulating paper.



Fig 13. Insertion Of The RPDs With An Immediate Denture.

The patient was given post-extraction home care instructions, which include not to removed the immediate denture and used it all day during the first 24 hours due to post-extraction oedema that could make its reinsertion impossible for 3 to 4 days until reduction of oedema. The patient should avoid rinsing, avoid drinking hot liquids, and diet should be liquid or soft. Ice packs could be wrapped in a cloth and applied in 20 minutes intervals immediately after the extraction and throughout the first 24 hours could reduce bleeding and swelling. Antibiotic and analgesic medications were prescribed as required and the patient was recalled for the 24 hours visit for necessary adjustments and checked up.

At the 24 hours visit, the patient complained if she felt a little pain on the gingival around the extraction site because of the labial flanged. The labial flanged was reduced on the inside using a fraser bur. Intra-Oral examination revealed that there were not any pain or irritations. There were not any swelling or bleeding in the patient. The patient was instructed to continue the antibiotic and analgesic medications. After the 24 hours visit, the patient should be shown how to removed the denture after eating to clean it with soft toothbrush and antiseptic liquid soap, also to rinse the mouth at least three to four times daily

to kept the extraction site clean. After cleaning, the dentures should be worn immediately.



Fig 14. Condition Of The Maxillary And Mandibular Teeth At The 24 Hours Visit.

On the 3 days visit after the insertion, the extraction socket began to healing. There were not any sore spots or traumatic ulcerations. The patient felt more comfortable with the dentures and could eat well. There were no problems with the occlusion and articulation, also the retention and the stabilitation of the dentures were in a good condition.

On the first week visit after the insertion, the extraction socket healing was almost completed. The patient's adaptation with the dentures were better and felt really comfortable with the dentures. The retention and the stabilitation of the dentures still in the good condition.



Fig 16A. Condition Of The Maxillary And Mandibular Teeth Without The Dentures On The 1 Week Visit.

Fig 16B. Condition Of The Maxillary And Mandibular Teeth Without The Dentures On The 1 Week Visit.

On the first month visit after the insertion, the extraction socket was completely healing. The patient's adaptation with the dentures were better and felt really comfortable with the dentures. The retention and the stabilisation of the dentures still were in the good condition so that the relining wasn't needed.

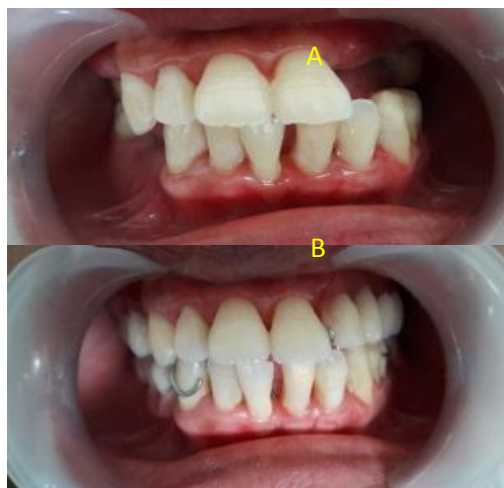


Fig 17A. Condition Of The Maxillary And Mandibular Teeth Without The Dentures On The 1 Month Visit.

Fig 17B. Condition Of The Maxillary And Mandibular Teeth With The Dentures On The 1 Month Visit.

DISCUSSION

On this case, the maxillary RPD with the conventional immediate denture was constructed with partial flanged. Partial flanged gives more natural appearance so that the aesthetic factor could be better achieved.⁴ Healing process is faster because the less contact between the oral tissues and the partial flanged so could minimize the irritation and helps accelerating the healing period.^{4,14} Partial flanged also gives better retention and stabilisation.^{15,16}

Immediate denture gives many advantages, especially increases the

patient's self-confidence because the patient has no edentulous period after the anterior teeth extraction.¹⁷ 22 tooth that was malpositioned, became looking better. The patient who is a teacher could do her professional duties without worried. Immediate denture also has therapeutic and prophylaxis functions, because immediate denture acts as a bandage to help control bleeding, to protect against trauma and oral environment aggressions, such as food, debris, and saliva coming in contact with the wound, to protect the blood clot, and promote rapid healing.^{18,19} The patient is likely to adapt more easily to the dentures because speech and mastication are rarely compromised.^{8,12}

Less postoperative pain is likely to be encountered because the extraction sites are protected by the immediate denture.^{13,19} Immediate denture also may result in reduced residual ridge resorption and also promotes better ridge form.^{20,21} Less bone resorption by using immediate denture than waiting for the healing process, because there is functional stimulation from the used denture. Moreover, by using immediate denture face height and circumoral support can be maintained.

