

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG
EMAS (*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI
HIDROKSIAPATIT SINTESIS SEBAGAI
BONEGRAFT TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG**

TESIS



**DIAN EKA SATYA
J035191006**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2022

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANI*) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT
SINTESIS SEBAGAI *BONEGRAFT* TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG**

OLEH:


DIAN EKA SATYA

J035191006

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

Makassar, 1 Maret 2022

Pembimbing 1


Dr. Asdar Gani, drg. M.kes.
Nip. 19661229 199702 2 001

Pembimbing 2


Dr. Arni Irawaty Djais, drg. Sp.Perio (K)
Nip. 19750130 200812 2 002

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Hereditas FKG-UNHAS


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

PENGESAHAN UJIAN TESIS

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANI*) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT
SINTESIS SEBAGAI *BONEGRAFT* TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG**

OLEH:


DIAN EKA SATYA

J035191006


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

Makassar, 1 Maret 2022

Pembimbing 1


Dr. Asdar Gani, drg, M.kes.
Nip. 19661229 199702 2 001


Pembimbing 2


Dr. Arni Irawaty Djais, drg, Sp.Perio (K)
Nip. 19750130 200812 2 002

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS


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


Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin


Prof. Muhammad Rusli, drg, M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)
Nip. 19730702 200112 1 001

TESIS

**EFEKTIVITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(STICHOPUS HERMANII) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT
SINTESIS SEBAGAI *BONE GRAFT* TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG**

OLEH:

DIAN EKA SATYA

J035191006

Telah disetujui

Makassar, 1 Maret 2022

1. Pembimbing I : Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes
2. Pembimbing II : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
3. Penguji I : Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., MS., Sp.Perio (K)
4. Penguji II : Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp.Perio (K)
5. Penguji III : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)



Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)

PPD GSI Peridonsia FKG-UNHAS

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

Nip. 196410031990022001



PERYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dian Eka Satya

Stambuk : J035191006

Program Studi : PROGRAM 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 ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 1 Maret 2022

Yang menyatakan



Dian Eka Satya

KATA PENGANTAR

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 yang selama ini telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini
4. Dr. drg. Asdar Gani, M. Kes. sebagai pembimbing pertama dan drg. Arni Irawaty Djais, Sp. Perio(K) sebagai pembimbing kedua yang selama ini sudah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini

5. Prof. Dr. drg, Hasanuddin Thahir Sp. Perio (K), drg. Surijana Mappangara, Sp.Perio(K), Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, 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. Terima kasih yang tak terhingga kepada suami dan anak-anakku tersayang Ameera dan Adeeba, I love you.
10. Orang tua tercinta mertua dan ibu Fatimah Abubakar yang dengan penuh kesabaran memberikan dukungan dan motivasi hingga terselesaikannya pendidikan ini
11. Saudaraku yang selalu mendukung, membantu dan memberikan semangat hingga terselesaikannya masa pendidikan ini.
12. Kepada teman-teman seperjuangan TiTU drg. Nurhadijah Raja drg. Afdalia Annisa, drg. Sri Wahyu Putri, drg. Nir Etriyani, drg. Azizah, drg. Muh. Yudin, 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

Dian Eka Satya

EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTESIS SEBAGAI *BONEGRAFT* TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS PADA REGENERASI TULANG

Abstrak

Pendahuluan : Penelitian ini dilatarbelakangi kebutuhan akan bahan cangkok tulang alternatif yang terbuat dari bahan alam. Bahan dari alam memiliki beberapa keunggulan dibandingkan sintesis maupun dari tulang hewan maupun manusia. Bahan ini telah terbukti menghasilkan penyembuhan lebih cepat. Teripang emas sebagai salah satu bahan yang mempunyai sifat osteoinduktif, anti inflamasi dan mempercepat penyembuhan luka. Hidroksiapatit yang menyerupai mineral utama pada tulang dan gigi, juga bersifat osteokonduktif. Sehingga sangat cocok di kombinasikan dengan teripang emas. Fiksasi bone graft ke tulang merupakan kunci keberhasilan terapi regeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektifitas material gel teripang emas (*Stichopus Hermanii*) kombinasi hidroksiapatit sebagai *bonegraft* terhadap jumlah osteoblast pada regenerasi jaringan tulang.

Material dan metode : Penelitian ini menggunakan 30 ekor marmut jantan dengan berat 300-500 gram, Untuk perlakuan Seluruh sampel dilakukan defek pada salah satu femur marmut. Sampel kemudian dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok uji dengan pemberian Kombinasigel teripang emas dengan HA sintesis (P) terhadap 10 ekor marmut, 10 ekor lainnya diberikan bonegraft BATAN sebagai kontrol positif (K+), dan 10 ekor lagi pada kelompok kontrol negatif (K-), hanya dilakukan irigasi larutan saline pada defek femur marmut. Perhitungan jumlah sel osteoblas dilakukan pada hari ke-14, dan 21. Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan IBM SPSS statistic versi 21 dengan nilai signifikan $p < 0,05$.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan pada jumlah sel osteoblas pada hari ke 14 dan 21 dengan nilai $p < 0,05$.

