

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT
SINTETIK SEBAGAI *BONE GRAFT* TERHADAP
EKSPRESIOSTEOKALSIN PADA REGENERASI TULANG
(IN VIVO PADA DEFEK TULANG FEMUR *CAVIA PORCELLA*)**

TESIS PENELITIAN



Oleh

Nama : Sri Wahyu Putri

Nim : J035191012

Pembimbing 1: Prof. Dr. drg. Mardiana Andi Adam MS

Pembimbing 2 : Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio (K)

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTETIK SEBAGAI *BONE GRAFT* TERHADAP EKSPRESI OSTEOKALSIK PADA REGENERASI TULANG (IN VIVO PADA DEFEK TULANG FEMUR *CAVIA PORCELLA*)

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
Memperoleh gelar Profesi Spesialis-1 dalam bidang ilmu Periodonsia
Pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin



OLEH:

SRI WAHYU PUTRI

J035191012

Pembimbing:

1. Prof. Dr. Andi Mardiana Adam, drg., M.S
2. Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (*STICHOPUS HERMANII*)
KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTETIK SEBAGAI *BONE GRAFT*
TERHADAP EKSPRESI OSTEOKALSIK PADA REGENERASI TULANG
(IN VIVO PADA DEFEK TULANG FEMUR *CAVIA PORCELLA*)**

OLEH:

SRI WAHYU PUTRI

J035191012

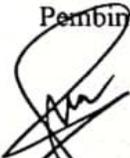
Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, 1 Maret 2022

UNIVERSITAS HASANUDDIN

Pembimbing 1

Pembimbing 2


Prof. Dr. Andi Mardiana Adam, drg., M.S
Nip. 19551021 198503 2 001


Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K)
Nip. 19641003 199002 2 001

Mengetahui


Ketua Program Studi (KPS)
Doktor Gigi dan Bedah Gigi
Nip. 19641003 199002 2 001

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001

PENGESAHAN UJIAN TESIS

EFEKTIVITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (*STICHOPUS HERMANII*)
KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTETIK SEBAGAI *BONE GRAFT*
TERHADAP EKSPRESI OSTEOKALSIIN PADA REGENERASI TULANG
(IN VIVO PADA DEFEK TULANG FEMUR *CAVIA PORCELLA*)

OLEH:

SRI WAHYU PUTRI

J035191012

Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, 1 Maret 2022

Pembimbing 1

Prof. Dr. Andy Mardiana Adam, drg., M.S
Nip. 19551021198503 2 001

Pembimbing 2

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio(K)
Nip. 19641003199002 2 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS, Universitas FKG-UNHAS



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 19641003199002 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)
Nip. 19730702200112 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Wahyu Putri

Stambuk : J035191012

Program studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 1 Maret 2022

Yang menyatakan



Sri Wahyu Putri

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim. Dengan memanjatkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala berkah dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir pada waktunya sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia fakultas kedokteran gigi universitas hasanuddin makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam proses penelitian dan penulisan ini banyak mendapat bimbingan, arahan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis menyampaikan banyak terima kasih, penghargaan dan rasa hormat saya kepada bapak, ibu, dan kerabat yaitu:

1. Ibu Prof. Dr. Dwia Ariestina Pulubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. Dr. drg. Muhammad Ruslin, M. Kes, PhD, Sp. BM(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
3. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio(K) sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia dan sebagai pembimbing kedua yang selama ini telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini

4. Prof. Dr. drg. Andi Mardiana Adam, MS sebagai pembimbing pertama yang selama ini sudah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini
5. Dr. drg. Asdar Gani, M.Kes, drg. Surijana Mappangara, Sp.Perio(K), drg. Arni Irawaty Djais, Sp. Perio(K), sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini
6. Pegawai Laboratorium FMIPA Universitas Negeri Makassar, yang telah membantu proses penelitian ini.
7. Kepada drh. Andi Fitrah A sebagai tim dokter hewan yang telah membantu selesainya penelitian ini
8. Seluruh staf pengajar pada program pendidikan dokter gigi spesialis yang telah memberikan ilmunya
9. Orang tua tercinta yang dengan penuh kesabaran memberikan dukungan dan motivasi hingga terselesaikannya pendidikan ini
10. Terima kasih yang tak terhingga kepada suami dan anak-anakku tersayang, I love you.
11. Saudara-saudaraku tersayang yang selalu mendukung dan memberikan semangat hingga terselesaikannya masa pendidikan ini.

12. Kepada teman-teman seperjuangan TiTU drg. Nurhadijah Raja drg. Afdalia Annisa, drg. Nir Etriyani, drg. Azizah, drg. Muh. Yudin, drg. Dian Eka Satya, drg. Ayu Rahayu Feblina, drg. Sherly Endang, drg. Sitti Raoda Juanita R, drg. Gustivanni Dwipa A, dan drg. Jennifer Tjokro, atas segala dukungan dan perhatiannya hingga dapat terselesaikannya pendidikan spesialis ini bersama-sama
13. Seluruh staf dan karyawan bagian periodonsia dan RSGM Halimah dg. Sikati yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama menjalani pendidikan

Semoga penelitian ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan terkhusus pada bagian periodontologi.

Makassar, 1 Maret 2022

Sri Wahyu Putri

ABSTRAK

EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (STICHOPUS HERMANII) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTETIK SEBAGAI BONEGRAFT TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS PADA REGENERASI TULANG (IN VIVO PADA DEFEK TULANG *CAVIA PORCELLA*)

Pendahuluan: Penelitian ini dilatar belakangi oleh kebutuhan alternatif bahan graft jenis xenograft yang masih terbilang cukup mahal dan sulit dijangkau. Sehingga peneliti berusaha memanfaatkan bahan lain berupa Teripang Emas, yang diketahui memiliki kandungan kolagen dan protein yang tinggi, memiliki sifat osteoinduktif untuk mendukung regenerasi tulang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat efektivitas gel Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA sintetik dalam mempercepat regenerasi tulang, sehingga nantinya dapat digunakan sebagai salah satu alternatif xenograft yang ideal. Manfaat penelitian ini adalah memperkaya ilmu pengetahuan dan dasar penelitian selanjutnya.

Bahan dan Metode: Proses pembuatan gel Teripang Emas di Laboratorium Biologi FMIPA UNM Makassar, pemeliharaan dan implantasi sampel dilakukan di *La Costae Pet shop*, Hertasning Makassar (klinik dokter hewan Makassar, dan pemeriksaan imunohistokimia di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Brawijaya, Malang. Penelitian menggunakan sampel 30 ekor marmut yang terdiri dari 2 waktu pengamatan yaitu hari ke 14 dan hari ke 21 setelah tahap implantasi. Marmut dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Masing-masing 5 ekor marmut dalam satu perlakuan dan dalam satu waktu pengamatan. Dibuat defek pada salah satu femur marmut menggunakan bur diamond dengan diameter dan kedalaman ukuran kavitas 3 mm, defek pertama pada marmut diisi dengan bahan gel kombinasi Teripang Emas dan HA sintetik (TE-HA). Defek kedua diisi dengan bahan bonegraft paten (BATAN), dan defek ketiga marmut diisi dengan gel placebo. Kemudian defek ditutup kembali, dan dilakukan penjahitan. Dilanjutkan dengan pemberian antibiotik dan analgesik. Pengambilan blok tulang dilakukan pada hari ke 14 dan 21 setelah proses implantasi, yang selanjutnya dilakukan analisa imunohistokimia di Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan rerata jumlah osteokalsin pada masing-masing pengamatan hari ke 14 dan 21 pada kelompok uji yaitu kelompok yang diimplantasikan kombinasi gel Teripang Emas dan HA sintetik, dengan kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diimplantasikan HA paten (BATAN).

