

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)
KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTESIS TERHADAP DINAMIKA
JUMLAH OSTEOKLAS DAN OSTEOLAS PADA REGENERASI TULANG
(Penelitian in vivo pada marmut jantan (*Cavia porcellus*))**

TESIS PENELITIAN



DISUSUN OLEH:

NAMA : AFRIANI

NIM : J035192004

PEMBIMBING 1 : Prof. Dr. drg. Mardiana Andi Adam, MS

PEMBIMBING 2 : Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2022

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANI*) KOMBINASI
HIDROKSIAPATIT SINTESIS TERHADAP
DINAMIKA JUMLAH OSTEOKLAS DAN
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG
(PENELITIAN IN VIVO PADA MARMUT JANTAN
(*CAVIA PORCELLUS*))**

TESIS

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

OLEH:
AFRIANI
J035192004

Pembimbing:

1. Prof. Dr. drg. Mardiana Andi Adam, MS
2. Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS., FISDPH.FISPD

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

2022

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI
HIDROKSIAPATIT SINTESIS TERHADAP
DINAMIKA JUMLAH OSTEOKLAS DAN
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG
(PENELITIAN IN VIVO PADA MARMUT JANTAN
(*CAVIA PORCELLUS*))**

OLEH:

AFRIANI

J035192004

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

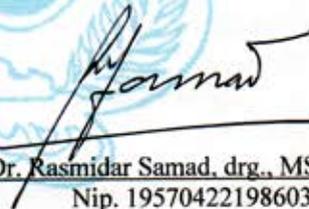
Makassar, 27 Oktober 2022

Pembimbing 1



Prof. Dr. Mardiana Andi Adam, drg.,MS
Nip. 195510211985032001

Pembimbing 2



Prof. Dr. Rasmidar Samad, drg., MS., FISDPH.FISPD
Nip. 195704221986032001

**Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Perindonesia FKG-UNHAS**



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

PENGESAHAN UJIAN TESIS
EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI
HIDROKSIAPATIT SINTESIS TERHADAP
DINAMIKA JUMLAH OSTEOKLAS DAN
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG
(PENELITIAN IN VIVO PADA MARMUT JANTAN
(*CAVIA PORCELLUS*))

OLEH:
AFRIANI
J035192004

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

Makassar, 27 Oktober 2022

Pembimbing 1



Prof. Dr. Mardiana Andi Adam, drg., MS
Nip. 195510211985032001

Pembimbing 2



Prof. Dr. Rasmidar Samad, drg., MS., FISDPH.FISPD
Nip. 195704221986032001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 196410031990022001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Edy Machmud, drg., Sp. Pros (K)
Nip. 196311041994011001

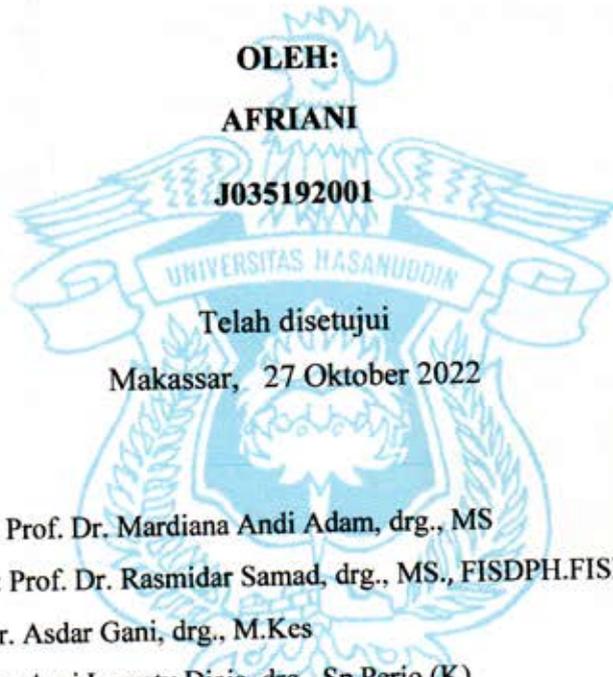
TESIS

**EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS
(*STICHOPUS HERMANII*) KOMBINASI
HIDROKSIPATIT SINTESIS TERHADAP
DINAMIKA JUMLAH OSTEOKLAS DAN
OSTEOBLAS PADA REGENERASI TULANG
(PENELITIAN IN VIVO PADA MARMUT JANTAN
(*CAVIA PORCELLUS*))**