Immediate denture also has many disadvantages, there is no try-in possible so the final result couldn't be predicted. Increased treatment cost because more chair time and immediate denture might be relined after few months.^{12,13}

When trimmed 22 tooth, the labial tissue could be trimmed deeper than the pocket depths. This is because the anterior maxillary ridge resorbs

upward and backward with progressive bone loss.²²⁻²⁴

The success or failure treatment depends on several factors, such as professional-patient relationship, the patient's attitude towards the use of the dentures, personality, the quality of the dentures, and the oral condition of the patient. The cooperative patient plays an important role in the successful treatment. The patient should be explained about the advantages and disadvantages of the immediate denture before the treatment was planned. The instructions should be emphasized to the patient so that the dentures could properly function and comfortably used.

CONCLUSION

The patient was satisfied with the dentures and was happy with her aesthetic appearance. Immediate denture could rehabilitated the aesthetic and increases the patient's self confidence because the patient has no edentulous period.

REFERENCES

1. Thakral GK, Aeran H, Yadav B, Thakral R. Flexible Partial Denture-A Hope For The Challenged Mouth. *People's J. Of Scie. Research* 2012; 5(2): 55-59.
2. Khan AA, Begum A, Hasan N, Mohsina N, Jahangir MR. Cast Removable Partial Denture Improving Appearance and Masticatory. *Update Dent. Coll. J* 2011; 1(1): 14-17.
3. Vivek R, Soni R. Cast Partial Denture Improving Emergence and Masticatory Function-A Case Report. *IOSR J. Of Dent. Med. Scie.* 2015; 14(9): 51-56.
4. Gunadi HA, Burhan LK, Suryatenggara F, Margo A, Setiabudi I. Buku Ajar Ilmu Geligi Tiruan Sebagian Lepas. Jilid 2. Jakarta: Hipokrates; 2013. h. 344-45.
5. Rahn AO, Ivanhoe JR, Plummer KD. Textbook of Complete Dentures. 6th ed. USA: People's Medical Publishing House. 2009. p. 271.
6. Gadge HR, Gandhewar MA, Kori S, Nagral S, Lotwani V. Immediate Dentures-A Clinical Report. *Int. J. Res. Dent.* 2014; 4(3): 203-08.
7. Rubina, Kumar M, Garg R, Saini R, Kaushal S. Immediate Denture Service Designed to Preserve the Oral Structures-A Case Report. *Int. Dent. J. Of Student's Res.* 2013; 1(4): 17-21.
8. Shukia S, Bharathi SS, Nair C, Kumar A. Immediate Denture. *J. Dent. Sci. Oral Rehab.* 2015; 6(1): 41-44.
9. Tiwari P, Karambelkar V, Sethuraman R, Patel J, Naveen YG, Prajapati P. A Pleasing Esthetic Solution: A Case Report on Immediate Complete Denture. *Eur. J. Dent. Therapy Res.* 2013; 3: 179-83.
10. Bhat V, Balaji SS. Immediate Partial Denture Prothesis- A Case Report. *Nitte Univ. J.Of Health Sci.* 2013; 3(4): 120-124.
11. Caputi S, Murmura G, Ricci L, Varvara G, Sinjari B. Immediate Denture Fabrication: A Clinical Report. *Annali di Stomatologis* 2013; IV(3-4): 273-77.
12. Zarb G, Bolender C, Eckert S, Fenton A, Jacob R, Stern R. Prosthodontic Treatment for Edentulous Patients: Complete Dentures and Implant-Supported Protheses. 12th ed. St. Louis: Mosby. 2009. p. 123-4.
13. Jurel SK, Siddhartha R, Singh RD, Kumar L, Gupta DS, Rashmikant US. Prosthetic Rehabilitation of Patient Using Immediate Complete Denture-A Case Report. *Int. J. Res. Dent.* 2011; 1(2): 28-34.
14. Ireland R. Advanced Dental Nursing. 2nd ed. Chichester: Wiley-Blackwell. 2010. p. 64.
15. Lovely M. Review of Removable Partial Dentures. 1st ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers. 2005. p. 155.
16. Soratur SH. Essentials of Prosthodontics. 1st ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers. 2006. p. 78-79.
17. Satapathy SK, Pillai A, Jyothi R, Annapurna PD. Natural Teeth Replacing Artificial Teeth in a Partial Denture: A Case Report. *J. of Clinical and Diagnostic Research* 2013; (7): 1818-819.
18. Filgueiras IA, Rodrigues CR, Ferreira KE, Filgueiras RP, Junior CE, Junior NG. Aesthetic References to Total Immediate Prothesis: Case Report. *J. of Surgical and Clinical Dent.* 2014; (3).