Kesimpulan : Aplikasi gel teripang emas yang dikombinasikan dengan hidroksiapatit dapat meningkatkan regenerasi jaringan. Jumlah sel osteoblas mengalami peningkatan setelah aplikasi gel teripang emas yang dikombinasikan dengan HA sintetik pada regenerasi tulang setelah hari ke 14 dan 21

Kata kunci : Bonegraft, Hidroksiapatit, Teripang Emas

EFFECTIVENESS OF GOLD SEA CUCUMBER GEL MATERIAL (STICHOPUS HERMANII) COMBINATION OF HYDROXYAPATITE SYNTHESIS AS BONEGRAFT OF OSTEOBLASTS IN BONE REGENERATION

Abstract

Introduction: This research is motivated by the need for alternative bone graft materials made from natural materials. Materials from nature have several advantages synthetics from animal and human bones. This ingredient has been shown to produce faster healing. Golden sea cucumber as one of the ingredients that has osteoinductive properties, anti-inflammatory and accelerates wound healing. Hydroxyapatite, which resembles the main mineral in bones and teeth, is also osteoconductive. So it is very suitable in combination with gold sea cucumbers. Bone graft fixation to bone is the key to successful regenerative therapy. This study aims to determine the effectiveness of the hydroxyapatite combination of gold sea cucumber (*Stichopus Hermanii*) gel material as a bonegraft on the number of osteoblasts in bone tissue regeneration.

Materials and Methodes: This study used 30 male guinea pigs weighing 300-500 grams. For treatment, all samples were performed with a defect in one of the guinea pig femurs. The sample was then divided into 3 groups. The test group was given a combination of golden sea cucumber gel with synthetic HA (P) to 10 guinea pigs, another 10 were given BATAN bonegraft as a positive control (K+), and another 10 was given to the negative control group (K-), only irrigation was done with saline solution. in guinea pig femoral defects. Calculation of the number of osteoblasts was carried out on days 14, and 21. The research data were then analyzed with IBM SPSS statistic version 21 with a significant value of $p < 0.05$.

Results: The results showed a significant difference in the number of osteoblasts on days 14 and 21 with $p < 0.05$.

Conclusion: The application of gold sea cucumber gel combined with hydroxyapatite can increase tissue regeneration. The number of osteoblasts increased after application of golden sea cucumber gel combined with synthetic HA on bone regeneration after 14 and 21 days.

Keywords: Bonegraft, Golden sea cucumber, Hydroxyapatite

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL DAN DIAGRAM	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	3
I.2 Rumusan Masalah	9
I.3 Tujuan Penelitian	10
I.4 Manfaat Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Struktur Tulang	11
II.2 Proses Remodeling Tulang	13
II.3 Osteoblas	17
II.4 Teripang Emas (<i>Stichopus Hermanii</i>)	19
II.5 Hidroksiapatit	21
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA	
III.1 Kerangka Teori	23
III.2 Kerangka Konsep	24
III.3 Hipotesa	25
BAB IV METODE PENELITIAN	
IV.1 Rancangan Penelitian	26

IV.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	26
IV.2.1 Lokasi Penelitian	26
IV.2.2 Waktu Penelitian	26
IV.3. Sampel Penelitian	27
IV.3.1 Jenis Sampel	27
IV.3.2 Karakteristik Hewan Percobaan.....	27
IV.3.3 Kriteria Sampel Penelitian	29
IV.3.4 Jumlah Sampel	29
IV.4. Alat dan Bahan Penelitian	30
IV.4.1 Alat Penelitian	30
IV.4.2 Bahan Penelitian	31
IV.5 Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional	31
IV.5.1 Variabel Penelitian	31
IV.5.2 Defenisi Operasional	32
IV.6 Prosedur Penelitian	32
IV.6.1 Pemeliharaan Hewan Coba	32
IV.6.2 Persiapan sediaan Gel Teripang Emas (<i>Stichopus Hermanii</i>)	35
IV.6.3 Proses implantasi	38
IV.6.4 Pengambilan jaringan tulang	38
IV.6.5 Pemeriksaan Histologi.....	39
IV.7 Analisa Data	39
IV.8 Etik Penelitian	39
IV.9 Alur Penelitian	40
 BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
V.1 Hasil	41
V.2 Pembahasan	46
 BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	
VI.1 Simpulan	51
VI.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR TABEL DAN DIAGRAM

Tabel 1. Perbandingan rata dan simpang baku jumlah osteoblas antar kelompok perlakuan pada hari ke 14 dan 21	44
Tabel 2. Perbandingan antar dua kelompok perlakuan berdasarkan lama pengamatan.....	46
Tabel 3. perbandingan antar lama pengamatan berdasarkan kelompok	47
Diagram 1. Diagram perbandingan jumlah rerata sel osteoblas pada hari ke 14 dan 21	45
Diagram 2. Perbandingan antar dua kelompok perlakuan berdasarkan lama pengamatan.....	47
Diagram 3. perbandingan antar lama pengamatan berdasarkan kelompok.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lembar Etik Penelitian
2. Prosedur Penelitian
3. Hasil Uji Karakteristik Bahan
4. Hasil Analisis Data

