

**PEMBENTUKAN TULANG SOKET PASCA PENCABUTAN  
GIGI MARMUT (CAVIA COBAYA) SETELAH PEMBERIAN  
KOMBINASI EKSTRAK DAUN KELOR (MORINGA  
OLEIFERA LAM) DAN DEMINERALIZED  
DENTIN MATRIX (DDM)**

*FORMING SOCKET BONE AFTER TOOTH EXTRACTION OF  
CAVIA COBAYA WITH IMPLANTATION COMBINATION  
EXTRACT MORINGA LEAF (MORINGA OLEIFERA LAM)  
AND DEMINERALIZED DENTIN MATRIX (DDM)*

**ARNI IRAWATY DJAIS**  
C013181039



PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020

**PEMBENTUKAN TULANG SOKET PASCA PENCABUTAN  
GIGI MARMUT (CAVIA COBAYA) SETELAH PEMBERIAN  
KOMBINASI EKSTRAK DAUN KELOR (MORINGA  
OLEIFERA LAM) DAN DEMINERALIZED  
DENTIN MATRIX (DDM)**

Disertasi  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi  
Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

ARNI IRAWATY DJAIS

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020



DISERTAI

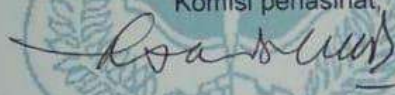
**PEMBENTUKAN TULANG SOKET PASCA PENCABUTAN  
GIGI MARMUT (CAVIA COBAYA) SETELAH PEMBERIAN  
KOMBINASI EKSTRAK DAUN KELOR (MORINGA  
OLEIFERA LAM) DAN DEMINERALIZED  
DENTIN MATRIX (DDM)**

Disusun dan diajukan oleh

**ARNI IRAWATY DJAIS**  
Nomor pokok C013181039

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi  
Pada tanggal 29 September 2020  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

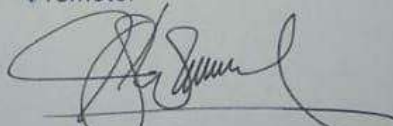
Menyetujui  
Komisi penasihat



Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, M.S., Sp.Perio (K)  
Promotor



Prof. Dr. Mochammad Hatta, Ph.D.Sp.MK(K)  
Ko-promotor

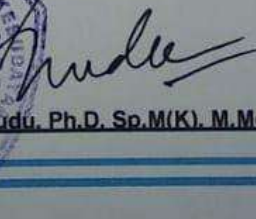


Prof. Dr. drg. Harun Achmad, M.Kes. Sp.KGA(K)  
Ko-promotor

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,



Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin



Bukhari, M.Med., Ph.D. Sp.GK(K)

Prof. dr. Budu, Ph.D. Sp.M(K), M.Med.Ed





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp. (0411)586010, (0411)586297  
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

**SURAT PERNYATAAN NON PLAGIAT**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Arni Irawaty Djais  
No Pokok : C013181039  
Program Pendidikan : Doktor (S3)  
Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan secara benar, jujur dan bertanggung jawab bahwa disertasi yang berjudul "Pembentukan Tulang Sokte Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) setelah Pemberian Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam*) dan Demineralized Dentin Matrix (DDM)" adalah **asli dan bukan plagiat/bebas dari plagiat.**

Jika dikemudian hari ternyata disertasi ini sebagian/seluruhnya mengandung unsur plagiat maka disertasi dibatalkan dan bersedia menerima sanksi secara hukum dari Fakultas maupun Universitas.

Demikian Surat Pernyataan ini dibuat tanpa tekanan siapapun.

Makassar, 16 Nopember 2020

Mahasiswa,



Arni Irawaty Djais



## PRAKATA

Bismillaahirrohmanirrohim. mnb

Dengan menyebut Asma Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas kasih sayang-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Untuk itu penulis mengucapkan rasa syukur kehadiran-Nya seraya mengucapkan segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam, dengan terselesaikannya disertasi ini yang merupakan salah satu persyaratan akademik guna memperoleh gelar Doktor dalam Program Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Judul yang diangkat dalam disertasi ini adalah Pembentukan Tulang Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*) setelah Pemberian Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam*) dan Demineralized Dentin Matrix (DDM).

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar besarnya kepada Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp.Perio (K) sebagai promotor, Prof. Dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK (K) sebagai Kopromotor I, Prof. Dr. drg. Harun Achmad, M.Kes.,Sp.KGA (K) sebagai Kopromotor II, yang dengan ketulusan hati telah menyediakan waktu memberikan bimbingan, perhatian dan dorongan serta semangat kepada penulis selama penyelesaian disertasi ini. Penulis

ucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada para penguji  
drg. Ernie Maduratna Setyawati, M. Kes. Sp.Perio (K) sebagai  
eksternal, Prof. Dr. Drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K); Prof. dr. Veni



Hadju, M.Sc., Ph.D. Dr., dr. Burhanuddin Bahar, MS; dr. Muh. Husni Cangara Ph.D, Sp.PA (K); Subehan, S,Si., M.Pharm. Sc, Ph.D.,Apt. sebagai penguji internal yang telah banyak memberikan masukan, saran, koreksi, dorongan, serta dukungan untuk penyempurnaan disertasi ini.

Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A, Dekan Fakultas Kedokteran Gigi, drg. Muhammad Ruslin, M.Kes., Ph.D., Sp. BM (K), Direktur Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc. Ketua Program Studi dr. Agussalim Bukhari M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K) yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat menempuh jenjang pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ketua Departemen Periodonsia Dr. Drg. Asdar Gani M.Kes, teman sejawat di bagian periodonsia, Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp.Perio (K); Prof. Dr. Drg. Mardiana Adam MS; Prof. Dr. Drg. Sri Oktawati, Sp.Perio (K); Drg. Supiati M.Kes.; Drg. Dian Setiawati Sp.Perio, atas dukungannya. Terimakasih juga saya ucapkan kepada tenaga administrasi Mirna, tenaga administrasi pascasarjana, seluruh residen periodonsia, Dewi Ayu, teman teman seangkatan selama pendidikan yang sudah banyak membantu selama proses penelitian.

Ucapan terimakasih yang sebesar besarnya dan doa yang tulus ayahanda (Alm.) Haji Haruna Rachman, ibunda tercinta (alm) Hj.



Siti Barhanah, bapak dan ibu mertua (alm.) bapak H. Soeparnu dan ibunda Hj. Patikah. Terimakasih kepada Suami tercinta Sarwo Basuki, A.Md.,SH. dan anak anak tersayang Annisa Aulia Balqis, Dwinov F. Zalsabila, Aisyah S. Prameswari, adekku Akbar Mubarak dan iparku Luki, serta saudara saudaraku atas doa, kesabaran, dan pengorbanannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu penulis mulai dari awal penelitian hingga dapat menyelesaikan pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan keberkahannya pada kita semua.

Makassar, 29 September 2020

Penulis

Arni Irawaty Djais



## ABSTRAK

ARNI IRAWATY DJAIS. Pembentukan Tulang Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*) Setelah Pemberian Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dan Demineralized Dentin Matrix (DDM) (dibimbing oleh Hasanuddin Thahir, Mochammad Hatta, dan Harun Achmad)

Latar belakang: Socket Preservation memiliki peran penting dalam regenerasi tulang alveolar setelah pencabutan gigi. Berbagai bahan graft dapat digunakan dalam Socket Preservation harus memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif, dan osteoproliferasi. Graft tulang autogenous dari dentin dapat digunakan karena memiliki sifat osteoinduktif dan osteokonduktif yang baik. Salah satu zat aktif *Moringa oleifera* adalah flavonoid yang memiliki beberapa karakteristik bermanfaat sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Kombinasi anti-inflamasi dan antioksidan dari ekstrak *Moringa Oleifera* dan Demineralisasi Dentin Matrix (DDM) diharapkan dapat memberikan respon yang maksimal untuk pembentukan tulang. Tujuan: menilai efektifitas pembentukan tulang soket setelah pencabutan gigi marmut dengan pemberian kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera lam*) dan Demineralized Dentin Matriks (DDM).melalui ekspresi NFkB, OPG, dan RANKL, fibroblas dan osteoblas. Metode: Empat puluh lima insisivus mandibula *Cavia cobaya* diekstraksi dan dibagi menjadi lima kelompok yang diberi perlakuan Socket Preservation berbeda secara berurutan dengan *Moringa Oleifera*, DDM, kombinasi *Moringa Oleifera* dan DDM, Gamacha® dan Polyethylene glycol (PEG). *Cavia cobaya* diperiksa pada hari ke 7, 14 dan 21 dan diperiksa menggunakan teknik imunohistokimia. Data yang dihasilkan kemudian dianalisis menggunakan Oneway-ANOVA dan Tukey HSD. Hasil : Hasil uji One Way Anova menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam NFkB, OPG, RANKL, Fibroblas dan Osteoblas antara kelompok ( $p < 0,05$ ) pada hari ke 7, 14 dan 21 pengamatan. Jumlah rata-rata tertinggi OPG, Fibroblas serta Osteoblas dan jumlah rata-rata terendah RANKL dan NFkB ditemukan pada kelompok kombinasi kelor DDM. Kesimpulan: Kombinasi *Moringa Oleifera* dan DDM dapat secara efektif membantu meningkatkan pembentukan tulang melalui penurunan ekspresi NFkB, RANKL, dan peningkatan ekspresi OPG, Fibroblas, dan Osteoblas dengan metode socket preservation.





## ABSTRACT

ARNI IRAWATY DJAIS. Forming Socket Bone After Tooth Extraction of Cavia Cobaya With Implantation Combination Extract Moringa Leaf (Moringa oleifera Lam) AND Demineralized Dentin Matrix (DDM) (supervised by Hasanuddin Thahir, Mochammad Hatta, and Harun Achmad)

**Background:** The socket preservation has important role in alveolar bone regeneration after tooth extraction. Various graft materials can be used in socket preservation must have osteoconductive, osteoinductive and osteoproliferation properties. Autogenous bone graft from dentin can be used because it has good osteoinductive and osteoconductive properties. One of the active substances of Moringa oleifera is flavonoids that have several beneficial characteristics as an anti-inflammatory and antioxidant. The combination of anti-inflammatory and antioxidant of Moringa Oleifera extract and Demineralization Dentin Matrix (DDM) is expected to provide maximal response to bone formation. **Aim:** to evaluate the effectiveness of socket bone formation after the extraction of Cavia Cobaya on the combination of Moringa oleifera leaf extract and Demineralized Dentin Matrix (DDM) through the expression of NFkB, OPG, and RANKL, fibroblasts and osteoblasts. **Method:** The mandibular incisors of 45 Cavia cobaya were extracted and divided into five groups subjected to different socket preservation treatments sequentially with Moringa Oleifera, DDM, combination of Moringa Oleifera and DDM, Gamacha® and polyethylene glycol (PEG). The cavia cobaya were examined on days 7, 14 and 21 after which the specimens were sacrificed and examined using an immunohistochemical technique. The resulting data were then analyzed using one-way ANOVA and Tukey's honestly significant difference tests. **Result:** The One Way Anova test results showed a significant difference in NFkB, OPG, RANKL, Fibroblas and Osteoblast between the groups ( $p < 0.05$ ) on day 7, 14 and 21 observation. The highest mean amount of OPG, Fibroblas as well as Osteoblast and lowest mean amount of RANKL and NFkB were found in the combination of Moringa Oleifera and DDM. **Conclusion:** The combination of Moringa Oleifera and DDM can effectively help increase bone formation through decreased NFkB, RANKL, and increased expression of OPG, Fibroblasts, and Osteoblasts with socket preservation method.



# DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA

.....  
.....

iv  
ABSTRAK

.....  
.....

viii  
ABSTRACT

.....  
.....

ix  
DAFTAR  
ISI

.....  
.....

x  
DAFTAR  
TABEL

.....  
.....

xiii  
DAFTAR  
GAMBAR

.....  
.....

xiv  
DAFTAR  
LAMPIRAN

.....  
.....

xv  
DAFTAR  
SINGKATAN

.....  
.....

xvii  
DAFTAR PENDAHULUAN

.....  
.....

DAFTAR  
LAMPIRAN BELAKANG



.....  
1  
B. RUMUSAN  
MASALAH  
.....  
9  
C. TUJUAN  
PENELITIAN  
.....  
10  
D. MANFAAT  
PENELITIAN  
.....  
11  
II. TINJAUAN  
PUSTAKA  
.....  
13  
A. TULANG  
ALVEOLAR  
.....  
13  
B. DENTIN  
.....  
15  
C. SEL PEMBENTUK  
TULANG  
.....  
16  
D. DEMINERALIZED DENTIN  
MATRIX  
.....  
23  
E. BONE  
GRAFT  
.....  
26  
F. MEKANISME BIOLOGI BONE  
GRAFT  
.....  
27  
G. TNFkB  
.....  
31



H. RANKL	36			
I. OSTEOPROTEGERIN	37			
J. FIBROBLAS	38			
K. PENYEMBUHAN LUKA	41			
L. PENYEMBUHAN SOKET TULANG ALVEOLAR SETELAH PENCABUTAN	46			GIGI
M. TANAMAN	49			KELOR
N. GAMACCA	61			
O. KERANGKATEORI	74			
P. KERANGKA PENELITIAN	75			KONSEP
Q. HIPOTESA PENELITIAN	76			
III. METODE PENELITIAN	77			
A. JENIS PENELITIAN	77			
	77	WAKTU	DAN	LOKASI
	77			PENELITIAN



C. IDENTIFIKASI VARIABEL PENELITIAN & DEFENISI OPERASIONAL VARIABEL PENELITIAN	78
D. POPULASI DAN TEKNIK SAMPEL	81
E. BESAR SAMPEL PENELITIAN	81
F. ALAT DAN BAHAN	82
G. PROSEDUR PENELITIAN	83
H. PEMUSNAHAN HEWAN COBA	100
I. ALUR PENELITIAN	101
J. ANALISIS DATA	102
K. MASALAH ETIKA	102
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	103
A. HASIL PENELITIAN	103
B. PEMBAHASAN	138
V. KESIMPULAN DAN SARAN	138
KESIMPULAN	138



B. SARAN

.....  
162

DAFTAR  
PUSTAKA

.....  
163

LAMPIRAN

.....  
172



## DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Rata-rata jumlah ekspresi NFkB pada pengamatan immunohistokimia soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	115	
2.	Rata-rata jumlah ekspresi RANKL pada pengamatan immunohistokimia soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	116	
3.	Rata-rata jumlah ekspresi OPG pada pengamatan immunohistokimia soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	117	
4.	Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi pada pengamatan immunohistokimia soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	118	
5.	Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi NFkB hari ke 7 soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	120	
6.	Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi NFkB hari ke 14 soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	121	
7.	Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi NFkB hari ke 21 soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	121	
8.	Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi RANKL hari ke 7 soket pencabutan insisivus mandibula	
	.....	
	122	
	Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi RANKL hari ke 14 soket pencabutan insisivus	



mandibula

123

10. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi RANKL hari ke 21  
soket pencabutan insisivus  
mandibula

124

11. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi OPG hari ke 7  
soket pencabutan insisivus  
mandibula

124

12. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi OPG hari ke 14  
soket pencabutan insisivus  
mandibula

125

13. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata ekspresi OPG hari ke 21  
soket pencabutan insisivus  
mandibula

126

14. Rata-rata jumlah ekspresi pengamatan histologi soket  
pencabutan insisivus  
mandibula

131

15. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah pengamatan  
histologi soket pencabutan insisivus  
mandibula

132

16. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah osteoblas hari ke 7  
soket pencabutan insisivus  
mandibula

133

17. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah osteoblas hari ke 14  
soket pencabutan insisivus  
mandibula

134

18. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah osteoblas hari ke 21  
soket pencabutan insisivus  
mandibula





.....  
135

19. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah fibroblas hari ke 7  
soket                                      pencabutan                                      insisivus  
mandibula

.....  
135

20. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah fibroblas hari ke 14  
soket                                      pencabutan                                      insisivus  
mandibula

.....  
136

21. Uji Beda Lanjut Tukey HSD rata-rata jumlah fibroblas hari ke 21  
soket                                      pencabutan                                      insisivus  
mandibula

.....  
137



## DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Sel tulang	sel
	.....	
	18	
2.	Diferensiasi osteoblas	dari
	.....	
	20	
3.	Regulasi diferensiasi osteoklas oleh osteoblas melalui produksi macrophage colony-stimulating factor (M-CSF), receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL), dan osteoprotegerin	
	.....	
	21	
4.	Kontrol osteosit pada lingkungan tulang lokal	
	.....	
	23	
5.	A. Gigi yang diekstraksi yang siap dibentuk autogenous tooth bone graft (AutoBT)	graft
	.....	
	25	
6.	B. (AutoBT)	Powder
	.....	
	25	
7.	C. AutoBT blok	bentuk
	.....	
	25	
8.	Jalur NF $\kappa$ B	aktivasi
	.....	
	34	
9.	Target gen NF $\kappa$ B yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan	
	.....	
	adangan	
	.....	
	api bertarget NF $\kappa$ B pada penyakit	
	ang	



- .....  
38
11. Mekanisme Kerja RANKL/RANK, dan OPG
- .....
12. Efek polifenol pada bone diseases adalah melalui jalur MAPK
- .....
- 56
13. Sifat anti-inflamasi polifenol dalam mengendalikan resorpsi tulang
- .....
- 56
14. Mekanisme anti-inflamasi M. oleifera
- .....
- 58
15. Grafik rata-rata ekspresi NFkB pada pengamatan imunohistokimia hari 7, 14, dan 21
- .....
- 104
16. Grafik rata-rata ekspresi RANKL pada pengamatan imunohistokimia hari 7, 14, dan 21
- .....
- 105
17. Grafik rata-rata ekspresi OPG pada pengamatan imunohistokimia hari 7, 14, dan 21
- .....
- 105
18. Gambar 16. Ekspresi NFkB pada hari ke 7
- .....
- 106
19. Gambar 17. Ekspresi NFkB pada hari ke 14
- .....
- 107
20. Gambar 18. Ekspresi NFkB pada hari ke 21
- .....
- 108
21. Gambar 19. Ekspresi RANKL pada hari ke 21



- .....  
109
22. Gambar 20. Ekspresi RANKL pada hari ke 14  
.....
- 110
23. Gambar 21. Ekspresi RANKL pada hari ke 21  
.....
- 111
24. Gambar 22. Ekspresi OPG pada hari ke 7  
.....
- 112
25. Gambar 23. Ekspresi OPG pada hari ke 14  
.....
- 113
26. Gambar 24. Ekspresi OPG pada hari ke 21  
.....
- 114
27. Gambar 25. Gambaran histologis fibroblas dan osteoblas pengamatan hari ke 7  
.....
- 126
28. Gambar 26. Gambaran histologis fibroblas dan osteoblas pengamatan hari ke 14  
.....
- 127
29. Gambar 27. Gambaran histologis fibroblas dan osteoblas pengamatan hari ke 21  
.....
- 128
30. Grafik rata-rata jumlah fibroblas pada pengamatan histologis hari 7, 14, dan 21  
.....
- 129
- Grafik rata-rata jumlah osteoblas pada pengamatan histologis hari 7, 14, dan 21





