

**EVALUASI EKSTRAK FUCOIDAN ALGA COKELAT (*Phaeophyta*) DAN
ALOE VERA 50 % TERHADAP PEMBENTUKAN OSTEOBLAS PADA
DEFEK FEMUR TIKUS WISTAR (*Rattus Novergicus*)**

TESIS



OLEH:

Hardianti Maulidita Haryo

J035181005

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI PERIODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2020

**EVALUASI EKSTRAK FUCOIDAN ALGA COKELAT (*Phaeophyta*) DAN
ALOE VERA 50 % TERHADAP PEMBENTUKAN OSTEOBLAS PADA DEFEK
FEMUR TIKUS WISTAR (*Rattus Novergicus*)**

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

UNIVERSITAS HASANUDDIN

OLEH

HARDIANTI MAULIDITA HARYO

J035181005

Pembimbing :

- 1. Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K)**
- 2. Prof. Dr. drg. Irene E. Rieuwpassa, M.Si**

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI PERIODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2020

**EVALUASI EKSTRAK FUCOIDAN ALGA COKELAT (*Phaeophyta*) DAN
ALOE VERA 50 % TERHADAP PEMBENTUKAN OSTEOBLAS PADA DEFEK
FEMUR TIKUS WISTAR (*Rattus Novergicus*)**

oleh

HARDIANTI MAULIDITA HARYO

J035181005

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

Makassar, Desember 2020

Pembimbing I,


Pembimbing II,


Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K)
Nip. 19581110 198609 1 002


Prof. Dr. drg. Irene E. Rieuwpassa, M.Si
Nip. 19711012 1999903 2 001



Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS


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

PENGESAHAN UJIAN TESIS

**EVALUASI EKSTRAK FUCOIDAN ALGA COKELAT (*Phaeophyta*) DAN
ALOE VERA 50 % TERHADAP PEMBENTUKAN OSTEOLAS PADA
DEFEK FEMUR TIKUS WISTAR (*Rattus Noverglcus*)**

Diajukan oleh

HARDIANTI MAULIDITA HARYO

J035181005

Telah disetujui :

Makassar, Desember 2020

Pembimbing I,



Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio(K)
Nip. 19581110 198609 1 002

Pembimbing II,



Prof. Dr. drg. Irene E. Rieuwpassa, M.Si
Nip. 19711012 1999903 2 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS



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



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

TESIS

**EVALUASI EKSTRAK FUCOIDAN ALGA COKELAT (*Phaeophyta*) DAN
ALOE VERA 50 % TERHADAP PEMBENTUKAN OSTEOLAS PADA DEFEK
FEMUR TIKUS WISTAR (*Rattus Noverglcus*)**

Oleh :

HARDIANTI MAULIDITA HARYO

J035181005

Telah Disetujui
Makassar, Desember 2020

1. Penguji I : Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp. Perio (K) :
2. Penguji II : Prof. Dr. drg. Irene E. Rieuwpassa, M.Si :
3. Penguji III : Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio (K) :
4. Penguji IV : Dr. drg. Nurlindah Hamrun, M. Kes :
5. Penguji V : Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp. Perio (K) :

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDS Periodonsia FKG-UNHAS
PROGRAM PENDIDIKAN
DOKTER GIGI SPESIALIS
Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hardianti Maulidita Haryo

No. Pokok : J035181005

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia Fakultas
Kedokteran Gigi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sayasendiri, bukan merupakan pengambilan alih tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian 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, Desember 2020

Yang Menyatakan,



Hardianti Maulidita Haryo

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim, dengan memanjatkan puji & syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala berkah & karunia-Nya 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. drg. Dwia Ariestina Pulubuhu, MA selaku Rektorat Universitas Hasanuddin.
2. Dr. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes, Ph.D,Sp. BM(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang telah membantu jalannya proses penelitian ini.
3. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati Sp.Perio (K) selaku Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia yang selama ini telah banyak membantu dan meluangkan waktu untuk membimbing serta mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini.
4. Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, MS, Sp.Perio (K) sebagai pembimbing utama pertama tesis yang selama ini sudah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini.

5. Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa, M.Si sebagai pembimbing utama yang senantiasa meluangkan waktunya dalam membimbing, mengarahkan, dan memberi semangat penulis dalam menyelesaikan tesis ini.
6. Dr. drg. Nurlindah Hamrun selaku WD2 juga dosen staf Oral Biologi yang telah banyak membimbing, menuntun serta memberikan arahan, dan telah banyak membantu dalam proses penelian ini.
7. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati Sp.Perio (K), Dr. drg. Nurlindah Hamrus, M.Kes, serta Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K) selaku tim penguji yang sangat banyak memberikan masukan dan koreksi pada penulis dalam melengkapi dan memperbaiki tesis ini.
8. Kepada segenap staf & tim Laboratorium Biofarmaka Farmasi Universitas Hasanuddin yang memberikan kemudahan saat berproses menyelesaikan penelitian ini.
9. Kepada segenap staf & tim Laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi yang memberikan fasilitas dan kemudahan saat berproses menyelesaikan penelitian ini.
10. Kepada segenap staf & tim Laboratorium Histologi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin yang telah membantu menyelesaikan sampel penelitian kami.
11. Kepada warga desa puntondo, Kabupaten Takalar yang telah memfasilitasi kami memperoleh alga coklat sebagai bahan utama penelitian kami.
12. Kepada kakak sepupunya yuyun yang telah memberikan aloe vera 2 pot berusia 2-3 tahun dari tanaman pekarangan Kecamatan Biringkanya, Kelurahan Sudiang, Makassar.

13. Angkatan senior hingga junior (**Avenger-Octopus-Titu-Sigma-Soju**) yang telah menemani dan telah banyak membantu dan *mensupport* kami X-warrior selama aktif menjadi residen PPDGS Periodonsia di RSGM Kandeana.
14. Seluruh staf pengajar pada program pendidikan dokter gigi spesialis yang telah memberikan ilmunya.
15. Orang tuaku tercinta, ayahanda H. Haryo Suprawito dan Ibunda drg. Maulidina Saiman, M.Kes terimakasih banyak, yang dengan segenap doa dan perjuangannya telah banyak berkorban hingga terselesaikan pendidikan ini. Serta mama dan papa mertua di Palu terimakasih selalu mendukung dan mengirimkan doanya agar dimudahkan dalam penyelesaian pendidikan ini.
16. Kepada suamiku tercinta dr. Mohammad Julrisam Gomo terimakasih banyak atas doanya, pengorbanannya, kesabarannya, memotivasi, memberi kekuatan, selalu mendukung serta mendorong peneliti dalam menyelesaikan pendidikan ini.
17. Kepada teman-teman seperjuangan **X-WARRIOR 2018** tante laniii (drg. Waode Anastasya Muliani), kak sari (drg. Nuraini Puspita Sari), tris (drg. Trisantoso Rezdy Asalui), kak sigit (drg. Sri Pamungkas Sigit Nardiatmo), kak ira (drg. Ira Farwiany Syafar), kak kifa (drg. Fathhiyah Wahab), kak imaa (drg. Patimah), kak aniiii (drg. Andriani Rukmana) terimakasih atas semuanya selama 2 setengah tahun ini, sedih senang sama-sama, hingga marah-marahan sudah hal biasa, karena kita semua kuat dan saling menguatkan sampai titik terakhir. Untuk kak uni (drg. Wahyuni Wahab), semangat dan jangan putus asa.

18. Seluruh staf dan karyawan bagian periodonsia dan RSGM Halimah dg.Sikati yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama menjalani pendidikan.

Semoga penelitinaa ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan terkhusus pada bagian periodontology.

Makassar, Desember 2020

Hardianti Maulidita Haryo

ABSTRAK

Pendahuluan: Periodontitis adalah infeksi kronis yang berkembang secara progresif dan manifestasinya pada jaringan lunak maupun jaringan keras periodontal termasuk ligamentum periodontal, tulang alveolar, dan sementum akar. Beberapa terapi pengobatan yang telah banyak dilirik dan dimanfaatkan dengan menggunakan cangkok tulang berbahan dasar herbal yang secara struktural mirip tulang dan lebih mudah di dapatkan, ekonomis, serta memiliki nilai biokompatibel, biodegradabel, osteokonduktif, osteoinduktif, dan meminimalkan morbiditas. Ekstrak fucoidan ditemukan terbukti menekan proses osteoklas pada tulang, dan terpenting dapat merangsang *alkalin phosphatase* dan *bone morphogenetic protein 2* (BMP2) yang berperan penting dalam proses mineralisasi sel osteoblas terhadap tulang. *Aloe vera* adalah tanaman mirip kaktus yang dapat meningkatkan dan merangsang pertumbuhan proliferasi sel-sel jaringan, menstimulasi tulang alveolar serta mempercepat pertumbuhan tulang. Kombinasi kedua bahan yang bersumber dari alam ini yaitu ekstrak dari *phaeophyta* fucoidan dengan *aloe vera* 50% diharapkan memiliki kemampuan dalam pembentukan osteoblast serta memberikan manfaat jangka panjang *post* bedah periodontal.

Tujuan: Untuk mengevaluasi pengaruh dari kombinasi herbal ekstrak gel fucoidan dengan *aloe vera* 50% terhadap peningkatan osteoblas femur tikus wistar.

Metode: Kelompok *pre-test* kami sediakan sebanyak 7 ekor tikus wistar. Untuk kelompok *post-test* terdapat 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok control (-) menggunakan larutan salin dan kelompok uji (ekstrak gel fucoidan dan kombinasi ekstrak gel fucoidan & ekstrak *aloe vera* 50%). Masing-masing kelompok yang telah diaplikasikan bahan penelitian akan diamati sebanyak dua kali, yaitu pada hari ke 14 dan hari ke 21. Untuk jumlah dan data yang valid sampel yang dibutuhkan sebanyak 8 ekor per kelompok perlakuan. Masing-masing 4 ekor

untuk perlakuan di hari ke-14 dan 4 ekor untuk perlakuan di hari ke-21. Kemudian, dilanjutkan dengan pemeriksaan histopatologi.

Kesimpulan: Terdapat pengaruh yang bermakna pada aplikasi ekstrak fucoidan + *aloe vera* 50% antara hari ke-14 dan hari ke-21. Aplikasi ekstrak fucoidan + ekstrak *aloe vera* 50% mampu menstimulus peningkatan jumlah sel osteoblast pada hari ke-14, namun seiring berjalannya waktu pada hari ke-21 terjadi penurunan jumlah sel osteoblast.

Kata Kunci: osteoblast, fucoidan, *aloe vera*, periodontitis, femur, wistar.