DAFTAR SINGKATAN

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 Xenograft	:	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
OPG	:	Osteoprotegerin
PDGF	:	Platelet-Derived Growth Factor
RANK	:	Receptor activator of NFkB
RANKL	:	Receptor activator of NFkB ligand
RGD	:	Arginylglycylaspartic acid
TNF α	:	Tumor Necrosis Factor α
TNF β	:	Tumor Necrosis Factor β
XRF	:	X-Ray Fluorescence

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih menjadi masalah yang dapat mempengaruhi kualitas hidup seseorang. Menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018¹ menunjukkan bahwa keluhan gusi bengkak dan/atau abses dialami oleh 14% penduduk Indonesia. Sementara menurut The Global Burden of Disease Study¹, penyakit periodontal menjadi urutan ke 11 penyakit yang paling banyak terjadi di dunia. Pencabutan gigi terutama disebabkan oleh karies dan penyakit periodontal. Penelitian Pasarelli, dkk² menemukan bahwa 52,2% kehilangan gigi disebabkan oleh karies dan 35,7% karena penyakit periodontal; hanya 6,9% oleh karena masalah endodontik, 2,9% harus dicabut karena indikasi prostetik dan 2,3% oleh karena kegagalan perawatan sebelumnya. Tindakan pencabutan gigi dapat menyebabkan resorpsi tulang alveolar. Kehilangan tulang alveolar ini akan mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi, *fixed denture*, dan penempatan implan gigi, dan pada akhirnya menyebabkan berkurangnya kenyamanan bagi pasien.³

Periodontitis adalah salah satu penyakit patologis yang mempengaruhi integritas sistem periodontal yang menyebabkan kerusakan jaringan periodontal yang berlanjut pada kehilangan gigi. Beberapa tahun belakangan ini banyak ketertarikan untuk melakukan usaha regenerasi jaringan periodontal, tidak saja untuk menghentikan proses perjalanan

penyakit namun juga mengembalikan jaringan periodontal yang telah hilang. Kehilangan gigi oleh karena karies, trauma ataupun penyakit periodontal selalu diikuti dengan resorpsi tulang alveolar dan jaringan lunak disekitarnya, yang kemudian menyebabkan cacat secara fungsi dan estetik.^{4,5}

Rangkaian peristiwa histologis penyembuhan tulang dimulai dari pembentukan bekuan darah (trombosit) (0 jam) yang membawa banyak *growth factor*. Selanjutnya bekuan darah secara bertahap diserap kembali dan digantikan oleh jaringan granulasi imatur (7 hari) yang menjadi matriks ekstraseluler sementara ditandai dengan munculnya pembuluh darah baru, infiltrasi sel inflamasi dan jaringan ikat imatur yang mengandung banyak fibroblas dan serat kolagen. Jaringan granulasi ini akan digantikan oleh jaringan ikat mature (14 hari) ditandai dengan reduksi infiltrat inflamasi dan peningkatan pembentukan tulang, ditandai dengan ekspresi enzim matriks remodeling (MMP 2-9), pembentukan/pematangan tulang (RUNX2, marker ALP, DMP1, PHEX, SOST) kemokin dan reseptor yang terkait penyembuhan (CCL2, CCL17, CCR2). Proses penyembuhan tulang dianggap lengkap ketika tampak tulang trabekula pada gambaran radiografi (21 hari)⁶

Tulang adalah jaringan dinamis yang secara konsisten mengalami remodeling dan regenerasi sebagai respons terhadap perubahan mekanis dan metabolisme. Sel-sel primer yang menentukan pembentukan tulang dan remodeling adalah osteoblas, osteoklas, dan osteosit. Osteoblas berasal dari mesenchymal stem cells(MSC), memainkan peran penting dalam pemeliharaan dan regenerasi massa tulang. Peran utama osteoblas adalah

untuk mensintesis dan mensekresi berbagai protein yang terlibat dalam pembentukan tulang (Protein matriks ekstraseluler, sitokin, kolagen, dan *growth factor*) dan memineralisasi matriks ekstraseluler menjadi tulang. Fungsi dan aktivitas osteoblas dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk mekanisme transkripsi dan epigenetik, interaksi sel-sel, interaksi sel-matriks, dan proses inflamasi. Sebaliknya, osteoklas berasal dari Hemopoetik Stem cell (HSCs), bertanggung jawab atas resorpsi tulang yang menyebabkan kerusakan jaringan tulang. Osteoklas ditemukan dalam jumlah kecil pada permukaan tulang, yang disebut Howship lacunae. Osteoklas menghasilkan berbagai enzim yang melarutkan matriks tulang dan kalsium tulang.^{7,8}

Saat ini, perkembangan teknologi bahan cangkok tulang semakin canggih seiring meningkatnya kebutuhan untuk augmentasi tulang alveolar. Ada 4 kategori bahan cangkok tulang yaitu autograft, allograft, alloplast dan xenograft. Autograft telah diterima luas sebagai gold standar karena memiliki sifat-sifat osteokonduktif osteoinduktif dan osteogenesis. Namun, autogenous bone graft yang diambil dari ekstra oral memiliki beberapa keterbatasan yaitu ketersediaannya terbatas dan morbiditas lokasi donor. Sedangkan Bahan graft alternatif lain seperti allograft, xenografts, dan alloplasti yang biasa digunakan di klinik, juga memiliki kekurangan masing-masing, seperti potensi penularan penyakit, memicu reaksi imun, biaya tinggi, dan kemampuan osteoinduksi yang terbatas. Teknik perbaikan tulang non invasif menggunakan bahan baru semakin diminati. Bahan tersebut harus membantu

mengurangi waktu operasi, ukuran bekas luka, rasa sakit pasca operasi, dan juga mempercepat pemulihan pasien.^{9,10}