## DAFTAR LAMPIRAN

1. PEMBUATAN  
DDM  
.....  
171
2. TAHAP DEMINERALISASI & FREEZE  
DRIED  
.....  
172
3. TAHAP PEMBUATAN EKSTRAK DAUN  
KELOR  
.....  
173
4. TAHAP PARTISI  
.....  
175
5. TAHAP FREEZE DRIED  
KELOR  
.....  
176
6. TAHAP PEMBUATAN SEDIAAN  
SALEP  
.....  
177
7. APLIKASI SALEP KE HEWAN  
COBA  
.....  
178
8. PROSEDUR HISTOLOGI  
.....  
181
9. TAHAPAN PROSEDUR  
IMMUNOHISTOKIMIA  
.....  
184



## DAFTAR SINGKATAN

RANKL	: Receptor activator of NFkB ligand
RANK	: Receptor activator of NFkB
OPG	: Osteoprotegerin
ROS	: Reactive Oxygen Species
IL-1:	: Interleukin 1
IL-6	: Interleukin 6
TNF $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor $\alpha$
NFkB	: Receptor activator kappa B
ROS	: Reactive Oxygen Species
LPS	: Lipopolysaccharide.
DFDBBX	: Demineralized Freeze-Dried Bovine Bone Xenograft
CAS	: Carbonat Apatit Scaffold
ALP	: Alkali Fosfatase
BMP	: Bone morphogenetic proteins
IGF	: Insulin-Like Growth Factor
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblas Growth Factor
TGF- $\beta$	: Transforming Growth Factor
Runx2	: Runt-related transcription factor 2
CBFA1	: Core-Binding Factor A1
IGF II	: Insulin Growth Factor



BMPs	: Bone Morphogenic Proteins
M-CSF	: Macrophage Colony-Stimulating Factor
NFATc1	: Nuclear factor of activated T-cells
DDM	: Demineralized dentin matrix
COL-1	: collagen tipe I
HA	: Hidroksiapatit
MSC	: Mesenchymal Stem Cell
TLR ligands	: Toll-like receptor ligands
TNF	: receptor-associated factors
PRRs	: Pattern- Recognition Receptors
TNFR	: Tumor Necrosis Factor receptor
MMPs	: Matriks Metalloproteinases
ECM	: Ekstraselular Matriks
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
FGF	: Fibroblas Growth Factor
TGF-β1	: Transforming Growth Faktor-beta1
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
eFGF	: Epidermal Fibroblas growth factor
iNOS	: Inducible NO Synthase
COX-2	: Cyclooxygenase-2





# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Berdasarkan hasil penelitian Departemen Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan pada tahun 2018, sebanyak 57,6 persen populasi Indonesia mengalami masalah kesehatan mulut yang dapat mempengaruhi kualitas hidup. Prevalensi karies pada populasi antara yang berusia 12 tahun dan lebih dari 65 tahun berkisar antara 65,5% hingga 95%. (Kemenkes, 2018) Di Indonesia, pencabutan gigi telah menjadi bentuk perawatan yang paling sering diterapkan pada karies gigi yang parah yang berpotensi menyebabkan defek tulang. Kehilangan struktur dan volume tulang alveolar akibat pencabutan gigi atau penyakit periodontal akan mengakibatkan bagian anterior maksilla tulang fasial mengalami resorpsi lebih dari 25% dalam 1 tahun pertama dan meningkat 40-60% selama 3 tahun. Penelitian lain melaporkan bahwa, jumlah tulang alveolar yang hilang akibat resorpsi diperkirakan 31,6% setelah 3 bulan, 42,4 % setelah 6 bulan, dan 50,73% setelah 12 bulan (Kim et al., 2016).

Kehilangan tulang alveolar ini akan mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi, fixed denture, dan penempatan implan gigi, dan akhirnya menyebabkan berkurangnya kenyamanan buat pasien (Alagl 2011; Joshi et.all 2016; Guarnieri et al.,2017). Oleh



karena itu periode yang paling baik untuk mempersiapkan linggir alveolar adalah pada saat pencabutan dalam upaya mempertahankan dimensi linggir alveolar setelah pencabutan (Guarnieri et al., 2017).

Socket preservation adalah suatu prosedur pada soket gigi dengan memasukkan bahan graft sehingga dapat mengurangi kehilangan tulang dan jaringan lunak setelah pencabutan gigi. *Socket preservation* bertujuan mengimbangi resorpsi biologis dinding tulang bukal dan mempertahankan volume tulang dan struktur tulang sehingga dapat berfungsi optimal dan mendapatkan estetik yang baik. (Jmag et al.,2012; Gigi et al.,2016; Fee 2017).

Bahan graft yang ditempatkan selama periode penyembuhan tulang dapat memberikan dukungan mekanis yang mencegah pola remodeling seperti yang terjadi pada soket ekstraksi tanpa bahan graft tulang. Banyak bahan graft seperti *Allografts*, *Xenografts*, dan *Alloplasts*, telah digunakan untuk *socket preservation*, tetapi bahan ini juga memiliki kelemahan masing-masing, seperti potensi penularan penyakit, biaya tinggi, dan kemampuan osteoinduksi terbatas. Bahan graft yang lain adalah jenis *Autogenous bone graft* dan sebagai gold standar untuk *Bone Augmentation*, oleh karena bone graft jenis ini memberikan hasil yang sangat baik untuk pembentukan tulang. Walaupun demikian *Autogenous bone graft* memiliki kekurangan seperti terbatasnya sumber, dan morbitas daerah donor

zato et al., 2018).



*Auto Tooth Bone Graft Material* adalah suatu sistem dengan mengolah bahan bone graft dari gigi sendiri. *Auto Tooth Bone Graft Material* terdiri dari 55% inorganik dan 45% substansi organik. Diantara substansi inorganik Hidroksiapatit (HA) memiliki karakteristik menggabungkan dan memisahkan kalsium dan fosfat seperti yang dimiliki tulang. Substansi organik meliputi *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dan protein dengan kemampuan osteoinduksi sebaik tipe I kolagen yang sama dengan tulang alveolar sendiri, sehingga auto tooth graft memiliki kemampuan remodeling tulang yang sama halnya dengan autogenous bone. Tooth bone graft material sangat baik untuk regenerasi tulang karena kemampuan osteoinduksi dan osteokonduksi dan meminimalkan reaksi benda asing oleh karena kesamaan genetik (Park et al., 2012).

Dentin yang merupakan bagian dari struktur gigi memiliki struktur dan komposisi yang hampir sama dengan tulang yaitu terdiri dari kolagen (20%), hidroksiapatit (70%), dan cairan tubuh (10%) dalam berat volume (Koga et al., 2016 ; Woong, 2017). Tulang rahang, tulang alveolar, dan gigi berkembang dari sel-sel krista neural dan bahwa banyak protein yang ditemukan pada tulang, dentin, dan sementum. Oleh karena itu dentin yang terdiri lebih dari 85% dari struktur gigi dapat berfungsi sebagai bahan graft tulang (Guarnieri et al., 2017).

*Demineralized Dentin Matrix* (DDM) adalah suatu bahan organik

peroleh dari dentin yang memiliki kemampuan osteogenik. (Harjya et al., 2016).



Demineralisasi menghilangkan komponen anorganik dan komponen imunogenik tulang sehingga akan mengekspos BMP dan faktor pertumbuhan dalam matriks dentin. (Wirata, 2014). *Demineralized Dentin Matrix* yang ditempatkan dalam soket pencabutan gigi bertujuan untuk mempertahankan kualitas tulang, meningkatkan dimensi vertikal dan horisontal tulang, dan membantu penyembuhan jaringan lunak. (Kabir et al., 2015).

Pencabutan gigi dapat menyebabkan trauma yang memicu peradangan. Reaksi peradangan merupakan pertanda bahwa sel pertahanan pertama telah diaktifkan. Infiltrasi makrofag sebagai perlindungan terhadap infeksi juga akan meningkat di area trauma dan akan menginduksi Receptor activator kappa B (NFkB). NFkB adalah kompleks protein yang mengontrol transkripsi DNA, produksi sitokin, dan kelangsungan hidup sel. NFkB memainkan peran penting dalam mengatur respon imun terhadap infeksi. NFkB akan memicu sekresi mediator proinflamasi, yaitu interleukin-1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) dan tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) untuk memperkuat respon imun dan mempercepat proses metabolisme. Mediator-mediator proinflamasi tersebut kemudian dapat mengatur Receptor activator of NFkB ligand (RANKL) untuk berikatan dengan Receptor activator of NFkB (RANK) yang menyebabkan selnya diferensiasi pra-osteoklas menjadi osteoklas, kemudian mempercepat proses resorpsi tulang. (Sivarajan et al, 2014).



Osteoprotegerin yang dihasilkan oleh osteoblas berperan sebagai reseptor RANKL, dan mencegah RANKL berikatan dengan RANK dan mengaktifkan RANK. Osteoprotegerin juga menghambat perkembangan osteoklas. Efek biologis dari osteoprotegerin pada sel sel tulang meliputi hambatan pada tahap terminal akhir diferensiasi osteoklas, menekan aktivasi osteoklas matur, dan menginduksi apoptosis. Sehingga dapat dikatakan bahwa remodeling tulang terutama dikontrol oleh keseimbangan RANKL/OPG. (Grimaud et al., 2003).

Osteoblas berasal dari mesenkimal stem sel bone marrow yang bertanggung jawab terhadap sintesa matriks dan mineral serta meregulasi osteoklas untuk reposisi bone matriks (Kini dan Nandeesh,2012).

Salah satu bahan bahan alami yang dapat menurunkan respon inflamasi dan memiliki sifat osteoinduktif sehingga dapat mencegah resorpsi berlebihan dan merangsang pembentukan tulang adalah tanaman kelor. Tanaman kelor dengan nama latin *Moringa Oleifera Lam* merupakan tanaman yang memilki banyak khasiat sebagai obat karena kandungan zat aktif yang dimiliki. Tanaman kelor diketahui mengandung sejumlah bioaktif seperti *vitamins, carotenoids, polyphenols, phenolic acids, flavonoids, alkaloids, glucosinolates, isothiocyanates, tannins dan saponins*. (Vergara-Jimenez et al.,2017).

Polifenol adalah fitokimia dengan efek biologisnya dapat melindungi

osteoporosis (Scalbert et al. 2005). Sifat menguntungkan dari phenolic terutama karena sifat antioksidannya, karena dapat



bertindak sebagai penangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS). (Torre, 2017).

*Flavanoid* yang ditemukan dalam ekstrak daun kelor adalah myrecetin, quercetin, dan kaempferol, kaempferitrin, Ascorbic acid. Flavonoid dapat berperan sebagai anti-inflamasi, anti kanker, anti mikroba, anti virus, immunomodulator, antithrombotik, dan osteoproteksi. (Soekobagiono et al.,2018)

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor dapat menghambat jalur inflamasi pada tikus yang diinduksi dengan edema (Ashikin et al., 2016).

Hambatan pada jalur inflamasi kemudian akan menghambat resorpsi tulang. Ekstrak daun kelor juga dapat meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel-sel osteoblas. (Soekobagiono et al.,2018). Daun kelor dapat menghambat produksi sitokin oleh makrofag (Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6), dan IL-8)), yang disebabkan oleh Lipopolysaccharide (LPS). Penelitian lain melaporkan bahwa konsentrasi daun kelor dapat menurunkan ekspresi gen dan produksi penanda inflammatory pada makrofag. Ekstrak daun kelor dapat merangsang respon imun seluler dan humoral melalui peningkatan sel darah putih, netrofil, dan serum immunoglobulins. Kuersetin yang merupakan bagian flavanoid daun kelor dapat terlibat dalam penurunan proses inflamasi dengan menghambat

ri NFkB. (Vergara-Jimenez et al., 2017). Kuersetin juga dilaporkan merangsang osteoblas dan meningkatkan pembentukan tulang.



Fraksi etil asetat dari moringa oleifera memiliki potensi anti inflamasi dalam mengatur jalur signal NFkB pada makrofag yang terstimulasi oleh lipopolisakarida (Vergara-Jimenez et al., 2017).

Beberapa penelitian telah mencoba memanfaatkan ekstrak daun kelor pada tindakan *socket preservation*. Ekstrak daun kelor dikombinasikan dengan bone graft dengan menggunakan xenograft jenis DFDBBX sebagai pilihan untuk regenerasi tulang paska pencabutan. Hasil pemeriksaan histologi dan histokimia memperlihatkan terjadinya peningkatan jumlah osteoblas, dan penurunan jumlah ekspresi RANKL yang bermakna pada soket gigi yang diberi penambahan ekstrak daun kelor 2 % pada *Graft Demineralized Freeze-Dried Bovine Bone Xenograft* (DFDBBX) dibandingkan yang tanpa penambahan ekstrak kelor. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh ekstrak kelor terhadap pembentukan tulang pasca pencabutan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pembentukan tulang alveolar. (Gigi et al.,2016; Soekobagiono et al.,2018; Kresnoadi et al.,2019).

*Demineralized Freeze-Dried Bovine Bone Xenograft* merupakan bahan graft yang berasal dari spesies lain seperti hewan yang hanya memiliki kemampuan osteokonduktif karena semua proteinnnya telah dihilangkan sehingga tidak ada potensi osteoinduktif dari bahan xenograft jenis ini. (Fee, 2017).

berbeda dengan DDM yang diperoleh dari gigi manusia yang kemampuan osteokonduktif dan induktif yang termasuk kategori



allograf maupun autograph, sangat potensial sebagai bahan graft bila digunakan pada soket pasca pencabutan. Kombinasi zat bioaktif flavonoid ekstrak daun kelor dengan kemampuan antiinflamasi, antioksidan, dan osteoinduktif dari polyphenol dan kemampuan DDM dalam membentuk tulang diharapkan dapat menunjukkan terjadinya peningkatan mediator pembentukan tulang yang lebih bermakna dibandingkan DDM secara tunggal atau menggunakan DFDBBX. Sehingga pada penelitian ini ingin diketahui bagaimana peningkatan maupun penurunan mediator pembentukan tulang seperti NFkB, RANKL, OPG, osteoblas dan fibroblas bila flavonoid ekstrak daun kelor dikombinasikan dengan DDM sebagai penanda atau marker terjadinya proses osteogenesis. Pada penelitian ini digunakan bahan graft tulang yang mengandung karbonat apatit dan gelatin *Carbonat Apatit Scaffold* (CAS), suatu biomaterial yang relatif populer dan sering digunakan di Indonesia untuk merangsang regenerasi tulang sebagai cara mengatasi resorpsi tulang yang berlebihan yang berperan sebagai kontrol positif sebagai pengganti dari DFDBBX atau bone graft sejenis. (Ana, 2018; Prahasanti dan Suardita, 2020). Berdasarkan penjelasan diatas, penelitian ini bertujuan mengukur pembentukan tulang soket setelah pencabutan gigi marmut setelah pemberian kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera lam*) dan *Demineralized Dentin Matriks* (DDM) dan dibandingkan dengan tanpa ekstrak daun kelor apakah lebih

an lebih baik dan juga jika dibandingkan dengan kontrol positif





dengan menilai beberapa indikator pembentukan tulang (Fibroblas, Osteoblas, NFkB, RANKL, dan Osteoprotegerin).

## B. Rumusan Masalah

1. Apakah terjadi penurunan ekspresi NFkB pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar pada soket gigi setelah pencabutan.
2. Apakah terjadi penurunan ekspresi RANKL pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar pada soket gigi setelah pencabutan.
3. Apakah terjadi peningkatan Osteoprotegerin (OPG) pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar pada soket gigi setelah pencabutan.
4. Apakah terjadi peningkatan jumlah fibroblas pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar soket gigi setelah pencabutan.
5. Apakah terjadi peningkatan jumlah osteoblas pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar soket gigi setelah pencabutan.



## C. Tujuan Penelitian

### 1. Tujuan Umum

Untuk menilai efektifitas kombinasi ekstrak daun kelor dan DDM sebagai bahan alternatif regenerasi tulang alveolar.

### 2. Tujuan Khusus

- a. Untuk menilai besar perbedaan penurunan ekspresi NFkB pada kelompok yang menerima kombinasi ekstrak daun kelor dan DDM dengan kelompok yang hanya menerima ekstrak daun kelor atau DDM saja, dan kelompok kontrol.
- b. Untuk menilai besar perbedaan penurunan ekspresi RANKL pada kelompok yang menerima kombinasi ekstrak daun kelor DDM dengan kelompok yang hanya menerima ekstrak daun kelor, atau DDM saja, dan kelompok kontrol.
- c. Untuk menilai besar perbedaan peningkatan Osteoprotegerin (OPG) pada kelompok yang menerima kombinasi ekstrak daun kelor DDM dengan kelompok yang hanya menerima kelor, atau DDM saja, dan kelompok kontrol
- d. Untuk menilai besar perbedaan peningkatan fibroblas pada kelompok yang menerima kombinasi ekstrak daun kelor dan DDM dengan kelompok yang hanya menerima ekstrak daun kelor, atau DDM saja, dan kelompok kontrol.



- e. Untuk menilai besar perbedaan peningkatan osteoblas pada kelompok yang menerima kombinasi ekstrak daun kelor dan DDM dengan kelompok yang hanya menerima ekstrak daun kelor, atau DDM saja, dan kelompok kontrol.

## D. Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat Pengembangan Ilmu

- a. Memberikan kontribusi keilmuan dalam mengatasi defek tulang alveolar setelah pencabutan.
- b. Menghasilkan suatu bahan alami yang dapat ditambahkan pada DDM yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang alveolar seperti pada kasus *socket preservation*.

### 2. Manfaat Aplikasi

- a. Hasil penelitian ini diharapkan akan memberikan alternatif baru dalam penatalaksanaan defek tulang setelah pencabutan gigi dengan kombinasi DDM dan ekstrak daun kelor.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu pembentukan tulang akibat pencabutan gigi dengan DDM dan ekstrak daun kelor.

Hasil penelitian ini dapat menjadi program pemanfaatan limbah gigi dan pemanfaatan potensi lokal seperti ekstrak daun kelor.