ABSTRACT

Introduction: Periodontitis is a chronic infection that develops progressively and manifests in both soft and hard periodontal tissues including the periodontal ligament, alveolar bone and root cementum. Several medical therapies that have been widely sought and utilized are using bone grafts made from herbs that are structurally similar to bone and they are easier to obtain, economical, and have biocompatible, biodegradable, osteoconductive, osteoinductive, and minimize morbidity. Fucoidan extract was found to be proven to suppress osteoclast processes in bone, and most importantly to stimulate alkaline phosphatase and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) which play an important role in the mineralization of osteoblast cells against bone. Aloe vera is a cactus-like plant that can increase and stimulate the proliferation of tissue cells, stimulate alveolar bone and accelerate bone growth. The combination of these two natural ingredients, namely extracts from phaeophyta fucoidan with aloe vera 50%, is expected to have the ability to form osteoblasts and provide long-term benefits after periodontal surgery.

Objective: To evaluate the effect of a combination of herbal extracts from fucoidan gel and aloe vera 50% on the increase in osteoblasts of the femur of wistar.

Methods: We provided a pre-test group of 7 wistar rats. For the post-test group there were 3 treatment groups, namely the control group (-) using saline solution and the test group (fucoidan gel extract and combination of fucoidan gel extract & aloe vera extract 50%). Each group that has been applied the research material will be observed twice, namely on the 14th day and 21st day. For the number and valid data samples needed as many as 8 wistars per treatment group. Each of 4 wistars for treatment on day 14 and 4 wistars for treatment on day 21. Then, followed by a histopathological examination.

Conclusion: There was a significant effect on the application of fucoidan extract + aloe vera 50% between day 14 and day 21. The application of fucoidan extract + aloe vera extract 50% was able to stimulate an increase in the number of osteoblast cells on day 14, but over time on day 21 there was a decrease in the number of osteoblast cells.

Keywords: osteoblast, fucoidan, *aloe vera*, periodontitis, femur, wistar.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	0
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS.....	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	x
ABSTRACK.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR TABEL.....	xxii
DAFTAR GRAFIK	xxiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Khusus.....	5
1.3.2 Tujuan Umum.....	5
1.3.3 Tujuan Jangka Panjang.....	5

1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1. Manfaat Pengembangan Ilmu Pengetahuan.....	6
1.5 Keterbatasan Penelitian.....	7

BAB II LANDASAN TEORI

2.1 PENYAKIT PERIODONTAL.....	8
2.1.1 Periodontitis.....	8
2.1.2 Pilihan Perawatan Periodontitis.....	9
2.1.2.1 Perawatan Regeneratif.....	9
2.1.2.2 Perawatan Herbal.....	11
2.2 HISTOLOGI TULANG.....	11
2.2.1 Matriks Tulang.....	12
2.2.2 Struktur Tulang.....	12
2.2.3 Sel-Sel Tulang.....	14
2.3 KERUSAKAN TULANG.....	16
2.4 <i>REMODELING</i> TULANG.....	16
2.4.1 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Remodeling Tulang.....	18
2.4.2 Gangguan Lain Dalam Remodeling Tulang.....	18
2.5 <i>MARINE ALGAE</i>	19
2.5.1 Komposisi.....	20

2.6.2	Klasifikasi Algae.....	20
2.6	FUCOIDAN.....	21
2.6.1	Ekstrak Fucoidan.....	23
2.7	ALOE VERA.....	25
2.7.1	Sejarah <i>Aloe vera</i>	25
2.7.2	Komposisi <i>Aloe vera</i>	25
2.7.3	Kegunaan <i>Aloe vera</i> di bidang Periodontologi.....	27
2.7.4	Sediaan <i>Aloe vera</i> Gel.....	27
2.8	TIKUS WISTAR.....	29
2.8.1	Anatomi Tikus.....	29
2.8.2	Pendekatan 3R.....	32
2.8.3	Pemeliharaan & Manajemen Hewan.....	33
2.8.4	Penerimaan Hewan Baru.....	33
2.9	PEMERIKSAAN METODE FTIR.....	34
2.10	PEMERIKSAAN HISTOLOGI.....	37
 BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS		
3.1	KERANGKA TEORI.....	38
3.2	KERANGKA KONSEP.....	39
3.3	HIPOTESIS.....	40

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 RANCANGAN PENELITIAN.....	41
4.2 WAKTU DAN LOKASI PENELITIAN.....	41
4.2.1 Waktu Penelitian.....	41
4.2.2 Lokasi Penelitian.....	42
4.3 VARIABEL PENELITIAN.....	42
4.4 DEFINISI OPERASIONAL.....	43
4.5 METODE SAMPLING.....	43
4.6 POPULASI DAN TEKNIK SAMPEL.....	43
4.7 BESAR SAMPEL PENELITIAN.....	44
4.8 ALAT DAN BAHAN.....	45
4.9 PERSIAPAN DAN TAHAPAN PENELITIAN.....	49
4.9.1 Persiapan Hewan Penelitian.....	49
4.9.1.1 Pemeliharaan Hewan Coba.....	49
4.9.1.2 Persiapan Bahan Penelitian.....	49
4.10 TAHAPAN PENELITIAN.....	54
4.10.1 Implantasi	54
4.10.2 Perawatan Hewan <i>Post</i> -Bedah.....	55
4.10.3 Pengambilan Jaringan Tulang.....	55
4.10.4 Pemeriksaan Histologi.....	56

4.10.4.1 Teknik Fiksasi.....	56
4.10.4.2 Pemotongan Spesimen.....	56
4.10.4.3 <i>Prossesing dan</i> Embedding.....	56
4.10.4.4 Pembuatan Slide Histologi.....	57
4.10.4.5 Pewarnaan Slide Histologi.....	58
4.10.4.6 Pengamatan Slide Histologi.....	59
4.11 ANALISIS DATA.....	59
4.12 ETIKA PENELITIAN.....	60
4.13 ALUR PENELITIAN.....	61
 BAB V HASIL & PEMBAHASAN	
5.1 Hasil Penelitian.....	62
5.2 Uji Statistik.....	66
5.3 Pembahasan.....	72
 DAFTAR PUSTAKA.....	 81
 LAMPIRAN.....	 93

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Periodonsium Yang Sehat dan Mengalami Periodontitis.....	9
Gambar 2. Skema diagram yang menunjukkan struktur tulang alveolar.....	13
Gambar 3. Proses <i>remodeling</i> tulang.....	18
Gambar 4. <i>Rhodophyta</i> (alga merah), <i>Phaeophyta</i> (alga coklat) dan <i>Chlorophyta</i> (alga hijau).....	19
Gambar 5. Golongan <i>Phaeophyta</i> (kiri) dan salah satu spesies yang juga digunakan didalam penelitian adalah <i>Sargassum sp.</i> (kanan).....	21
Gambar 6. Struktur <i>simple</i> dari fucoidan.....	22
Gambar 7. Ilustrai 3 lapis <i>Aloe vera</i>	27
Gambar 8. Rangka skeleton dari <i>rat</i>	30
Gambar 9. Sisi lateral tikus jantan	31
Gambar 10. Gambaran ventral dari kepala tikus.....	32
Gambar 11. Alat Perkin Elmer FTIR.....	37
Gambar 12. Serbuk fucoidan (<i>freeze dried</i>).....	63
Gambar 13. Kurva FTIR hasil Ekstrak Fucoidan Alga Cokelat	63
Gambar 14. Kurva FTIR Ekstrak <i>Aloe vera</i>	64
Gambar 15. Tampak hasil pewarnaan slide jaringan kelompok <i>pre-test</i> yang dipilih secara acak	65

Gambar 16. Tampakkan hasil pewarnaan slide jaringan kelompok salin yang dipilih secara acak pada pengamatan hari ke-14 dan hari ke-21.	65
Gambar 17. Tampakkan hasil pewarnaan slide jaringan kelompok ekstrak gel fucoidan yang dipilih secara acak pada pengamatan hari ke-14 dan hari ke-21...	66
Gambar 18. Tampakkan hasil pewarnaan slide jaringan kelompok ekstrak gel fucoidan + ekstrak <i>aloe vera</i> 50% yang dipilih secara acak pada pengamatan hari ke-14 dan hari ke-21.....	66
Gambar 19. Pengambilan alga cokelat.,.....	93
Gambar 20. Proses pencucian & pemotongan alga cokelat.....	93
Gambar 21. Proses penjemuran hari ke 1 hingga hari ke 3.....	94
Gambar 22. Penimbangan & proses blender alga kering.....	94
Gambar 23. Ditambah larutan etanol & diuapkan menghasilkan endapan.....	94
Gambar 24. Pencampuran dengan larutan methanol selama 3 jam, lalu di stir (aduk) selama 6 jam.....	95
Gambar 25. Penyaringan filtrate dilanjutkan dengan teknik sentrifugasi.....	95
Gambar 26. Filtrat setelah di sentrifugasi & di simpan di dalam freezer untuk dimasukkan di mesin <i>freeze dried</i>	95
Gambar 27. Mesin <i>freeze dried</i>	96
Gambar 28. Hasil <i>freeze dried</i> ditambahkan dengan PGE menghasilkan gel fucoidan.....	96
Gambar 29. Hasil ekstrak gel fucoidan.....	96

Gambar 30. Penimbangan & proses blender <i>aloe vera</i>	97
Gambar 31. Penyaringan menggunakan vacuum.	97
Gambar 32. Ekstrak <i>aloe vera</i> disentrifugasi	97
Gambar 33. Hasil sentrifugasi dimasukkan ke mesin <i>freeze dried</i>	98
Gambar 34. <i>Aloe vera freeze dried</i>	98
Gambar 35. Proses pembiusan menggunakan anestetikum ketamine 100 HCL... ..	98
Gambar 36. Proses Pengeburan tulang femur.....	99
Gambar 37. Ekstrak <i>aloe vera</i> yang telah dimasukkan ke dalam mesin <i>freeze dried</i>	99
Gambar 38. Proses aplikasi ekstrak <i>aloe vera</i> + ekstrak gel fucoidan.	99
Gambar 39. Suturing dan perban luka.....	100
Gambar 40. Dimasukkan ke dalam eter hingga pingsan lalu di dislokasi.	100
Gambar. 41. Pemotongan paha atas kanan; pembersihan daging & otot pada femur tikus wistar.	101
Gambar 42. Perendaman di dalam larutan formalin 10%.....	101
Gambar 43. Slide histo hasil pewarnaan sampel.....	102

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbedaan rerata <i>osteoblast</i> setelah penambahan ekstrak fucoïdan alga cokelat (<i>phaeophyta</i>) berdasarkan waktu pengamatan.....	67
Tabel 2. Perbedaan rerata jumlah sel osteoblast antara kelompok uji salin, fucoïdan dan fucoïdan + <i>aloe vera</i> 50%.....	69
Tabel 3. Rerata jumlah sel osteoblast pada kelompok ekstrak gel fucoïdan dan Fucoïdan + <i>aloe vera</i> 50% berdasarkan pengamatan hari ke 14 dan hari ke 21.....	70
Tabel 4. Perbandingan rerata jumlah sel osteoblast berdasarkan hari ke 14 dan hari ke 21 pada kelompok uji.....	70