19. Tadi DP, Atluri AD, Kadiyala DRP, Suraneni S. Maxillary Immediate Denture: A Case Report. *Int. J. of Basic and Applied Med. Sci.* 2013; 3(2): 186-9.
20. Tuncel I, Celik G. A Clinical Pathway for Fabrication of Immediate Complete Denture. *Int. J. of Prost. Rest. Dent.* 2015; 5(2): 60-62.
21. Kumar MK, Bhushan P, Raj APN, Raju MV, Aesthetics and Immediate Partial Denture: A Case Report. *Eur. J. of Bio. Phar. Sci.* 2015; 2(2): 473-8.
22. Winkler S. Implant Site Development and Alveolar Bone Resorption Patterns. *J. of Oral Implantology* 2002; 28(5): 226-229.
23. Hossain MM, Aziz MS, Asaduzzaman M. Changes in Residual Alveolar Ridge Following Tooth Extraction and the Necessity of Placing Bone Graft Material in the Extracted Socket to Prevent Bone Resorption-A Review Article. *Bangladesh J. of Dent. Res. Edu.* 2011; 1(1): 30-32.
24. Malik NA. Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers. 2008. p.418.

STUDI PUSTAKA

Pengaruh Efek Iatrogenik Dalam Perawatan Ortodonti

(Iatrogenic Effect In Contemporary Orthodontic Treatment)

Tuti Alawiyah

Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Prof .DR. Moestopo (B)

ABSTRACT

Background: Nowadays, orthodontic treatment is a very common kind of treatment in modern society. The demand of orthodontic treatment is still high not only within growing or young patients but also within adult patients especially in urban area. But orthodontist has to remember that there is an effect that they have to avoid or anticipate related to its treatment. **Purpose:** The aims of this study to review iatrogenic effect in contemporary orthodontic treatment. **Literature review:** This iatrogenic effect is very destructive to hard and soft tissue in the mouth. The destruction includes to the tooth, gingiva, and supportive tissue inside the mouth. The effect could damage the root tissue aswell. The most common phenomenon is the enamel decalsification which is the destruction of enamel tissue because of inadequate plaque control. **Conclusion:** In every visit to orthodontist for appliance check up, the orthodontist should never forget to do appropriate cleaning. Inside the paper, the topic will be dicussed more deeply.

Keywords: Orthodontic appliance, iatrogenic effect, tissue damage.