- d. Penelitian ini dapat dikembangkan untuk membuat bahan yang menggunakan daun kelor untuk membantu regenerasi tulang alveolar dan mengatasi masalah penyakit periodontal, sehingga berpotensi memiliki nilai ekonomi.
- e. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi dasar penelitian lanjutan yang berhubungan dengan pemanfaatan limbah gigi manusia dan pemanfaatan ekstrak daun kelor dalam pembentukan tulang alveolar.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tulang Alveolar

Tulang adalah jaringan aktif yang secara metabolik mengalami remodeling secara terus menerus yaitu pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang. Proses ini bergantung pada aktivitas osteoklas, osteoblas, dan osteosit. Tulang terdiri dari kristal hidroksiapatit dan berbagai ekstraseluler matriks protein, termasuk kolagen tipe I, osteokalsin, osteopontin, sialoprotein tulang, dan proteoglikan. Sebagian besar protein matriks tulang ini disekresikan dan diendapkan oleh osteoblas dewasa, yang disejajarkan di permukaan tulang. Pembentukan kristal hidroksiapatit dalam osteoid juga diatur oleh osteoblas. Ekspresi sejumlah protein matriks ekstraseluler terkait-tulang, aktivitas Enzimatis Alkali Fosfatase (ALP) yang tinggi, dan responsif terhadap hormon osteotropik dan sitokin diyakini merupakan karakteristik utama osteoblas (Chen et.al.,2012).

Selama embriogenesis, jaringan tulang terbentuk melalui dua jalur yang berbeda yaitu osifikasi intramembran dan osifikasi endokondral.

Dalam kasus osifikasi intramembran, osteoblas berdiferensiasi langsung dari proliferasi sel mesenkim, sedangkan dalam kasus osifikasi endokondral, sel mesenkim yang terkondensasi berdiferensiasi menjadi kondrosit dan



membentuk tempat tulang rawan. Beberapa sitokin dan hormon, seperti BMP, TGF- $\beta$ , *fibroblas*, *growth factors*, dan *estrogen* memodulasi pengaturan diferensiasi sel mesenkimal dengan merangsang jalur pensinyalan intraseluler. BMP adalah salah satu penginduksi paling kuat dari pembentukan tulang ektopik dan paling membantu diferensiasi sel mesenkimal menjadi osteoblas. (Xiao et al., 2015).

Tulang alveolar merupakan tulang dengan jaringan konektif yang termineralisasi. Tulang alveolar terdiri dari 23% jaringan mineralisasi (bagian inorganik) dan 37% adalah matriks organik yang terutama terdiri dari kolagen dan 40% adalah air. Bagian inorganik terdiri dari kristal hidroksiapatit (utama), kalsium phosphorus, hidroksil, sitrat, karbonat dan *traces of sodium, magnesium, fluoride*. Bagian organik terdiri dari sel sel, dan matriks yang meliputi kolagen tipe I dan protein non kolagen. (Suchetha et al., 2017).

Matriks komponen dari tulang alveolar terdiri dari protein kolagen dan protein non kolagen. Protein kolagen terdiri dari (80-90%) komponen organik dalam jaringan tulang termineralisasi. Komponen ini terutama terdiri dari tipe I kolagen (95%), tipe V kolagen (5%), Tipe III dan XII, juga ada. Tipe I, V, XII, dihasilkan dari osteoblas, tipe III dihasilkan oleh fibroblas. Berbagai protein non kolagen seperti Osteokalsin, Osteonektin, Osteopontin, Sialoprotein, Proteoglikan menunjukkan sekitar 8 % terutama

matriks organik (Suchetha et al., 2017).



## B. Dentin

Dentin memiliki komponen anorganik dan organik yang sangat mirip dengan tulang manusia. Pada dentin, kandungan anorganik adalah 70 - 75%, sedangkan kandungan organik sekitar 20% dengan 90% dari kandungan organik dentin adalah tipe I kolagen. Tujuh puluh persen (70%) dari dentin adalah hidroksiapatit dalam berat volume. Hidroksiapatit dalam dentin terstruktur dengan kalsium fosfat rendah-kristal, membuat tulang dapat mengalami remodeling. Sebaliknya, hidroksiapatit dalam email terstruktur sebagai kristal kalsium fosfat tinggi. Kandungan kristal fosfat yang tinggi tidak mudah terurai oleh osteoklas, menghasilkan resorpsi yang lambat dan akibatnya osteokonduktivitas yang buruk. Jaringan tulang sendiri terutama terdiri dari kristal apatit rendah (Park et al.,2012; Um 2017).

Protein non kolagen dentin seperti *Bone Morphogenetic Proteins* (BMPs) dan osteokalsin, dan proteoglikan memainkan peran penting dalam pembentukan tulang dan mineralisasi. *Bone Morphogenetic Proteins* (BMP) mempromosikan diferensiasi sel punca mesenkimal ke dalam kondrosit dan secara konstan meningkatkan pembentukan tulang (Park et al.,2012; Um,2017).

Dentin dan sementum memiliki *growth factor* selain BMPs seperti *Insulin-Like Growth Factor* (IGF), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Fibroblas Growth Factor* (FGF), dan *Transforming Growth Factor* (TGF)- $\beta$ .

Kandungan organik dentin adalah NCP. NCPs yang berkontribusi untuk mineralisasi adalah osteokalsin, osteonektin, phosphophoryn, dentin



sialoprotein (DSP), *Dentin-Specific Extracellular Matrix Protein*, dan lain lain (Kim et al., 2013).

Tulang mengandung komponen selular (osteosit) dan pembuluh darah, sedangkan dentin adalah aseluler, avascular calcified matrix (Um, 2017). Komponen seluler tulang alveolar terutama terdiri dari 3 tipe sel osteoblas, osteoklas, osteosit. Sel sel tulang osteoklas, osteoblas, dan osteosit dibutuhkan untuk remodeling tulang dan beberapa sel sel imun.(Suchetha et al., 2017).

### C. Sel Pembentuk Tulang

#### 1. Osteoblas

Osteoblas dibentuk dari sel stroma dari mesoderm (totipotent mesenchymal stem cell). Pembentukan osteoblas dimulai dari prekursor sel stroma menjadi preosteoblas yang kemudian berkembang menjadi osteoblas yang dapat diaktifkan sehingga akhirnya dapat membentuk osteosit. Osteoblas merupakan sel berinti tunggal yang terdapat dipermukaan luar (periosteum) dan di dalam tulang (endosteum). Apabila sel ini berada dalam keadaan aktif berbentuk kuboid, sedangkan dalam keadaan tidak aktif, osteoblas berbentuk pipih. Osteoblas menghasilkan kolagen, proteoglikan dan glikoprotein untuk pembentukan tulang baru dan perantara permukaan tulang dan juga untuk pembentukan tulang pada kartilago. (Ott et al., 2002).





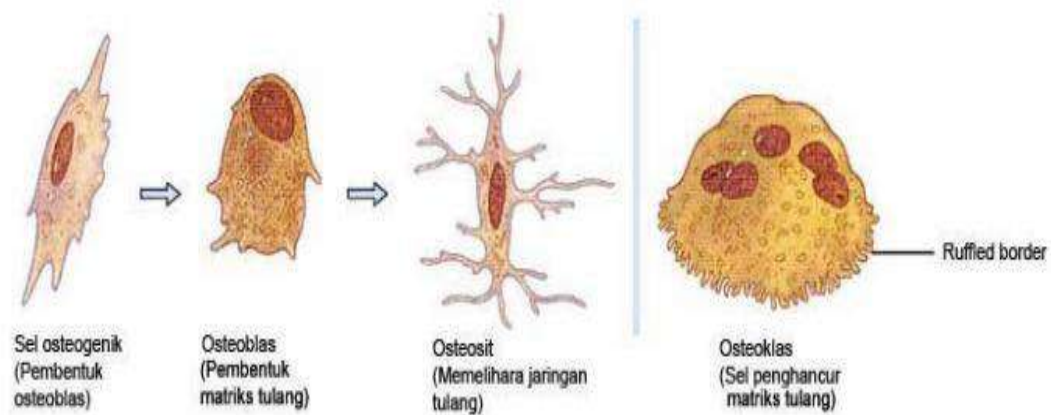
Osteoblas adalah sel sel mesenkimal yang diperoleh dari mesodermal dan neural crest progenitor cells dan pembentukannya membutuhkan differensiasi dari progenitors menjadi proliferasi preosteoblasts, osteoblas menghasilkan matriks tulang, dan akhirnya menjadi osteosit atau sel pelapis tulang/ bone-lining cells. Marker osteoblas yang paling awal *Runt-related Transcription Factor 2* (Runx2) yang dibutuhkan untuk differensiasi sel progenitor sepanjang garis turunan osteoblas. Selama rangkaian proliferasi selular Runx2 mengatur ekspresi gen gen yang mengkode osteokalsin, (Eriksen, 2010).

Sejumlah besar faktor parakrin, autokrin, dan endokrin mempengaruhi perkembangan dan pematangan osteoblas seperti: protein morfogenetik tulang (BMPs), faktor pertumbuhan seperti FGF dan IGF, faktor angiogenik seperti endotelin-1, hormon seperti PTH dan agonis kelenjar, yang seluruhnya memodulasi differensiasi osteoblas. Osteoblas menempel pada permukaan tulang dan membentuk tulang baru dan bertanggung jawab untuk aposisi tulang dan merupakan differensiasi dari pluripoten folikel sel. Osteoblas kaya akan sitoplasma yang kaya akan alkaline phosphatase dan mengandung reseptor untuk hormon parathyroid dan estrogen dan juga mengatur fungsi osteoklas. Osteoblas memiliki kemampuan berdifferensiasi menjadi *adipocytes*, *myocytes*, *chondrocytes* dibawah pengaturan faktor transkripsi. Differensiasi osteoblas dikontrol oleh

transcription factor RUNX2 (*runt-related transcription factor 2*), juga dikenal sebagai CBFA1 (*core-binding factor A1*). Osteoblas ditandai



dengan kemampuannya untuk mensintesa dan mensekresi kolagen like extra-cellular protein molecules dan menyebabkan mineralisasi dari matriks melalui ALP like enzym. (Xiao et al., 2015).



Gambar 1. Sel sel tulang. Sumber: Leeson et al. 1996

## 2. Osteoklas

Osteoklas merupakan sel sel myeloid diferensiasi akhir untuk menghilangkan matriks tulang termineralisasi. Sel ini bertanggung jawab untuk degradasi tulang termineralisasi dan penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tulang yang normal, pemeliharaan integritas tulang sepanjang hidup, metabolisme kalsium melalui remodelling, homeostasis, dan perbaikan (Xiao et al., 2015).

Osteoklas adalah sel giant yang berbentuk irregular yang meresorpsi tulang. Osteoklas berasal dari makrofag atau monosit. Monosit yang

membentuk multinucleated sel osteoklas. Osteoklas mengikat ke tulang melalui integrin (protein). Vibronektin akan membantu

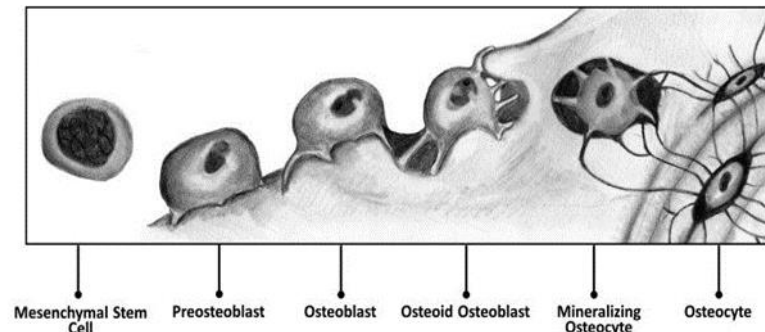


mengikat osteoklas ke tulang. Tulang diabsorpsi pada *Howshop's Lacunae*. Pada saat bagian *ruffled osteoklas* berkontak dengan tulang maka osteoklas akan mengeluarkan asam yang lebih rendah dari level PH, dan osteoklas kemudian meresorpsi matriks tulang yang termineralisasi. Osteoklas tidak dapat menghancurkan osteoid yang tidak termineralisasi. Terdapat protein yang berinteraksi dengan osteoklas dan osteoblas untuk mengontrol resorpsi tulang. Osteoklas memiliki reseptor RANK pada permukaannya (Xiao et al., 2015).

### 3. Osteosit

Osteosit didefinisikan sebagai sel yang terletak di dalam matriks tulang, diturunkan dari sel punca mesenkim melalui diferensiasi osteoblas, berkomunikasi secara luas dengan populasi sel tulang lainnya untuk mengatur metabolisme tulang. Dari ruang lakuna yang berukuran 15-20 $\mu$ m, osteosit berkomunikasi melalui dendrit yang memanjang melalui tubular kanalikuli, dendrit ini berkontak dengan osteosit lain, sumsum tulang dan lapisan osteoblas. Distribusi osteosit dalam tulang adalah matriks tiga dimensi yang sangat terorganisir yang dirancang untuk meningkatkan adaptasi (Compton dan Lee, 2014).





Gambar 2. Diferensiasi osteosit dari osteoblas. Sumber: (Compton, 2014)

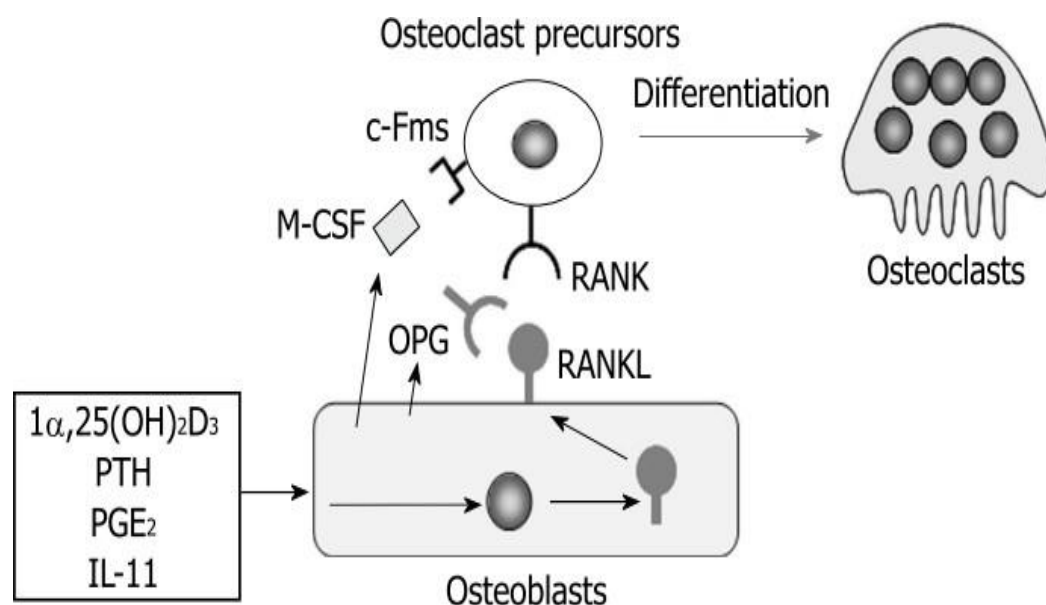
#### 4. Peranan Osteoblas, Osteoklas, dan Osteosit Dalam Tulang

Proses remodeling melibatkan osteoblas dan osteoklas melalui mekanisme signal parakrin dan endokrin. Osteoklas merupakan sel dengan beberapa inti sel dan berkembang dari hematopoetic stem cells serta memiliki fungsi dalam meresorpsi tulang, sedangkan osteoblas memiliki fungsi sebagai penghasil matriks organik yang terdiri atas protein kolagen dan nonkolagen serta mengatur proses mineralisasi kalsium fosfat pembentuk osteoid. Osteoblas berkembang dari osteoprogenitor yang terdapat di bagian dalam periosteum dan sumsum tulang. Proses diferensiasi osteoblas merupakan salah satu faktor penting dalam proses remodeling tulang. Proses proliferasi dan diferensiasi osteoblas diatur oleh growth factor yang dihasilkan oleh osteoblas. *Growth factor* yang berperan diantaranya *Insulin Growth Factor* (IGF I dan II), *Bone Morphogenic* (BMPs), *Fibroblas Growth Factor* (FGF), dan *Platelet-Derived*



*Growth Factor* (PDGF) yang bekerja secara autokrin dan parakrin, serta hormon estrogen (Xiao et al., 2015).

Osteoblas mengekspresikan dua sitokin yang penting untuk osteoklastogenesis, *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF) dan ekspresi RANKL. Osteoblas juga menghasilkan OPG, reseptor umpan untuk RANKL, yang menghambat interaksi antara RANKL dan RANK, reseptor RANKL. Faktor-faktor perangsang resorpsi tulang bekerja pada osteoblas untuk mengatur ekspresi RANKL dan OPG. Nuclear factor dari T-sel yang diaktifkan, sitoplasma 1 (NFATc1) adalah faktor transkripsi master untuk diferensiasi osteoklas (Xiao et al., 2015).

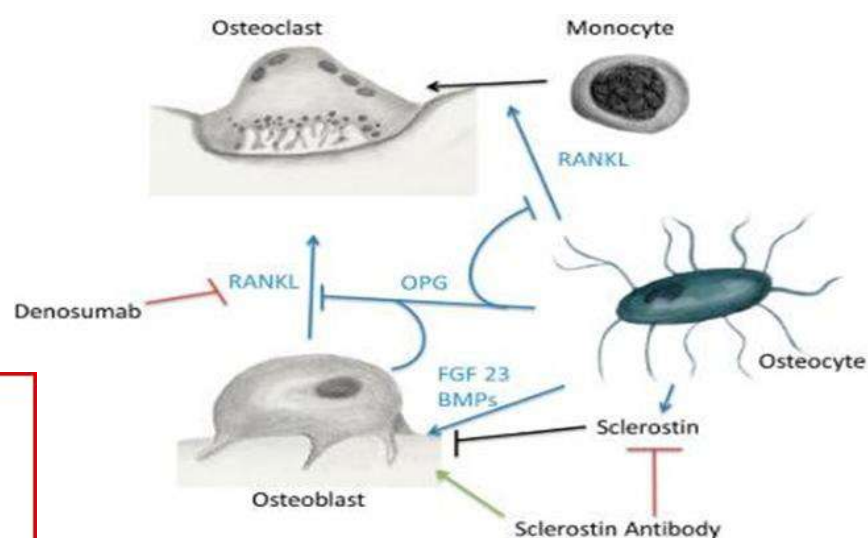


Gambar 3. Regulasi diferensiasi osteoklas oleh osteoblas melalui produksi *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF), *Receptor Activator of Nuclear factor- $\kappa$ B Ligand* (RANKL), dan osteoprotegerin. Sumber: (Marsell 2011; Yamashita 2012).



Osteoblas mengekspresikan 2 sitokin penting untuk diferensiasi osteoklas, M-CSF dan RANKL. Osteoblas mengekspresikan RANKL sebagai bentuk terkait membran dalam menanggapi faktor-faktor perangsang resorpsi tulang seperti 1 $\alpha$ , 25-dihidroksivitamin D3 [1 $\alpha$ , 25 (OH) 2 D3], paratiroid hormon (PTH), prostaglandin E2 (PGE2), dan interleukin 11 (IL-11). Osteoklas prekursor mengekspresikan c-Fms (reseptor M-CSF) dan RANK (reseptor RANKL) dan berdiferensiasi menjadi osteoklas dengan adanya M-CSF dan RANKL. Osteoblas juga menghasilkan osteoprotegerin (OPG), yang menghambat osteoklastogenesis dengan menghalangi interaksi RANKL-RANK. (Marsell 2011; Yamashita 2012).