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Rerata Sel Osteoblast Wistar Pada Kelompok Perlakuan Berdasarkan Waktu Pengamatan.	68
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

1. Foto Penelitian : Persiapan & proses pembuatan fucoidan.
2. Proses Pembuatan Ekstrak *Aloe vera*
3. Proses Implantasi Bahan Pada Tikus Wistar
4. Proses Sacrificed & Pengambilan Preparat Tulang
5. Pemeriksaan Histopatologi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Periodontitis adalah infeksi yang terjadi di sekitar jaringan lunak maupun jaringan keras periodontal termasuk ligamentum periodontal, tulang alveolar, dan sementum akar.¹ Data terbaru dari RISKESDAS Tahun 2018 menunjukkan prevalensi periodontitis sebagai penyakit infeksi rongga mulut dengan urutan tertinggi kedua setelah karies dan terjadi pada rentang usia 45-54 tahun dengan prevalensi sebesar 76,5– 9,1%.² Kerusakan jaringan periodontal disebabkan oleh *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Aggregibacter actinomycetemcomitans* (Aa), dan *Tannerella forsythia* yang merupakan kelompok mikroorganisme spesifik serta berperan sangat dominan terhadap terjadinya kelainan patologi jaringan periodontal. Infeksi yang berlangsung kronis dapat menyebabkan kerusakan tulang secara progresif. Temuan klinisnya dapat disertai dengan pembentukan poket, resesi, serta resorpsi tulang alveolar. Dalam keadaan seperti ini dibutuhkan tindakan lebih lanjut dengan penanganan dan perawatan yang tepat dan adekuat.^{1,3,4}

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi telah menawarkan adanya penanganan dan perawatan periodontitis dengan berbagai teknik, khususnya dalam hal rekonstruksi tulang.⁵ Beberapa terapi pengobatan dapat melalui teknik non bedah sebagai pencegahan atau dilanjutkan dengan pendekatan bedah dengan atau tanpa penambahan cangkok tulang.^{1,6,7,8} Baru-baru ini telah banyak dilirik dan dimanfaatkan cangkok tulang berbahan dasar herbal yang

secara struktural mirip tulang dan lebih mudah di dapatkan, ekonomis, serta memiliki nilai biokompatibel, biodegradabel, osteokonduktif, osteoinduktif, dan meminimalkan morbiditas.^{6,7,8,9} Berbeda dengan sediaan cangkok tulang sintetis lainnya seperti penggunaan *allograft (xenograft)* dan beberapa terapi menggunakan bahan yang telah ada seperti *autograft* yang ternyata dapat menimbulkan beberapa masalah seperti ketersediaan daerah donor yang minimal serta terjadinya risiko penyakit menular.^{10,11,12}

Fucoidan adalah turunan polisakarida sulfat kompleks seperti galaktosa, xilosa, manosa, dan asam uronat yang banyak terdapat di dinding-dinding sel alga cokelat (*phaeophyta*). Polisakarida sulfat merupakan salah satu komponen aktif yang dapat membantu proses penyembuhan dan mempunyai manfaat dalam terapi regeneratif serta dapat memodulasi proliferasi dan diferensiasi sel-sel jaringan. Selain itu, fucoidan sangat kaya dengan kandungan vitamin, protein, antioksidan serta mineral. Kandungan mineral yang tinggi berperan penting dalam proses pembentukan tulang.^{11,12,13,14,15,16,17}

Sistem kerja fucoidan yaitu bersama-sama reseptor activator untuk RANK dalam menghambat osteoklastogenesis, sehingga menekan laju diferensiasi osteoklas. Ini penting dalam peningkatan diferensiasi osteoblast dalam merangsang pertumbuhan tulang.¹⁸ Pada suatu penelitian yang dilakukan oleh Jayachandran Venkatesan dkk. memaparkan bahwa ekstrak fucoidan ditemukan terbukti menekan proses osteoklas pada tulang, dalam hal ini bisa dilihat dari hasil penelitiannya yang mengkombinasikan antara ekstrak *chitosan* dengan fucoidan yang dapat meningkatkan sel-sel osteoblas, dan

terpenting dapat merangsang *alkalin phosphatase* dan *bone morphogenetic protein 2* (BMP2) yang berperan penting dalam proses mineralisasi sel osteoblas terhadap tulang.^{10,13,18}

Aloe vera adalah tanaman mirip kaktus yang termasuk dalam *family lily (liliaceae)* yang berasal dari Semenanjung Arab dan telah ditanam di seluruh dunia. Eksistensi tanaman *aloe vera* telah ada sejak beribu tahun silam karena mudah tumbuh, perawatannya tidak rumit, serta mudah didapatkan di alam sehingga sampai sekarang telah banyak digunakan dibidang kosmetik, bahan baku makanan/minuman, pertanian serta di bidang kesehatan sebagai pengobatan medis tradisional. Komponen mineral yang terkandung didalam *aloe vera* dapat meningkatkan dan merangsang pertumbuhan proliferasi sel-sel jaringan, menstimulasi tulang alveolar serta mempercepat pertumbuhan tulang.^{5,19,20,21,22} Accemanan sebagai zat utama yang terkandung didalam *aloe vera* terbukti mampu menstimulus sel-sel makrofag, juga membantu penyembuhan jaringan periodontal.^{23,24,25} Kavita Chandrasekaran dkk. memaparkan dalam artikelnya bahwa gel *aloe vera* dapat menurunkan kedalaman poket serta mengembalikan level normal *attachment* gingiva pada kasus periodontitis.⁵

Sularsih, Soetjipto, dan Retno Pudji Rahayu telah melakukan penelitian mengenai kombinasi ekstrak etanol aloe vera 50% yang dicampurkan dengan 1% chitosan gel menghasilkan *scaffold* yang terbentuk berpotensi sebagai bahan tambahan dalam regenerasi tulang alveolar.²⁶ Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Utari dan Retno menyimpulkan bahwa penggunaan gel *aloe*

vera 0,5 gram (*freeze dried*) yang dikombinasikan dengan *xenograft concelous bovine* (XCB) dapat menyebabkan penurunan jumlah osteoklas dan terjadi peningkatan osteoblas sebagai tanda adanya pembentukan tulang yang baru. Selain itu, mereka mengatakan bahwa terdapat dosis aman ekstrak gel *aloe vera* berkisar pada 70%, 85% dan 100% yang dapat memberikan efek peningkatan osteoblast pada soket alveolar post ekstraksi.²⁷ Sistem kerja *aloe vera* yaitu meningkatkan infiltrasi serta proliferasi sel mesenkin, dan sel osteoprogenitor mengekspresikan protein morfogenik tulang, yakni BMP7.²⁸

Sangat menarik untuk dapat memadupadankan tanaman herbal ekstrak dari *phaeophyta* yaitu fucoidan dengan *aloe vera* yang akan kami teliti karena dari hasil beberapa penelitian memaparkan bahwa kedua bahan ini ternyata memiliki kandungan yang sama-sama berperan dalam pembentukan osteoblas, memberikan manfaat jangka panjang *post* bedah periodontal serta meminimalkan efek morbiditas. Dengan demikian, penggunaan bahan herbal ini diharapkan dapat menjawab tanda tanya dalam benak peneliti yang ingin mengevaluasi pengaruh ekstrak gel fucoidan kombinasi dengan *aloe vera* 50% terhadap peningkatan osteoblas tulang.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah kombinasi ekstrak gel fucoidan dengan *aloe vera* 50% dapat mempengaruhi peningkatan osteoblas pada femur tikus wistar?

2. Apakah dosis yang telah ditentukan untuk implantasi ekstrak gel fucoidan dan *aloe vera* 50% dapat mempengaruhi peningkatan osteoblas pada hari ke-14 dan hari ke-21?
3. Bagaimana pengaruh pembentukan osteoblas dari ekstrak gel fucoidan saja bila dibandingkan dengan kombinasi ekstrak gel fucoidan dengan *aloe vera* 50% pada femur tikus wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Khusus

Untuk mengevaluasi pengaruh dari kombinasi herbal ekstrak gel fucoidan dengan *aloe vera* 50% terhadap peningkatan osteoblas femur tikus wistar.

1.3.2 Tujuan Umum

1. Untuk melihat peningkatan osteoblas dari aplikasi ekstrak gel fucoidan saja pada defek femur tikus wistar di hari ke 14, dan 21.
2. Untuk melihat peningkatan osteoblas dari kombinasi herbal ekstrak gel fucoidan dengan *aloe vera* 50% pada femur tikus wistar di hari ke 14, dan 21.

1.3.3 Tujuan Jangka Panjang

Untuk mengetahui efektivitas kombinasi herbal ekstrak gel fucoidan dengan *aloe vera* 50% sehingga ke depannya dapat digunakan sebagai

alternatif kombinasi cangkok tulang dari bahan herbal yang ideal dan bersifat ekonomis.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk memudahkan klinisi mendapatkan terapi kombinasi herbal yang baru dan tepat untuk mengatasi defek periodontal.
2. Untuk memberikan pengetahuan dan informasi terkait kelebihan dan potensi bahan-bahan herbal yang mudah didapatkan berdasarkan pengaruh yang dihasilkan dalam pembentukan osteoblas tulang alveolar.

1.4.1. Manfaat Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi kombinasi herbal antar *phaeophyta* (fucoidan) dengan *aloe vera* terhadap pembentukan osteoblas.
2. Memberikan informasi terhadap penggunaan tumbuhan laut dan tanaman yang tersebar banyak di Indonesia sebagai bahan pengganti *bone graft* yang mudah didapatkan di alam, bernilai ekonomis, dan memiliki kemampuan dalam pembentukan osteoblas.

3. Hasil penelitian mengenai pemanfaatan tumbuhan herbal ini diharapkan dapat memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya, khususnya di bidang kedokteran gigi.
4. Penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan ilmu pengetahuan dan penelitian lebih lanjut.
5. Menjadi pertimbangan dalam perawatan penyakit periodontal.

1.5 Keterbatasan Penelitian

Ruang lingkup atau keterbatasan dari penelitian ini adalah:

1. Pada penelitian ini tidak membandingkan potensi antibakteri dari kedua bahan herbal yakni antara *phaeophyta* (fucoidan) dengan gel *aloe vera* terhadap jaringan periodontal tikus wistar.
2. Pada penelitian hanya melakukan pemeriksaan histologi pada hari ke 14 dan 21.
3. Pada penelitian ini hanya melihat pembentukan tulang, tidak berlanjut pada evaluasi kadar mineral di dalam ekstrak fucoidan dan ekstrak *aloe vera*, dan tidak melihat evaluasi fibroblas terhadap penyembuhan jaringan.