Material pengganti tulang didefinisikan sebagai “material sintetik, anorganik atau kombinasi organik yang dapat dipakai sebagai graf untuk terapidfek pada tulang yang tidak termasuk tulang autograf dan alograf”. Material pengganti tulang yang ideal harus memiliki sifat biokompatibel dan tidak menimbulkan reaksi inflamasi, memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif, dan dapat diserap (*resorbable*). Tulang autograf, alograf, dan material penggantitulang sering juga disebut sebagai *scaffold* tempat tumbuhnya sel-sel untuk membentuk tulang baru.¹¹

Teripang emasebagai salah satu bahan *alloplast*, mempunyai kandungan bahan aktif dan sifat terapeutik yang potensial seperti triterpene glikosida, karotenoid, peptide bioaktif, asam lemak, kolagen, gelatin, kondroitin sultat, vitamin, asam amino, asam lemak esensial, asam doco sahexanoat, antiseptif alamiah, faktor pertumbuhan sel, chondroitin, glukosaminoglycan (GAGs), glukosamin, glikosida keratin, lektin, mukopolisakarida, omega 3, 6, dan kolagen 80,0%. Bahan aktif tersebut sangat potensial digunakan untuk konsumsi nutrisi atau sebagai obat. teripang juga kaya akan berbagai macam protein (86,8%) dan mineral seperti kalsium dan fosfor yang penting bagi perkembangan tulang dan gigi.¹²

Hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ (HA) yang berbentuk kristal menyerupai mineral utama pada gigi dan tulang. Lebih dari 30 tahun sudah banyak digunakan dan populer pada orthopaedi, kraniofasial dan bedah

orthognathic sebagai pengisi defek tulang, serta menghaluskan permukaan yang iregular. HA keramik dapat berasal dari bahan alam dan sintetik. HA diproduksi dalam berbagai bentuk meliputi granul dan blok berpori. HA merupakan hampir 70% mineral gigi dan tulang. Banyak peneliti telah mencoba alginat, stronsium, silikon, karbonat, dan magnesium untuk membuat HA sintetik dalam upaya memproduksi HA yang menyerupai mineral asli tulang, meningkatkan bioaktivitas dan osteokonduktif.¹¹

Kandungan kolagen di dalam protein teripang sekitar 80% dari seluruh protein yang terdapat di tubuh. 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 keras. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wahyuningtyas (2018), mengkombinasikan kolagen dari teripang emas dengan HA, menyatakan bahwa kombinasi antara kolagen dari teripang emas dan HA dapat meningkatkan osteoblas pada remodeling tulang.^{12,13}

Majdina dkk¹⁴ melakukan penelitian pada tikus diabetes mellitus yang diinduksi bakteri *P.gingivalis* untuk melihat efektivitas kombinasi terapi oksigen hiperbarik dan gel teripang emas (*Stichopus hermannii*), dan hasilnya

menunjukkan adanya peningkatan osteoblas pada kelompok uji. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Sandana dkk¹⁵, yang meneliti potensi gel *Stichopus hermani* dan *hyperbaric oxygen therapy* (HBOT) dalam mempercepat proses pergerakan gigi pada perawatan orthodonti. Kondroitin sulfat memiliki efek antiosteoklastogenik dan flavonoid yang dapat meningkatkan ekspresi OPG, meningkatkan diferensiasi osteoblas serta menurunkan ekspresi RANKL.

Kandungan asam hialuronat pada teripang memiliki efek bakteriostatik dan anti inflamasi yang memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka. Asam hialuronat juga berperan dalam osteoinduktif, dalam hal ini dapat mempercepat regenerasi tulang dengan cara kemotaksis, proliferasi, dan differensiasi sel mesenkim. Asam hialuronat bersama dengan substansi osteogenic dalam teripang dapat membentuk karakteristik yang dapat dapat meninduksi tulang. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sari dan Kurniawan¹⁶ yang meneliti terapi kombinasi teripang emas dan anadara granosa. Mereka menyatakan bahwa kombinasi HA dari anadara granosa dan asam hialuronat dari teripang efektif dalam mempercepat pembentukan tulang anyaman setelah 14 hari pasca pencabutan gigi.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat efektifitas material gel teripang emas (*Stichopus Hermanii*) kombinasi hidroksiapatit sebagai *bonegraft* terhadap jumlah osteoblas pada regenerasi jaringan periodontal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah Apakah gel teripang emas (*stichopus hermanii*) kombinasi hidroksiapatit sintesis sebagai *bonegraft* mampu meningkatkan jumlah osteoblas pada regenerasi tulang?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat efektifitas gel teripang emas (*Stichopus Hermanii*) kombinasi hidroksiapatit sintesis dalam mempercepat pembentukan tulang