Osteoklas muncul oleh bergabungnya myeloid hematopoietic precursors yang terbentuk di sumsum tulang. Osteoklas precursor ditarik dari sumsum tulang ke aliran darah oleh chemokines (seperti M-CSF, RANKL) dan disirkulasi hingga osteoklas precursor tertarik kembali ke tulang (Boyce, 2013).



Gambar 4. Kontrol osteosit pada lingkungan tulang lokal. Osteosit mengatur resorpsi tulang dan deposisi tulang dengan mengendalikan aktivitas osteoklas dan osteoblas. Osteosit melepaskan Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand (RANKL) untuk menginduksi diferensiasi osteoklas, serta OPG (osteoprotegerin) untuk menurunkan regulasi osteoklastogenesis. Osteosit juga melepaskan FGF-23 (Fibroblas growth factor-23), BMPs (protein morfogenetik tulang), dan sklerostin untuk mengatur aktivitas osteoblas. Antibodi Denosumab dan sclerostin adalah dua antibodi yang berinteraksi dengan biologi sel tulang untuk meningkatkan massa tulang. Sumber: Compton, 2014.

Jalur yang mendominasi yang mengatur diferensiasi osteoklas adalah jalur RANKL / RANK / OPG. Jalur ini didasarkan pada osteoblas yang mempromosikan diferensiasi osteoklas melalui presentasi membran RANKL dan pengikatan faktor ini dengan reseptor membran RANK pada prekursor osteoklas mononuklear. Diferensiasi osteoklas juga dimodulasi oleh M-CSF. Diferensiasi osteoklas oleh RANKL dihambat oleh decoy reseptor osteoprotegerin (OPG), yang juga diproduksi oleh osteoblas (Kajiya et al., 2010).

#### **D. Demineralized Dentin Matrix (DDM)**

Beberapa penelitian terhadap tulang dan dentin yang diketahui memiliki sifat yang sama juga terbukti menunjukkan kemampuan osteoinduksi yaitu berperan dalam merangsang pembentukan tulang baru (Wirata, 2014).

ada tahun 1967, Urist dkk melaporkan bahwa demineralized dentin osteoinduktif yang lebih tinggi. BMP yang ada dalam DDM dan



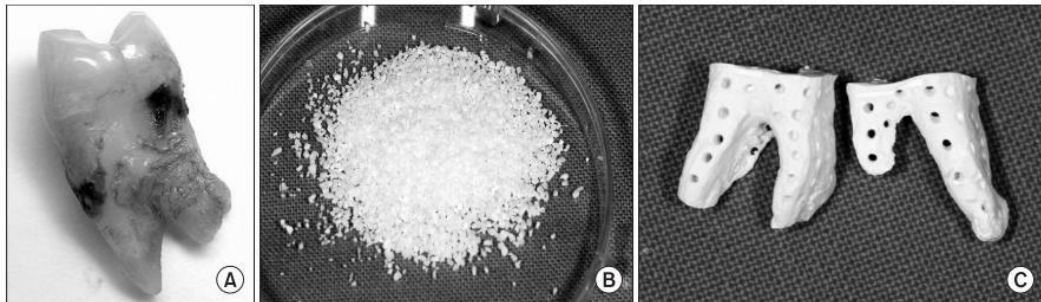
tulang merupakan perangsang utama yang memiliki sifat osteoinduktif. Purified BMP merupakan homogenous dan menyebabkan pembentukan tulang dalam waktu 3 minggu ketika ditanam dalam pounces tikus wistar. *Bone morphogenic protein* disamping bertindak sebagai bahan osteoinduktif juga berperan sebagai scaffold untuk sel sel tumbuh didalamnya (Bhattacharjya et al., 2016).

*Demineralized Dentin Matrix* (DDM) merupakan kompleks tipe I collagen (COL-1) dan growths yang telah kehilangan kristal mineral, yang dilepaskan dari matriks, dan secara bermakna memiliki efek biologis osteoinduktif dan osteokonduktif. Autologous dan xenogenous DDM telah digunakan untuk defek dan injuri tulang. (Kim et al., 2013).

*Demineralized Dentin Matrix* (DDM), adalah bahan organik yang diperoleh dari dentin yang memiliki kapasitas osteogenik. Berdasarkan potensi osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis, growth factor pada gigi dan histogenesisnya hampir sama antara gigi dan tulang, sehingga bahan graft tulang baru dapat dikembangkan dengan memanfaatkan komponen anorganik dan organik dari gigi yang diekstraksi (Bhattacharjya et al., 2016). Pola struktur kristalin rendah yang hampir sama dengan struktur autogenous cortical bone (Kim et al., 2013)







Gambar 5. A. Gigi yang diekstraksi yang siap dibentuk autogenous tooth bone graft (AutoBT) B. Powder (AutoBT) C. AutoBT bentuk blok  
Sumber: Kim, 2013

Pada tahun 1998 pada suatu penelitian menunjukkan bahwa akar dentin yang diperoleh dari gigi yang diekstraksi dapat didaur ulang sebagai carier rhBMP-2 oleh karena akar dentin menyebabkan pembentukan tulang baru dalam jaringan, sementara laporan pada tahun 2005 menunjukkan bahwa osteoinduktif matriks partikel Human *Demineralized Dentin Matrix* (DDM) dapat efektif sebagai carier dari rhBMP-2 untuk bone engineering. Sehingga powder DDM memiliki potensi yang besar sebagai karier untuk rhBMP-2. Pada pembentukan tulang menunjukkan DDM dapat sebagai pembawa yang cocok untuk rhBMP-2 dan oleh karena DDM terutama terdiri dari kolagen tipe I dan hidroksiapati (HA) (Um et al., 2016).

BMP yang terdapat pada DDM dan tulang merupakan stimulan utama yang memiliki sifat osteoinduktif. Bessho dkk berhasil mengisolasi BMP dari tulang demineralisasi dan dentin gigi yang diekstraksi dari kelinci. menyebabkan pembentukan tulang dalam 3 minggu ketika ditanam di otot pada tikus wistar. Meskipun, BMP yang diperoleh dari dentin



berbeda dari BMP yang diperoleh dari tulang tetapi mekanisme kerjanya tetap sama.(Bhattacharjya et al., 2016).

## E. Bone Graft

*Bone graft* adalah suatu bahan yang diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain dengan tujuan menggantikan tulang yang hilang. Pengraftan tulang dilakukan karena jaringan tulang memiliki kemampuan untuk regenerasi (Kumar et al., 2013).

Klasifikasi Bone Graft (Kumar et al.,2013; Hung 2016) :

### 1. Autograft

Pengraftan tulang autologous atau autogenous atau autograft melibatkan pemanfaatan tulang yang diperoleh dari individu yang sama dengan individu yang menerima graft. Tulang dapat diambil dari bagian tulang lain seperti iliac crest, simpisis mandibular, ramus mandibular anterior (prosesus coronoid). Jenis graft ini memiliki risiko penolakan graft lebih sedikit, namun memiliki kerugian dari jenis ini adalah diperlukan lokasi pembedahan tambahan, dan berpotensi adanya rasa nyeri dan komplikasi pasca operasi.



## 2. Allograft

Allograft merupakan graft yang didapat dari individu lain tetapi dari spesies yang sama. Terdapat tiga jenis tulang allograft yang tersedia yaitu fresh-frozen bone, FDBA, DFDBA. Penggunaan allografts untuk perbaikan tulang seringkali membutuhkan sterilisasi dan menon-aktifkan protein yang biasanya ditemukan pada tulang yang sehat.

## 3. Xenograft

*Xenograft* merupakan jenis bone graft yang berasal dari spesies lain selain manusia seperti sapi dan digunakan sebagai matriks terkalsifikasi.

## 4. Alloplastic grafts

Jenis graft ini dibuat dari hidroksiapatit, mineral alami (komponen mineral utama tulang). Hidroksiapatit adalah bone graft sintesis yang paling banyak digunakan karena sifat osteokonduksi, kekerasan dan penerimaannya oleh tubuh.

## F. Mekanisme Biologi Bone Graft

Bone graft memperlihatkan gambaran biologis dan mekanik serta memberikan suatu scaffold sehingga tulang baru dapat dibentuk melalui

resorpsi, osteoinduksi, dan osteokonduksi. Material graft minimal harus memiliki 2 sifat biologis ini (Atasoy dan Kose, 2016).



## 1. Osteokonduktif

Osteokonduksi terjadi ketika bahan bone graft berperan sebagai scaffold untuk pertumbuhan tulang baru yang di dukung oleh tulang asli. Osteoblas dari defek margin yang digraft menggunakan bone graft sebagai kerangka kerja untuk menyebar dan menghasilkan tulang baru (Hung, 2016).

Osteokonduksi dalam fungsinya berperan sebagai media bagi sel sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik didalam defek tulang atau sebagai satu dari bentuk dari bone graft yang memberikan dimensi scaffold atau rangka untuk osteoblas, memfasilitasi vaskularisasi dan menyiapkan migrasi dari sel host baru dengan aktivitas osteogenik (Atasoy dan Kose, 2016).

Osteokonduksi adalah efek fisik dari matriks graft yang membentuk scaffold yang membantu sel sel luar untuk penetrasi bahan graft dan membentuk tulang baru. Bahan bone graft tergantung oleh jaringan sekitar (host). Sifat mekanik dan biologis host dan graft harus memungkinkan integrasi graft dengan tulang host lokal untuk aktivitas osteogenik yang sukses. Ketika tulang baru terbentuk, graftan bisa sebagian atau seluruhnya diserap melalui proses pembentukan tulang. Sifat osteokonduksi adalah dimana matriks bone graft membentuk rangka untuk membentuk tulang

osteokonduksi memberikan dimensi dari scaffold untuk osteoblas, memfasilitasi vaskularisasi, dan memberikan tempat migrasi dari sel sel



host dengan aktivitas osteogenik. Osteokonduksi memacu pertumbuhan tulang secara aposisi dari tulang disekitarnya (Kim et al.,2013; Atasoy dan Kose, 2016)

## 2. Osteoinduktif

Osteoinduksi didefinisikan sebagai peningkatan pembentukan tulang dimana Mesenchymal Stem Cell (MSC) dikumpulkan dari host tissue dan dideferensiasi ke dalam sel sel tulang oleh stimulasi dari produksi tulang baru seperti bone protein, growth factor, dan sitokin (Atasoy dan Kose, 2016).

Osteoinduksi melibatkan perangsangan sel sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas yang kemudian mulai pembentukan tulang baru. Mediator sel osteoinduktif yang paling penting adalah bone morphogenetic proteins (BMPs). Suatu bone graft dengan osteokonduktif dan osteoinduktif tidak hanya berperan sebagai scaffold untuk osteoblas yang sudah ada tetapi juga memicu pembentukan osteoblas baru, secara teori mempromosikan integrasi yang lebih cepat dari graft (Hung, 2016).

Osteoinduksi merupakan proses kimia dengan molekul didalam bone graft (protein pembentuk tulang atau BMP) yang mengubah sel tetangga menjadi sel osteoblas yang mampu membentuk tulang (osteoblas).

Osteoinduksi melibatkan pembentukan tulang baru dari osteoprogenitor yang diturunkan dari sel-sel mesenkim primitif



dibawah pengaruh satu atau lebih agen-agen induksi yang berasal dari matriks tulang. Proses ini berhubungan dengan keberadaan bone growth factors dalam bone graft (Kabir et al., 2015).

### 3. Osteogenesis

Osteogenesis adalah proses pembentukan tulang baru yang dihasilkan dari transplantasi sel sel osteoprogenitor bersama growth factor dari bone graft atau daerah host. Hanya bahan autograft yang memiliki sel sel osteoblas dan prekursoranya (Atasoy dan Kose, 2016).

Osteogenesis terjadi ketika osteoblas vital yang berasal dari bahan bone graft berkontribusi terhadap pembentukan tulang begitu juga sel sel yang terkandung dalam graft (Hung, 2016). Proses terbentuknya tergantung pada sel tulang yang ada dalam bone graft. Allografts dapat menggabungkan faktor pertumbuhan, MSC, sel osteo-progenitor dan substitusi osteogenik untuk menyediakan perkembangan tulang langsung (Kumar et al., 2013).

Bone graft osteogenik mengandung sel-sel dengan kemampuan untuk membentuk tulang (sel sel osteoprogenitor) dan berpotensi diferensiasi menjadi sel-sel pembentuk tulang yang diinduksi sel-sel prekursor osteogenic (Kumar et al., 2013).



## G. NFkB

NFkB mengeluarkan banyak fungsi biologis yang terlibat dalam proses penting seperti *innate* dan *adaptive immune*, *cell survival*, dan inflamasi. Faktor transkripsi NFkB mengatur ekspresi ratusan gen gen yang terlibat regulasi pertumbuhan sel, diferensiasi dan perkembangan dan dapat mengaktifkan jumlah yang besar dari gen gen yang terlibat dalam respon stress, inflamasi, dan apoptosis (Siomek, 2012).

*Nuclear factor-κB* (NFkB) adalah keluarga faktor transkripsi dapat melintasi membran nuklear, berikatan dengan promoters spesifik, dan mengatur ekspresi banyak gen gen yang terlibat dalam fungsi normal dan patologis. NFkB mengatur sejumlah besar gen yang terlibat dalam berbagai proses respons imun dan inflamasi (Siomek, 2012; Liu et al., 2017).

NFkB terdiri dari lima anggota yaitu NFkB1 (p50), NFkB2 (p52), RelA (p65), RelB dan c-Rel, yang memediasi transkripsi gen target dengan mengikat elemen DNA tertentu/spesifik, penambah κB, membentuk heterogen atau homo-dimers melalui domain homologi N-terminal Rel. (Liu et al., 2017). NFkB dimers berikatan dengan promotor berbagai gen sebagai rangkaian yang dikenal sebagai κB elemen 5'GGGRNWYYCC3' (*N: any base; R: purine; W: adenine or thymine; and Y: pyrimidine*). Subunit NFkB ini membentuk homo dan heterodimer melalui domain homologi N-terminal Rel yang memungkinkan pengikatan DNA

(Abu-Amer, 2013; Liu et al., 2017).



Aktivasi NF $\kappa$ B terjadi di sebagian besar sel setelah stimulasi dengan berbagai macam rangsangan termasuk sitokin, modulator imun, dan stress. Aktivator yang menonjol dari NF $\kappa$ B seperti *Receptor Activator of NF $\kappa$ B ligand* (RANKL), TNF $\alpha$ , *lymphotoxin*, *bakteri endotoksin*, *Toll-like receptor* (TLR) ligands, CD40L, interleukin-1 (IL-1), dan oksigen radikal. Stimulus ini menginduksi perakitan kompleks protein distal spesifik ligan / reseptor, terutama dengan protein adaptor seperti *TNF Receptor-Associated Factors* (TRAF). Protein ini memfasilitasi perekrutan dan pembentukan dari stable Map kinase and NF $\kappa$ B kinase complexes, terutama TAK1, NIK, IKK1, IKK2, and IKK $\gamma$ /NEMO. *Activated kinase complexes phosphorylate NF $\kappa$ B inhibitory protein*, I $\kappa$ B $\alpha$ , kemudian mengalami degradasi proteosom, sehingga memungkinkan translokasi nuclear dari berbagai NF $\kappa$ B dimers. Aktivasi klasik NF $\kappa$ B oleh TNF, IL-1, dan RANKL mensyaratkan stimulasi jalur IKK2 dan IKK $\gamma$  / NEMO, yang dianggap sebagai mediator utama respons sel. Sebaliknya, aktivasi IKK1 yang menginduksi kinase NF $\kappa$ B (NIK) memediasi jalur alternatif NF $\kappa$ B yang mengarah pada pembentukan kompleks RelB / p52.(Abu-Amer, 2013).

NF $\kappa$ B diaktifkan atau diaktivasi melalui dua jalur pensinyalan utama yaitu *canonical* (klasik) dan *noncanonical* (jalur alternative). Penelitian lain menyebutkan melalui jalur klasik, jalur atypical dan jalur alternatif. Jalur klasik dan alternatif ini penting untuk mengatur respon imun dan inflamasi

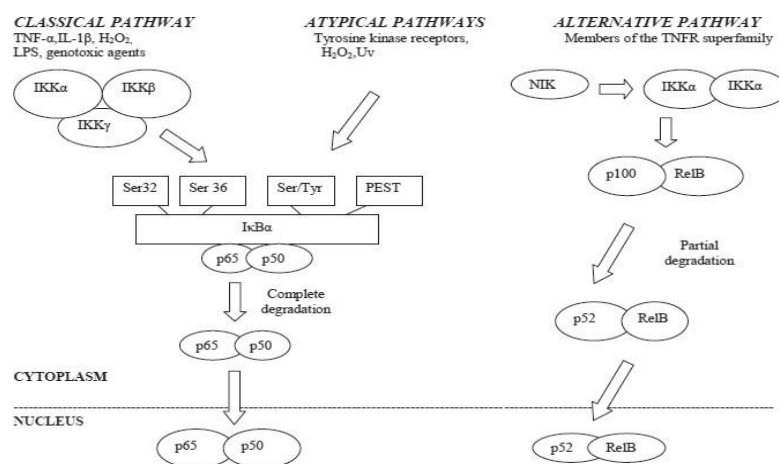
yang berbeda dalam mekanisme pensinyalan. Jalur klasik / canonical yang diaktifkan dari aktivasi dari I $\kappa$ B kinase (IKK) complex yang terdiri IKK $\alpha$ ,





IKK $\beta$ , and IKK $\gamma$  (dikenal dengan NEMO), dan biasanya menghasilkan lokalisasi nuklear dari dimer p65 / p50. (Liu et al., 2017).