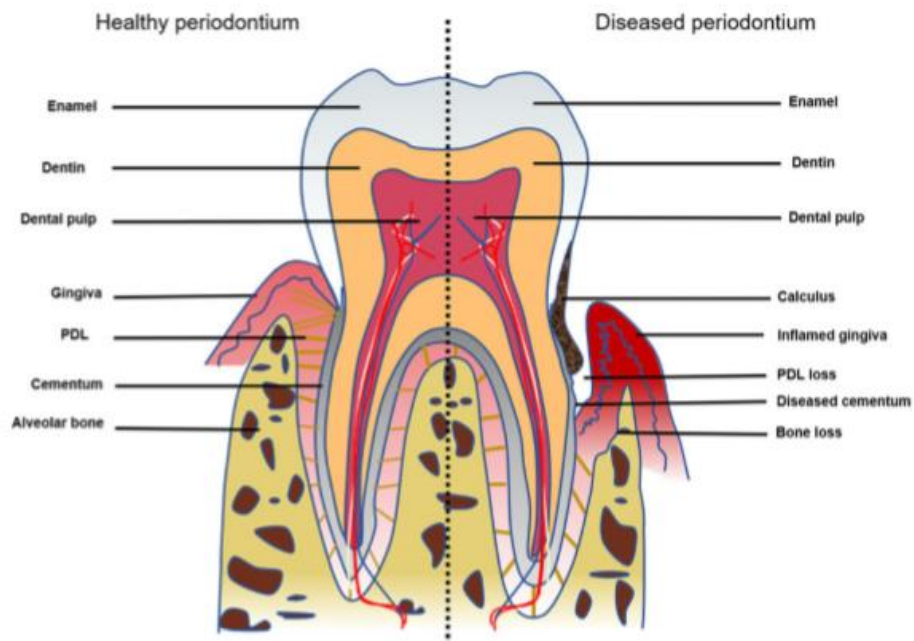
BAB II

LANDASAN TEORI

2.1 PENYAKIT PERIODONTAL

2.1.1 Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit infeksi rongga mulut yang disebabkan oleh bakteri spesifik dan ditandai dengan kerusakan jaringan secara progresif. Etiologi lainnya dapat dikaitkan dengan adanya penyakit sistemik yang mempengaruhi jaringan periodontal seperti kardiovaskular, kanker, obesitas, serta diabetes. Dari survei epidemiologis yang diamati dari tahun 2005-2015 periodontitis dalam berbagai tingkat keparahan telah menyerang lebih dari setengah orang dewasa diseluruh dunia. Apabila dibiarkan saja tanpa kesadaran dan pemahaman yang lebih jauh maka akan berdampak dengan adanya kegoyangan gigi, bahkan kehilangan gigi geligi. Untuk itu perawatan kasus periodontitis bertujuan untuk mengembalikan keseimbangan tulang dan dapat meregenerasi jaringan periodontal. Regenerasi jaringan periodontal adalah kaskade interaksi yang terkordinasi pada sel-sel induk, biomaterial dan sistem imun host.²⁹



Gambar 1. Skema periodonsium yang sehat dan mengalami periodontitis.²⁹

2.1.2 Pilihan Perawatan Periodontitis

2.1.2.1 Perawatan Regeneratif

Kunci utama dalam perawatan regeneratif periodontal adalah terbentuknya jaringan pendukung yang telah hilang akibat cedera atau inflamasi periodontal. Karakteristik terjadinya regeneratif jaringan yaitu terbentuknya sementum baru dengan jaringan-jaringan kolagen, ligamentum periodontal yang baru, dan tulang alveolar yang baru. Terapi untuk periodontitis terbagi atas dua yaitu terapi non bedah (konvensional) maupun bedah. Terapi non bedah biasanya diindikasikan untuk periodontitis ringan hingga sedang, seperti skeling dapat dilakukan untuk menghilangkan jaringan nekrotik dan sebagai tahap pencegahan berkembangnya bakteri patogen. Terapi bedah dibutuhkan untuk kasus yang berkembang secara progresif. Terapi terbagi menjadi beberapa jenis

dengan teknik yang berbeda-beda. Terapi-terapi ini selalu menunjukkan adanya pengurangan kedalaman poket dan terbentuknya perlekatan baru.⁹ Namun, penyembuhan tidak selalu dapat diprediksi karena sangat dipengaruhi dengan pembentukan epitelium *junctional* dan ada atau tidak adanya regenerasi jaringan periodontal. Biomaterial yang disandingkan dengan terapi bedah sebagai teknologi perawatan di dunia kedokteran gigi modern bertujuan untuk membantu penyembuhan, mengembalikan struktur jaringan periodontal, dan berperan dalam immunomodulasi yang penting dalam proses regenerasi. Penggunaan faktor pertumbuhan efektif untuk meregenerasi jaringan periodontal yang terinfeksi karena periodontitis membutuhkan perbaikan yang terjadi secara terus menerus. Biomaterial dapat terdiri dari bahan cangkok tulang seperti *autograft*, *allograft*, dan *graft* sintesis lainnya; GTR (*Guided tissue regeneration*); EMP (*Enamel Matrix Protein*); *stem cell*, dsb. Penggunaan cangkok tulang bertujuan agar terjadi penambahan struktur yang dapat memfasilitasi regenerasi tulang alveolar dan sementum akar. *Autograft* dan *Allograft* merupakan cangkok tulang yang ideal untuk digunakan, namun memiliki kekurangan karena ketersediaan daerah donor yang minimal bahkan terjadinya risiko penyakit menular.¹² Cangkok tulang ini ada yang memiliki sifat osteogenesis, osteoinduktif, dan osteokonduktif yang sangat dibutuhkan saat proses *remodeling* tulang. Cangkok tulang biasanya dikombinasikan dengan GTR yang diindikasikan ketika dibutuhkan proses terbentuknya sel-sel jaringan epitel dan sebagai pembentukan jaringan

penghubung pada permukaan akar atau defek periodontal. Selain GTR, EMP sebagai bahan dengan struktur mirip tulang memiliki kemampuan meningkatkan penyembuhan jaringan periodontal seperti membentuk sementum akar, ligament periodontal, dan tulang alveolar selama perkembangan proses regeneratif.^{29,30}

2.1.2.2 Perawatan Herbal

Pengobatan herbal adalah pengobatan yang berasal dari tumbuhan dan memiliki efek *therapeutic*. Saat ini, produk herbal lebih disukai selain karena harga yang lebih murah atau bernilai ekonomis, juga mudah didapatkan. Selain itu, pengobatan herbal bekerja secara alami, dan lebih aman jika dibandingkan dengan pengobatan *modern* yang pada umumnya dapat memberikan efek samping secara sistemik. Saat ini pengobatan dengan terapi melalui bahan-bahan herbal menjadi suatu alternatif perawatan untuk perawatan infeksi periodontal.⁹

2.2 HISTOLOGI TULANG

Tulang merupakan jaringan ikat dengan struktur yang dinamis dan memiliki sistem regenerasi seluler yang kompleks karena membentuk sebagian besar kerangka vertebrata.^{27,31} Keseimbangan yang terjadi saat resorpsi dan formasi tulang dipengaruhi pembentukan sel-sel lama yang dirombak ke sel-sel yang baru dan dapat menentukan densitas dari tulang.²⁷ Komposisi tulang terdiri dari mineral, matriks organik, sel dan air dengan

perbandingan 65% mineral dan 35% matriks organik seperti osteoblas, osteosit, dan osteoklas, dan air. Sama halnya dengan komponen dentoalveolar yang memiliki sistem tulang yang kompleks. Struktur dari dentoalveolar mampu menahan tekanan dan regangan yang konstan.^{31,32}

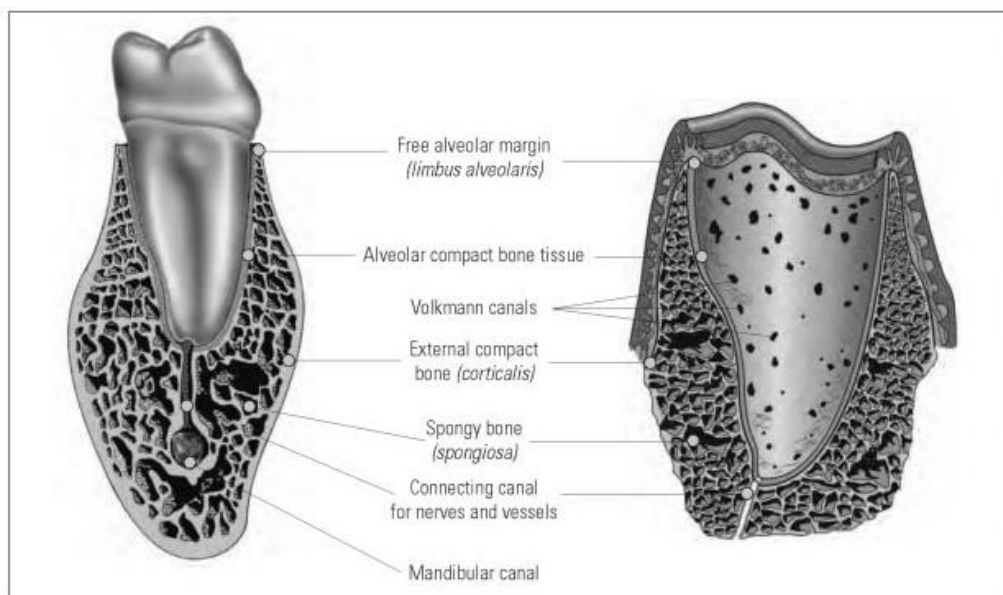
2.2.1 Matriks Tulang

Matriks tulang terdiri dari unsur organik yakni 90% serat-serat kolagen, protein tulang tertinggi, dan protein tulang non-kolagen, seperti osteonektin, osteocalcin, osteopontin sekitar 40-50% dan, sialoprotein serta terdiri dari unsur anorganik dengan jumlah hampir dua pertiga berat tulang, diantaranya seperti kalsium fosfat (kira-kira 85%), kalsium karbonat (10%), dan sejumlah kecil magnesium florida dan kalsium florida. Serat-serat kolagen penting dalam menambah kekuatan tulang.^{30,231} Pada gambaran histologis, ciri khas matriks tulang tersusun sebagai lapisan-lapisan (lemel) yang ketebalannya 3-7 mm, sejajar satu sama lain dan berbentuk heliks. Serat kolagen tampak memanjang. Matriks anorganik terdapat di antara serat-serat tersebut kira-kira 65% dari berat tulang. Terdapat kalsium fosfat yang merupakan mineral utama yang serupa dengan hidroksiapatit dan bentuknya berupa kristal.^{31,32}

2.2.2 Struktur Tulang

Secara makroskopis tulang dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu tulang spongiosa (*cancellous*) dan tulang kompakta (*cortical*). Tulang

spongiosa terdiri dari lempengan trabekula yang tersusun longgar dan tidak beraturan tersambung ke ruang-ruang kecil yang ireguler oleh kanalikuli dan berisi sum-sum tulang, sehingga tulang ini lebih ringan. Bentuk struktur ini bagus dalam menahan dan memaksimalkan kekuatan pada tulang dan dapat menyesuaikan dengan tekanan yang ada. Tulang kompakta adalah tulang yang strukturnya terdiri dari sistem harvesian atau osteon sehingga lebih padat bila dibandingkan dengan tulang spongiosa. Sistem harvesian berupa saluran dibagian tengah tulang yang berisi pembuluh darah tersusun parallel didalam tulang dan dikelilingi lamella yang berada di sela-sela matriks. Kanalikuli merupakan saluran kecil yang menghubungkan antara sistem harvesian dengan lakuna.³¹