OLEH:

AFRIANI

J035192001



Telah disetujui

Makassar, 27 Oktober 2022

1. Pembimbing I : Prof. Dr. Mardiana Andi Adam, drg., MS
2. Pembimbing II: Prof. Dr. Rasmidar Samad, drg., MS., FISDPH.FISPD
3. Penguji I : Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes
4. Penguji II : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
5. Penguji III: Prof. Dr. Muh. Harun Achmad, drg., M.Kes., Sp.KGA., Subsp.KK (K)

Three handwritten signatures in black ink, corresponding to the names listed in the list of supervisors and examiners.

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPD-GS Periode 2021 FKG-UNHAS


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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Afriani

Stambuk : J035192004

Program studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

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

Makassar, 27 Oktober 2022

Yang menyatakan



Afriani

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala berkah dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir ini 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. Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. Prof. Dr. Edy Machmud, drg., Sp. Pros (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. Prof. Dr. drg. Mardiana A. adam, M.S, sebagai pembimbing pertama tesis yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini
5. Prof. Dr. Rasmidar Samad, drg., MS., FISDPH.FISPD sebagai pembimbing kedua tesis yang telah meluangkan waktunya untuk

membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini

6. Dr. drg. Asdar Gani, M. Kes, DR. drg. Arni Irawaty Djais., Sp. Perio (K), dan Prof. Dr. Muh. Harun Achmad, drg., M.Kes., Sp.KGA., Subsp.KKA (K) sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini
7. Kepada drh. Sri Denyati sebagai tim dokter hewan yang telah membantu selesainya penelitian ini
8. Seluruh staf pengajar pada program pendidikan dokter gigi spesialis yang telah senantiasa memberikan ilmunya.
9. Orang tuaku tercinta (Hj. St. Haniah Djafar dan H. Abd. Razak Hamid Ramli) dan mertuaku tercinta, dengan penuh kesabaran memberikan doa yang doanya merupakan doa tanpa hijab dengan Rabb, dukungan dan motivasi hingga terselesaikannya pendidikan ini.
10. Kakak dan adik-adikku tercinta (fika, rum, mamang, amma, imma, dan iwan) yang telah memberikan doa dan dukungannya selama ini, juga kakak dan adik ipar serta kru Djafar Family.
11. Suamiku dan anak-anakku (Khansa, Nida, dan Adian) tercinta atas pengertian dan kesabarannya untuk selalu mendukung dan memberikan semangat umminya hingga terselesaikan masa pendidikan ini.
12. Kepada teman-teman angkatanku drg. Machirah, drg. Nurfitriah Abd.Fatah, drg. Hatimurni, drg, Febrianty, dan drg. Muthmainnah, yang telah menjadi teman yang baik selama mengarungi proses

pendidikan.

13. Seluruh residen periodonsia SOJU (Sita, Kak Cici, Kak Joy, K Amma, Kak Adha, Dante, dan Firman) Nemesix (Kak Ai, Abel, Ummi, Jelin, Kak Oja, Kak Nanna), Dextra (Tira, Adel, Nurul, Ibri, kak Ditha, K Juli) Phenom (K Ersan, Kiki, Uul, Venda, Ainun, Meilin) dan Phoenix (Haritsa, Iswan, Trysa, Suci, Dira, K Tenrisanna)
14. Seluruh staf dan karyawan bagian periodonsia dan RSGM Halimah dg. Sikati yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama menjalani pendidikan.

Besar harapan penulis, semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang periodontologi.