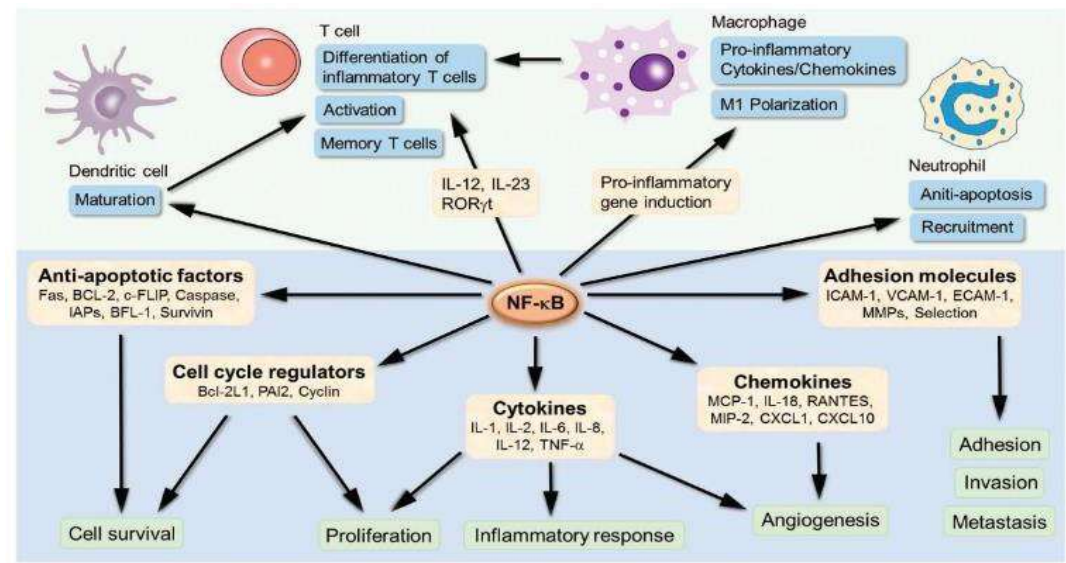
Jalur canonical NF $\kappa$ B merespon rangsangan yang beragam, termasuk ligan berbagai reseptor sitokin, *pattern-recognition receptors* (PRRs), *TNF receptor* (TNFR), *superfamily members pattern-recognition receptors* (PRRs), anggota superfamili reseptor TNF (TNFR), serta reseptor sel-T (TCR) dan reseptor sel-B. Mekanisme utama untuk aktivasi NF $\kappa$ B canonical adalah degradasi yang dapat diinduksi dari I $\kappa$ B $\alpha$  yang dipicu melalui situsnya fosforilasi spesifik oleh kompleks multi-subunit I $\kappa$ B kinase (IKK ). IKK terdiri dari dua subunit katalitik, IKK $\alpha$  dan IKK $\beta$ , dan suatu regulator subunit disebut NF $\kappa$ B essential modulator (NEMO) atau IKK $\gamma$ . IKK dapat diaktifkan oleh rangsangan yang berbeda, termasuk sitokin, faktor pertumbuhan, mitogen, komponen mikroba dan agen stres. Setelah aktivasi, IKK memfosforilasi I $\kappa$ B $\alpha$  pada dua serin terminal N dan memicu ubiquitin-dependent I $\kappa$ B $\alpha$  degradasi proteasome, mengakibatkan translokasi nuklir cepat dan transien kanonik anggota NF $\kappa$ B terutama yang p50 / Rel $\alpha$  dan p50 / c-Rel dimers (Liu et al., 2017).



Gambar 6. Jalur aktivasi NFkB. Cara aktivasi klasik yang melibatkan aktivitas IKK, selanjutnya fosforilasi Ikb $\alpha$  pada Ser 32 dan Ser 36, Ikb $\alpha$ . NFkB yang teraktivasi melalui jalur klasik mengontrol proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis dan respons imun dan stres. Jalur NFkB atipikal mengandalkan Ikb $\alpha$  Tyr 42 atau fosforilasi Ser dan Thr di wilayah PEST, tanpa aktivasi IKK. Jalur ini dapat disebabkan oleh hipoksia / reoksigenasi atau stimulasi reseptor tirosin kinase, pervanadate, iradiasi UV, dan dalam beberapa baris sel, oleh H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Di jalur alternatif aktivasi terjadi melalui NIK dan IKK $\alpha$  dan mengarah ke fosforilasi p100, menghasilkan p52 translokasi ke dalam nukleus dalam kompleks dengan RelB. Jalur ini diaktifkan oleh LT $\beta$ , BAFF atau CD40 (anggota superfamili TNFR). Pengaktifan melalui jalur ini penting untuk pengembangan organ limfoid sekunder, homeostasis dan imunitas adaptif. Sumber: (Liu et al., 2017).

Sejumlah mediator inflamasi termasuk sitokin proinflamasi, chemokin, radikal bebas, dan enzim tertentu terlibat dalam proses inflamasi ini yang dimediasi oleh sel-sel imun teraktivasi seperti monosit dan makrofag. Makrofag memainkan peran penting dalam inisiasi dan modulasi mekanisme pertahanan inang melalui produksi mediator proinflamasi (misalnya, oksida nitrat, sitokin, dan prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)). Berbagai jalur transduksi sinyal terlibat dalam proses inflamasi dan berkontribusi pada peradangan akut dan kronis. NFkB adalah pusat respons inflamasi dan menginduksi ekspresi gen inflamasi kunci. Oleh karena itu, downregulation jalur pensinyalan NFkB adalah salah satu target utama untuk mengurangi peradangan kronis (Makrofag et al., 2016).

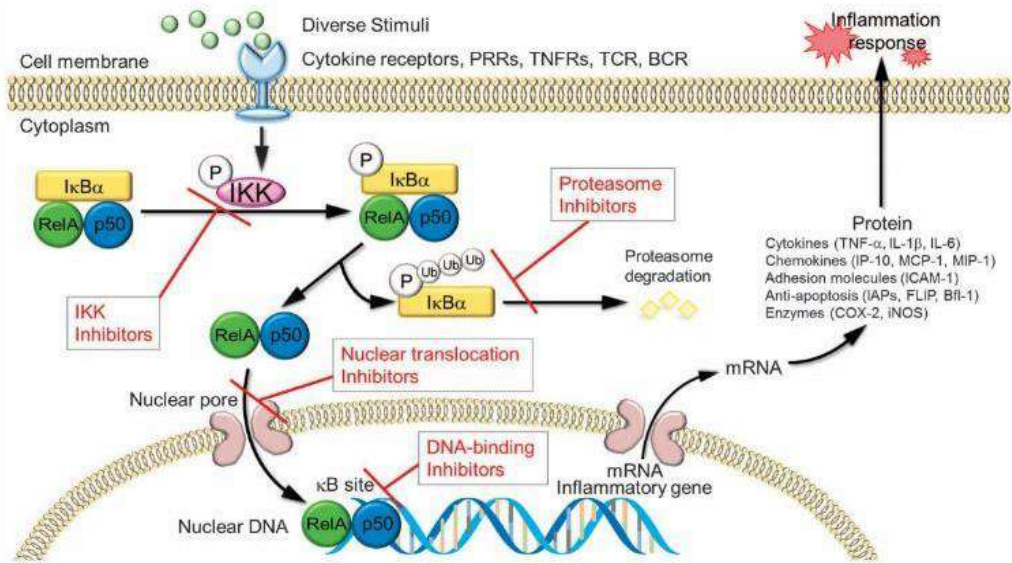




Gambar 7. Target gen NFκB yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan peradangan. NFκB adalah faktor transkripsi yang dapat diinduksi. Setelah teraktivasi, NFκB mengaktifkan transkripsi berbagai gen dan mengatur peradangan. NFκB menargetkan peradangan tidak hanya secara langsung dengan meningkatkan produksi sitokin inflamasi, kemokin, dan molekul adhesi, tetapi juga mengatur proliferasi sel, apoptosis, morfogenesis, dan diferensiasi (Sumber : (Liu et al., 2017)).

Aktivasi klasik NFκB oleh TNF, IL-1, dan RANKL memerlukan stimulasi IKK2 dan IKKγ / Jalur NEMO, yang dianggap sebagai mediator utama respons sel. Sebaliknya, aktivasi IKK1 menginduksi NFκB-inducing kinase (NIK) memediasi jalur alternatif NFκB yang mengarah pada pembentukan kompleks RelB / p52 jaringan tulang. (Atasoy dan Kose, 2016).





Gambar 8. Terapi bertarget NFκB pada penyakit radang. Pensinyalan NFκB memainkan peran patogen dalam berbagai penyakit radang; Oleh karena itu, terdapat banyak strategi terapi untuk penyakit radang yang bertujuan memblokir aktivitas NFκB. Pertama, penghambatan aktivitas IKK kinase. Obat-obatan seperti aspirin dan salisilat memiliki kemampuan untuk secara khusus menghambat IKK, sehingga mencegah fosforilasi IκBα. Kedua, penghambatan aktivitas protease. Obat-obatan seperti PS-341 dan lactacystin secara khusus menghambat 26S proteasome complex, sehingga mencegah degradasi IκBα. Ketiga, penghambatan translokasi nuklir. Obat-obatan seperti tacrolimus dan super-represor IκBα secara khusus mencegah subunit NFκB RelA, p50, c-Rel dan anggota lainnya memasuki nukleus. Akhirnya, penghambatan pengikatan DNA. Obat-obatan seperti glukokortikoid dan agonis PPAR memiliki kemampuan untuk mencegah subunit NFκB dari terikat dengan gen target, sehingga menghambat transkripsi. Sumber : (Liu et al., 2017)

## H. RANKL

*Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand (RANKL)*

merupakan protein transmembran homotrimerik tipe II yang diekspresikan

protein sekresi dan mengelilingi membran, berasal dari

sel-sel proteolitik. RANKL ini dapat berfungsi sebagai ligan yang



penting untuk proses *osteoclastogenesis*. Ekspresi RANKL distimulasi pada osteoblas/sel stromal melalui beberapa faktor yang diketahui untuk menstimulasi pembentukan dan aktivitas osteoklas. RANKL banyak terekspresi pada kelenjar limfe, timus dan paru, serta terdapat pada beberapa jaringan termasuk limpa dan sumsum tulang, namun dalam level yang rendah. Resorpsi tulang alveolar diperankan oleh sel osteoklas. Differensiasi dan aktivasi osteoklas salah satunya di perankan oleh RANKL. RANKL akan berikatan dengan *Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B* (RANK) untuk menstimulasi differensiasi dan aktivasi osteoklas (Hikmah et al., 2013).

### I. Osteoprotegerin (OPG)

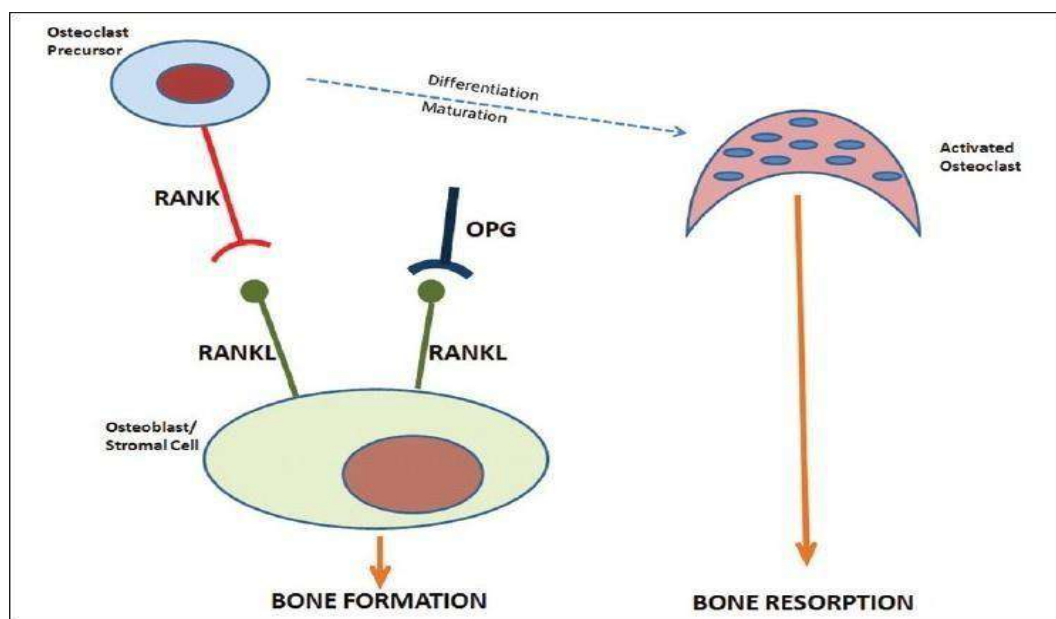
Osteoprotegerin disamakan dengan pelindung tulang yang diproduksi oleh sel-sel sumsum tulang stroma, osteoblas, dan fibroblas periodontal ligamen. Osteoprotegerin merupakan membran yang mengelilingi dan mensekresi protein yang melekat pada RANKL untuk menghambat perannya terhadap reseptor RANK. Reseptor RANK diekspresikan pada progenitor osteoklas hematopoietik. Osteoprotegerin dan RANK merupakan reseptor yang menunjukkan daya tarik menarik yang sama terhadap RANKL (Kohli dan Kohli, 2011).

Osteoprotegerin yang dihasilkan oleh osteoblas berperan sebagai

RANKL, dan mencegah RANKL berikatan dengan RANK dan tifikan RANK. Osteoprotegerin juga menghambat perkembangan



osteoklas. Efek biologis dari osteoprotegerin pada sel sel tulang meliputi hambatan pada tahap terminal akhir diferensiasi osteoklas, menekan aktivasi osteoklas matur, dan menginduksi apoptosis. Sehingga dapat dikatakan bahwa remodeling tulang terutama dikontrol oleh keseimbangan RANKL/OPG (Grimaud et al., 2003).



Gambar 9. Mekanisme Kerja RANKL/RANK, dan OPG. Sumber: Kohli, 2011

## J. Fibroblas

Fibroblas sangat penting dalam mendukung penyembuhan luka normal, yang terlibat dalam proses-proses penting seperti memecah gumpalan fibrin, menciptakan extra cellular matrix baru (ECM) dan struktur

untuk mendukung sel-sel lain yang terkait dengan penyembuhan yang efektif, serta mengontrak luka. Fibroblas terdapat pada luka



penyembuhan yang sehat, dari fase inflamasi akhir hingga epitelisasi penuh telah terjadi. Bermigrasi ke area luka, proliferasi dan melakukan sejumlah kegiatan utama di bawah regulasi ketat faktor-faktor yang dimediasi cedera dan lingkungan luka penyembuhan yang semakin berubah, yang sangat penting untuk keadaan akhir luka. Setelah luka telah cukup di remodelling, meskipun tidak identik dengan jaringan sehat di sekitarnya, tingkat Fibroblas kembali ke tingkat pra-cedera. (Bainblinggir, 2013)

### 1. Aktivasi Fibroblas

Dalam konteks proses penyembuhan, pada akhir fase inflamasi dan awal fase proliferaatif (24-48 jam pasca cedera), fibroblas pertama kali muncul di lokasi cedera. Fibroblas menyusup dan menurunkan bekuan fibrin dengan memproduksi berbagai matriks metalloproteinases (MMPs), menggantikannya dengan komponen matriks ekstraselular (ECM), seperti kolagen I-IV, XVIII, glikoprotein, proteoglikan, laminin, trombospondin, glikosaminoglikan (GAG), asam hialuronat (HA) dan heparan sulfat. matriks kompleks mendukung dan mengatur migrasi dan aktivitas fibroblas, serta bertindak sebagai pendukung dan sinyal untuk angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi dan epitelisasi terjadi. (Bainblinggir, 2013)

Fibroblas ditemukan dalam jaringan yang tidak terluka di mana mereka mempertahankan ECM. Fibroblas diarahkan ke lokasi luka melalui

tractan, seperti faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF),

in-1 beta (IL-1 $\beta$ ) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), yang



diproduksi oleh, atau dilepaskan dari, matriks sementara oleh trombosit dan makrofag sebagai bagian dari respon inflamasi. Chemoattractants sangat penting dalam mengarahkan fibroblas ke lokasi cedera dengan mengikat reseptor spesifik pada permukaan sel. Pengikatan ini memungkinkan fibroblas untuk mengorientasikan diri sesuai dengan konsentrasi atraktan dan membangun keunggulan dalam arah konsentrasi tertinggi.

## 2. Diferensiasi Fibroblas

Dengan hadirnya transformasi faktor pertumbuhan- $\beta$  (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 dan TGF- $\beta$ 3), yang berasal dari makrofag di lokasi luka sebagai bagian dari respon inflamasi, Fibroblas mengalami diferensiasi fenotipikal, di mana struktur dan fungsi diubah. Pertama, TGF- $\beta$ 1 dan TGF- $\beta$ 2 menstimulasi fibroblas untuk melekat, melalui adhesi yang mengandung integrin, ke protein berserat dalam ECM. Kemudian pengikatan ini menyebabkan mereka mulai mengekspresikan stress fiber atau filamen aktin dalam sitoplasma. Fenotipe ini disebut promyofibroblas. Di hadapan TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 dan substrat yang kaku ini selanjutnya berdiferensiasi menjadi myofibroblas. (Bainblinggir, 2013).

Tomasek et al. menyarankan bahwa fibroblas proksimal ke daerah yang terluka berdiferensiasi karena perubahan dalam lingkungan mikro, karena fibroblas dalam jaringan yang tidak terluka adalah tekanan yang di berikan oleh struktur ikatan silang dalam ECM. Pada luka, pelindung ini





hilang dan mungkin penting dalam perekrutan dan diferensiasi fibroblas ke myofibroblas. (Bainblinggir, 2013).

## K. Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka dikategorikan ke dalam 4 tahap yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Purnama et al.,2013; Jayaprakash, 2017).

### 1. Hemostatis

Hemostasis segera terjadi setelah injuri dan bentuknya sebagai perlindungan terhadap sistem vaskular dan blinggirs invading cells yang dibutuhkan untuk fase fase penyembuhan berikutnya. Trombosit yang menempel di lokasi cedera dalam beberapa detik setelah cedera, platelet menjadi aktif dan melepaskan sinyal kimia untuk meningkatkan pembekuan yang mengarah pada aktivasi fibrin, yang membentuk mesh dan bertindak sebagai lem. Trombosit mengikat satu sama lain dan bekuan sumbatan bekuan di pembuluh darah yang mengarah memperlambat atau mencegah perdarahan lebih lanjut. Bekuan fibrin-fibronektin menyediakan matriks sementara yang dapat digunakan oleh sel-sel epitel dan fibroblas untuk bermigrasi ke ruang luka. Jika luka terus berdarah, penyembuhan tertunda dan pembentukan jaringan granulasi terganggu. Fase ini juga dikenal sebagai fase koagulasi. Aktivasi trombosit selama hemostasis primer melepaskan sejumlah sitokin penting yang memulai proses penyembuhan



melalui sinyal kemotaksis ke sel inflamasi dan residen (Purnama et al., 2013; Jayaprakash, 2017)

Sitokin yang dilepaskan selama fase pembekuan memulai reaksi inflamasi yang menyebabkan debridemen luka, menghilangkan jaringan dan mikroba yang rusak. Selama respon imun bawaan ini, sel-sel inflamasi yang telah direkrut ke lokasi luka melepaskan lebih banyak sitokin dan kemokin yang secara kritis memodulasi hasil penyembuhan luka. Makrofag tampaknya merupakan sel yang sangat penting untuk perbaikan luka. Di antara sitokin dan faktor pengatur lainnya yang dilepaskan, makrofag mensekresi Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Fibroblas Growth Factor (FGF) dan Transforming Growth Faktor- beta1 (TGF- $\beta$ 1) yang tampaknya merupakan pengatur jaringan yang paling signifikan. Peradangan persisten menghambat penyembuhan luka dan dapat menyebabkan pembentukan kronis luka (Larjava, 2012).