Gambar 2. Skema diagram yang menunjukkan struktur tulang alveolar.³³

2.2.3 Sel-Sel Tulang

Tulang dewasa mengandung 4 jenis sel yaitu: sel osteogenik (osteoprogenitor), osteoblas, osteosit, dan osteoklas.^{31,34}

1) Osteoprogenitor

Merupakan kumpulan sel-sel osteogenik yang belum berdeferensiasi dan berasal dari jaringan ikat mesenkim. Sel osteoprogenitor ini dapat ditemukan pada permukaan dalam periosteum di endosteum. Sel ini terbagi atas dua jenis, yaitu: 1) preosteoblas yang memiliki sedikit retikulum endoplasma dan akan menghasilkan osteoblast; dan 2) preosteoklas yang mengandung lebih banyak mitokondria dan ribosom bebas, dan menghasilkan osteoklas.^{31,34}

2) Osteoblas

Osteoblas adalah sel-sel yang berasal dari sel osteogenik, juga sel batang *mesenchymal* (MSC). Osteoblas diproduksi pada sum-sum tulang. Pembentukan osteoblas dapat terjadi secara independen. Sel-selnya berbentuk kuboid disepanjang permukaan tulang. Jumlahnya sekitar 4-6% dari jumlah sel dalam tulang, untuk itu osteoblas sangat penting dalam pembentukan tulang. Kandungan didalam osteoblas adalah enzim *alkaline phosphatase* yang sangat berkaitan dengan eksistensi mineral.^{31,34} Di dalam matrik tulang, osteoblas dapat mensintesa protein terutama kolagen tipe 1, yang akan membentuk fibril kolagen, protein lainnya seperti osteonektin dan osteokalsin. Adapun protein tulang lainnya yang dapat dihasilkan oleh osteoblas

adalah glikosaminoglikan, osteopontin, sialoprotein, fibronektin, vitronektin, dan trombospondin.³²

3) Osteosit

Osteosit atau sel tulang merupakan osteoblas yang posisinya terpendam di dalam matriks tulang. Selain itu, posisinya tidak melekat langsung pada matriks sekitarnya. *Space* yang ada berfungsi sebagai media pertukaran metabolit. Jumlahnya 90-95% dari jumlah sel tulang dan memiliki masa hidup terpanjang ditulang hingga mencapai 25 tahun.^{31,34}

4) Osteoklas

Osteoklas adalah sel yang berada disepanjang permukaan tulang sebagai tempat terjadinya resorpsi, *remodeling*, dan perbaikan tulang. Seperti di daerah tulang yang teresorpsi (*lacuna Howship*) atau terkikis secara enzimatik. Osteoklas diproduksi pada sum-sum tulang. Aktivitas osteoklas tidak dapat berlangsung tanpa adanya komponen sel-sel stroma yang memproduksi osteoblast disebabkan osteoklas membutuhkan interaksi yang kompleks dengan progenitor osteoblas. Osteoklas berfungsi mengeluarkan enzim kolagenase dan proteolitik yang menyebabkan matriks tulang melepaskan substansi dasar dalam proses pengapuran. Setelah proses resorpsi, osteoklas akan menghilang dan berdegenerasi kembali menjadi sel awalnya.^{31,34}

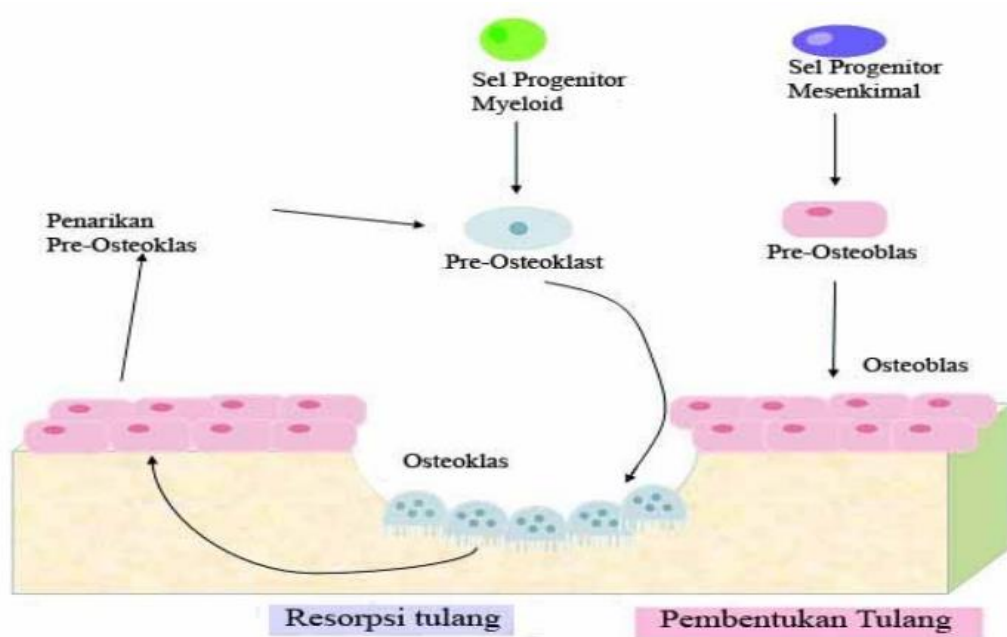
2.3 KERUSAKAN TULANG

Kerusakan tulang pada kasus periodontitis dapat terjadi secara progresif hingga menyerang jaringan ikat periodontal dan tulang alveolar. Kerusakan pada tulang disebabkan infeksi dari bakteri spesifik periodontitis secara kronis juga karena adanya respon imun terhadap agen mikroba. Respon peradangan yang timbul memicu perubahan sel-sel osteoklas dan aktivitas osteoblas pada alveolar. Saat pembentukan sel osteoklas (osteoklastogenesis), terjadi peningkatan proses osteoklastogenesis yang ikut meningkatkan resorpsi tulang. Saat terjadi resorpsi, tugas osteoklas memicu ekspresi RANK-L yang berlebihan karena respon inflamasi melalui aktivitas limfosit T dan limfosit B dan sekresi sitokin inflamasi seperti TNF α dan IL- β . Pada saat resorpsi terjadi maka aktivitas sel osteoklas bersifat degeneratif dan menyerap tulang. Ini karena dipengaruhi faktor-faktor pengaktif osteoklas, termasuk prostaglandin, bakteri endotoksin, dan produk sitokin inflamasi diantaranya IL-3, TNF- α , IL-1 β , dan IL-6. Saat masuk ke tahap *remodeling* tulang, dibutuhkan keseimbangan yang dinamis antara jumlah sel osteoklas dan osteoblas.³⁵

2.4 REMODELING TULANG

Proses *remodeling* tulang adalah proses aktivitas seluler yang terjadi secara siklik dimana aktivitas osteoklas meresorpsi tulang lama dan aktivitas osteoblas membentuk tulang baru. Pada tahap pertama osteoklas akan berada pada permukaan tulang yang teresorpsi. Saat inflamasi pada tulang terjadi,

aktivitas osteoklas berpindah dari area resorpsi, lalu sel T akan teraktivasi menyebabkan aktivasi sel progenitor osteoblast. Sel progenitor osteoblast akan mensekresi RANK-L (*Receptor activator of nuclear kappa B Ligand*), terjadi peningkatan hormone paratiroid, Vit. D dan proses asidifikasi. Pada saat ini osteoblas akan menginvasi daerah tersebut dan membentuk serta mensekresi osteoid. Osteoid adalah matrik tulang yang setelah deposisi akan termineralisasi menjadi tulang baru dan berlangsung dalam kecepatan yang sama menghasilkan massa tulang yang konstan. Lalu RANK-L akan membuat ikatan aktif dengan prekursor osteoklas. OPG (*osteoprotegerin*) akan menghambat aksi RANK-L dengan mengikatnya sehingga terjadi diferensiasi osteoklas dan resorpsi tulang. Dalam proses Prekursor osteoklas akan mensekresi RANK (*Receptor activator of nuclear kappa B*). RANK diproduksi dari *multiple myeloma* dan agen-agen sitokin penghancur tulang seperti IL-1 β dan IL-6. Kemudian, akan membentuk pro-osteoklas yang akan menghasilkan osteoklas. Aktivasi osteoklas akan menghasilkan *Chaptasin K⁺* dan *Charbonic Anhydrase II* yang berperan dalam proses resorpsi tulang. Pada saat bersamaan terbentuk Ca⁺⁺ dari peningkatan *alkalin phosphatase* dan kolagen tipe II karena adanya aktivasi osteoblas, sehingga terjadi proses *bone remodeling*. Adanya OPG saat terjadi sekresi RANK oleh prekursor osteoklas berperan penting dalam menyeimbangan proses *bone remodeling*.^{38,41,42}



Gambar 3. Proses *remodeling* tulang.⁴³

2.4.1 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi *Remodeling* Tulang

Faktor yang dapat mempengaruhi resorpsi dan pembentukan tulang ialah keadaan sistemik, hormon steroid dan estrogen berperan menjaga keseimbangan aktivitas osteoklas dan osteoblas pada sel-sel tulang, serta vitamin D terbukti dapat meningkatkan kepadatan tulang.³⁸

2.4.2 Gangguan Lain Dalam *Remodeling* Tulang

Adanya osteoporosis yang ditandai dengan adanya defek pada permukaan tulang tempat osteoklas melakukan aktivitas resorpsi. Gangguan herediter dapat pula mengganggu aktivitas osteoklas dengan terbentuknya defek pada permukaan gigi saat resorpsi terjadi.³⁸

2.5 MARINE ALGAE

Marine Alga merupakan golongan makroalga yang berperan secara ekologis menjaga ekosistem laut serta sebagai bahan baku industri dan kesehatan. *Phaeophyta* banyak ditemukan di perairan Sulawesi Selatan yang menjadi salah satu kota pusat penyebaran *alga marine* terbesar di Indonesia. *Alga Marine* ini dibudidayakan dan memiliki nilai jual yang lebih ekonomis.^{15,44}

Alga Marine sangat kaya dengan kandungan zat-zat bioaktifnya. Sulfat polisakarida, *phlorotannis*, karetenoid (*fucoxanthin*), mineral peptide dan sulfolipid merupakan beberapa komponen aktif yang dapat memberi manfaat dalam penyembuhan penyakit degeneratif. Oleh karena itu, kelebihan *alga marine* ini telah banyak digunakan dan diaplikasikan dalam bidang industri farmakologi, bahan dasar pembuatan makanan, hingga sebagai pengobatan tradisional di dunia kesehatan.¹⁴



Gambar 4. *Rhodophyta* (alga merah), *Phaeophyta* (alga cokelat) dan *Chlorophyta* (alga hijau).⁴⁵

2.5.1 Komposisi⁴⁶

Kandungan *algae* terdiri dari nutrisi seperti polisakarida, protein, lipid dan asam lemak, polifenol, karotenoid, juga kaya dengan mineral, kalsium, natrium, yodium, dan berbagai vitamin (vit. A,B,C,D,E). Komponen zat aktif ini sangat bermanfaat membuat *alga marine* banyak digunakan terutama dalam bidang kesehatan.