Makassar, 27 Oktober 2022

Afriani

ABSTRAK

EFEKTIFITAS MATERIAL GEL TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*) KOMBINASI HIDROKSIAPATIT SINTESIS TERHADAP DINAMIKA JUMLAH OSTEOKLAS DAN OSTEOLAS PADA REGENERASI TULANG (Penelitian *in vivo* pada marmut jantan (*Cavia porcellus*))

Pendahuluan: Bahan bonegraft yang tersedia saat ini disamping memiliki manfaat juga memiliki keterbatasan dalam hal biaya dan ketersediaannya, oleh karena itu peneliti melakukan penelitian menggunakan bahan alami berupa Teripang Emas, yang diketahui memiliki kandungan kolagen dan protein tinggi serta sifat osteoinduktif untuk mendukung regenerasi tulang. Sel osteoklas dan osteoblas merupakan sel penanda dalam proses penghancuran dan pembentukan tulang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat efektivitas gel Teripang Emas (*Stichopus Hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA sintetik dalam mempercepat regenerasi tulang, sehingga nantinya dapat digunakan sebagai salah satu alternatif xenografit yang ideal. Manfaat penelitian ini adalah memperkaya ilmu pengetahuan sebagai dasar penelitian selanjutnya, dan meningkatkan perekonomian masyarakat perairan. **Bahan dan Metode:** Proses pembuatan gel Teripang Emas di Laboratorium Biologi FMIPA UNM Makassar, pemeliharaan dan implantasi sampel dilakukan di *Doc Pet Clinic*, Hertasning Makassar dan pemeriksaan imunohistokimia di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Brawijaya, Malang. Penelitian menggunakan sampel 30 ekor marmut yang terdiri dari 2 waktu pengamatan yaitu hari ke 14 dan hari ke 21 setelah tahap implantasi. Marmut dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Masing-masing 5 ekor marmut dalam satu perlakuan dan dalam satu waktu pengamatan. Dibuat defek pada salah satu femur marmut menggunakan bur diamond dengan diameter dan kedalaman ukuran kavitas 3 mm, defek pertama pada marmut diisi dengan bahan gel kombinasi Teripang Emas dan HA sintetik (TE-HA). Defek kedua diisi dengan bahan bonegraft paten (BATAN), dan defek ketiga marmut diisi dengan gel placebo. Kemudian defek ditutup kembali, dan dilakukan penjahitan. Dilanjutkan dengan pemberian antibiotik dan analgesik. Pengambilan blok tulang dilakukan pada hari ke 14 dan 21 setelah proses implantasi, yang selanjutnya dilakukan Analisa histologi di Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Malang. **Hasil:** Kombinasi gel teripang emas dan hidroksiapatit sintesis dapat menurunkan jumlah osteoklas dan menaikkan jumlah osteoblas pada hari 14 dan 21 dan tidak terdapat perbedaan bermakna penurunan jumlah osteoklas dan peningkatan jumlah osteoblas antara kelompok aplikasi gel teripang-HA dibandingkan dengan kelompok aplikasi bonegraft BATAN dalam regenerasi tulang. **Kesimpulan:** Kombinasi gel teripang emas dan HA sintetik memiliki sifat dan keunggulan yang hampir sama dengan bonegraft paten. **Kata Kunci :** Osteoklas, osteoblas, regenerasi tulang, teripang emas.

ABSTRACT

EFFECTIVENESS OF GOLD MATERIALS (*Stichopus hermanii*) GOLD COMBINATION OF SYNTHETIC HYDROXYPATITE ON THE DYNAMICS OF THE NUMBER OF Osteoclasts and Osteoblasts IN BONE REGENERATION (In vivo study on male guinea pigs (*Cavia porcellus*))