## 2. Fase Inflamasi

Pada fase ini peradangan dimulai dalam beberapa menit hingga jam (0- 48 jam). Respon inflamasi memuncak pada 48 jam dan akan hilang setelah 1 minggu. (Ghiasi et al., 2017).

Aggregasi platelet dan pembentukan klot pada fase hemostasis merekrut growth factor dan sitokin seperti Transforming Growth Factors- $\beta$

, Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) dan Vascular Endothelial Factor (VEGF). Molekul ini bertindak sebagai promotor fase



inflammatory pada fase penyembuhan luka. Inluks sel sel inflammatory meliputi neutrofil, monosit, dan makrofag pada scaffold fibrin meningkatkan debridemen jaringan dan merekrut growth factor vital untuk penyembuhan luka. Pada fase ini patogen dan sel- sel mati dihilangkan melalui proses fagositosis (Ghiasi et al., 2017).

Growth factor yang dilepaskan oleh platelet, leukosit dan fibroblas bertanggung jawab terhadap penarikan dan aktivasi neutrophil, monosit pada daerah luka yang akan memulai terjadinya angiogenesis dan reepitelisasi. TGF yang dikeluarkan oleh fibroblas dan lekosit akan menginduksi sel-sel dengan cara autokrin untuk menghasilkan sitokin tambahan seperti TNF- $\alpha$ , IL-1beta dan PDGF yang selanjutnya akan mempotensiasi terjadinya respon inflamasi. PDGF akan mengaktifkan faktor transkripsi Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) dan macrophage chemoattractant protein-1 dalam merangsang timbulnya respon inflamasi.

### 3. Fase Poliferasi

Fase ini dikenal sebagai fase fibroplasia. Fase ini memiliki berbagai fase seperti angiogenesis, fibroplasia, dan granulasi pembentukan jaringan, deposisi kolagen, epitelisasi dan kontraksi luka. Fase ini terjadi antara hari 3- 14. Fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Ciri jaringan granulasi adalah berwarna merah cerah, lembab,

jika disentuh, dan memiliki penampilan yang bergelombang.

Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk



fibroblas dan sel inflamasi, bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstra seluler dari matriks kolagen, fibronektin dan asam hialuronik. (Jayaprakash, 2017).

Fibroblas muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke 3 dan mencapai puncak pada hari ke 7. Peningkatan jumlah fibroblas pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Fibroblas ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal, dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural. Fibroblas juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai, unsur utama matriks ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke 3 setelah luka, meningkat sampai minggu ketiga. Kolagen terus menumpuk sampai tiga bulan. Proses proliferasi fibroblas dan aktivasi sintetik ini dikenal dengan fibroplasia. (Jayaprakash, 2017).

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang berdekatan dengan luka. Pada hari ke 2 sel endotelial pembuluh darah mulai bermigrasi sebagai respon stimulasi angiogenik. Proses ini terjadi dari kombinasi proliferasi dan migrasi. Sitokin merupakan stimulan potensial pada neovaskularisasi, termasuk asidic Fibroblas growth factor (aFGF),

al Fibroblas growth factor (eFGF), bFGF dan TGF  $\beta$ . (Jayaprakash,



#### 4. Fase Remodeling/Maturasi

Fase remodelling juga dikenal sebagai fase pematangan. Terjadi dari 3 minggu hingga 1 tahun. Segera setelah matriks ekstrasel terbentuk dimulailah reorganisasi. Kolagen membentuk ikatan silang yang erat dengan kolagen lain dan meningkatkan kekuatan tarik bekas luka. (Jayaprakash, 2017).

Beberapa faktor dapat mempengaruhi proses penyembuhan, seperti infeksi, pola makan yang tidak tepat, perfusi jaringan dan suplai oksigen yang tidak mencukupi ke area luka, obat-obatan dan kondisi penyakit lainnya. Selama proses penyembuhan, spesies oksigen reaktif diproduksi di lokasi luka dan aktif melawan bakteri yang menyerang. Gangguan penyembuhan luka juga terjadi karena meningkatnya konsentrasi spesies oksigen reaktif. Stres oksidatif memiliki peran penting dalam kerusakan jaringan selama proses penyembuhan. Stres oksidatif disebabkan oleh ketidakseimbangan antara granulasi spesies oksigen reaktif dan antioksidan endogen (Jayaprakash, 2017).

Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama pembentuk matriks. Serabut kolagen pada permulaan terdistribusi acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi bundel fibril yang secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan dan kekuatan ketegangan. Setelah 5 hari periode jeda, dimana saat ini

kaitan dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks  
n besar tersusun dari fibronektin dan asam hialuronidase, terjadi



peningkatan cepat dari kekuatan tahanan luka karena fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Sesudah 3 minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir. Kekuatan akhir luka tetap lebih lemah dibanding dengan kulit utuh, dengan kekuatan tahanan maksimal jaringan parut hanya 70 % dari kulit utuh (Jayaprakash, 2017).

#### **L. Penyembuhan Soket Tulang Alveolar Setelah Pencabutan Gigi**

Renovasi linggir residual, dimulai dengan reaksi inflamasi yang diaktifkan segera setelah pencabutan gigi. Penyembuhan luka pada soket mengikuti prinsip-prinsip serupa dengan penyembuhan jaringan lunak kecuali penyembuhan juga melibatkan penyembuhan tulang, yaitu (1) pembekuan, (2) epitelisasi, (3) pembentukan jaringan granulasi dan (4) pembentukan tulang. Dalam beberapa menit setelah pencabutan gigi, renovasi linggir residual, dimulai dengan reaksi inflamasi yang diaktifkan segera setelah pencabutan gigi (Larjava, 2012).

Gumpalan darah terbentuk ke soket pencabutan gigi dengan darah dari pembuluh yang terputus yang mengandung protein dan sel-sel yang rusak. Sel-sel ini memulai serangkaian peristiwa yang akan mengarah pada pembentukan jaringan fibrin, yang, bersama dengan trombosit, membentuk "bekuan darah" atau "koagulum" dalam 24 jam pertama. Koagulum

sebagai matriks fisik, mengarahkan pergerakan sel, termasuk sel mal serta faktor pertumbuhan (Larjava, 2012).



Netrofil dan makrofag kemudian memasuki daerah luka dan mencerna bakteri dan puing-puing jaringan untuk mensterilkan luka. Netrofil dan makrofag melepaskan faktor pertumbuhan dan sitokin yang akan menginduksi dan memperkuat migrasi sel mesenkhim dan aktivitas sintetiknya di dalam koagulum. Setelah beberapa hari, gumpalan darah mulai pecah (fibrinolisis). Epitelisasi dimulai untuk luka jaringan lunak dan jaringan granulasi juga terbentuk, seperti pada proses penyembuhan luka jaringan lunak, dan dalam seminggu telah menggantikan gumpalan darah. (Larjava, 2012).

Episode yang terjadi selanjutnya berbeda dari penyembuhan jaringan lunak. Sel-sel osteogenik dari bagian bawah dan dinding soket diinduksi untuk bermigrasi ke jaringan granulasi yang berkembang kemudian berdiferensiasi dan memulai pengendapan tulang. Sel punca mesenkhim yang direkrut secara lokal bersama dengan sel yang berasal dari sumsum tulang diinduksi untuk diferensiasi osteogenik oleh sitokin dan faktor pertumbuhan yang dilepaskan secara lokal oleh trombosit dan sel-sel inflamasi serta sel-sel tulang (Larjava, 2012).

Selain itu, luka merangsang aktivitas osteoklastik dan remodeling pada dinding soket, yang memproses melepaskan faktor pertumbuhan dan sitokin seperti TGF- $\beta$ 1 dan BMP yang disimpan dalam matriks tulang. Karena itu, cacat tulang berubah menjadi tulang daripada jaringan lunak.

n besar soket diisi dengan tulang dalam waktu 8 minggu setelah



ekstraksi. Namun, remodeling tulang terus berlanjut, sering selama 6 bulan atau lebih, dengan variasi individu yang berbeda (Larjava, 2012).

Selama fase renovasi soket penyembuhan, dimensi dinding soket berubah. Jumlah tinggi dan lebar tulang yang signifikan hilang karena resorpsi dinding soket. Tingkat kehilangan tulang ini bersifat individual dan tergantung pada beberapa variabel seperti tempat, keberadaan gigi yang berdekatan, protokol perawatan dan merokok. Mengraftkan soket dengan pengganti tulang (soket preservation) dan menutupinya dengan membran tampaknya menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam mencegah beberapa kehilangan tulang setelah ekstraksi. (Irinakis, 2007; Larjava,2012).

Proliferasi sel mesenkim menyebabkan penggantian koagulum secara bertahap dengan jaringan granulasi (2-4 hari). Pada akhir 1 minggu, jaringan pembuluh darah terbentuk dan pada 2 minggu bagian marginal dari soket ekstraksi ditutupi dengan jaringan ikat yang kaya pembuluh darah dan sel sel inflamasi. Pada 4-6 minggu sebagian besar alveolus diisi dengan woven bone, sementara jaringan lunak menjadi keratinisasi. Pada 4-6 bulan, jaringan mineral dengan original socket diperkuat dengan lapisan dari tulang lamelar yang dideposit diatas woven bone yang terbentuk sebelumnya. Deposisi tulang dalam soket berlanjut hingga beberapa bulan, tetapi deposisi ini tidak akan mencapai setinggi level tulang dari gigi

(Irinakis, 2007).





## M. Tanaman Kelor / *Moringa Oleifera Lam*

Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi sampai di ketinggian  $\pm 1000$  dpl. Kelor banyak ditanam sebagai tapal batas atau pagar di halaman rumah atau ladang. Daun kelor dapat dipanen setelah tanaman tumbuh 1,5 hingga 2 meter yang biasanya memakan waktu 3 sampai 6 bulan. Namun dalam budidaya intensif yang bertujuan untuk produksi daunnya, kelor dipelihara dengan ketinggian tidak lebih dari 1 meter. Pemanenan dilakukan dengan cara memetik batang daun dari cabang atau dengan memotong cabangnya dengan jarak 20 sampai 40 cm di atas tanah (Kurniasih, 2014).

### 1. Fitokimia

Daun kelor mengandung beberapa senyawa kimia dalam bentuk beberapa senyawa bioaktif yaitu vitamin, karotenoid, polifenol, asam fenolik, flavonoid, alkaloid, glucosinolat, isothiocyanat, tanin, saponin dan oksalat. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang dihasilkan dari metabolisme sekunder pada tanaman. Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa kelas, diantaranya flavon (seperti flavone, apigenin, dan luteolin), flavonols (seperti kuersetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanon (seperti flavanon, hesperetin, dan naringenin), dan beberapa kelas lainnya. Molekul flavonoid merupakan salah satu jenis flavonoid yang aktif sebagai antioksidan (Raggatt dan Partlinggir, 2010).



Kandungan flavonoid diketahui memiliki efek menangkap radikal bebas dengan menghambat oksidasi lipid dan aktivitas antibakteri. Flavanoid juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, anti alergi, antiplatelet, dan anti tumor. Flavanoid juga menghambat aksi bakteri kollagenasse. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Flavonoid sebagai antibiotik mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Bakteri dan endotoksin menyebabkan peningkatan sitokin proinflamatori (IL-1 dan TNF alfa) dan memperpanjang fase inflamasi, sedangkan flavonoid mengandung fraksi yang dapat memperpendek periode inflamasi dan berkontribusi melawan infeksi (Sales et al., 2017).

Flavonoid yang utama dari daun kelor adalah myresitin, kuercetin dan kaempferol (Nair, et al., 2006). Atribut pendukung kekebalan ditingkatkan oleh hubungan sinergisnya dengan vitamin C. Kuercetin adalah senyawa alami yang membantu kesehatan tulang optimal, menangkap radikal bebas dalam tubuh yang merusak membran sel, mengubah DNA, dan bahkan menyebabkan kematian sel. Pada peranannya sebagai antiinflamasi, kuercetin membantu menstabilkan sel-sel yang melepaskan histamin dalam tubuh. Kuercetin juga mengandung 3-

caffeylquinic acid, 5-caffeylquinic acid dan kaemferol ditemukan sebagai



diabetes, anti-bakteri, anti-virus anti-kanker dan sifat kardio-pelindung (Koul dan Chase, 2015).

Senyawa bioaktif yang terlibat dalam sifat antiinflamasi daun kelor seperti kuercetin, dapat menghambat aktivasi NFkB, merupakan langkah penting untuk melepaskan rantai proses inflamasi. Pada penelitian pada tikus kuercetin mengatur ekspresi iNOS, IFN-g dan protein C-reaktif dan mengurangi pelepasan TNF-a dan IL-6. Hasil yang serupa ditemukan untuk isothiocyanate yang diperoleh dari daun kelor secara signifikan menurunkan produksi mediator proinflamasi oleh fase makro RAW, terutama IL-1b, iNOS, TNF-a dan NO (Koul dan Chase, 2015).

Senyawa karsinogen merupakan senyawa yang mampu mengoksidasi DNA sehingga terjadi mutasi. Kuersetin sebagai antioksidan dapat mencegah terjadinya oksidasi melalui dua fase. Pada fase pertama, kuersetin mampu menstabilkan radikal bebas yang dibentuk oleh senyawa karsinogen seperti radikal oksigen, peroksida dan superoksida. Kuersetin menstabilkan senyawa-senyawa tersebut melalui reaksi hidrogenasi maupun pembentukan kompleks. Melalui reaksi tersebut radikal bebas diubah menjadi bentuk yang lebih stabil sehingga tidak mampu mengoksidasi DNA (Raggatt dan Partlinggir, 2010).

Selain itu, didapatkan turunan radikal antioksidan yang relatif memiliki keadaan yang lebih stabil dibandingkan radikal bebas yang

senyawa karsinogen tadi. Meskipun demikian radikal kuersetin energi untuk bereaksi dengan radikal antioksidan lain. Radikal-



radikal antioksidan dari kuersetin dapat saling bereaksi membentuk produk nonradikal. Pada fase lainnya, kuersetin mencegah autooksidasi, yaitu mencegah pembentukan radikal peroksida melalui pengikatan senyawa radikal secara cepat agar tidak berikatan dengan oksigen. Dengan adanya kuersetin maka reaksi oksigenasi yang berjalan secara cepat dapat dicegah sehingga pembentukan radikal peroksida pun dapat dicegah. Kuersetin juga berikatan dengan radikal peroksida yang telah terbentuk dan menstabilkannya sehingga reaksi autooksidasi yang secara cepat dan berantai dapat dihambat (Raggatt dan Partlinggir, 2010).

Kuersetin juga menginduksi apoptosis melalui jalur intrinsik dengan cara menginhibisi mitogen-activated protein kinase (MAPK), extracellular-signal- regulated kinase 1/2 (ERK 1/2), c-Jun N-terminal protein kinase 1 (JNK), dan protein kinase C (PKC). MAPK pathway merupakan jalur yang penting dalam pengaturan ekspresi gen pada sel eukariotik dan dapat menyebabkan berbagai respon biologi seperti pertumbuhan sel, proliferasi, diferensiasi, migrasi dan apoptosis. Ketika jalur MAPK dihambat, akan mengakibatkan peningkatan Bax pada mitokondria, dan penurunan Bcl-2. Peningkatan Bax tersebut akan membuat pore pada mitokondria sehingga sitokrom c keluar melalui pore tersebut. Sitokrom c kemudian berikatan dengan apaf-1 yang akan mengaktifkan caspase 9, kemudian caspase 9 akan mengaktifkan caspase 3 yang pada akhirnya akan menyebabkan

s (Raggatt dan Partlinggir, 2010).



Aktivitas flavanoid memberikan respon inflammasi meliputi hambatan dari mediator inflammasi seperti reactive oxygen species (ROS) dan nitric oxide (NO); regulasi dari aktivitas enzim seperti cyclooxygenases (COXs) dan inducible nitric oxide synthase (iNOS); penurunan level produksi dan ekspresi sitokin dan modulasi dari faktor transkripsi, seperti rantai nuclear factor  $\kappa$ -light (NF $\kappa$ B) meningkatkan aktivasi sel B dan mengaktifkan protein-1 (AP-1). Pada saat respon inflammasi tidak teregulasi maka akan meningkatkan konsentrasi mediator inflammasi sehingga menyebabkan terjadinya penyakit kronis (Sales, et al., 2017).

Flavanoid diketahui memiliki mekanisme yang hampir sama dengan NSAID. Selain itu juga flavanoid menghambat aktivitas mediator ekspresi gen proinflammasi selain dari COX. Flavanoid dapat naik dan turun mengatur faktor transkripsi dalam jalur inflammasi dan antioksidan, seperti NF $\kappa$ B dan Nrf-2. (Nair, M et al., 2006). Pada jalur NF $\kappa$ B teraktivasi, terutama heterodimer p50 dan p65, memasuki nukleus dan berikatan dengan elemen responsif NF $\kappa$ B untuk mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam regulasi respon imun dan inflamasi, proliferasi sel, tumorigenesis, dan antiapoptosis. (Leyva et al., 2016)

Terdapat lebih 4000 variasi dari flavanoid yang telah diidentifikasi.

Aktivitas sejumlah enzim regulator (tyrosine kinases, protein kinase C, di-esterase, phospholipase A2, lipoxygenases, and cyclooxy- merupakan faktor penting dalam inflamasi dan respon imun.



Enzim ini merupakan sentral aktivasi dari aktivasi sel sel endotel terlibat dalam inflamasi. Pada beberapa kasus aksi inflamatory dari flavanoid dihubungkan dengan hambatan terhadap enzim ini. Cyclooxygenase (COX) merupakan enzim yang berperan penting sebagai mediator inflamatori dan terlibat dalam pelepasan asam arachidonik. Pelepasan asam arachidonik merupakan tahap awal respon inflamatori secara umum. Kuersetin merupakan penghambat yang kuat, baik dari COX-2 dan 5-LOX enzymes yang terlibat dalam produksi eicosanoids dari asam arachidonic. Suatu penelitian menunjukkan bahwa kuersetin secara bermakna menghambat produksi TNF- $\alpha$ . (Bencheqroun et al., 2012)

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Ada beberapa bentuk antioksidan, di antaranya vitamin, mineral, dan fitokimia. Antioksidan berkerja bersama dalam melindungi sel normal dan menetralsir radikal bebas. Antioksidan adalah suatu inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif lebih stabil. Radikal bebas adalah atom

molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau elektron tak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai



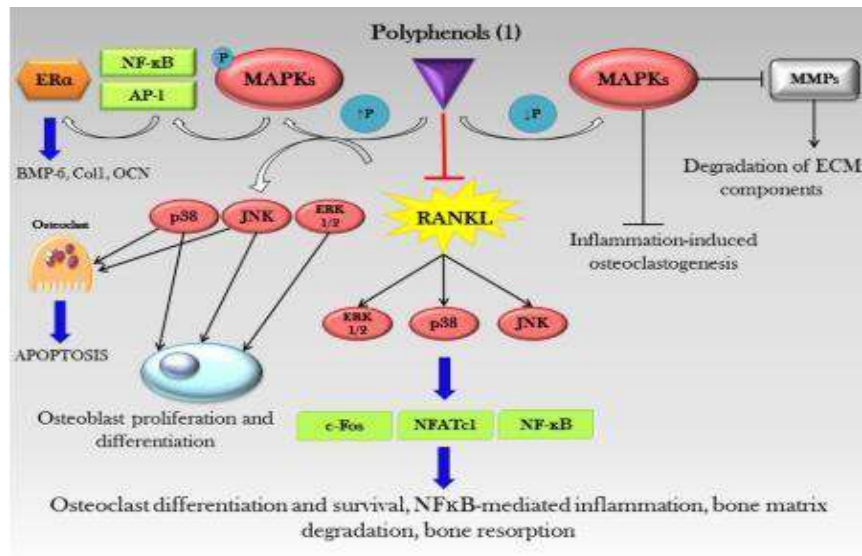
kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu tubuh memerlukan suatu substansi penting yaitu antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit.