2.5.2 Klasifikasi *Algae*^{15,41}

Marine Algae secara garis besar terbagi atas 3 klasifikasi yaitu: *Rhodophyta* (alga merah), *Chlorophyta* (alga hijau), dan *Phaeophyta* (alga cokelat). Seluruh makroalga ini bersifat ekologis dalam menjaga ekosistem laut serta sebagai bahan baku industri dan kesehatan.

- Alga Merah (*Rhodophyta*) banyak ditemukan di perairan Indonesia terutama di laut yang dalam hingga mencapai 130 meter. Di Indonesia alga ini terdiri dari 17 marga dan 34 jenis serta 31 jenis, beberapa diantaranya telah banyak dimanfaatkan dan bernilai ekonomis.
- Alga Hijau (*Chlorophyta*) ini berwarna hijau disebabkan karena mengandung klorofil a dan b, beta, gamma karoten dan santhofil. Spesies yang umum dikenali dari alga ini adalah *Ulva sp.*
- Alga Cokelat(*Phaeophyta*) banyak ditemukan di perairan Sulawesi Selatan yang menjadi salah satu kota pusat penyebaran *alga marine* terbesar di Indonesia. Ekosistemnya lebih banyak ditemukan di dalam

permukaan laut dengan membentuk hutan lebat diantara daun-daun dan tangkainya. Pigmentasinya berasal dari klorofil dan pada daun dan tangkainya mengandung fucoidan. *Phaeophyta* merupakan divisi : *Thallophyta*, Kelas : *Phaeophyceae* , Ordo : *Fucales* , Famili : *Sargassaceae* , Genus : *Sargassum* , Spesies : *Sargassum sp.*

Sargassum sp. memiliki kurang lebih 400 spesies di dunia. Alga ini banyak ditemukan di negara tropis dan subtropis yang berombak besar, termasuk perairan Sulawesi Selatan. Tumbuh kembangnya tergantung oleh suhu air, pasang surut air, dan gerakan air. Daun dan tangkainya terdiri dari *thalus* silindris dan berduri kecil.^{15,38,42}

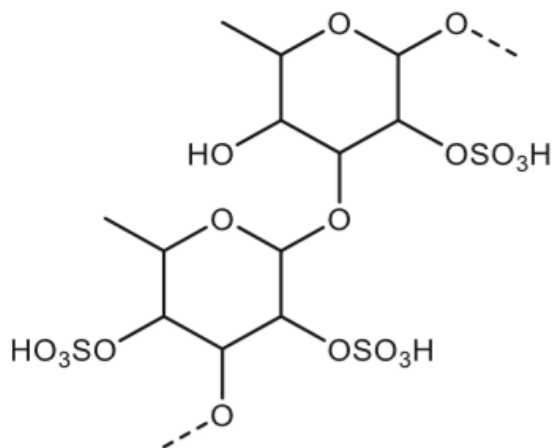


Gambar 5. Golongan *Phaeophyta*³⁵(kiri) dan salah satu spesies yang juga digunakan didalam penelitian adalah *Sargassum sp.*(kanan).^{44,45}

2.6 FUCOIDAN

Sejak tahun 1913 alga cokelat telah dijadikan ekstrak karena memiliki banyak manfaat. Setelah para peneliti mengeksplorasi lebih jauh, ternyata fucoidan merupakan kandungan polisakarida yang kaya fucosa yang hanya terkandung dalam alga cokelat. Turunan polisakarida sulfat dari fucoidan

secara kompleks terdiri dari galaktosa, xilosa, manosa, dan asam uronat terdapat pada dinding-dinding sel alga cokelat khususnya *sargassum sp.*, fucoidan juga memiliki sifat larut dalam air dan larutan asam. Banyak manfaat yang terkandung di dalam fucoidan diantaranya yaitu mempunyai efek antiviral, anti-coagulan, anti thrombin, antioksidan yang tinggi, terdapat aktivitas biologi seperti bekerja sebagai immunoregulatori, menghambat pertumbuhan tumor, antiinflamasi, hingga ditemukan dapat merangsang pembentukan osteoblas serta tanda-tanda pembentukan tulang oleh osteocalcin dan alkaline sulfat.^{12,46,47,48} Hsien-Tsung Lu et dkk. memaparkan dari hasil penelitian mereka menemukan manfaat fucoidan yaitu dapat meningkatkan aktivitas ALP yang penting sebagai enzim yang berperan terhadap pembentukan tulang, selain itu merangsang proliferasi sel induk mesenkim yang dapat mempengaruhi aktivitas osteoblastik yang ditandai dengan adanya peningkatan jumlah mineral dalam sel osteoblas sebagai bagian dari aktivitas osteokonduksi serta osteogenesis tulang.⁴⁶



Gambar 6. Struktur simple dari fucoidan.⁴⁸

2.6.1 Ekstrak Fucoidan

Fucoidan memiliki variasi dan distribusi kelompok sulfat yang kompleks diantara beberapa spesies alga. Karakteristik struktural dari fucoidan tergantung dari berbagai faktor yakni spesiesnya, musim panennya, kematangan alganya, juga teknik ekstraksinya. Fucoidan berada di dalam intraseluler *phaeophyta*, sehingga memerlukan langkah-langkah khusus dalam melakukan ekstraksi. Pada dasarnya teknik ekstraksi fucoidan harus memperhatikan bahan pelarut dan suhu yang digunakan. Secara umum, sebelum dilakukan ekstraksi, penting melakukan 3 langkah kompleks namun cukup memakan waktu. Tahapannya yaitu 1.) persiapan rumput laut, 2.) *pre-treatment*, 3.) ekstraksi (konvensional atau teknik mutakhir dengan permurnian).^{50,51}

Persiapan awal yaitu mencuci alga dengan air suling untuk menghilangkan garam dan kotoran. Dilanjutkan dengan pengeringan di mesin *frezze dried*. Setelah itu, digiling untuk mendapatkan tekstur bubuk. *Pre-Treatment* bertujuan untuk menghilangkan pigmen lipid dan senyawa dengan berat molekul rendah dengan menggunakan bahan pelarut, seperti klorofom ataupun etanol. Waktu perendaman menggunakan kloroform selama 24 jam pada suhu 30°C dengan pengadukan konstan (250 rpm). Demikian pula, January dkk. menggunakan campuran metanol-kloroform-air (4: 2: 1) sebagai *pre-treatment* sebelum ekstraksi fucoidan.^{10,50,51,52}

Penelitian oleh Ponce dkk. menggunakan teknik dengan bahan etanol 80% saat membuat ekstrak fucoidan, lalu di aduk selama 24 jam

(menggunakan pengadukan mekanis) disimpan pada suhu kamar, kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* 70°C selama 24 jam. Residu yang dihasilkan di ekstraksi secara terpisah dan dibagi menjadi 3 bagian yaitu 800 ml air, 2% CaCl₂, dan HCl (diencerkan hingga pH 2). Setiap ekstrak didiamkan selama 7 jam pada suhu kamar. Residu disentrifugasi dan diekstraksi ulang secara menyeluruh dengan pelarut yang sama pada 70°C, sampai pada titik di mana hanya sejumlah kecil gula yang terdeteksi dalam ekstrak. Ekstrak dipisahkan pada tekanan rendah, didialisis dan dimasukkan ke mesin *freeze dried*.⁵²

Metode ekstraksi fucoidan lainnya oleh Rioux dkk. yang menggunakan pelarut selektif dengan pengadukan mekanis konstan antara 455 ± 5 rpm. Temperaturnya dikontrol. Pertama, mengekstraksi pigmen dan protein menggunakan etanol 85%. Kemudian, pelarut dipisahkan dari sisa rumput laut dengan filtrasi vakum. Sisa rumput laut diberikan CaCl₂ 2% pada suhu 70°C untuk mengendapkan alginat serta untuk mengekstrak laminaran dan fucoidan dari campuran dan kemudian disentrifugasi. Fucoidan diekstraksi dari sisa rumput laut dengan HCl 0,01 M, pH 2, pada 70°C (3 x 3 jam) dan kemudian disentrifugasi.⁵²

Metode yang terakhir merupakan ekstraksi mutakhir oleh Rodriguez-Jasso dkk. memaparkan penggunaan MAE (*Micro Wave Assist Extraction*). Mereka menyimpulkan bahwa MAE pada 120 psi, 1 menit, menggunakan 1 g alga / 25 ml air adalah kondisi terbaik untuk pemulihan fucoidan dan menemukan l-Fucose, xylose dan galaktosa yang sebagai

konstituen utama dari polisakarida ini. Namun, alat ini belum ada di Indonesia.⁵²

Teknik *freeze dried* merupakan salah satu pilihan teknik ekstraksi fucoidan. Hasilnya, ekstrak fucoidan lebih banyak dihasilkan pada teknik yang menggunakan waktu yang lama dan suhu yang tinggi yaitu pada saat masuk ke tahap pengeringan di autoclave pada suhu 100° selama 4 jam. Fucoidan yang diekstraksi dengan teknik yang berbeda mungkin juga memiliki struktur yang berbeda.⁵²

2.7 ALOE VERA

2.7.1 Sejarah *Aloe vera*

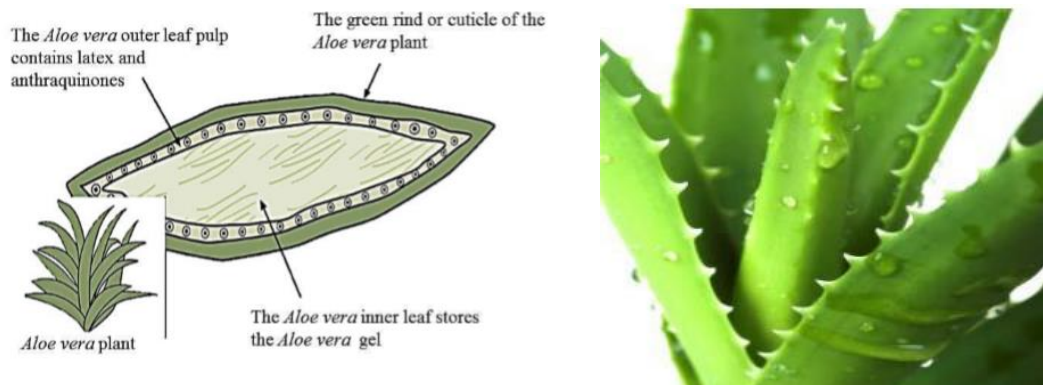
Sepanjang sejarah *aloe vera* telah banyak digunakan sebagai tanaman herbal penelitian. Sejak tahun 1930-an *aloe vera* digunakan untuk penyakit dermatitis yang disebabkan radiasi. Sudah lebih dari 4000 tahun masyarakat kuno mengakui bahwa *aloe vera* memberikan manfaat yang baik bagi kesehatan. Setelah itu *aloe vera* mulai berkembang dan saat ini banyak yang masih memanfaatkan khususnya dalam bidang kesehatan dan kedokteran gigi.^{23,29,53}