Correspondence: Tuti Alawiyah, Department of Orthodonti, Faculty of Dentistry, Prof. DR. Moestopo (Beragama) University, Bintaro Permai Raya Number 3, Jakarta, Phone 021-73885254, Email: tuti-drg@yahoo.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Perawatan ortodonti pada saat ini sudah sangat umum dilakukan di berbagai lapisan masyarakat. Kebutuhan akan perawatan ortodonti khususnya untuk usia tumbuh kembang maupun untuk pasien dewasa pada umumnya, masih sangat tinggi terutama pada masyarakat perkotaan, namun perlu diingat, bahwa ada efek yang tidak diharapkan yang dapat terjadi pada perawatan ortodonti yang harus dihindari atau diantisipasi. Efek tersebut dinamakan efek iatrogenik. **Tujuan:** Tujuan pada studi pustaka ini adalah melihat pengaruh efek iatrogenik dalam perawatan ortodonti. **Studi Pustaka:** Efek tersebut dapat berupa kerusakan jaringan mulut yang meliputi gigi, gusi, dan jaringan lunak mulut lainnya. Salah satu bentuk kerusakan pada gigi dapat terjadi pada akar, pulpa, jaringan email, dan lainnya. Paling banyak terjadi adalah dekalsifikasi email yang merupakan kerusakan pada jaringan permukaan email yang terkelupas akibat kontrol plak yang tidak efektif. **Simpulan:** Pada setiap kontrol ortodonti harus melakukan kontrol kebersihan mulut. Bentuk kerusakan lainnya pada jaringan keras atau lunak dalam mulut akan dibahas secara lebih mendalam dalam makalah ini.

Kata kunci: Perawatan ortodonti, efek iatrogenik, kerusakan jaringan.

Korespondensi: Tuti Alawiyah, Bagian Ortodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Prof. DR. Moestopo (Beragama), Bintaro Permai Raya Nomor 3, Jakarta, Telepon 021-73885254, Email: tuti-drq@yahoo.com

PENDAHULUAN

Ortodonti merupakan cabang ilmu kedokteran gigi yang berfokus kepada *prevention*, *interception*, dan *correction* terhadap maloklusi dan segala abnormalitas lain pada region *dento-facial*. Perawatan orthodonti dilakukan untuk memperbaiki oklusi dari gigi dan juga hubungan antar rahang. Tidak hanya itu perawatan orthodonti juga dapat digunakan untuk memperbaiki cara berbicara, estetika wajah, namun dapat pula meningkatkan kebersihan mulut dan taraf kehidupan. Berbeda dengan cabang ilmu kedokteran gigi yang lain yang memerlukan perawatan singkat, ortodonti memerlukan perawatan yang lama, terus menerus mengikuti waktu pertumbuhan dan perkembangan dentofasial.

Saat ini kesadaran pasien akan pentingnya perawatan ortodontik untuk mengoreksi maloklusi dan

malposisi gigi semakin tinggi. Hal ini dapat dilihat dari semakin meningkatnya jumlah pasien ortodontik yang datang ke klinik gigi. Jenis alat ortodontik yang paling sering digunakan adalah alat cekat. Alat ini mempunyai 3 komponen dasar yaitu braket, kawat busur (*archwire*), *buccal tube*, *molar band* dan *aksesori*. Interaksi dari beberapa komponen ini menentukan cara berfungsinya alat dengan baik. Hasil perawatan ortodontik yang baik dapat dicapai dalam waktu yang cukup lama, berkisar antara 1 sampai dengan 3 tahun. Selama kurun waktu perawatan tersebut tidak menutup kemungkinan terjadinya efek samping dari penggunaan alat ortodontik cekat.¹

Efek negatif atau biasa disebut efek iatrogenik dari perawatan orthodonti dapat berupa efek local dan sistemik, yang dapat berupa perubahan warna pada gigi, dekalsifikasi, resorpsi akar gigi, komplikasi periodontal,

reaksi alergi, sindrom sakit kepala yang kronis.¹ Penting untuk dokter gigi untuk mengetahui apa saja resiko yang ditimbulkan sebelum melakukan perawatan ortodonti

Efek Iatrogenik

Iatrós yang berasal dari bahasa Yunani yang berarti “*medical*” dan *geneá* yang berarti “*origin*”. Iatrogenik memiliki arti akibat negatif yang disebabkan oleh perawatan medis. Iatrogenik sering kali diartikan sebagai kesalahan atau kelalaian, namun efek iatrogenik dan kesalahan medis merupakan sesuatu yang bertolak belakang, bukan sesuatu yang sama.