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui jumlah osteoblas setelah aplikasi gel Teripang Emas yang dikombinasikan dengan HA sintetik pada regenerasi tulang (P). bonegraft BATAN sebagai kontrol positif (K+), dan Larutan Salin sebagai kontrol negatif (K-), pada regenerasi tulang setelah hari ke 14 dan 21
2. Mengetahui perbedaan jumlah osteoblast setelah aplikasi larutan salin (K-), Bonegraft BATAN (K+), dan gel Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA sintetik (P) pada regenerasi tulang, setelah hari ke 14 dan 21.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi teripang emas pada bidang periodonsia
2. Menjadi pertimbangan dalam perawatan regenerasi jaringan periodontal sebagai bahan cangkok tulang
3. Menyediakan bahan baku bonegraft dengan harga terjangkau

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Struktur Tulang

Tulang terdiri dari berbagai jenis sel dan matriks organik ekstraseluler kolagen, yang didominasi kolagen tipe I (85-95%) yang disebut osteoid yang menjadi mineral dengan deposisi kalsium hidroksiapatit. Matriks non-kolagen terdiri dari protein dan proteoglikan, yang terdapat pada tulang dan jaringan ikat keras gigi.¹⁷

Tulang disusun oleh 4 jenis sel tulang, yaitu:

A. Bone lining cell

Ketika permukaan tulang tidak dalam fase formatif atau resorptif, permukaan tulang sepenuhnya dilapisi oleh lapisan sel pipih dan memanjang disebut bone-lining cells. Fungsi bone lining cells tidak sepenuhnya dipahami, tetapi sel-sel ini terbukti mencegah interaksi langsung antara osteoklas dan matriks tulang, ketika tidak terjadi resorpsi tulang, dan juga berpartisipasi dalam diferensiasi osteoklas, menghasilkan osteoprotegerin (OPG) dan *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (RANKL).^{17,18}

B. Osteoblas

Osteoblas adalah sel mononukleat yang berasal dari sel mesenkim yang mensintesis protein matriks tulang kolagenous dan nonkolagenous. Osteoblas berfungsi mensintesis komponen organik dari matriks tulang (kolagen tipe I, proteoglikan, dan glikoprotein), mengendapkan unsur organik matriks tulang baru yang disebut osteoid. Osteoid adalah matriks tulang yang belum

terkalsifikasi, serta belum mengandung mineral namun tidak lama setelah deposisi osteoid akan segera mengalami mineralisasi dan menjadi tulang

Selain berperan dalam pembentukan tulang, osteoblas mengekspresikan kemokin, prostaglandin, dan faktor pertumbuhan (misalnya, BMPs, TGF- β , colony-stimulating factor- (CSF-) 1, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), basic fibroblast growth factor (basic FGF), dan insulin-like growth factor (IGF)). Sel-sel osteoblas memiliki pengaruh besar pada respons lingkungan terhadap osteoklas melalui lokalisasi, induksi, stimulasi, dan penghambatan resorpsi.¹⁹

C. Osteosit

Osteosit merupakan sel tulang yang sebenarnya membentuk komponen selular utama pada tulang dewasa. Osteosit ini berasal dari osteoblas. Selama pembentukan tulang, osteosit terkurung didalam matriks tulang baru dan berada didalam lacuna, tetapi aktif secara metabolik. Matinya osteosit ini akan diikuti dengan resorpsi matriks tulang. Osteosit adalah sel tulang matang yang terperangkap dalam matriks tulang dan memobilisasi kalsium dari matriks untuk dibawa dan bertukar dengan cairan tubuh sebagai respons sistemik. Osteosit juga meningkatkan jumlah AMP siklik dan bertindak sebagai transduser untuk memodulasi remodeling tulang. Sel-sel lapisan tulang mengatur komposisi ionik cairan tulang, melindungi permukaan tulang dari osteoklas, dan mengatur pembentukan tulang baru atau resorpsi.¹⁹

D. Osteoklas

Osteoklas merupakan sel multinuclear besar berdiameter 100µm dengan 10-12 nukleus yang terdapat di sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, remodeling, dan perbaikan tulang. Osteoklas berasal dari prekursor makrofag granulosit yang terdapat dalam sumsum tulang yang masuk ke dalam peredaran darah sebagai monosit. Fungsi utamanya adalah meresorpsi tulang selama *remodeling* sebagai respon terhadap pertumbuhan atau perubahan stres mekanik. Osteoklas juga berperan menjaga homeostasis kalsium darah. Osteoklas akan meresorpsi permukaan tulang membentuk penurutan yang dikenal dengan *lacuna howship*.¹⁷

II.2 Proses Remodelling Tulang

Salah satu sifat tulang yang paling unik dan penting adalah kemampuannya untuk terus mengalami remodeling bahkan setelah pertumbuhan dan modeling tulang telah selesai. Proses remodeling memungkinkan tulang merespon dan beradaptasi dengan perubahan fungsional. Setelah pencabutan gigi, tulang alveolar akan mengalami remodeling. Prosedur pencabutan yang sulit sering menyebabkan kehilangan tulang akibat trauma bedah. Proses penyembuhan soket setelah pencabutan gigi dipengaruhi oleh adanya retensi bekuan darah diikuti oleh serangkaian peristiwa yang menyebabkan perubahan tulang alveolar secara tiga dimensi. Penyembuhan normal akan menghasilkan hilangnya ketinggian tulang vertikal sekitar 1 mm dan lebar bukal-lingual sekitar 4-6 mm. 3 bulan setelah ekstraksi akan terjadi deformitas jaringan keras maupun lunak.²⁰

Tahapan remodeling tulang pada keadaan normal selalu sama, yaitu aktivasi, resorpsi tulang oleh osteoklas, fase reversal, lalu diikuti pembentukan oleh osteoblas untuk memperbaiki defek.