2.7.2 Komposisi *Aloe vera*

Aloe vera memiliki 3 lapisan yang berbeda. Bagian dalam berupa gel yang memiliki sebagian besar sifat terapeutik, disebut sebagai lapisan *mucilaginous*. *Aloe vera* terdiri dari 99% air dan sisanya 1 % zat-zat kimia

yang terkandung di dalamnya. Meski zat senyawa kimia yang tersisi hanya 1%, para penelitian melaporkan bahwa terdapat 75 zat yang terkandung dalam *aloe vera* termasuk pada gel, getah, dan daunnya. Komposisinya sangat menunjang manfaat dibidang kesehatan dalam penggunaan pengobatan herbal. Zat-zat tersebut adalah acemannan, saponin, lignin berupa zat selulosa yang dapat menembus kulit, serta mineral diantaranya kalsium yang sangat penting dalam pembentukan kepadatan tulang dan kekuatan gigi selain itu terdapat kalsium mineral lainnya yaitu mangan, natrium, tembaga, kromium, magnesium, kalium, zinc, zat besi, vitamin B12, vitamin B, kolin, asam folat, asam amino, serta enzim diantaranya peroksidase, aliase, kasease, lipase, selulase, *carboxypeptidase*, amylase dan *alkaline phosphatase*, sterols yang berfungsi sebagai antiinflamasi, gula seperti glukosa dan fruktosa, dan polisakarida yang membantu proses pencernaan, menjaga kadar kolesterol, meningkatkan fungsi hati dan meningkatkan penguatan tulang.^{23,27,53,54}

Acemannan (ACM) dan glukomanan adalah zat fungsional utama yang terdapat dalam *aloe vera*. Dalam penelitian yang di paparkan oleh Syeckh Rahman dkk., acemannan dapat mengaktifkan makrofag, menstimulus sistem imun / sistem kekebalan tubuh, mengatur aliran nutrisi dan limbah, serta mempercepat regenerasi jaringan periodontal.^{23,24,25} Pada lapisan tengah mengandung lateks, antrakuinon, dan glikosida, serta getah kuning yang pahit. Lapisan luar yang tebal terdiri dari 15-20 sel berfungsi sebagai pelindung juga tempat mensintesa karbohidrat dan protein.



Gambar 7. Ilustrai 3 lapis *Aloe vera*.^{23,53}

2.7.3 Kegunaan *Aloe vera* di bidang Periodontologi⁵

- Sediaan obat kumur efektif dalam menurunkan akumulasi plak
- Membantu penyembuhan gingivitis dan periodontitis
- Membantu mengurangi perdarahan
- Mengurangi pembengkakan atau adanya udem
- Dapat mengurangi infeksi kandidiasis oral
- Sediaan dalam bentuk gel dapat meningkatkan kesehatan periodontal
- Cedera pada gingiva karena kasus tertusuk makanna yang tajam, atau benda tajam
- Sebagai *local drug delivery*

2.7.4 Sediaan Gel *Aloe vera*

Masyarakat kuno sejak dulu sangat menyukai manfaat gel *aloe vera*. *Aloe vera* mengandung dua jenis cairan, yaitu cairan bening (seperti *jelly*) dan cairan berwarna kuning. Cairan bening mengandung fibroblast yang

dapat merangsang penyembuhan luka, cairan kuning berasal dari kulit *aloe vera* mengandung aloin yang mempunyai efek antiinflamasi. Selain itu, kandungan saponin yang banyak dapat mempercepat penyembuhan luka dan menstimulus pembentukan tulang. Manfaat antiinflamasinya penting untuk mencegah terjadinya peradangan yang dapat mempengaruhi proses osteoklastogenesis dalam menekan proses resorpsi tulang serta membantu perbaikan tulang. Efek immunomodulator dari manosa asetat polisakarida, acemannan, veracilglucans B & C di dalam *aloe vera* dapat mengaktifkan makrofag, meningkatkan sitokin yang penting dalam perbaikan jaringan serta kandungan ini berfungsi mengatur efek kaskade terhadap ekspresi mediator-mediator inflamasi seperti IL-6 dan IL-8. Hasil penelitian Isadora dkk. menyatakan bahwa kandungan *aloe vera* ini dapat merangsang sel osteoblas untuk stimulasi regenerasi tulang, sementum dan ligamentum periodontal.^{27,53,54}

Manfaat lainnya dapat meningkatkan imunitas dan meregenerasi sel. Dosis aman ekstrak gel *aloe vera* berkisar pada 70%, 85% dan 100%. Hasil penelitian menyatakan bahwa pada persentase tersebut menunjukkan pembentukan fibroblas serta peningkatan osteoblas pada soket alveolar post ekstraksi.^{27,53} Menurut Anirban Ray dkk. sediaan *freeze dried aloe vera* pada penelitiannya memiliki kandungan Ca, K, Mg, dan P terutama pada *aloe vera* usia dua hingga empat tahun yang penting untuk regenerasi tulang.⁵⁵

2.8 TIKUS WISTAR⁵⁶

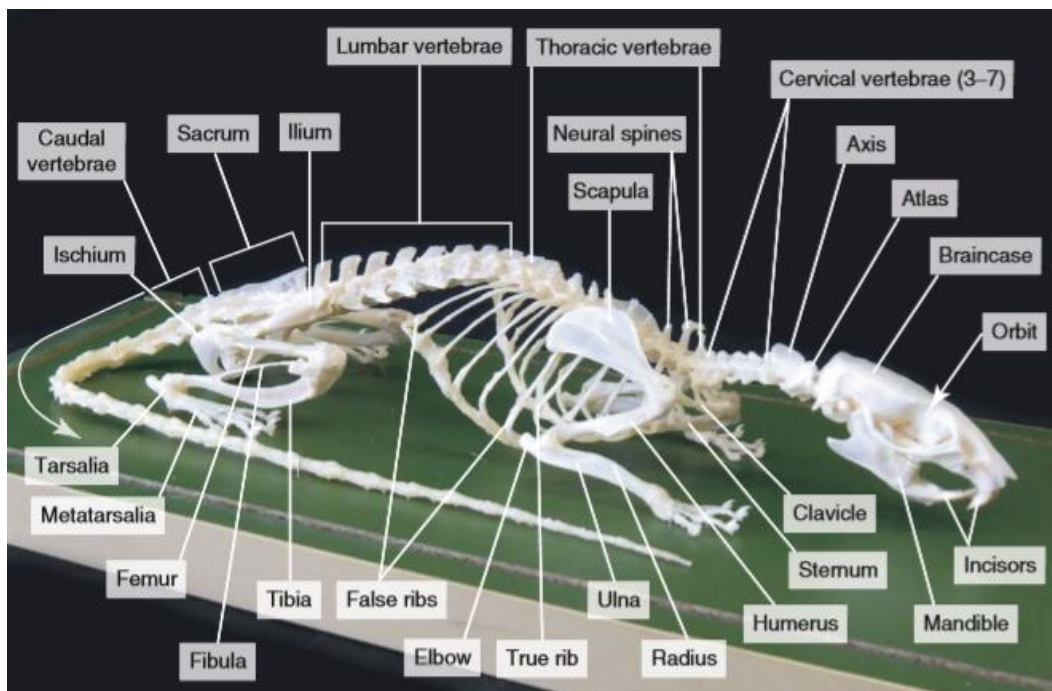
Tikus merupakan model hewan untuk evaluasi suatu studi penelitian yang banyak digunakan dalam proses pengembangan ilmu pengetahuan. Hingga saat ini tikus digunakan dalam penelitian hewan laboratorium. Jenis yang sering dipakai di Indonesia adalah wistar dan *sprague-dawley* (tikus albino).^{57,58} Tikus biasanya digunakan untuk menguji potensi regeneratif osteoinduktif dan kartilago dari bahan alogenik dan xenogenik. Selain itu, untuk juga melihat *remodeling* kortikal. Teknisnya, tikus dibuat perlukaan atau terpapar infeksi pada tulangnya kemudian dilakukan bedah ekstraoral, lalu dilakukan evaluasi untuk melihat penyembuhan atau pembentukan osteoblasnya pada hari ke 7, 14, dan 21. Jika dibandingkan dengan manusia, pertumbuhan tulang pada tikus masih berlangsung terus menerus hingga setelah dewasa. Penyembuhan lebih cepat pada tulang tikus dibandingkan dengan tulang manusia, khususnya pada regio kraniofasial.^{35,56}

Tikus dapat diperoleh dari toko pemeliharaan hewan atau perusahaan pemasok hewan penelitian, atau perusahaan farmasi. Keputusan untuk menggunakan hewan coba harus didasarkan dengan perawatan yang bertanggung jawab dan manusiawi atas penggunaan hewan.⁵⁷

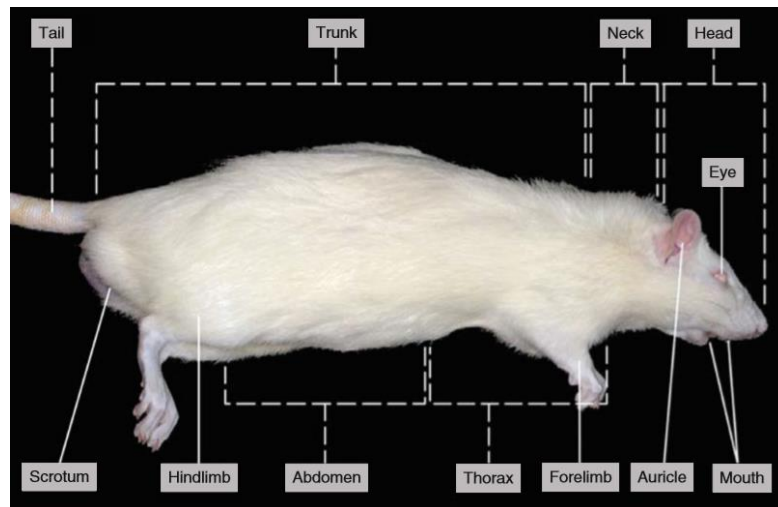
2.8.1 Anatomi Tikus⁵⁹

Kerangka vertebrata terdiri dari dua bagian utama yakni kerangka aksial dan kerangka apendikular. Kerangka aksial terdiri dari tengkorak, tulang

belakang, tulang dada, dan tulang rusuk. Kerangka appendicular terdiri dari dada (bahu), panggul (pinggul) dan anggota badan. Tikus memiliki bentuk kerangka yang secara umum terdapat pada hewan vertebrata. Pada area tengkorak terdapat dua tulang dentari melebur ke anterior untuk membentuk rahang bawah. Pada rahang bawah terdapat pertumbuhan dua jenis gigi yaitu insisivus dan molar.