Kesalahan merupakan suatu hasil dari kelalaian atau ketidak tahuan yang bertentangan dengan konsep dari etika medis, sedangkan efek iatrogenik merupakan suatu konsekuensi dari suatu tindakan yang benar, indikasi yang tepat, dan dapat diprediksikan oleh dokter sebelum melakukan perawatan. Pada saat dokter atau petugas kesehatan lainnya mencoba untuk menyembuhkan, meringankan, atau mengobati pasien, akan menghasilkan penyakit psikologis, fungsional, penyakit atau gangguan lainnya maka ini yang dimaksud dengan iatrogenik.

Melakukan diagnosis mungkin akan sulit, terhambat, atau awalnya lengah karena penyakit iatrogenik dapat berasal dari hubungan antara dokter dan pasien, hal ini dapat diartikan sebagai konsekuensi dari sebuah terapi, instrumental (teknik), atau obat-obatan terkait.³

Pengaruh Terhadap Intra Oral Jaringan Lunak

Penggunaan ortodonti cekat beresiko dapat mengakibatkan pasien kesulitan untuk menjaga kebersihan mulut, dan hampir seluruh pasien dengan ortodonti cekat mengalami pembesaran pada gingiva.² Kesehatan periodontal merupakan faktor penting untuk mengevaluasi keberhasilan dari perawatan ortodonti.

Sebab dari terjadinya komplikasi periodontal ini berkaitan dengan faktor pasien dan teknik yang digunakan pada perawatan. Faktor pasien berkaitan dengan kondisi jaringan *periodontal* sebelumnya, *oral hygiene* yang buruk. Merokok juga diketahui sebagai salah satu faktor terjadinya komplikasi periodontal.¹

Pasien dewasa memiliki resiko yang lebih tinggi untuk memiliki masalah periodontal, terutama pasien memiliki beberapa penyakit periodontal yang sudah ada sebelumnya. Perawatan ortodonti bukan kontraindikasi pada kelompok usia ini apabila pasien dapat menjaga kebersihan mulutnya dengan baik dan pasien juga memiliki motivasi untuk menjaga kebersihan mulut selama. Pemeriksaan status periodontal sebelum perawatan ortodonti sangat penting untuk dilakukan dan penyakit periodontal yang sudah ada harus diobati sbelum perawatan ortodonti dilakukan. Pemeriksaan kesehatan jaringan periodontal secara teratur, melakukan skaling dan memoles tumpatan sebaiknya dilakukan untuk mencegah terjadinya penyakit periodontal.⁶

Gingivitis biasanya terjadi karena pemeliharaan kebersihan mulut yang salah pada alat ortodontik, mendukung akumulasi plak. penelitian

kouraki, 2005 telah menunjukkan bahwa selama perawatan ortodonti terapi pembesaran gingival kira-kira 3 bulan setelah tidak menggunakan alat ortodonti, dalam banyak kasus, gingival tampak sama seperti sebelum pengobatan.⁷

Kasus resesi gingiva pada perawatan ortodonti terjadi sekitar 35%, secara histopatologis gingiva yang resesi menunjukkan epitel serta jaringan ikat yang terjadi hipertrofi dan kadang kehilangan kolagen gingiva. Resesi gingiva telah diketahui terjadi sebagai efek samping selama perawatan ortodontik atau setelah selesai perawatan dan telah dicatat lebih sering terjadi pada saat pergerakan gigi kearah bukal, apabila gigi memiliki jaringan yang tipis akan digerakan kearah lingual, ada kemungkinan jaringan akan bergerak kearah koronal dan menebal. Telah ditemukan bahwa kebanyakan kasus resesi gingiva yang terjadi selama perawatan ortodontik terjadi di regio gigi anterior atas dan bawah. Hubungan antara gerakan ortodontik dan resesi gingiva telah menjadi kontroversi sehubungan dengan pergerakan gigi secara *tipping*.⁶

Trauma pada gingiva dan mukosa pipi kadang terlihat pada saat perawatan orthodonti, terutama jika terdapat kawat yang terlalu panjang dan mengenai bibir. Penggunaan wax pada ujung kawat berguna untuk mengurangi terjadinya trauma.²