A. Tahap aktivasi (*activation phase*)

“Aktivasi” adalah peristiwa awal yang melibatkan prekursor osteoklas mononuklear ke permukaan tulang untuk berdiferensiasi dan menyatu menjadi osteoklas fungsional. Osteoid non-mineral yang menutupi matriks tulang mineral harus dilarutkan sebelum osteoklas dapat menempel pada matriks mineral dan memulai resorpsi. Protease osteoblas bertanggung jawab untuk melarutkan osteoid ini. Setelah ini, sel-sel osteoklas yang teraktivasi melekat pada matriks tulang dan sitoskeletonnya akan mengalami reorganisasi; daerah yang mengalami resorpsi akan terisolasi dan enzim protease dilepaskan.¹⁹

B. Tahap resorpsi (*resorption phase*)

Fase resorpsi berlangsung sekitar 8-10 hari. Pada tahap ini osteoklas akan mensekresi ion hidrogen dan enzim lisosom terutama cathepsin K dan akan mendegradasi seluruh komponen matriks tulang termasuk kolagen. Resorpsi tulang diatur oleh interaksi reseptor Activator NF-kBLigand (RANKL) dan osteoprotegerin (OPG). RANKL diproduksi oleh berbagai sel, menstimulasi reseptor RANK yang serumpun pada pre-osteoklas dan selanjutnya diferensiasinya menjadi osteoklas berinti banyak, yang akan menyerap tulang. Sebaliknya, OPG menghambat aksi RANKL dengan mengikatnya, sehingga mencegah diferensiasi osteoklas dan resorpsi tulang.²¹

Selama resorpsi tulang, osteoklas melepaskan faktor lokal yang memiliki dua efek yaitu menghambat fungsi osteoklas dan menstimulasi aktivitas osteoblas. Osteoklas akan mensekresikan protein yang nantinya akan menjadi substrat untuk perlekatan osteoblas. Resorpsi tulang mengarah pada pembuangan baik mineral dan konstituen organik dari matriks tulang oleh osteoklas yang dibantu oleh osteoblas. Tahap pertama adalah pengerahan dan penyebaran progenitor osteoklas ke tulang. Sel-sel progenitor ditarik dari jaringan hemopoietik seperti sumsum tulang dan jaringan *splenic* ke tulang melalui sirkulasi aliran darah yang nantinya berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi osteoklas. Tahap selanjutnya adalah pembuangan lapisan osteoid yang tidak termineralisasi oleh osteoblas dengan memproduksi beragam enzim proteolitik dalam matriks metalloproteinase, kolagenase dan gelatinase. Osteoklas akan membentuk lekukan atau cekungan tidak teratur yang dikenal dengan *lakuna howship*.²²

C. Tahap reversal (*reversal phase*)

Setelah sebagian besar mineral dan matriks organik dikeluarkan, masuk ke fase "pembalikan" yang berlangsung 7-14 hari, yaitu tahap transisi dari penghancuran ke perbaikan. Di sini, penggabungan resorpsi dengan formasi terjadi. Setelah menyelesaikan satu resorpsi lakuna, osteoklas dapat bergerak di sepanjang permukaan tulang dan memulai kembali resorpsi atau menjalani apoptosis.¹⁹

Sejumlah faktor pensinyalan kimia parakrin dan autokrin terlibat dalam remodeling, resorpsi, proliferasi, dan *coupling*. Faktor *coupling* dilepaskan

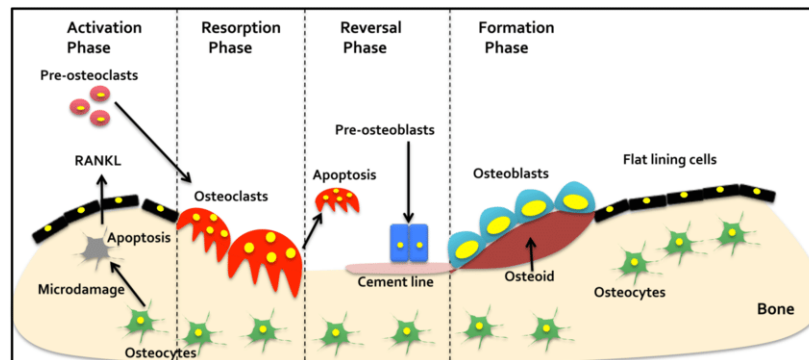
dari protein pengikatnya selama resorpsi oleh lingkungan asam yang diciptakan oleh osteoklas, dan selanjutnya menghambat resorpsi melalui umpan balik negatif, menekan pembentukan osteoklas dan menstimulasi osteoblasogenesis. Dengan demikian, dalam serangkaian peristiwa aktivasi sel autoregulasi yang dikendalikan secara lokal, fase resorptif osteoklastik sepuluh hari biasanya diikuti oleh fase perbaikan tiga bulan. Selama perbaikan, terjadi diferensiasi termasuk kemotaksis, perlekatan sel, mitosis, dan diferensiasi prekursor osteoblas yang mengarah ke deposisi tulang baru.¹⁹