## 2. Komponen Bioaktif Moringa Oleifera

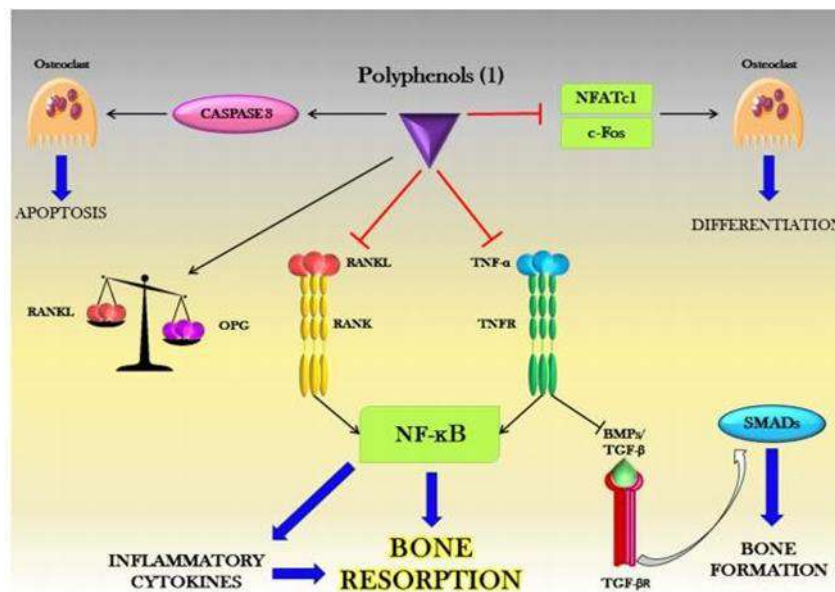
### a. Polifenol

Aksi yang menguntungkan dari komponen polifenol adalah kemampuan antioksidan oleh karena dapat berperan menangkap reactive oxygen species (ROS) (Procha'zkova'et al.2011), oleh karena polifenol berinteraksi melalui jalur signal intraseluler seperti phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase (PI3K), protein kinase B (PKB)/Akt, tyrosine kinases, protein kinase C (PKC) and mitogen-activated protein kinases (MAPKs) sehingga menyebabkan aktivitas antiinflamatory, kemopreventif dan kemoprotektif.(Torre, 2017).





Gambar 10. Efek polifenol pada bone diseases adalah melalui jalur MAPK  
Sumber .(Torre, 2017)



Gambar 11. Sifat anti-inflamasi polifenol dalam mengendalikan resorpsi tulang. Aktivasi yang diinduksi peradangan NFκB dihambat oleh polifenol yang efektif dalam memicu apoptosis osteoklas dan menghambat diferensiasi osteoklas. Polifenol memainkan peran dalam menggeser RANKL / OPG rasio yang mendukung OPG. Sumber : (Torre, 2017)





Daun kering moringa merupakan sumber yang besar dari komponen polifenol, seperti flavonoids asam fenolic. Flavonoids, disintesa dalam tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba. Mengonsumsi flavonoids dapat melindungi melawan penyakit kronis yang berhubungan dengan stress oksidatif seperti penyakit kardiovaskuler dan kanker. Moringa adalah sumber flavonoid. Flavanoid utama dalam moringa adalah myrecytin, quercetin and kaempferol. (Vergara-Jimenez, et al., 2017).

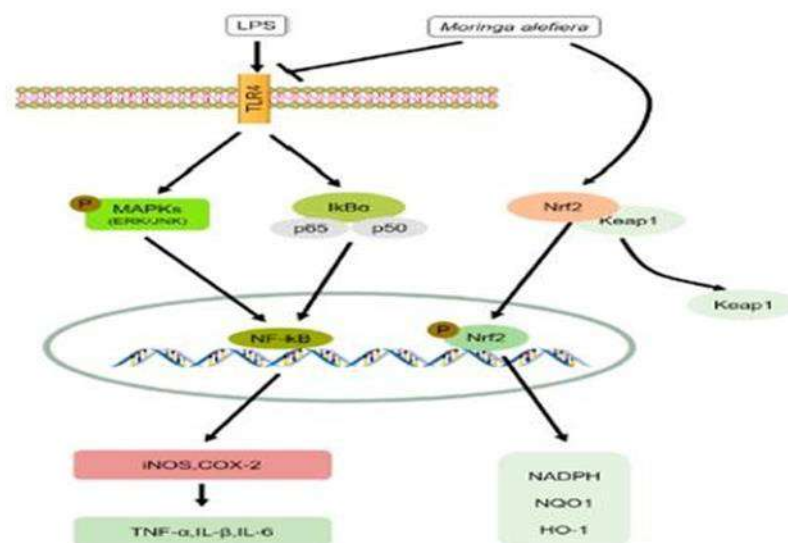
### 3. Efek Moringa Oleifera

#### a. Anti Inflamasi

Peradangan adalah respons fisiologis untuk melindungi tubuh terhadap infeksi dan memulihkan cedera jaringan. Sitokin inflamasi seperti interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) dan tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) dapat meningkatkan produksi nitric oxide (NO) dan prostaglandin E2 (PGE-2), sehingga merangsang ekspresi atau meningkatkan aktivitas inducible NO synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), dan microsomal PGE synthase-1 (mPGES-1) dalam sel target. *Moringa Oleifera* dilaporkan tidak hanya menurunkan produksi TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-8 sebagai respons terhadap lipopolysaccharide (LPS) dan cigarette smoke extract (CSE)-stimulated human monocyte-derived macrophages (MDM), tetapi juga menghambat ekspresi RelA, sebuah gen dalam pensinyalan faktor-kappa B) p65 selama peradangan. *M.oleifera* secara selektif dapat menghambat produksi iNOS dan COX-2 dan secara signifikan menghambat



sekresi NO dan penanda inflamasi lainnya termasuk PGE-2, TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  di dalam sel lipopolisakarida yang disebabkan oleh sel RAW264.7. *Moringa oleifera* dapat menyebabkan produksi IL-10 pada makrofag yang dirangsang oleh LPS tergantung pada dosis, sehingga berkontribusi pada jalur pensinyalan NF $\kappa$ B. Glikosida fenolik bioaktif 4 - [(2-O-asetil- $\alpha$ -l-rhamnosyloxy) benzyl] isothiocyanate (RBITC) dari *Moringa Oleifera* menghambat ekspresi COX-2 dan iNOS pada tingkat protein dan mRNA melalui penghambatan aliran hulu utama jalur pensinyalan *Mitogen Activated Protein Kinases* (MAPKs) dan NF $\kappa$ B. (Vergara-Jimenez et al.,2017; Kou et al.,2018).



Gambar 12. Mekanisme anti-inflamasi *Moringa Oleifera*. Diagram skematik menggambarkan jalur signal yang terlibat dalam efek penghambatan dari *Moringa Oleifera* pada protein-protein yang dihubungkan dengan inflamasi yang disebabkan oleh LPS. Toll-like receptor 4. TLR4; Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH; Inhibitor dari kappa B, I $\kappa$ B; Keich-like erythroid cell-derived protein dengan capcollar (CNC) homology (ECH) – associated protein1, KEAP1. Lipopolisakarida, LPS; mitogen-activated protein kinases, MAPKs; c-Jun N-terminal kinase, p-JNK; ekstraselular

signal-related kinase, ERK; nuclear factor (erythroid-derived 2) like-2, Nrf2; nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B; Cycloo inducible NO synthase; iNOS; cyclooxygenase-2, COX-2; tumor necrosis factor alpha, TNF alpha, Interleukin-1beta, IL-1 Beta; Interleukin-6, IL-6, quinone oxidoreductase 1, NQO; hemeoxygenase 1, HO-1. Sumber: (Kou et al., 2018).

Sitokin inflamasi seperti interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) dan tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) dapat meningkatkan produksi nitric oxide (NO) dan prostaglandin E2 (PGE-2), sehingga merangsang ekspresi atau meningkatkan aktivitas Inducible NO synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), dan microsomal PGE synthase-1 (mPGES-1) dalam sel target. *Moringa Oleifera* dilaporkan tidak hanya menurunkan produksi TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-8 sebagai respons terhadap *Lipopolysaccharide* (LPS) dan *Cigarette Smoke Extract* (CSE)-stimulated human monocyte-derived macrophages (MDM), tetapi juga menghambat ekspresi RelA, sebuah gen dalam pensinyalan faktor-kappa B (NF $\kappa$ B) p65 selama peradangan. Lihat gambar 12 (Kou et al., 2018).

*Moringa Oleifera* secara selektif dapat menghambat produksi iNOS dan COX-2 dan secara signifikan menghambat sekresi NO dan penanda inflamasi lainnya termasuk PGE-2, TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  di dalam sel lipopolisakarida yang disebabkan oleh sel RAW264.7. *Moringa Oleifera* menyebabkan produksi IL-10 pada makrofag yang dirangsang oleh tergantung pada dosis, sehingga berkontribusi pada penekanan jalur sinyal NF $\kappa$ B. *Moringa Oleifera* menghambat ekspresi COX-2 dan



iNOS pada tingkat protein dan mRNA melalui penghambatan aliran hulu utama jalur pensinyalan *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPKs) dan NFkB (Kou et al., 2018).

Induksi mediator anti-inflamasi oleh fitokimia penting untuk menghindari pemicu inflamasi oleh sel (Mueller et al., 2010). Aktivasi dari kelompok MAP-kinase juga akan mengaktifkan signaling NFkB yang akan memicu inflamasi (Galuppo et al., 2014).

Oleh karena komponen tanaman yang digunakan untuk perawatan harus memiliki kemampuan menghambat mediator dan signal. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun *Moringa Oleifera* dapat memberikan efek anti-inflamasi pada tikus albino jantan terhadap carrageenan yang disebabkan oleh paw oedema (Ashikin et al., 2016).

Ekstrak dari daun kelor menghambat produksi human macrophage cytokine (Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6) dan (IL-8) yang disebabkan oleh lipopolisakarida (LPS). Konsentrasi daun kelor dapat menurunkan ekspresi gen dan produksi penanda inflamatori dalam makrofag. Ekstrak daun kelor merangsang respon seluler dan humoral dalam immunodefisiensi yang disebabkan oleh cyclophosphamide tikus dalam sel darah putih, neutrofil dan serum immunoglobulin. Kuersetin yang merupakan anggota kelompok flavanoid terlibat dalam menurunkan proses inflamatori dengan menghambat aksi Nuclear Factor of Kappa B (NFkB).

Peneliti melaporkan terjadinya penurunan dalam level mRNA sitokin inflamatori dan penurunan dalam endoplasmic retikulum stress pada



binatang yang diberi makan produk fermentasi daun kelor (Sales et al., 2017).

Diantara seluruh bagian dari *Moringa Oleifera*, daun dan ekstrak aktfnya adalah sumber yang paling baik sebagai natural antioksidan oleh karena adanya kandungan ascorbic acid,  $\beta$ -carotene, flavonoids, phenolics, and carotenoids. Pada penelitian efek fraksi *Moringa Oleifera* terhadap mekanisme aksi makrofag akibat lipopolysaccharide (LPS) menunjukkan bahwa ethyl acetate fraction dari *Moringa Oleifera* secara bermakna menghambat jalur signal NFkB melalui mediator proinflammatory dan regulasi ekspresi inhibitor dari kB (IkB) $\alpha$ .(Macrophages et al., 2016).

### N. Gammaca®

Resorpsi tulang alveolar adalah proses yang tidak dapat dihindari. Setelah gigi diekstraksi, terjadi kehilangan tulang, terutama dalam 3 bulan pertama. Masalah mendasar untuk kedokteran gigi restorative dan implan adalah pada daerah ekstraksi. Dan menjadi suatu keharusan untuk pemeliharaan tulang alveolar setelah pencabutan gigi. Telah banyak biomaterial digunakan sebagai pengganti tulang,(El behairy et al., 2019) termasuk yang populer di Indonesia adalah Gamacha®.

Gamacha® adalah komposit dengan kandungan karbonat apatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) dan gelatin (denaturized collagen). Gamacca diketahui

osteokonduktivitas yang sangat baik dan mampu memacu puhan tulang baru dengan cepat, bahan ini juga mudah dikombinasi



dengan molekul obat termasuk antibiotik serta molekul aktif lainnya.(Deskripsi Gama CHA, 2012) Karbonat apatit merupakan bahan biokeramik yang banyak dikembangkan dan dipelajari untuk menjadi material pilihan terutama untuk penggunaan bahan pengganti struktur tulang. Apatit secara umum dikenal sebagai hidroksiapatit (HAp) merupakan bahan yang memiliki sifat biokompatibilitas tinggi dengan tubuh. Apatit juga terdapat didalam tubuh baik di gigi maupun tulang dan sekitar 3-5% bagiannya tersusun oleh ion karbonat. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Le Geros pada tahun 1991, yang menyatakan bahwa komposisi mineral tulang sebesar 4- 8% adalah karbonat yang terdapat pada struktur apatit tulang sehingga susunan inorganik komponen tulang seharusnya dinamakan karbonat apatit (CO<sub>3</sub>Ap). Substitusi dari ion karbonat pada gugus OH dikenal sebagai CO<sub>3</sub>Ap tipe A sedangkan dengan gugus PO<sub>4</sub> dikenal sebagai CO<sub>3</sub>Ap tipe B. CO<sub>3</sub>Ap tipe B inilah yang merupakan apatit yang terdapat di tubuh.(Zakaria dan Cahyanto, 2017).

Namun meskipun karbonat apatit dapat dianggap sebagai apatit tulang, bentuk bubuknya tidak dapat digunakan secara langsung sebagai tulang. Penggunaan langsung bubuk bentuk karbonat apatit sebagai pengganti tulang dapat menginduksi respon inflamasi saat implantasi, yang pada gilirannya akan menghasilkan pembentukan kristal. Apatite harus

enjadi butiran blok atau keramik granular melalui sintering. Namun,



karbonat apatit sering mengalami dekomposisi selama sintering karena suhu tinggi yang digunakan dalam prosesnya. (Rahyussalim et al., 2019).

Berikut adalah beberapa penelitian mengenai perkembangan penggunaan karbonat apatite sebagai sintetik bone graft:

NO	PENULIS	TAHUN	JUDUL ARTIKEL	KESIMPULAN
1	Suh, dkk (Suh <i>et al.</i> , 2001)	2001	A bone replaceable artificial bone substitute: cytotoxicity, cell adhesion, proliferation, and alkaline phosphatase activity	Penelitian ini mencoba untuk memproses karbonat apatit sebagai graft tulang dengan tipe I ocollagen diekstraksi dari kulit ekorsapi. Studi ini juga mengungkapkan bahwa respon seluler yang buruk disebabkan oleh rekristalisasi dan pengurangan kandungan ion karbonat.
2	Matsura, dkk (Matsuura <i>et al.</i> , 2009)	2009	Bone formation ability of carbonate apatite-collagen scaffolds with different carbonate contents	Penelitian ini mengidentifikasi kandungan karbonat optimal dari <i>bone graft</i> . (24 minggu setelah implantasi), rasio area pembentukan tulang baru yang diperoleh dengan <i>graft</i> dengan 6% berat karbonat lebih tinggi daripada yang diperoleh dengan <i>graft</i> dengan kandungan karbonat yang berbeda. (4-6% berat).



3	Ana, dkk (Ana et al., 2010)	2010	Engineering of carbonate apatite bone substitute based on composition-transformation of gypsum and calcium hydroxide	Penelitian ini mengusulkan alternatif terbaru untuk pembuatan karbonat apatit dalam bentuk blok, berdasarkan reaksi transformasi komposisi.
---	-----------------------------	------	--	---

Respon osteoblas terhadap karbonat apatite dapat digunakan sebagai indikator osteokonduktivitas karena hal ini menentukan pergantian material di dalam jaringan tulang. Ayukawa dkk menemukan hal berbeda pada HAp, karbonat apatite dapat mengikat secara intensif jaringan tulang tanpa menginduksi pembentukan jaringan fibrotic. Sebaliknya, Nagai dkk menemukan bahwa tidak ada perbedaan dalam jumlah sel sampai hari ke-7. Namun demikian, karbonat apatite secara drastis memberikan efek yang berbeda pada pola ekspresi dari penanda diferensiasi kolagen tipe I, alkaline phosphate, osteopontin dan osteocalcin dan meningkatkan regulasi diferensiasi sel osteoblast. Proses remodeling yang dipicu oleh karbonat apatite, menyerupai proses remodeling tulang asli mengingat osteokonduktivitas yang tinggi dan kesamaan karbonat apatite dengan jaringan tulang pada tingkat seluler (Rahyussalim et al., 2019)

M.R. AUFAN, dkk meneliti sintesis scaffold alginat-kitosan-karbonat apatit sebagai bone graft. Pada penelitian kali ini dilakukan pembuatan dengan memanfaatkan alginat, kitosan, dan karbonat apatit menggunakan metode freeze drying. Penggunaan karbonat apatit pada





penelitian ini disebabkan karakteristik karbonat apatit yang lebih menyerupai apatit tulang tubuh manusia apabila dibandingkan dengan hidroksiapatit, sehingga penambahannya berpotensi menghasilkan scaffold dengan sifat osteokonduktif yang lebih baik. (Aufan et al., 2012) Penelitian lain yang mengkombinasikan scaffold karbonat apatit dengan stem sel gigi decidui yang dilakukan oleh Chiquita,dkk menemukan bahwa terjadi peningkatan ekspresi BMP-2, BMP-7 dan penurunan MMP-8 selama remodeling awal tulang alveolar pada tikus wistar (*Rattus novegicus*) (Prahasanti et al., 2020)

Berikut ini adalah beberapa penelitian mengenai karbonat apatite dikombinasi dengan bahan lainnya :

NO	PENULIS	TAHUN	JUDUL ARTIKEL	KESIMPULAN
1	Yunia Dwi Rakhmatia, dkk (Rakhmatia <i>et al.</i> , 2018)	2018	Carbonate Apatite Containing Statin Enhances Bone Formation in Healing Incisal Extraction Sockets in Rats	Temuan dari penelitian ini menunjukkan bahwa fungsi osteokonduktivitas CO3Ap mengandung fluvastatin meningkatkan pembentukan tulang pada tahap awal penyembuhan di soket ekstraksi.
	Chiquita Prahasanti,dkk Prahasanti <i>et al.</i> , 2020)	2020	Exfoliated Human Deciduous Tooth Stem	CAS yang dikombinasikan dengan SHED dapat



			Cells Incorporating Carbonate Apatite Scaffold Enhance BMP-2, BMP-7, and Attenuate MMP-8 Expression During Initial Alveolar Bone Remodeling in Wistar Rats	meningkatkan ekspresi BMP-2 dan BMP-7 namun menurunkan ekspresi MMP-8 selama <i>remodeling</i> tulang alveolar in vivo.
--	--	--	--	---

Respon inflamasi dapat terjadi setelah pencabutan gigi, dan salah satu bahan yang bisa dikembangkan untuk menurunkan respon inflamasi tersebut adalah Moringa oleifera. (Soekobagiono, et al., 2018b).