Kesimpulan: Kombinasi gel teripang emas dan HA sintetik memiliki sifat dan keunggulan yang hampir sama dengan bonegraft paten.

Kata Kunci : *Osteocalcin*, Regenerasi tulang, Teripang Emas.

THE EFFECTIVENESS OF GOLDEN SEACHOPUS (STICHOPUS HERMANII) GEL MATERIALS COMBINATION OF SYNTHETIC HYDROXYPATITE AS BONEGRAFT ON THE NUMBER OF OTEOBLAS IN BONE REGENERATION (IN VIVO IN CAVIA PORCELLA BONE DEFECT)

ABSTRACT

Introduction: This research was motivated by the need for alternative xenograft graft materials which are still quite expensive and difficult to reach. So the researchers tried to use other ingredients in the form of Golden Sea Cucumber, which is known to have high collagen and protein content, has osteoinductive properties to support bone regeneration. The purpose of this study was to examine the effectiveness of the Golden Sea Cucumber (*Stichopus Hermanii*) gel combined with synthetic HA in accelerating bone regeneration, so that later it can be used as an ideal xenograft alternative. The benefit of this research is to enrich knowledge and the basis for further research

Materials and Methods: The process of making gold sea cucumber gel at the Biology Laboratory of FMIPA UNM Makassar, maintenance and implantation of samples was carried out at La Costae Pet shop, Hertasning Makassar (Makassar veterinary clinic, and immunohistochemical examination at the Biochemistry Laboratory, Faculty of Medicine Brawijaya, Malang. The study used samples 30 guinea pigs consisting of 2 observations, namely day 14 and day 21 after the implantation stage. The guinea pigs were divided into 3 treatment groups. 5 guinea pigs each in one treatment and in one observation time. A defect was made in one of the guinea pig femurs. using a diamond bur with a diameter and cavity size of 3 mm, the first defect in guinea pigs was filled with a combination of gel material from the combination of Golden Sea Cucumber and synthetic HA (TE-HA). The second defect was filled with patent bone graft material (BATAN), and the third defect was filled with gel placebo. Then the defect was closed again, and sutured. Followed by antibiotics and analgesic. Bone block was taken on days 14 and 21 after the implantation process, which was then carried out for immunohistochemical analysis at the Biochemistry-Biomolecular Laboratory, Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang.

Results: The results showed that there was no significant difference in the mean amount of osteocalcin on each observation day 14 and 21 in the test group, namely the group implanted with a combination of Golden Sea Cucumber gel and synthetic HA, and the positive control group, namely the group implanted with patent HA (BATAN).). **Conclusion:** The combination of golden sea cucumber gel and synthetic HA has properties and advantages that are almost the same as patent bonegrafts.

Keywords: Osteocalcin, Bone regeneration, Golden Sea Cucumber.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR	vi
PRAKATA	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu.....	8
1.4.2 Manfaat Praktis.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penyakit Periodontal	9
2.2 Perawatan Regeneratif	10
2.3 Bone Graft.....	12

2.4 Proses Regenerasi Tulang	15
2.5 Faktor yang mempengaruhi regulasi pembentukan tulang	18
2.6 Biomarker pembentukan tulang	20
2.7 Pemeriksaan Imunohistokimia	22
2.8 Teripang Emas (<i>Stichopus Hermanii</i>)	22
2.9 Hidroksiapatit	26
2.10 Kolagen	27
2.11 Asam Hialuronat	28
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Teori	29
3.2 Kerangka Konsep	31
3.3 Hipotesis	32
3.4 Keterbatasan penelitian	32
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	33
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	33
4.3 Subjek Penelitian	34
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	37
4.6 Prosedur Penelitian	38
4.7 Analisis Data	46
4.8 Etik Penelitian	46
4.9 Alur Penelitian	47
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil	48
5.2 Pembahasan	54

BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1	Kesimpulan	63
6.2	Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses regenerasi tulang.....	18
Gambar 2. Teripang Emas (stichopus Hermanii)	23
Gambar 3. Grafik rerata ekspresi osteokalsin pada pengamatan imunohistokimia	50
Gambar 4. Ekspresi osteokalsin pada hari ke 14 dan 21 dengan menggunakan mikroskop cahaya.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Uji karakteristik ekstrak Teripang Emas	26
Tabel 2. Uji <i>t-independent</i> rerata perbandingan jumlah ekspresi osteokalsin masing-masing kelompok penelitian	51
Tabel 3. Uji Anova Rerata perbandingan ekspresi osteokalsin antara kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke 14 dan 21	52
Tabel 4. Uji Beda Lanjut LSD rerata ekspresi osteokalsin antar kelompok perlakuan	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lembar etik penelitian

Hasil Uji XRF dan XRF Teripang Emas

Foto foto penelitian

Hasil Analisa Data

DAFTAR SINGKATAN

AA	:	Asam Amino
AH	:	Asam Hialuronat
AP	:	Alkaline Phosphatase
BMPs	:	Bone Morphogenetic Proteins
CaCO ₃	:	Calcium Carbonate
CaO	:	Calcium Oxide
CD44	:	Penanda Sel Punca Kanker
DHA	:	Decosahexaenoic acid
ELISA	:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPA	:	Eicosapentaenoic acid
FDBA	:	Freeze Dried Bone Allograft
DFDBBX	:	Demineralized Freeze-Dried Bovine Bone Xenograft
FGF	:	Fibroblas Growth Factor
GAGs	:	Glycosaminoglycans
GM-CSF	:	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GTR	:	Guided Tissue Regeneration
HA	:	Hidroksiapatit
IGF	:	Insuline-like Growth Factor
IL	:	Interleukin
M-CSF	:	Macrophage colony-stimulating factor
MSC	:	Mesenchymal Stem Cells
MMPs	:	Metaloproteinase Matriks
Na-CMC	:	Sodium-Carboxymethyl Cellulosa
OCN	:	Osteocalcin
OFD	:	Open flap debridement

OPG	:	Osteoprotegerin
PDGF	:	Platelet-Derived Growth Factor
RANK	:	Receptor activator of NF κ B
RANKL	:	Receptor activator of NF κ B ligand
RGD	:	Arginylglycylaspartic acid
TNF α	:	Tumor Necrosis Factor α
TNF β	:	Tumor Necrosis Factor β
XRF	:	X-Ray Fluorescence
XRD	:	X-Ray Diffraction

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tulang adalah jaringan aktif yang secara metabolik mengalami remodeling secara kontinyu oleh dua proses, yaitu pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang. Proses ini bergantung pada aktivitas osteoklas, osteoblas, dan osteosit. Dalam kondisi normal, resorpsi dan formasi berkaitan erat satu sama lain, sehingga jumlah tulang yang dihancurkan sama dengan yang dibentuk. Keseimbangan ini dicapai dan diatur melalui berbagai aksi hormon sistemik (misalnya paratiroid, vitamin D, dan hormon steroid lainnya) dan mediator lokal (misalnya sitokin, faktor pertumbuhan).¹