D. Tahap formasi (*formation phase*)

Proses pembentukan tulang baru terjadi dalam dua tahap, dimulai dengan pengendapan osteoid. Matriks organik awal yang terdiri terutama (90%) dari kolagen tipe 1 dan berbagai komponen lainnya kemudian termineralisasi selama sekitar 20 hari. Setelah proses mineralisasi dipicu, kandungan mineral meningkat dengan cepat selama beberapa hari pertama hingga 75% dari kandungan mineral akhir, membutuhkan waktu hingga satu tahun untuk matriks untuk mencapai kandungan mineral maksimum. Konstituen utama dari fase pematangan mineral adalah hidroksiapatit.¹⁹

Protein matriks tulang nonkolagen berperan penting dalam mineralisasi matriks, adhesi seluler, dan regulasi aktivitas sel selama pembentukan dan resorpsi tulang. Osteocalcin, salah satu protein yang paling melimpah, memiliki peran vital dalam mineralisasi, dapat bertindak sebagai chemoattractant, dan mungkin penting untuk diferensiasi osteoklas. Bone sialoprotein (BSP), protein tulang yang sangat spesifik, memiliki potensi

pengikatan kalsium yang tinggi, sehingga menghambat pengendapan mineral. Selain itu juga mempromosikan adhesi osteoklas ke molekul matriks tulang melalui urutan peptida RGD (arginin-glisin- asam aspartat) dan dapat mengatur pembentukan osteoklas. Osteopontin dan osteonektin juga penting dalam aktivitas sel osteogenik.(19)



Gambar 1. Skema remodeling tulang. Dimulai dengan apoptosis osteosit dan perekrutan pre-osteoklas yang dimediasi RANKL (Fase Aktivasi), diikuti oleh osteoklastogenesis. Osteoklas menyerap tulang (Fase resorpsi) sehingga memungkinkan pelepasan faktor dalam matriks tulang, yang merekrut osteoblas di daerah yang diserap kembali (Fase Pembalikan). Setelah direkrut, osteoblas menghasilkan matriks tulang baru, dan mendorong mineralisasi (Fase Pembentukan)

(Sumber:Dole, NS. *Genetic Determinants of Skeletal Diseases: Role of microRNAs*. <https://www.researchgate.net/figure/Schematics-of-bone-remodeling-Remodeling-starts-with-osteocyte-apoptosis-and-RANKL>)

II.3 Osteoblas

Osteoblas merupakan sel kuboid yang berada sepanjang permukaan tulang, berukuran (20-30 μm) sekitar 4-6 % dari seluruh sel tulang. Osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor Mesemkimal Stem Cell (MSC) dan jaringan ikat lainnya, yang berdiferensiasi dan berkembang biak menjadi osteoblas sebelum membentuk tulang. Beberapa fungsi dari osteoblas adalah mensintesis kolagen dan non-kolagen dari matriks tulang organik, mengarahkan susunan fibril matriks

ekstraseluler, mineralisasi osteoid, karena alakali phosphate, memediasi resopsi osteoblas melalui sintesis sitokin spesifik, dan mensintesis faktor pertumbuhan. Diferensiasi sel dimediasi oleh sejumlah besar *bone morphogenic proteins* (BMPs), faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin. Osteoblas bertahan selama 1- 10 minggu.^{23,24}

Osteoblas merupakan sel berinti tunggal yang umumnya terdapat pada permukaan luar tulang maupun permukaan dalam tulang. Osteoblast selalu di jumpai berkelompok sekitar 100-400 sel sepanjang permukaan tulang (periosteum, endosteum, permukaan trabekula). Dalam keadaan aktif sel ini berbentuk kuboid sedangkan dalam keadaan tidak aktif berbentuk pipih dan sering di sebut sebagai *bone lining sel*.

Pada saat berlangsungnya pembentukan tulang ada beberapa tahap yang berada di bawah kontrol osteoblas yaitu:²⁵

1. Sintesis dan memproses kolagen tipe I di intraseluler
2. Mensekresi serabut kolagen ke ekstraseluler
3. Pembentukan mikro fibril, fibril dan akhirnya menjadi fiber dari kolagen
4. Maturasi serabut kolagen agar dapat terjadi penimbunan kristal

hidroksiapatit

Osteoblas merupakan fibroblas yang mengalami diferensiasi dan sama seperti fibroblas yang berasal dari sel mesenkim. Osteoblas berperan mensintesis kolagen untuk membentuk osteoid sebagai bahan dasar tulang. Osteoblas mensintesis dan memediasi mineralisasi osteoid dengan membentuk suatu lapisan sel di atas permukaan tulang yang berfungsi melindungi dari resorpsi tulang.¹⁴