Segitiga hitam atau *black triangle* pada gingiva berpotensi terjadi sekitar 1/3 dari pasien orthodonti dan harus dibicarakan terlebih dahulu dengan pasien sebelum melakukan perawatan. Pertimbangan utama dalam perawatan ortodonti adalah untuk menjaga bentuk dari interdental papil dan menghindari

terjadinya *black triangle* pada *embrasure* gingiva.⁶

Jaringan keras

Penelitian AL Maaitah, 2011 menunjukkan bahwa prevalensi dari efek samping ini mendekati 70% untuk lesi putih dan kurang dari 5 % untuk kavitas.⁹ Penelitian Chapman, 2010 lebih dari 30 % insisif maksila, gigi dengan nilai estetik terbesar, menunjukkan dekalsifikasi setelah intervensi ortodonti.¹⁰ Pencegahan terhadap *white spot lesion* pada perawatan orthodonti dapat dilakukan dengan meningkatkan kebersihan mulut pasien dan penggunaan pasta gigi yang mengandung floride.⁵

Abrasi gigi yang kontak antara gigi dan bracket atau tubes. Gravitasi yang lebih tinggi dari proses ini ditemui pada penggunaan *bracket* keramik Penelitian Lau dkk,(2006) keparahan dari 9 sampai 38 kali lebih tinggi di bandingkan dengan bahan logam.¹⁰

Abrasi pada enamel akibat penggunaan *bracket* metal dan kramik dapat terjadi, paling umum dapat terjadi pada saat melakukan retraksi pada ujung kaninus bergesekan dengan ujung *bracket* pada kaninus bawah. Abrasi juga dapat terlihat pada bagian *insisal edge* anterior rahang atas yang bergesekan dengan *bracket* pada gigi anterior rahang bawah.

Pulpitis diperkirakan akan terjadi namun bersifat *reversible* yang akan mengacu pada terjadinya kehilangan vitalitas pada gigi. Kemungkinan ini akan meningkat apabila sebelumnya gigi mengalami trauma. Menggunakan teknik *light forces* dianjurkan apabila gigi pernah mengalami trauma dan juga tetap mengawasi vitalitas dari gigi tersebut setiap tiga bulan sekali.

Perawatan ortodonti cekat juga dapat mengakibatkan terjadinya resorpsi akar. Penelitian segal.dkk (2004) Dalam kajian ulang sistematik melaporkan menggunakan metanalisis, menemukan nilai rata-rata pemendekan akar setelah perawatan ortodonti sebanyak 1.421 +/- 0.448 mm. Lopatience, dkk (2008) biasanya proses rendah, pemendekan akar diatas 2mm muncul sebanyak 5-18 % kasus. dan diatas 4mm atau 1/3 panjang gigi sebanyak 105 % kasus.¹¹

Pengaruh Terhadap Ekstra Oral

Setelah perawatan ortodonti gangguan temporomandibular biasanya dari disfungsi kraniomandibular, otot, dan gigi. Pengetahuan penelitian saat ini, belum jelas relasi antara perubahan temporomandibular dan intervensi ortodonti, biasanya ditemukan pendapat bertentangan dan penjelasan yang bervariasi. Bourzgui, dkk (2010), Gebeile-Chaouty, dkk (2010) meneliti beberapa mempertahankan adanya keadaan morfofungsi keseimbangan setelah intervensi ortodonti, pendapat yang lain mengatakan karena prematur kontak oklusal selama terapi, ada resiko yang lebih besar untuk komplikasi ini muncul.¹²

Reaksi Alergi.

Penelitian Leite & Bell, (2004) Alergi nikel adalah yang paling sering terjadi dinegara-negara industri, biasanya sebagai reaksi hipersensitivitas tipe IV. Perangkat ortodonti mengandung sekitar 8 % nikel dan paduan nikel titanium mengandung 70% nikel. Tanda-tanda alergi dapat bervariasi dari ruam kecil dikulit atau mukosa, dermatitis

generalisata. Dalam kasus keparahan yang tinggi manifestasi dapat menyebabkan penghentian perawatan ortodonti.¹³

SIMPULAN

Penting untuk dokter gigi untuk mengetahui apa saja resiko yang ditimbulkan sebelum melakukan perawatan orthodonti. Perawatan ortodonti dilakukan untuk memperbaiki oklusi dari gigi dan juga hubungan antar rahang. Tidak hanya itu perawatan ortodonti jug dapat digunakan untuk memperbaiki cara berbicara, estetika wajah, namun dapat pula meningkatkan kebersihan mulut dan taraf kehidupan. Seperti perawatan lainnya, perawatan orthodonti juga memiliki keuntungan dan kerugiannya.