Penyakit periodontal merupakan penyakit rongga mulut yang paling sering dialami manusia. Menurut *The Global Burden of Disease Study*², penyakit periodontal menjadi urutan ke 11 penyakit yang paling banyak terjadi di dunia. Sedangkan menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018² menunjukkan bahwa keluhan gusi bengkak dan/atau keluar bisul (abses) dialami oleh 14% penduduk Indonesia. Masalah Kesehatan gigi dan mulut khususnya penyakit periodontal dapat berdampak serius dalam kehidupan sehari-hari seperti kesulitan dalam mengunyah, berbicara, dan kehilangan gigi. Pasarelli³ menyatakan bahwa 52,2% kehilangan gigi disebabkan oleh karena karies dan 35,7% karena penyakit periodontal, 6,9% oleh karena masalah endodontik, 2,9%

pencabutan karena indikasi prostetik, dan 2,3% oleh karena kegagalan perawatan sebelumnya.^{2,3}

Periodontitis adalah lesi inflamasi yang dimediasi oleh interaksi antara *host-bacteri*, yang menyebabkan hilangnya perlekatan antara jaringan ikat dan tulang alveolar. Perkembangan penyakit ini ditandai dengan hilangnya serat kolagen dan perlekatan pada permukaan semental, migrasi poket ke apikal dan dalam, serta resorpsi tulang alveolar.⁴

Jaringan periodontal adalah struktur multiseluler yang terdiri dari sementum, ligamen periodontal, dan tulang alveolar yang berhubungan dengan regio maksilofasial dalam fungsi pengunyahan. Penyakit pada jaringan periodontal menyebabkan reaksi peradangan yang disebabkan oleh infeksi bakteri atau kekuatan traumatis, sehingga terjadi perubahan pada daerah infeksi, dan jika tidak ditangani dapat menyebabkan kehilangan gigi, yang dapat mempengaruhi kualitas hidup.⁵

Perawatan konvensional pada penyakit periodontal, seperti *scaling* dan *root planing*, dilakukan untuk menghilangkan sumber infeksi secara mekanis. Namun, umumnya jaringan periodontal yang rusak sulit disembuhkan hanya dengan pendekatan mekanis ini dan memiliki keterbatasan dalam meningkatkan regenerasi jaringan periodontal yang rusak. Oleh karena itu dibutuhkan suatu material cangkok tulang (*Bone graf*) yang dapat menstimulasi pembentukan tulang dan regenerasi jaringan periodontal.^{5,6}

Pengamatan pembentukan tulang dapat dilakukan melalui pemeriksaan penanda pembentukan tulang. Saat ini tersedia pemeriksaan penanda

pembentukan tulang baik enzim dan peptida non enzimatis yang berasal dari komponen seluler dan non seluler tulang. Penanda pembentukan tulang yang baik dihasilkan oleh produk dari neosintesis kolagen (misalnya propeptida dari kolagen tipe I) atau protein dari osteoblas seperti *osteocalcin* (OCN) dan *alkalin phosphatase* (AP). Penanda biokimia pembentukan tulang ini telah terbukti bermanfaat dan memudahkan untuk mempelajari proses metabolisme tulang.^{4,7}

Osteocalcin (OCN) sering digunakan sebagai biomarker awal pembentukan tulang dan untuk menilai efektivitas hasil pengobatan karena merupakan protein non-kolagen utama dan paling banyak pada tulang. Hasil pemeriksaan OCN cukup akurat dan stabil dalam menilai proses pembentukan tulang. Hasil ekspresi OCN sejalan dengan ekspresi osteoblas, karena diproduksi oleh osteoblas pada saat pembentukan tulang. Pemeriksaan OCN dapat dilakukan melalui metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) maupun melalui pemeriksaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi OCN pada suatu jaringan dalam kemampuan regenerasi suatu bahan cangkok tulang (*bone graft*).⁸

Perbaikan jaringan keras menjadi salah satu masalah terpenting dalam rekayasa biomedis. Berbagai biomaterial, seperti berbagai jenis kalsium fosfat, bioglass, biopolimer, dan polimer sintetik, telah dipelajari di bidang ini. Biomaterial adalah suatu bahan sintesis yang dapat diimplan ke dalam jaringan sebagai pengganti fungsi dari jaringan tersebut. Sifat terpenting dari biomaterial yang digunakan untuk perbaikan tulang adalah osteokonduktif, osteoinduktif, dan osteogenesis. Diantara berbagai macam biomaterial, keramik kalsium fosfat telah banyak digunakan dalam ortopedi dan kedokteran gigi, dimana Hidroksiapatit

(HA) adalah kalsium yang paling banyak diteliti. Hidroksiapatit merupakan salah satu biomaterial yang bersifat bioaktif untuk tulang yang terdiri dari 60 hingga 70 persen jaringan tulang yang mengurangi peradangan dan reaksi imunogenik di tempat implantasi. Osteokonduktif adalah sifat dari HA yang meningkatkan osseointegrasi dan berperan dalam osteogenesis.^{9,10}

Hidroksiapatit dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ merupakan salah satu senyawa kalsium fosfat dan termasuk dalam kelompok mineral apatit yang saat ini sedang banyak dikembangkan. Dengan tingginya kebutuhan akan biomaterial ini, sintesis HA menjadi suatu hal yang cukup bermanfaat untuk dilakukan. Pembuatan HA pada umumnya menggunakan padatan atau serbuk kalsium oksida (CaO). Sumber kalsium dari bahan alam dapat diperoleh dari cangkang telur ayam. Cangkang telur ayam mengandung kalsium dalam bentuk kalsium karbonat (CaCO_3) sebagai komposisi penyusun utama cangkang telur ayam.⁹

Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) merupakan salah satu teripang yang mudah ditemukan di Asia Tenggara, bagian barat pasifik hingga perairan Indonesia. Teripang selain sebagai sumber protein, juga dikenal secara luas sebagai obat tradisional yang sudah lama dimanfaatkan. Genus *Stichopus Hermanii* atau lebih dikenal dengan gamat memiliki khasiat menyembuhkan *gastric ulcer*, *arthritis*, nyeri, hipertensi, dan meningkatkan penyembuhan luka. Kandungan nutrisinya yang lengkap menyebabkan teripang sering disebut sebagai ginseng dasar laut dan menjadi suplemen yang mujarab. Pada pengobatan Cina tradisional, teripang diketahui bermanfaat untuk melancarkan peredaran darah, mencegah penyempitan pembuluh darah akibat kolesterol, melancarkan fungsi

ginjal, meningkatkan metabolisme, mencegah penyakit Diabetes Melitus, Hipertensi, mempercepat penyembuhan luka, dan antiseptik tradisional. Air rebusan teripang telah dimanfaatkan secara tradisional sebagai tonikum dan diberikan kepada wanita yang baru melahirkan untuk menghentikan perdarahan dan mempercepat proses penyembuhan luka khitan pada anak laki-laki.^{11,12,13}

Dalam bidang Kedokteran Gigi, beberapa penelitian tentang efek Teripang Emas telah banyak dilakukan. Prameswari¹⁴ meneliti efek osteogenesis *nano-powder* Teripang Emas pada daerah tarikan gigi ortodonti. Majdina dkk¹⁵ melihat efektifitas kombinasi terapi oksigen hiperbarik dan Gel Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada tikus Diabetes Melitus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas Gingivalis*. Prameswari dkk¹⁶ melihat efek TLR-4 TE dalam remodeling ligamen periodontal selama perawatan ortodonti. Yasin dkk¹⁷ melihat jumlah makrofag pada ligament periodontal selama pergerakan gigi ortodonti menggunakan gel Teripang Emas kombinasi terapi oksigen hiperbarik. Dalam sebuah literatur, Mardiana dkk¹⁸ mereview potensi Teripang Emas pada regenerasi jaringan periodontal.