Lebih dikenal dengan tanaman kelor, Moringa oleifera mengandung zat aktif karoten, polifenol, asam fenolik, flavonoid, alkaloid, glukosionat, isotiosianat, tanin dan saponin. Daun kelor dapat menghambat produksi sitokin oleh makrofag (Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF) interleukin-6 (IL-6) dan IL-8)), yang disebabkan oleh Lipopolysaccharide (LPS). (Djais et al., 2020).

Flavonoid dapat bertindak sebagai anti-inflamasi, antikanker, antimikroba, antivirus, imunomodulator, antitrombotik dan osteoprotection.

Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa Moringa oleifera dapat

hambat inflamasi yang dengan demikian dapat menghambat resorpsi

(Soekobagiono, et al., 2018b).



Berikut ini adalah beberapa penelitian yang mengkombinasikan Moringa oleifera dengan berbagai dental material.



NO	PENULIS	TAHUN	JUDUL ARTIKEL	KESIMPULAN
1	Soekobagiono, <i>dkk</i> (Soekobagiono et al., 2018b).	2017	RANKL expressions in preservation of surgical tooth extraction treated with Moringa ( <i>Moringa oleifera</i> ) leaf extract and demineralized freeze-dried bovine bone xenograft	Kombinasi ekstrak daun kelor dan DFDBBX dapat mengurangi jumlah ekspresi RANKL pada tikus <i>Cavia cobaya</i> pada hari ke 7 dan hari ke 30 setelah pencabutan gigi
2	Soekobagiono, <i>dkk</i> (Soekobagiono et al., 2018).	2018	Effects of <i>Moringa oleifera</i> leaf extract combined with DFBBX on type-1 collagen expressed by osteoblasts in the tooth extraction sockets of <i>Cavia cobaya</i> .	Kombinasi ekstrak daun <i>Moringa oleifera</i> dan DFBBX dalam penelitian ini dapat secara signifikan meningkatkan ekspresi kolagen tipe-1. Ekspresi kolagen tipe 1 yang meningkat menunjukkan terjadinya aktivitas osteokonduksi dan osteoinduksi di soket ekstraksi gigi.
3	Utari Kresnoadi, <i>dkk</i> (Kresnoadi et al., 2019).	2019	The role of the combination of <i>Moringa oleifera</i> leaf extract and demineralized freeze-dried bovine bone xenograft (xenograft) as tooth extraction socket preservation materials on osteocalcin and transforming growth factor-beta 1 expressions in alveolar bone of <i>Cavia cobaya</i> .	Kombinasi ekstrak daun kelor dan DFDBBX efektif dalam menghasilkan ekspresi TGF $\beta$ 1 dan osteocalcin dalam tulang alveolar.



4	Amaliya, dkk (Amaliya et al., 2019).	2019	Histological Assessment of Palatal Donor Site Wound Healing after Application of Moringa oleifera Lamarck Leaf Extract in Rats.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ekstrak etanol daun <i>Moringa Oleifera</i> merangsang deposisi fibroblast dan kolagen selama fase awal penyembuhan luka palatal pada tikus.</li> <li>2. Ekstrak daun dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka di rongga mulut karena potensi antibakteri dan anti-inflamasinya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengklarifikasi konsentrasi optimal dan stabilitas fisik sebelum aplikasi klinisnya.</li> </ol>
5	Rania A. A. El behairy , Nehad A. Ramadan, Dalia El Rouby dan Ibrahim H. Ahmed (El behairy et al., 2019)	2019	Improvements Of Alveolar Bone Healing Using Moringa Oleifera Leaf Powder And Extract Biomimetic Composite: An Experimental Study in Dogs.	Pemberian berulang dari ekstrak air daun Moringa konsentrasi 11,7% seminggu sekali selama dua minggu, mempengaruhi area tulang secara positif khususnya pada 5 minggu pasca operasi, kemungkinan disebabkan oleh pelepasan berkelanjutan senyawa polifenol bioaktif.



6	Rostiny, Eha Djulaeha, Nike Hendrijantini, and Agus Pudijanto Department	2016	The effect of combined Moringa oleifera and demineralized freeze-dried bovine bone xenograft on the amount of osteoblast and osteoclast in the healing of tooth extraction socket of Cavia cobaya	Kombinasi ekstrak daun Moringa oleifera leaf dan DFDBBX padakonsentrasi 2% dapat meningkatkan jumlah osteoblasts dan menurunkan osteoclasts dalam penyembuhan socket pencabutan gigi cavia cobaya.
7	Morenike Coker , Grace Adejo, Benjamin Emikpe, Victor Oyebanji	2018	Evaluation Of The Wound Healing Potential Of Ointment Preparation Of Ethyl-Acetate Extract Of Moringa Oleifera (Lam) In Rats	Aplikasi topical dari 3.25% dari ekstrak <i>Moringa Oleifera</i> menghasilkan penyembuhan luka yang lebih cepat, epitelisasi yang cepat, hasil dari granulasi jaringan dan remodeling pada pemeriksaan histologi



NO	PENULIS	TAHUN	JUDUL ARTIKEL	KESIMPULAN
1	Soekobagiono,dkk (Soekobagionoet al.,2018)	2017	RANKL expressions in preservation of surgical tooth extraction treated with Moringa (Moringa oleifera) leaf extract and demineralized freeze- dried bovine bone xenograft.	Kombinasi ekstrak daun kelor dan DFDBBX dapat mengurangi jumlah ekspresi RANKL pada tikus <i>Cavia cobaya</i> pada hari ke 7 dan hari ke 30 setelah pencabutan gigi
2	Soekobagiono, dkk (Soekobagiono <i>et al.</i> , 2018)	2018	Effects of Moringa oleifera leaf extract combined with DFBBX on type-1 collagen expressed by osteoblasts in the tooth extraction sockets of <i>Cavia cobaya</i> .	Kombinasi ekstrak daun Moringa oleifera dan DFBBX dalam penelitian ini dapat secara signifikan meningkatkan ekspresi kolagen tipe-1. Ekspresi kolagen tipe 1 yang meningkat menunjukkan terjadinya aktivitas osteokonduksi dan osteoinduksi di soket ekstraksi gigi.
3	Utari Kresnoadi,dkk (Kresnoadi <i>et al.</i> , 2019)	2019	The role of the combination of Moringa oleifera leaf extract and demineralized freeze-dried bovine bone xenograft (xenograft) as tooth extraction <i>socket preservation</i> materials on osteocalcin and transforming growth factor-beta 1 expressions in alveolar bone of <i>Cavia cobaya</i>	Kombinasi ekstrak daun kelor dan DFDBBX efektif dalam menghasilkan ekspresi TGF $\beta$ 1 dan osteocalcin dalam tulang alveolar.



4	Amaliya, dkk (Amaliya <i>et al.</i> , 2019)	2019	Histological Assessment of Palatal Donor Site Wound Healing after Application of Moringa oleifera Lamarck Leaf Extract in Rats.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ekstrak etanol daun <i>Moringa Oleifera</i> merangsang deposisi fibroblast dan kolagen selama fase awal penyembuhan luka palatal pada tikus,</li> <li>2. Ekstrak daun dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka di rongga mulut karena potensi antibakteri dan anti-inflamasinya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengklarifikasi konsentrasi optimal dan stabilitas fisik sebelum aplikasi klinisnya.</li> </ol>
5	Rania A. A. El behairy* , Nehad A. Ramadan**, Dalia El Rouby*** and Ibrahim H. Ahmed (El behairy <i>et al.</i> , 2019)	2019	Improvements Of Alveolar Bone Healing Using Moringa Oleifera Leaf Powder And Extract Biomimetic Composite: An Experimental Study In Dogs	Pemberian berulang dari ekstrak air daun Moringa konsentrasi 11,7% seminggu sekali selama dua minggu, mempengaruhi area tulang secara positif khususnya pada 5 minggu pasca operasi, kemungkinan disebabkan oleh pelepasan berkelanjutan senyawa polifenol bioaktif.
6	Rostiny, Eha Djulaeha, Nike Hendrijantini, and Agus Pudijanto Department	2016	The effect of combined Moringa oleifera and demineralized freeze-dried bovine bone xenograft on the amount of osteoblast and osteoclast in the	Kombinasi ekstrak daun Moringa oleifera leaf dan DFDBBX padakonsentrasi 2% dapat meningkatkan jumlah osteoblasts dan menurunkan osteoclasts dalam

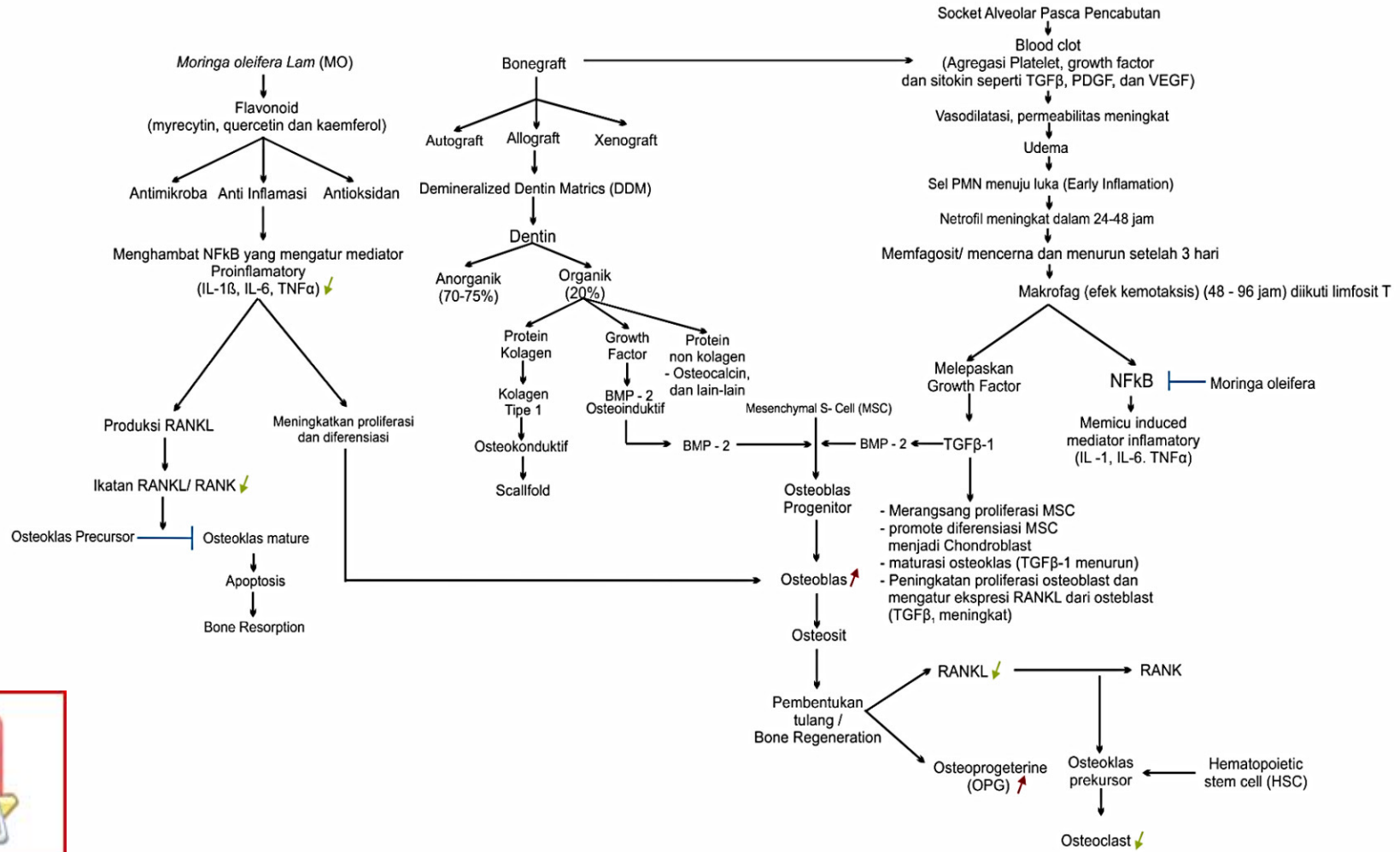




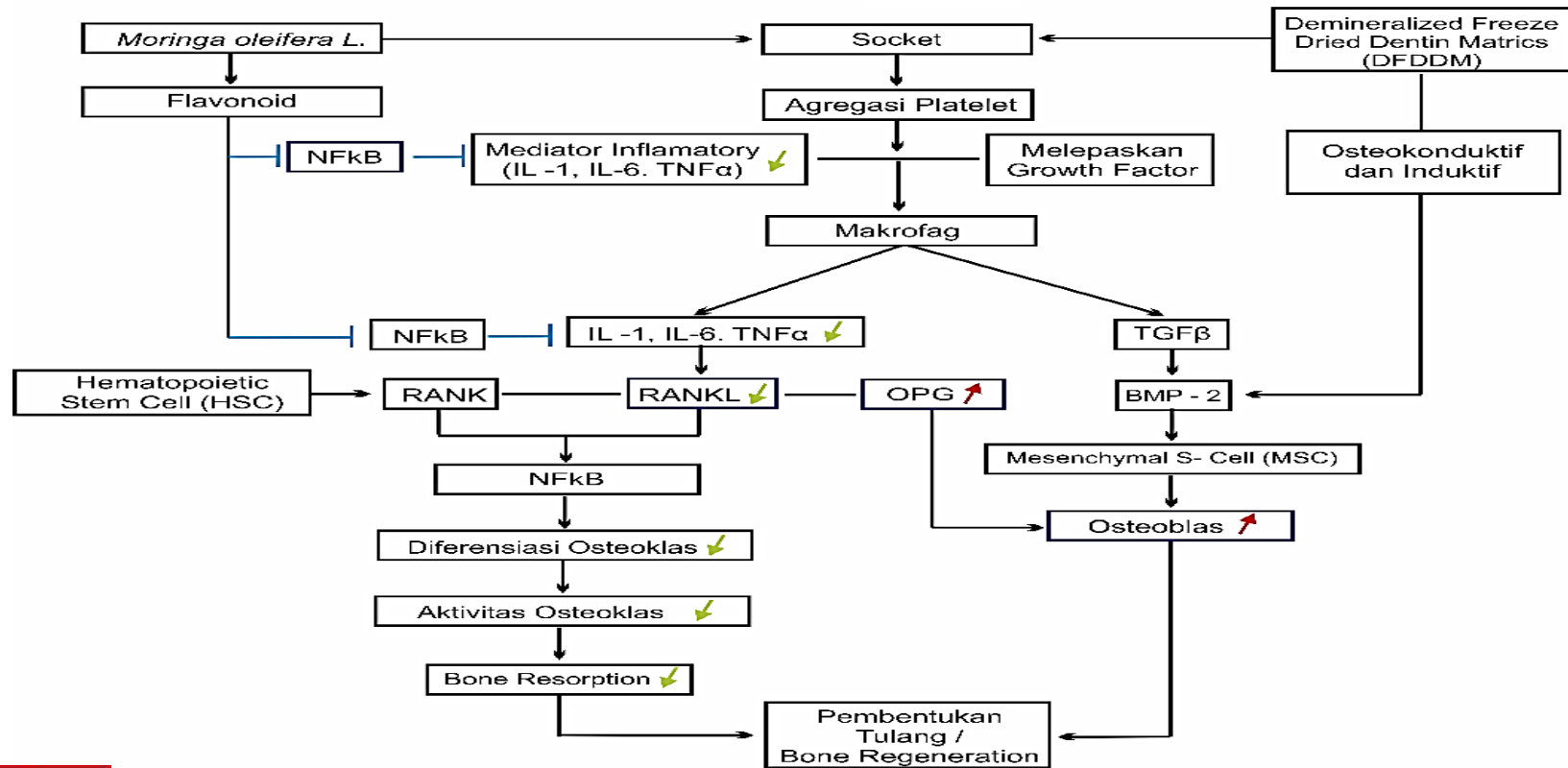
			healing of tooth extraction socket of Cavia cobaya.	penyembuhan soket pencabutan gigi cavia cobaya.
7	Morenike Coker 1, Grace Adejo1, Benjamin Emikpe2,3*, Victor Oyebanji2	2018	Evaluation Of The Wound Healing Potential Of Ointment Preparation Of Ethyl-Acetate Extract Of Moringa Oleifera (Lam) In Rats.	Aplikasi topical dari 3.25% dari ekstrak Moringa oleifera menghasilkan penyembuhan luka yang lebih cepat, epitelisasi yang cepat, hasil dari granulasi jaringan dan remodeling pada pemeriksaan histologi



### O. Kerangka Teori



P. Kerangka Konsep Penelitian



erangan Gambar :  
 nungkat ↑  
 nurun ↓  
 nghambat —|  
 iabel yang diteliti

### Q. Hipotesa Penelitian

1. Terjadi penurunan ekspresi NFkB pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar pada soket gigi setelah pencabutan.
2. Terjadi penurunan ekspresi RANKL pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar pada soket gigi setelah pencabutan.
3. Terjadi peningkatan Osteoprotegerin (OPG) pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar pada soket gigi setelah pencabutan.
4. Terjadi peningkatan jumlah fibroblas pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar soket gigi setelah pencabutan.
5. Terjadi peningkatan jumlah osteoblas pada penggunaan DDM kombinasi ekstrak daun kelor pada pembentukan tulang alveolar soket gigi setelah pencabutan.