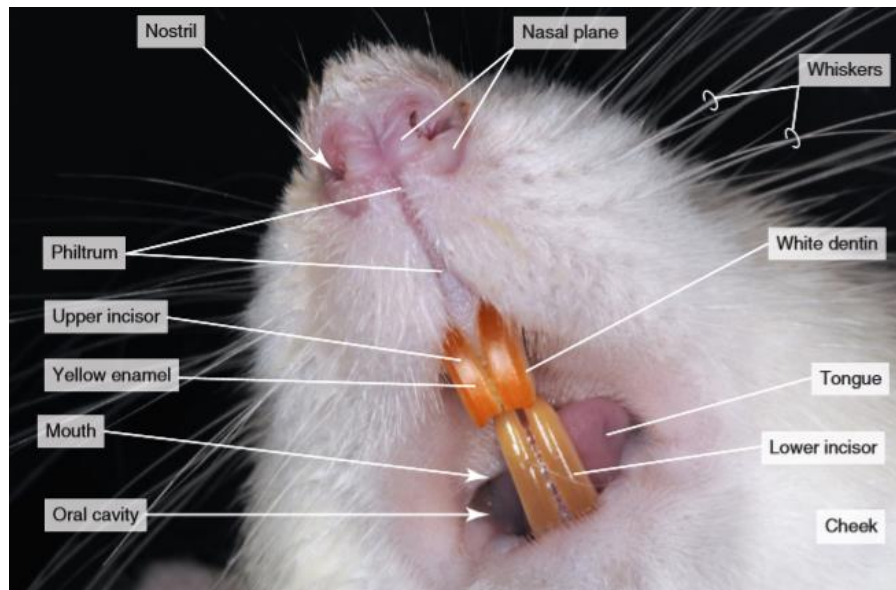


Gambar 8. Rangka skeleton dari *rat*.⁵⁹



Gambar 9. Sisi lateral tikus jantan.⁵⁹

Pada bagian wajah hewan nokturnal ini terdapat kumis (rambut sensorik) yang disebut *vibrissae* sebagai organ taktil dan rambut sensorik ini sangat sensitif apabila ada sentuhan juga berfungsi mendeteksi makanan pada keadaan gelap serta mendeteksi perubahan tekanan udara. Pada mulut tikus terdapat celah besar di bagian bibir atas (*philtrum*), yang memperlihatkan gigi insisivus depan yang besar. Gigi insisivus tikus akan terus tumbuh selama tikus hidup. (Gambar 10)



Gambar 10. Gambaran ventral dari kepala tikus.⁵⁹

2.8.2 Pendekatan 3R⁶⁰

Pendekatan yang harus dipertimbangkan setiap saat yaitu:

1. *Replacement* (Penggantian) yaitu melakukan penggantian subyek penelitian apabila terdapat suatu kendala. Pergantian hewan percobaan dengan metode alternatif lainnya seperti model matematika, simulasi computer, atau system biologi in vitro.
2. *Reduction* (Pengurangan) yaitu pengurangan jumlah minimum hewan untuk memenuhi hasil ilmiah yang valid dan jika tidak dibutuhkan duplikasi. Namun, pengurangan tidak boleh diimplementasikan apabila beban yang diterima lebih besar dari hewan uji.
3. *Refinement* (Perbaikan) dari proyek dan metode yang digunakan untuk mengurangi dampak pada hewan. Karakteristik dalam memilih hewan coba adalah hewan dengan keadaan sehat, yang sesuai spesiesnya, termasuk perilaku, nutrisi yang baik, serta kesehatan secara umum. Usia

yang dianjurkan ± 27 weeks atau sekitar usia 6-7 bulan. Pemilihan dalam hal keadaan tulang penting untuk mengetahui metode yang cocok untuk pembuatan defek hewan coba. Serta menilai keadaan hewan coba dan mempertimbangkan letak defek yang akan diberikan. Selanjutnya, yang perlu diperhatikan adalah pasokan darah yang penting untuk mendukung penyembuhan jaringan tulang karena pada area tulang *cancellous* lebih cepat sembuh dibandingkan dengan tulang kortikal karena tulang ini lebih padat dibanding tulang *cancellous*. Sebaiknya meminimalkan rasa sakit pada hewan, apabila membutuhkan tindakan pembedahan yang cukup lama dapat dilakukan dengan sedasi, anestesi, pemberian analgesik sesuai dosis pada hewan. Apabila tiba pada tahap akhir dibutuhkan *sacrificed* hewan maka harus dilakukan secara manusiawi.^{56,60}

2.8.3 Pemeliharaan dan Manajemen Hewan⁶⁰

- Persiapan Kandang: harus dengan fasilitas yang dirancang, dibangun, dan dilengkapi sesuai standar.
- Harus tersedia lokasi penyimpanan yang memadai dan sesuai untuk makanan, tempat tidur, dan peralatan.
- Tempat tidur dan pembuangan harus disediakan dengan sesuai untuk spesies dan harus nyaman, mudah diserap, bebas debu, non-toksik, dan dapat disterilisasi (jika dibutuhkan).

- Kebersihan kandang harus dimonitor secara regular untuk memastikan kebersihan dan sanitasi yang efektif.
- Pemeliharaan hewan harus sesuai untuk memenuhi persyaratan ilmiah.
- Hewan harus menerima makanan yang sesuai, tidak terkontaminasi, dan kaya nutrisi sesuai dengan kebutuhan yang dapat diterima oleh spesies hewan.
- Air minum harus tersedia secara konstan dan cukup, bersih, segar, dan tidak terkontaminasi feses.
- Prosedur perawatan darurat harus tersedia setiap saat.

2.8.4 Penerimaan Hewan baru⁶⁰

- Hewan baru harus ditempatkan terpisah dengan hewan lama.
- Hewan baru harus dievaluasi dalam keadaan sehat, cocok dalam kriteria inklusi penelitian.
- Hewan baru yang tidak dapat beradaptasi tidak akan digunakan dalam penelitian.

2.9 PEMERIKSAAN METODE FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).

Spektrofotometer FTIR merupakan salah satu alat yang biasa digunakan untuk melihat spektrum vibrasi molekul dari suatu struktur senyawa kimia dengan rentang IR (4000 cm⁻¹- 400 cm⁻¹) yang menginformasikan tentang struktur dan gugus fungsi dalam analit. Sehingga dapat digunakan untuk

mengidentifikasi senyawa kimia pada *phaeophyta* dan *aloe vera*. FTIR menggunakan radiasi inframerah untuk mengukur berapa fraksi radiasi yang diserap pada titik tertentu panjang gelombang, yang dapat digunakan untuk membangun semi-kuantitatif ukuran komposisi sampel. Ida Musfiroh dkk. memaparkan parameter pengukurannya adalah pengulangan dari sistem (presisi), akurasi, rentang linear, batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Dengan konsentrasi yang lebih besar maka energi yang diserap akan lebih banyak.^{61,62}

Tekniknya terbagi atas 3 macam dan setiap teknik memiliki ciri khas tertentu pada spectrum vibrasi molekulnya, terdiri dari:⁶¹

1. *Photo Acoustic Spectroscopy* (PAS) dapat digunakan untuk sampel mineral, polimer, dan teknologi, dan mampu untuk pengukuran dan pemodelan ketergantungan sifat-sifat tanah pada komposisi fisik (terutama matriks mineral seperti karbonat, silikat, dan mineral tanah liat, untuk matriks jenis tanah yang agak berbeda atau model untuk indikator tanah umum. Teknik ini belum digunakan untuk analisis molekuler (structural) yang lebih rinci seperti fungsional tanah.⁶³ Ichwana dkk. memaparkan didalam penelitiannya bahwa teknik PAS kombinasi spektroskopi FTIR bertujuan untuk mengidentifikasi klasifikasi tanah.⁶⁴
2. *Attenuated Total Reflectance* (ATR) adalah teknik yang berguna dalam mengkarakterisasi material, ukuran partikel diabaikan, variasi spektrum lebih lebar karena tidak terlalu rumit dan tanpa menggunakan KBr grinding. ATR didasarkan pada fenomena refleksi internal total, dan

mengukur perubahan yang terjadi dalam sinar inframerah yang dipantulkan internal dalam interaksi dengan sampel melalui Zinc Selenium (ZnSe) kristal atau berlian.

Martin Sulistyani memaparkan di dalam tahapannya spektrum vibrasi yang akan diinterpretasikan harus memenuhi beberapa syarat, diantaranya resolusi dan intensitas spektrum harus memadai, spektrum harus berasal dari zat murni, spektrofotometer harus dikalibrasi, serta teknik penyiapan sampel harus dijelaskan. Ketepatan kuat tekan, dan waktu penekanan dalam proses pengukuran sampel menggunakan FTIR metode reflektansi sangat menentukan hasil spektrum vibrasi sampel yang dihasilkan.⁶⁵

3. *Difuse Reflectance Infrared Fourier Transform (DRIFT)* umumnya digunakan untuk pemeriksaan senyawa kimia pada sampel yang berbentuk bubuk dan padat. Melani dkk. memaparkan bahwa ketika sampel ditembus dengan sinar IR, ada dua jenis energi pantulan yang dihasilkan, pantulan specular dan difus. Refleksi specular terjadi pada permukaan sampel dan tidak memiliki interaksi serap dengan sampel, sementara reflektansi difus dihasilkan dari penetrasi ke dalam sampel yang berinteraksi dengan partikel sampel. Reflektansi difus berisi informasi spektral penyerapan IR. Aksesori DRIFT mengoptimalkan pengumpulan energi yang dipantulkan difus sambil meminimalkan energi yang dipantulkan specular.^{61,65,66}



Gambar 11. Alat Perkin Elmer FTIR.⁶¹

2.10 PEMERIKSAAN HISTOLOGI

Mohamad Muntiha menyimpulkan tahap dalam pemeriksaan histologi, yaitu: pembuatan preparat histologi yang akan difiksasi didalam larutan formalin (BNF) 10%. Dilanjutkan dengan pemotongan jaringan lalu diatur di dalam *tissue cassetes*. Setelah itu didehidrasi dan dikeringkan menggunakan mesin, diblok dengan cairan parafin, selanjutnya blok tersebut dipotong 3 - 5 μm dengan mesin mikrotom. Hasil potongan diletakkan di kaca objek. Setelah itu kaca obyek diwarnai secara manual dengan hematoksilin dan eosin. Pewarnaan tersebut akan memberikan keseimbangan warna biru dan merah dengan jelas pada jaringan, sehingga komponen sel dapat diidentifikasi dengan jelas.⁶⁶