Kandungan kolagen di dalam protein teripang sekitar 80% dari seluruh protein yang terdapat di tubuhnya. Termasuk kandungan Glikoprotein, kolagen, glikosaminoglikan (Asam Hialuronat), Kondroitin Sulfat, Dermatan Sulfat, Heparin, Heparan Sulfat, mukopolisakarida, proteoglikan. Kolagen berfungsi untuk membangun tulang, gigi, sendi, otot, dan kulit. Proteinnya juga mudah dicerna enzim pepsin. Kolagen diperlukan untuk pembentukan tulang, gigi dan metabolisme di dalam tubuh. Asupan kolagen akan membantu pertumbuhan

jaringan mukosa, gingiva, otot dan tulang, meningkatkan imunitas tubuh, dan menyembuhkan luka baik pada jaringan lunak maupun jaringan tulang.¹⁹

Melihat khasiat Teripang Emas yang begitu besar, peneliti merasa tertarik dengan kandungan kolagen dan asam hialuronat dalam Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*), namun masih sedikit penelitian yang menunjukkan potensi TE sebagai bahan cangkok tulang. Teripang Emas memiliki kandungan asam hialuronat (AH) yang tinggi (75,7%), dan kolagen (29,47%). Dalam matriks ekstraseluler, AH mewakili kerangka kerja yang memicu pemulihan jaringan pasca cedera, menekan aktivitas anti-inflamasi, memodulasi hidrasi jaringan, keseimbangan osmotik dan pengenalan kolagen, dan kontraksi selama proses perbaikan. Penelitian menggunakan AH pada konsentrasi 0,8% menunjukkan dapat mempercepat regenerasi tulang melalui kemotaksis, proliferasi, dan diferensiasi sel mesenkim.²⁰

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti efektifitas Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA dari cangkang telur ayam terhadap ekspresi *osteocalcin* melalui pemeriksaan imunohistokimia pada *femur* marmut.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah kombinasi gel Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) dan Hidroksiapatit sintetik sebagai *bone graft* dapat meningkatkan ekspresi Osteokalsin pada regenerasi tulang?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas gel Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA sintetik sebagai *bone graft* pada regenerasi tulang.

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui ekspresi osteokalsin setelah aplikasi kombinasi gel Teripang Emas dan HA sintetik, aplikasi *bone graft* HA, dan tanpa perlakuan pada regenerasi tulang.
2. Mengetahui perbandingan ekspresi osteokalsin setelah aplikasi kombinasi gel Teripang Emas dan HA sintetik, aplikasi *bone graft* HA, dan tanpa perlakuan pada regenerasi tulang.

I.4 Manfaat Penelitian

I.4.1 Manfaat pengembangan ilmu

1. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) sebagai bahan *bone graft* pada proses regenerasi tulang.
2. Menjadi pertimbangan dalam perawatan regenerasi periodontal sebagai bahan alternatif pengganti tulang yang murah dan mudah diperoleh

I.4.2 Manfaat praktis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan di bidang kedokteran gigi bagian periodonsia pada khususnya.
2. Penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan ilmu pengetahuan dan penelitian lebih lanjut.
3. Memberikan informasi pengolahan Teripang Emas sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai *bone graft*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penyakit Periodontal

Setiap kelainan bawaan atau didapat pada jaringan yang mengelilingi dan menopang gigi (periodonsium) dapat didefinisikan sebagai penyakit periodontal. Penyakit-penyakit ini mungkin berasal dari perkembangan, inflamasi, traumatis, neoplastik, genetik, atau metabolik. Penyakit periodontal adalah suatu penyakit infeksi kronis dalam rongga mulut dengan prevalensi 10–60% pada orang dewasa. Penyakit periodontal meliputi gingivitis dan periodontitis, dimana menurut penelitian periodontitis lebih banyak terjadi. Koloni bakteri pada plak gigi merupakan faktor lokal yang mengakibatkan terjadinya atau memperparah penyakit periodontal.^{20,21,22}

Penyakit periodontal dihasilkan dari interaksi yang kompleks antara *biofilm* subgingiva dan interaksi imun-inflamasi pejamu yang berkembang pada jaringan gingiva dan periodontal sebagai respons terhadap aktivitas yang disajikan oleh bakteri. Kerusakan jaringan yang dihasilkan dari respons imun-inflamasi diakui secara klinis sebagai periodontitis. Radang gusi mendahului periodontitis, tetapi jelas bahwa tidak semua kasus radang gusi berkembang menjadi periodontitis. Pada gingivitis, lesi inflamasi terbatas pada gingiva. Namun, pada periodontitis proses inflamasi meluas sehingga mempengaruhi ligamen periodontal dan tulang alveolar. Hasil akhir dari perubahan inflamasi ini adalah

kerusakan serat ligamen periodontal, yang mengakibatkan hilangnya perlekatan klinis diikuti dengan resorpsi tulang alveolar.²³

II.2 Perawatan Regeneratif

Regenerasi struktur pendukung gigi yang telah hilang sebagai akibat dari perkembangan penyakit periodontal menjadi tujuan dalam perawatan periodontal, yaitu pembentukan tulang baru dan sementum baru dengan ligamentum periodontal pendukung. Regenerasi mengacu pada reproduksi atau pemulihan bagian yang hilang atau cedera, berbeda dengan perbaikan, yang menggambarkan penyembuhan luka oleh jaringan yang tidak sepenuhnya memulihkan arsitektur atau fungsi bagian tersebut. Regenerasi periodontal didefinisikan sebagai regenerasi jaringan pendukung gigi, termasuk tulang alveolar, ligamentum periodontal, dan sementum di daerah permukaan akar yang rusak. Graf tulang didefinisikan sebagai pemulihan klinis jaringan tulang pada defek periodontal yang dirawat yang dapat merangsang regenerasi (pembentukan) tulang pada jaringan periodontal.²⁴

Perawatan kerusakan tulang harus menghasilkan tidak hanya pengurangan kedalaman probing, penguatan perlekatan klinis, dan pengisian tulang radiografi, tetapi juga pada penutupan defek melalui regenerasi periodontal (yaitu pembentukan sementum akar, ligamentum periodontal, dan tulang alveolar). Alasan untuk mengintegrasikan protokol regeneratif/ rekonstruktif dalam konsep pengobatan secara keseluruhan didukung oleh temuan dari studi klinis yang menunjukkan perbaikan klinis yang umumnya lebih besar

mengikuti pendekatan seperti itu bila dibandingkan dengan perawatan konvensional, seperti *open-flap debridement* (OFD). Selain itu, karena pembedahan periodontal regeneratif, merupakan pendekatan yang tidak resektif, tapi juga dapat menawarkan hasil estetika yang unggul jika dibandingkan dengan perawatan konvensional.²⁵