Efek negatif atau biasa disebut efek iatrogenik dari perawatan ortodonti dapat berupa efek lokal dan sistemik, yang dapat berupa perubahan warna pada gigi, dekalsifikasi, resorpsi akar gigi, komplikasi periodontal, reaksi alergi, dan gangguan sendi temporomandibular. Efek iatrogenik bisa terjadi pada intra oral dan ekstra oral.

Kesalahan merupakan suatu hasil dari kelalaian atau ketidaktahuan yang bertentangan dengan konsep dari etika medis, sedangkan efek iatrogenik merupakan suatu konsekuensi dari suatu tindakan yang benar, indikasi yang tepat, dan dapat diprediksikan oleh dokter sebelum melakukan perawatan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alfuriji Samah, Alhazmi Nora, Alhamlan Nasir, Al-Ehaideb Ali, Alruwaithi Moatazbellah, Alkatheeri Nasser,

- Geevarghese Amrita. 2014. Review Article: The effect of orthodontic therapy on periodontal health: A Review Of The Literature. International journal of dentistry. Saudi Arabia. P. 7-1.
2. Travess H, Harry-Robert. D, Sandy.J. 2004. *Orthodontic. Part 6: Risk in orthodontic treatment*. British Dental Journal. Vol 196: 77-71.
 3. Maderia Sofia, Melo Miguel, Parto Joao, Monteiro Silvia, Moura De Pereira, Alexandrino M.B. Moura Alves J.J. 2007. *Original Article. The Disease We Cause: Iatrogenic Illness inn A Department of Internal Medicine. Journal Internal Medicine*, 18: 399-391.
 4. Rafiuddin Syed, Kumar Pradeep YG, Biswas Shriparna, S Sandeep Prabhu, BM Chandrashekar, MP Rakesh. 2015. *Iatrogenik damage to the periodontium caused by orthodontic treatment procedur: An overview*. Dentistry an open jpornal, (9): 234-228.
 5. Mahamad Khan Irfanulla, Neela Kumar Praveen. 2012. *White Spot Lesions: An Iatrogenik Damage after Orthodontic Treatment. Its Prevention and Management- An Overview. Dentistry An open Journal*. Vol 2: 3-1.
 6. Meeran Ahmed Nazeer. 2013. *Iatrogenik possibilities of orthodontic treatment and modalities of prevention*. J Orthod Sci, 2(3): 86-73.
 7. Kouraki, E, Bissada, N.F., Palomo, J.M., Ficara,A,J. 2005. *Gingival enlargement and resolution during and after orthodontic treathment*. New York State Dental Journal, 71(4): 37-34.
 8. Al Maaitah E.F., Adeyemi, A.A., Higham, S.M, Pender, N. & Harrison,J.E. 2011. *Factors affecting demineralization during orthodontic treatment: a post-hoc analysis of RCT recruits*. *American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedics*, 139(2): 191-181.
 9. Chapman, J.A., Roberts, W.E., Eckert, G.J., Kula, K.S. & Gonzales-Cabezas, C. 2010. *Risk factors for incidence and severity of white spot lesions during treatment with fixed orthodontic appliances*. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 138(2): 194-188.
 10. Lau, P.Y & Wong, R.W.K. 2006. *Risks and complications in orthodontic treatment*.Hong kong Dental Journal, 3(1): 22-15.
 11. Lopatience, K. & Dumbravaite, A. 2008. *Risk factors of root resorption after orthodontic treatment*. Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, 10(3): 95-89.
 12. Bourzgui, F., Sebbar,M, Nadour,A. & Hamza, M. 2010. *Prevalence of temporomandibular dysfunction in orthodontic treatment*. International Ortodontics, 8(4): 398-386.
 13. Leite L.P. & Bell R.A. 2004. *Adverse Hypersensitivity Reactions in Orthodontics*. Seminars in Orthodontics, 10(4): 243-240.

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, Handelsman 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