Diferensiasi osteoblas diperoleh melalui ekspresi factor transkripsi dan pembentukan tulang oleh osteoblas dikontrol secara local dan sistemik selama pembentukan tulang dan perkembangannya. Pada orang dewasa BMP-2 berperan sebagai stimulator pembentukan tulang ektopik dan BMP-2 ini digunakan secara klinis untuk mempercepat pembentukan tulang, sebagai contoh; selama perbaikan faktor.²⁶

Osteoblas memiliki tanggung jawab dalam hal sintesa komponen matrik tulang (kolagen dan glikoprotein). Mereka terletak pada permukaan jaringan tulang, secara berdampingkan dan mirip dengan susunan sel epitel sederhana. Pada keadaan aktif mensintesa matriks, osteoblas akan berbentuk kuboid dengan suatu sitoplasma basofilik. Bila sintesa menurun, maka bentuknya akan menjadi pipih dan basofilik sitoplasmanya berkurang.

II.4 Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*)

Teripang (*sea cucumber*) atau yang dikenal dengan nama mentimun laut merupakan salah satu biota laut yang memiliki banyak manfaat. Lebih dari 1400 jenis telah diidentifikasi. Teripang termasuk dalam kelompok hewan kelas *Holothuroidea* dari bangsa *Echinodermata* yang merupakan hewan tidak bertulang belakang dan bertubuh lunak, berbentuk memanjang seperti mentimun. Dinding tubuhnya bersifat elastis, panjang dewasa untuk spesies terkecil 2,54 cm ukuran terpanjang 90 cm. Umumnya terdapat di perairan pantai dengan kedalaman sekitar 1- 40 meter. Habitat teripang adalah ekosistem terumbu karang, sehingga teripang kaya akan berbagai macam protein dan mineral seperti kalsium dan fosfor yang penting bagi perkembangan tulang dan gigi.^{27,28,12}

Teripang Emas merupakan salah satu teripang yang mudah ditemukan di Asia Tenggara, bagian barat pasifik hingga perairan Indonesia barat. Teripang Emas memiliki Kandungan protein mencapai hingga 82%, dari seluruh komponen teripang dan 80% bagian dari protein tersebut merupakan kolagen, teripang emas memiliki berbagai kandungan bermanfaat diantaranya adalah kalsium (215mg/100g), fosfor (326mg/100g), asam amino esensial (14,76%), asam amino non-esensial (3,18%), glikoprotein (3,81%), kolagen (4,06%), glikosaminoglikan (3,18%), asam hyaluronat (0,14%), kondroitin sulfat (0,65%), heparin (0,86%), heparin sulfat (1,03%), proteoglikan (2,41%), EPA-DHA (0,15%), flavonoid (0,04%), saponin (0,12%), triterpenoida (0,09%) dan *cell growth factor* (0,11%).⁽¹⁵⁾²⁷

Kandungan aktif pada teripang emas 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 prostaglandin. Kondroitin sulfat memiliki efek antiosteoklastogenik 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. Fosfor dan kalsium yang terkandung dalam teripang emas dapat meningkatkan resorpsi osteoklas. Selain itu kandungan dalam teripang yaitu ion kalsium akan digunakan sebagai bahan baku tulang di dalam osteosit dan pada

akhirnya berperan dalam pembentukan tulang baru, metabolisme kalsium inilah yang mempunyai peranan dominan dalam proses pembentukan tulang.^{15,29}

II.5 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) adalah komponen anorganik utama penyusun tulang, Adanya kesamaan struktur kimia dengan mineral jaringan tulang manusia, maka hidroksiapatit sintetik menunjukkan daya afinitasnya dengan baik yaitu dapat berikatan secara kimiawi dengan tulang dan memiliki sifat biokompabilitas yang baik. Hidroksiapatit merupakan salah satu material yang diklasifikasikan sebagai material bioaktif dan memiliki sifat osseointegrasi, osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis, ketika digunakan sebagai bone graft. Hidroksiapatit telah banyak digunakan pada reparasi tulang seperti pelapisan logamprostese untuk meningkatkan sifat biologi dan mekanik. Ada dua sumber utama serbuk HA yaitu dari material sintetik secara kimiawi dan dari sumber biologi alami seperti tulang sapi, koral, cangkang telur, gypsum alami, kalsit alami dan cangkang kepiting.^{30,31}

Hidroksiapatit bersifat osteokonduksi, yaitu mampu menginduksi dan menstimulasi sel-sel punca dan osteoblas untuk berproliferasi dan diferensiasi dalam pembentukan tulang baru atau proses regenerasi tulang. Proses osteoinduksi berfungsi untuk menstimulasi osteogenesis, artinya *bone graft* aktif menstimulasi dan menginduksi sel-sel punca dan osteoblas dari jaringan sekitar untuk berproliferasi dan diferensiasi dalam pembentukan tulang baru. Beberapa *growth factor* berperan dalam proses diferensiasi dan proliferasi osteoblas antara lain *bone morphogenic proteins (BMPs)*, *platelet derived growth factors*, *insulin like growth factors (I dan II)*, *fibroblast growth factors (acidic dan basic)*, *epidermal growth factor*, *TGF- β ($\beta 1$ dan $\beta 2$)* dan *retinoic acid*.³⁰