Untuk mengembalikan fungsi tulang dengan baik maka diperlukan penambahan atau penggantian jaringan pada jaringan tulang yang rusak guna memperbaiki kerusakan tulang dan menambah volume tulang alveolar. Bahan cangkok tulang buatan digunakan untuk merehabilitasi kerusakan tulang untuk memfasilitasi regenerasi tulang. Hidroksiapatit (HA) merupakan biomaterial biokompatibilitas yang baik dan tidak menimbulkan reaksi negatif pada tubuh manusia. Pembentukan tulang baru dipromosikan oleh HA melalui mekanisme osteokonduksi. Kolagen adalah polimer alami yang banyak digunakan sebagai bahan pengganti tulang dalam rekayasa dan perbaikan jaringan. Selain itu, kolagen mudah diserap kembali dan didegradasi oleh tubuh serta memiliki kemampuan yang baik untuk menempel pada sel.²⁶

Werner dan Grose dalam sebuah literatur menegaskan bahwa pada hari pertama setelah cedera, luka akan diisi dengan darah beku dan neutrofil kemudian akan membentuk gumpalan darah. Pada hari ke 3-7, neutrofil akan mengalami apoptosis, akibatnya banyak makrofag akan hadir di jaringan luka, dan sel-sel endotel selanjutnya akan bermigrasi, berkembang, dan membentuk pembuluh darah baru. Setelah itu, fibroblas akan bermigrasi ke jaringan luka, membentuk jaringan baru yang dikenal sebagai jaringan granulasi. Ketika

fibroblas berkembang menjadi miofibroblas, ini dapat menyebabkan deposisi kolagen. Produk terbesar sel osteoblas adalah kolagen tipe-1 yang akan membentuk fibril kolagen. Lebih lanjut, osteoblas juga mensintesis protein lain dalam matriks tulang, yaitu, osteokalsin dan osteonektin, yang merupakan 40%-50% protein nonkolagen dalam tulang. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa osteokalsin dan kolagen 1 adalah produk dari osteoblas.²⁷

II.3BoneGraft

Jenis – Jenis *Bonegraft*^{28,29}

a. Autograft

Bahan cangkok tulang *autograft* adalah bahan cangkok tulang yang berasal dari bagian tubuh pasien sendiri yang dipindahkan ke tempat lain. Dianggap sebagai *gold standard* diantara berbagai bahan cangkok tulang yang tersedia karena sifat osteogenik, osteoinduktif dan osteokonduktif yang dimilikinya. Reaksi imun-penolakan yang rendah membuat tingkat keberhasilan > 95%. Selain itu resiko penularan penyakit dapat dieliminasi. Beberapa jenis tulang *autograft* seperti kepingan tulang kortikal, koagulum tulang, campuran tulang, tuberositas maksilla, tulang soket ekstraksi serta tulang dan sumsum *cancelius Iliac*. Pengambilan tulang intra-oral dibandingkan ekstra-oral memiliki keuntungan seperti kemudahan akses bedah, kedekatan relatif antara donor dan situs penerima, kurangnya jaringan parut kulit permanen dan minimal morbiditas pasca operasi. Selain itu, osifikasi membran maksilla dan mandibular memiliki tingkat penyerapan yang lebih rendah serta integritas yang lebih baik karena mengandung konsentrasi faktor pertumbuhan yang lebih tinggi dan potensi angiogenetik.

b. Allograft

Allograft adalah bahan cangkok tulang yang ditransplantasikan kepada orang lain secara genetik berbeda dari spesies yang sama. Bahan ini mempunyai hasil klinis yang kurang konsisten, karena hanya memiliki efek osteoinduktif dan osteokonduktif dan tidak bersifat osteogenesis. Adanya resiko penularan penyakit dan reaksi imunogenik yang merugikan sehingga bahan ini membutuhkan perlakuan khusus seperti dibekukan, diradiasi atau diberi bahan kimia untuk mengurangi resiko merugikan. Proses untuk mengurangi resiko tersebut dapat mengurangi potensi osteoinduksi dan kekuatan mekanik. Keuntungan menggunakan *allograft* dibandingkan *autograft* adalah pasien tidak perlu mengalami luka bedah tambahan untuk pengambilan donor dari tubuhnya sendiri.

Bahan *allograft* yang biasa digunakan dalam terapi periodontal adalah *frozen iliac cancellous* dan sumsum tulang, *demineralized freeze-dried bone allograft* (DFDBA), *mineralized freeze-driedbone allografts* (FDBA).

c. Alloplastic graft

Penelitian untuk mengembangkan berbagai bahan cangkok sintetis terus dilakukan oleh para ahli. Dipengaruhi oleh kemajuan yang sangat besar di bidang ilmu biomaterial, mengurangi resiko penularan penyakit, morbiditas serta biaya, mendorong para ahli untuk menemukan bahan cangkok alternatif.

Berbagai Teknik telah digunakan termasuk tekstur permukaan, pembentukan lapisan mineral dan penggunaan bioreaktor untuk sel sehingga produk akhir dapat menyerupai lingkungan dimana osteoblas tumbuh secara alami. Bahan-bahan

biomimetic ini ditandai oleh osteokonduktif, tanpa potensi osteoinduktif atau osteogenik sendiri. Bertindak sebagai *scaffold* tiga dimensi untuk mendukung pertumbuhan sel dan pembentukan tulang, meningkatkan adhesi sel dan proliferasi sel. Sekelompok material yang heterogen, termasuk kalsium fosfat, kalsium karbonat, kalsium sulfat, *bioactive glass*, dan polimer termasuk dalam kategori ini.

d. Xenograft

Xenograft adalah bahan cangkok yang diambil dari spesies yang berbeda, biasanya berasal dari tulang sapi dan karang alami yang kemudian disterilkan dan dideproteinisasi dengan berbagai teknik untuk menghilangkan kandungan organik, sehingga biokompatibel dan menyerupai struktur tulang manusia. *Xenograft* bersifat osteokonduktif, mudah diperoleh dan bebas resiko transmisi.

Dalam penggunaannya, *xenograft* dapat dikombinasikan dengan faktor pertumbuhan atau cangkok tulang yang berasal dari sumber lain. Bahan ini dapat diproduksi secara massal dengan biaya yang relatif terjangkau. Namun kelemahannya adalah karakteristik tulang berbeda dibandingkan dengan manusia serta prosedur pengolahannya dapat mempengaruhi sifat fisikokimianya dan kemungkinan penularan penyakit serta stimulasi imunogenitas.

Material *bonegraft* dari berbagai sumber dan komposisi memiliki potensi regenerasi tulang yang berbeda terkait dengan sifat-sifat berikut:³⁰

1. Osteogenesis: osteoblas hidup yang berasal dari graf berkontribusi pada produksi tulang baru;

2. Osteoinduksi: stimulasi sel-sel osteoprogenitor yang berdiferensiasi menjadi osteoblas, biasanya dipengaruhi oleh protein morfogenetik tulang (BMP) yang dilepaskan dari graf;
3. Osteokonduksi: cangkok memberikan 'kerangka' membantu kapiler dan sel-sel prekursor untuk berkembang, sehingga menciptakan perancah tulang yang dapat dibuat di dalam dan sekitar.

Bahan yang ideal untuk rehabilitasi tulang harus memiliki karakteristik berikut:

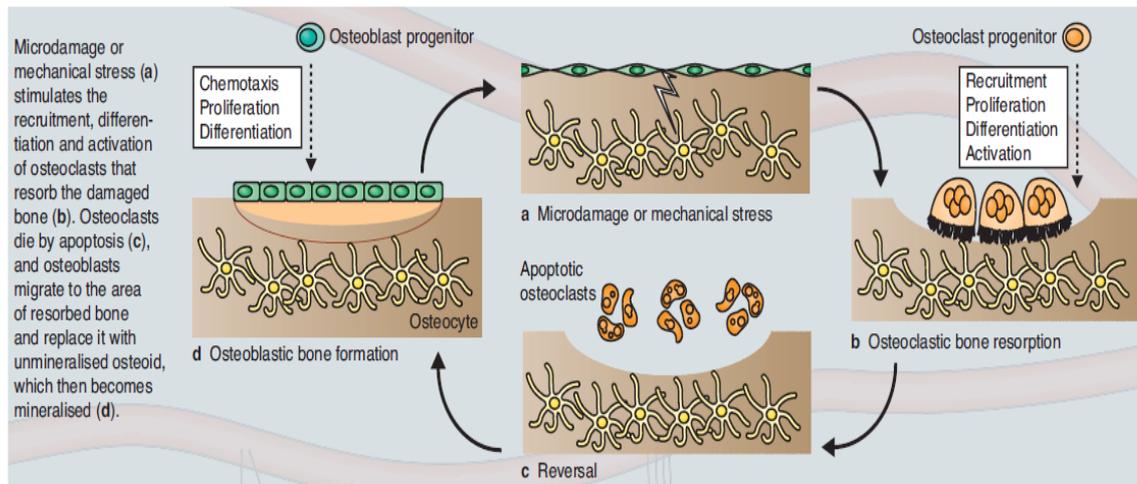
- Sifat osteogenik, osteoinduktif dan osteokonduktif
- Stimulasi neo-angiogenesis
- Kurangnya reaksi antigenik, teratogenik, atau karsinogenik
- Suplai dalam jumlah yang cukup
- Dukungan dan stabilitas yang memuaskan
- Minimum hingga nol morbiditas - komplikasi
- Sifat hidrofilik
- Penanganan yang mudah;
- Biaya rendah

II. 4 Proses Regenerasi Tulang

Regenerasi tulang adalah proses yang terjadi secara kontinyu, dimana tulang lama akan diresorpsi dan tulang baru akan dibentuk. Proses regenerasi mengontrol pembentukan kembali atau penggantian tulang selama pertumbuhan tulang. Proses regenerasi tulang merupakan suatu siklus yang meliputi beberapa tahapan, diantaranya:³¹

1. *Quiescent phase*, merupakan keadaan fase tulang saat istirahat. Faktor yang menginisiasi proses ini belum diketahui secara pasti.
2. Tahap aktivasi (*activation phase*), adalah tahap interaksi antara prekursor osteoblas dan osteoklas, kemudian terjadi proses diferensiasi, migrasi, dan fungsi multinuklear osteoklas yang terbentuk kemudian akan melekat pada permukaan matriks tulang dan akan dimulai tahap berikutnya yaitu tahap resorpsi. Sebelum migrasi ke matriks tulang, osteoklas tersebut akan melewati sederetan *lining* sel osteoblas pada permukaan tulang untuk dapat mengeluarkan enzim proteolitik. Interaksi sel antara *stromal cell* (sel stroma) dan *hematopoietic cell* (sel hematopoietik) menjadi faktor penentu perkembangan osteoklas. Perkembangan osteoklas dari prekursor *hematopoietic* tidak bisa diselesaikan jika tidak ada kehadiran sel stroma. Oleh karena itu hormon sistemik dan lokal yang mempengaruhi perkembangan osteoklas disediakan oleh *stromal-osteoblastic lineage* (sel stroma).
3. Tahap resorpsi (*resorption phase*), adalah tahap pada waktu osteoklas akan mensekresi ion hidrogen dan enzim lisosom terutama *cathepsin K* dan akan mendegradasi seluruh komponen matriks tulang termasuk kolagen. Setelah terjadi resorpsi maka osteoklas akan membentuk lekukan atau cekungan tidak teratur yang biasa disebut *lacuna howship* pada tulang trabekular dan saluran haversian pada tulang kortikal. Resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas hanya memakan waktu sekitar 2-4 minggu selama setiap siklus regenerasi.

4. Tahap reversal (*reversal phase*), pada akhir proses resorpsi tulang, pada rongga hasil resorpsi akan dipenuhi oleh sel mononuklear, termasuk monosit, osteosit yang dilepaskan dari matriks tulang, dan preosteoblas yang direkrut untuk memulai pembentukan tulang baru. Sinyal yang menghubungkan antara fase resorpsi ke fase awal pembentukan tulang antara lain termasuk sinyal yang berasal dari matriks tulang seperti *TGF- β* , *IGF-1*, *IGF-2*, *BMP*, *PDGF*, dan *FGF*.
5. Tahap formasi (*formation phase*), adalah tahap pada waktu terjadi proliferasi dan diferensiasi prekursor osteoblas yang dilanjutkan dengan pembentukan matriks tulang yang baru dan akan mengalami mineralisasi. Tahap formasi akan berakhir ketika defek (cekungan) yang dibentuk oleh osteoklas telah diisi.
6. Fase mineralisasi, proses mineralisasi dimulai 30 hari setelah pengendapan osteoid, berakhir 90 hari pada tulang trabekular dan pada 130 hari pada tulang kortikal. Selanjutnya fase *Euiscent* akan dimulai lagi.



Gambar 1. Proses regenerasi tulang³²

II. 5 Faktor yang Mempengaruhi Regulasi Pembentukan Tulang

Pembentukan tulang dikontrol oleh faktor lokal dan humoral sistemik.^{33,34,35,36,37}

a. Faktor Lokal

Pada umumnya faktor lokal pembentukan tulang adalah *growth factor* yang secara langsung berhubungan dengan sel-sel osteobalstik. *Growth factor* yang dapat mempengaruhi regulasi pembentukan tulang memiliki ciri, diantaranya; polipeptida, mengikat reseptor sel pada permukaan sel, bekerja secara lokal, diproduksi oleh sel-sel alami, bersifat multi fungsi karena dapat menstimulasi berbagai jenis aktivitas seluler. *Growth factor* tersebut disintesis oleh sel-sel jaringan konektif, diantaranya: PDGf, IGF 1 dan 2, TGF- β 1, TGF- β dan 2, FGF, *heparin binding growth factors* (HGBF) 1 dan 2, dan BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins* (BMPs)).

Selain *Growth factor*, sitokin juga mempengaruhi regulasi regenerasi tulang. Sitokin yang dihasilkan oleh monosit atau limfosit memiliki peran penting dalam proses regenerasi tulang. Beberapa sitokin pro-inflamasi seperti kelompok Interleukin (IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, IL-17), *Tumor Necrotizing Factor- α* (TNF- α), *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF), dan *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF) dibuktikan memiliki sifat osteoklastogenik. Sedangkan IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, dan interferon- γ (IFN- γ) merupakan sitokin yang memiliki sifat anti-osteoklastogenik. Selain itu, terdapat juga beberapa sitokin pro-inflamasi, seperti IL-7, IL-12, IL-23, IL-6, dan TGF- β juga yang memiliki sifat ganda baik osteoklastogenik dan anti-osteoklastogenik, tergantung pada tahap mana sitokin tersebut bekerja dalam proses diferensiasi osteoklas. Sitokin-sitokin tersebut bekerja baik secara langsung maupun secara tidak langsung melalui sistem RANK/RANKL/OPG dalam proses osteoklastogenesis.³⁴

b. Faktor Sistemik^{34,35}

Beberapa hormon yang penting dalam proses regenerasi tulang antara lain hormon tiroid, paratiroid, kalsitonin, 1,25 (OH)₂, vitamin D, androgen, estrogen, progesteron, insulin, dan glukokortikoid. Selain hormone, juga dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, neurovaskular, serta nutrisi dan metabolik.

II. 6 Biomarker Pembentukan Tulang

Marker formasi tulang adalah produk dari osteoblas beserta apa yang dihasilkan dari aktivitasnya. Osteoblas adalah sel mononuklear yang menempel pada permukaan tulang dan membentuk tulang baru. Mereka menghasilkan kolagen tipe I dan matriks komponen osteoid lainnya dan mereka juga memineralisasi osteoid dengan hidroksiapatit.³⁸

Adapun biomarker pembentukan tulang, antara lain :^{37,38}

a. Propeptida Prokolagen tipe I

Kolagen tipe I adalah bagian dari matriks tulang. Osteoblas melepaskan prekursor (PICP). Konsentrasi dari PINP dan PICP dalam sirkulasi diperkirakan mencerminkan laju tersebut yaitu prokolagen tipe I. Prokolagen ini mengalami pembelahan proteolitik dan menghasilkan amino terminal dan carboxy-terminal propeptida dari kolagen tipe I (PINP) pembentukan tulang.

b. Alkalin Phospatase

Peranan enzim alkaline phospatase (AP) dalam proses mineralisasi adalah bahwa enzim ini mempersiapkan suasana alkalis (basa) pada jaringan osteoid yang terbentuk, agar supaya kalsium dapat dengan mudah terdeposit pada jaringan tersebut. Selain itu di dalam tulang enzim ini menyebabkan meningkatnya konsentrasi fosfat, sehingga terbentuklah ikatan kalsium-fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit dan berdasarkan hukum massa (*law of mass action*) kristal tersebut pada akhirnya akan mengendap di dalam tulang.

c. *Osteocalcin* (OCN)

Osteocalcin yang juga disebut tulang Gla-protein, adalah protein pengikat kalsium tulang yang kecil (5.4 kDa) dan merupakan protein non-kolagen yang paling melimpah dari jaringan-jaringan termineralisasi. Merupakan protein dengan massa molekul sekitar 6 kD, mengandung 49 asam amino. *Osteocalcin* sebagian besar disintesis oleh osteoblas, odontoblas, dan kondrosit hipertrofik dan memiliki peran penting dalam resorpsi tulang dan mineralisasi. *Osteocalcin* serum saat ini dianggap sebagai penanda pergantian tulang yang valid dan spesifik pada proses resorpsi dan pembentukan tulang. Kadar serum osteokalsin yang meningkat telah ditemukan selama periode kerusakan tulang yang cepat, seperti osteoporosis, *multiple myeloma*, dan perbaikan patah tulang.⁴

Osteocalcin (OCN) adalah protein yang disintesis oleh osteoblas yang mengikat hidroksiapatit dalam matriks tulang. Selain fungsinya dalam mengatur regenerasi tulang melalui mekanisme umpan balik negatif, protein ini merupakan faktor endokrin dalam mengatur homeostasis glukosa. *Osteocalcin* yang rendah dikaitkan dengan peningkatan risiko patah tulang. *Osteocalcin* adalah protein yang diproduksi oleh osteoblas yang tergantung pada vitamin K dan vitamin D. Vitamin K adalah ko-faktor esensial untuk post translasi γ -karboksilasi dari osteokalsin.³⁸

Pemeriksaan *osteocalcin* sering dipakai sebagai biomarker awal pada pengobatan pembentuk tulang dan untuk menilai efektivitas hasil pengobatan. Hasil pemeriksaan *osteocalcin* cukup akurat dan stabil dalam

menilai proses pembentukan tulang. Metode pemeriksaan *osteocalcin* dapat dilakukan melalui *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dengan menggunakan serum. Sedangkan untuk pemeriksaan pada jaringan tulang, ekspresi osteokalsin dapat dilakukan dengan pemeriksaan imunohistokimia.⁸

II. 7 Pemeriksaan Imunohistokimia

Imunohistokimia merupakan proses untuk mendeteksi antigen (protein, karbohidrat, dsb) pada sel dari jaringan dengan prinsip reaksi antibodi yang berikatan terhadap antigen pada jaringan.³⁹

Imunohistokimia seringkali digunakan untuk mengukur dan mengidentifikasi proses proliferasi sel dan apoptosis sel. Imunohistokimia juga sering digunakan untuk penelitian dasar dalam rangka mengetahui distribusi dan lokasi biomarker ataupun protein terekspresi pada berbagai macam jaringan pada tubuh. Slide imunohistokimia dinilai dengan melihat ekspresi akhir osteokalsin, di mana hasil akhir ekspresinya adalah persentasi yang terwarnai positif dengan maksimum scoring 100%.⁴⁰

II. 8 Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*)

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan wilayah maritim yang luas serta potensi sumber daya alam laut yang sangat kaya. Salah satunya adalah teripang. Indonesia adalah negara dengan potensi teripang terbesar dan penghasil teripang terbesar di dunia. Dalam setahun, 42 ton teripang dapat dihasilkan. Teripang merupakan salah satu komoditas perikanan yang mempunyai prospek cukup baik dan bernilai ekonomis yang tinggi, baik di

pasaran domestik maupun internasional. Daerah penghasil utama teripang adalah perairan pantai Sulawesi Tengah (1.134 ton) kemudian diikuti oleh perairan pantai Nusa Tenggara Timur (433 ton) dan Sulawesi Selatan (327 ton).^{12,41}



Gambar2. Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*)

Holothuridea atau yang lebih dikenal dengan sebutan teripang atau timun laut merupakan salah satu spesies *Echinodermata*. *Echinodermata* memiliki lima kelas yaitu kelas *Asteroide* (bintang laut), kelas *Ophiuroidea* (bintang laut), kelas *Echinoid* (landak laut), kelas *Crinoidea* (lili laut), dan kelas *Holothuridea* (teripang laut). *Holothuridae* atau teripang memiliki 3 famili yaitu famili *Holothuridae* (genus *Actinopyga* dan *Holothuria*), *Stichopodidae* (genus *Stichopus*), dan *Synaptidae* (genus *Synapta*). Pada penelitian ini, jenis teripang yang digunakan adalah teripang emas (*Stichopus Hermanii*). Adapun klasifikasi teripang emas (*Stichopus Hermanii*) adalah :^{12,42}

Phylum : *Echinodermata*,
Subphylum : *Eleutherozoa*,
Infraphylum : *Echinozoa*,
Class : *Holothuroidea*,
Subclass : *Aspidochirota*,
Order : *Aspidochirota*,
Family : *Stichopodidae*,
Genus : *Stichopus*,
Specific name : *Hermanii*,
Scientific name: *Stichopus Hermanii*

Salah satu jenis teripang yang ada di perairan Indonesia adalah *Stichopus Hermanii*. *Stichopus Hermanii* atau yang lebih dikenal dengan Teripang Emas tergolong dalam ordo *aspidochirota*, family *stichopodidae*, Genus *Stichopus* dan spesies *Hermanii*. *Stichopus Hermanii* merupakan salah satu teripang yang mudah ditemukan di Asia Tenggara, bagian barat pasifik hingga perairan Indonesia barat. *Stichopus Hermanii* memiliki berbagai kandungan bermanfaat diantaranya adalah kalsium, fosfor, asam amino esensial, asam amino non-esensial, glikoprotein, kolagen, glikosaminoglikan, asam hialuronat, kondroitin sulfat, heparin, heparin sulfat, proteoglikan, EPA-DHA, flavonoid, saponin, triterpenoida, dan *cell growth factor*.

Stichopus Hermanii memiliki salah satu bahan variasi dengan komposisi aktif yang dapat diberikan secara lokal dan dikenal mempunyai mekanisme yang berguna pada proses remodelling tulang. Hialuronan, EPA, DHA, dan kondroitin sulfat memiliki efek anti-osteoklastogenik, dan kandungan flavonoid meningkatkan level *osteoprotegerin* (OPG). *Stichopus Hermanii* dapat

meningkatkan sitokin anti-inflamatorik secara lokal melalui peningkatan ekspresi OPG sebagai marker jaringan periodontal.⁴³

Tabel 1. Hasil Uji karakteristik Ekstrak Teripang Emas¹²

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

Kandungan aktif pada TE seperti EPA, DHA yang berfungsi menghambat aktivitas sel osteoklas yang berperan dalam proses penguraian tulang dan meningkatkan aktivitas osteoblas dalam proses pembentukan tulang melalui peningkatan sintesis senyawa aktif. Kondroitin sulfat memiliki efek anti-osteoklastogenik dan flavonoid yang dapat meningkatkan ekspresi OPG melalui osteoblas dengan cara menstimulasi fungsi dan meningkatkan diferensiasi osteoblas sehingga dapat menjaga kesehatan tulang alveolar dan dapat mencegah resorpsi tulang alveolar serta terbukti dalam menurunkan ekspresi RANKL secara

signifikan.¹⁰ Kandungan-kandungan lain pada TE juga dapat meningkatkan ekspresi sitokin anti-inflamasi sehingga dapat meningkatkan ekspresi OPG.¹¹

Asam hialuronat merupakan komponen penting dari matriks ligamen periodontal dan berperan penting dalam berbagai adesi, migrasi dan diferensiasi sel yang dimediasi oleh berbagai protein pengikat dan permukaan sel reseptor seperti CD44. Asam hialuronat juga memiliki efek bakteriostatik dan anti-inflamasi yang memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka. Asam hialuronat juga berperan dalam osteoinduktif, dalam hal ini asam hialuronat mempercepat regenerasi tulang dengan cara kemotaksis, proliferasi dan diferensiasi sel mesenkim. Asam hialuronat bersama dengan substansi osteogenik membentuk karakteristik yang bersifat menginduksi tulang.⁴⁴

II. 9 Hidroksiapatit

Seiring berkembangnya teknologi material, telah ditemukan hidroksiapatit yang strukturnya hampir sama dengan struktur tulang manusia. Hidroksiapatit (HA) termasuk kelompok apatit yang paling banyak digunakan dalam bidang medis karena memiliki sifat biokompatibel dan osteokonduktif. Hidroksiapatit (HA) memiliki rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang mempunyai ikatan mineral stabil dan memiliki kemiripan struktur kristal pada jaringan tulang manusia. Selain itu, HA juga bersifat bioaktif, biokompatibel, dan osteokonduktif sehingga dapat menyatu dengan tulang (*bone integration*) dan dapat mempercepat regenerasi tulang (*bone regeneration*) yang senantiasa dibutuhkan dalam proses penyembuhan trauma tulang.⁴⁵

II. 10 Kolagen

Kolagen adalah sekelompok protein yang paling melimpah yang ditemukan pada mamalia yang mewakili 25-35% dari total protein tubuh. Hingga saat ini, setidaknya 28 jenis kolagen yang dikodekan oleh 45 gen telah diidentifikasi. Kolagen ditemukan pada tulang rawan, tulang cakram intervertebralis, pembuluh darah, tendon, ligamen, kulit, dan kornea merupakan komponen utama dari matriks ekstraseluler. Berbagai jenis kolagen disintesis oleh fibroblas, sel otot polos, kondrosit, osteoblas, sel endotel, sel epitel, mioblas, sel retina saraf, dan sel *notochord*. Kolagen tipe I adalah yang paling melimpah dari semua 28 kolagen yang diketahui dan merupakan jenis paling melimpah yang ditemukan di tulang yang merupakan > 90% dari massa organik tulang.

Kolagen memiliki banyak sifat unik yang membuatnya sangat berguna sebagai perancah untuk memfasilitasi regenerasi jaringan dan atau pengiriman obat ke daerah luka. Kolagen memiliki anti-genisitas rendah, toksisitas rendah, afinitas tinggi terhadap air, dan mudah terurai. Kolagen mengandung domain RGD (Arg Gly-Asp) dan non-RGD yang mengikat integrin terkait permukaan sel sehingga memfasilitasi migrasi, perlekatan, proliferasi, dan diferensiasi sel. Dengan demikian, bahan berbasis kolagen telah digunakan untuk jahitan, implan, pembalut luka, dan sedang dikembangkan sebagai matriks/perancah dengan atau tanpa protein / peptide bioaktif dan sel yang mempotensiasi regenerasi jaringan lunak dan keras seperti kulit atau tulang.⁴⁶

II. 11 Asam Hialuronat (AH)

Asam hialuronat merupakan komponen kunci pada proses regenerasi jaringan dan mengatur proses regenerasi melalui reseptor spesifik, mengatur respon inflamasi, migrasi sel dan angiogenesis pada proses penyembuhan. Asam Hialuronat adalah anggota dari kelompok *glycosaminoglycans* (GAGs) yang terdiri dari *D-glucuronic acid* and *N-acetyl-D-glucosamine* yang berikatan dengan β -*glycosidic* membentuk polimer yang sangat panjang dengan berat molekul 5×10^6 kDa. Asam Hialuronat di sintesis oleh permukaan dalam membrane sel. Polimer Asam hialuronat mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan air sehingga bersifat higroskopik dan viskoelastis.

Antigen CD44 antigen, yaitu glikoprotein type 1, merupakan reseptor utama asam hialuronat CD44, terletak pada semua membran sel manusia. Fungsi spesifik CD44 adalah kemampuannya mengikat asam hialuronat kemudian berinteraksi membentuk ikatan dengan fibronectin, kolagen, osteopontin dan matrix metalloproteinase (MMPs). Asam hialuronat mempunyai daya antioksidan yang kuat dengan cara menghambat peroksidase lemak dan mengikat radikal bebas. Signaling asam hialuronat mempengaruhi angiogenesis dengan cara merangsang proliferasi, migrasi sel endotel dan pembentukan pembuluh darah secara in vitro.^{21,44,47}