Introduction: Bonegraft material that currently has benefits also has limitations in terms of cost and availability, therefore researchers conducted research using natural ingredients such as Golden Sea Cucumber, which is known to have high collagen and protein content and osteoinductive properties to support bone regeneration. Osteoclasts and osteoblasts are marker cells in the process of bone formation and formation. The purpose of this study was to see the effectiveness of the Golden Sea Cucumber (*Stichopus Hermanii*) gel combined with synthetic HA in accelerating bone regeneration, so that it will be used as an ideal xenograft alternative. The benefits of this research are science as a basis for research, and improve the economy of the aquatic community. **Materials and Methods:** The process of making gold sea cucumber gel at the Biology Laboratory of FMIPA UNM Makassar, maintenance and implantation of samples was carried out at Doc Pet Clinic, Hertasning Makassar and immunohistochemical examination at the Biochemistry Laboratory, Faculty of Medicine, Brawijaya, Malang. The study used a sample of 30 guinea pigs consisting of 2 observations, namely day 14 and day 21 after the implantation stage. The guinea pigs were divided into 3 treatment groups. Each 5 guinea pigs in one treatment and in one observation time. A defect was made in one of the guinea pig's femurs using a diamond bur with a diameter and depth of the cavity size of 3 mm, the first defect in the guinea pig was filled with a combination gel material of Golden Sea Cucumber and synthetic HA (TE-HA). The second defect was filled with patent bone graft material (BATAN), and the third defect was filled with placebo gel. Then the defect is closed again, and suturing is done. Followed by antibiotics and analgesics. Bone block removal was carried out on days 14 and 21 after the implantation process, which was then carried out for histological analysis at the Biochemistry-Biomolecular Laboratory, Faculty of Medicine, Brawijaya University, Malang. **Results:** The combination of gold sea cucumber gel and synthetic hydroxyapatite can reduce the number of osteoclasts and increase the number of osteoblasts on days 14 and 21 and there is no significant difference in the decrease in the number of osteoclasts and an increase in the number of osteoblasts between the group using the sea cucumber-HA gel application compared to the group using the BATAN bonegraft in regeneration. Bone. **Conclusion:** The combination of golden sea cucumber gel and synthetic HA has properties and advantages that are almost the same as patent bonegraft.

Keywords: Osteoclasts, osteoblasts, bone regeneration, golden sea cucumbers.

DAFTAR ISI

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.4 Manfaat Penelitian	11

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis dan Perawatan Regeneratif	12
2.2 Struktur Jaringan Tulang	14
2.3 Proses Remodeling Tulang	16
2.4 Dinamika Osteoklas dan Osteoblas dalam Remodeling Tulang	21
2.5 Teripang Emas (<i>Stichopus Hermanii</i>)	25
2.6 Hidroksiapatit	26

BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA

3.1 Kerangka Teori	33
3.2 Kerangka Konsep	34
3.3 Hipotesa	35

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	36
4.2 Prosedur Penelitian	36
4.2.1 Persiapan penelitian	36
4.2.2 Pelaksanaan Penelitian	39
4.2.3 Waktu Penelitian	42
4.3. Sampel Penelitian	42
4.3.1 Jenis Sampel	42
4.3.2 Karakteristik Hewan Percobaan.....	42
4.3.3 Kriteria Sampel Penelitian	42
4.3.4 Jumlah Sampel	42
4.4. Alat dan Bahan Penelitian	44
4.4.1 Alat Penelitian	44
4.4.2 Bahan Penelitian	45
4.5 Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional.....	46
4.5.1 Variabel Penelitian	46

4.5.2 Defenisi Operasional	46
4.6 Prosedur Penelitian	46
4.6.1 Pemeliharaan Hewan Coba	46
4.6.2 Persiapan sediaan Gel Teripang Emas (<i>Stichopus hermanii</i>)	
4.6.3 Proses implantasi	45
4.6.4 Pengambilan jaringan tulang	46
4.6.5 Pemeriksaan Histologi	47
4.7 Analisis Data	47
4.8 Etik Penelitian	48
4.9 Alur Penelitian	49
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil	50
5.2 Pembahasan	61
BAB VI PENUTUP	
6.1 Simpulan	70
6.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 : Proses remodeling tulang	20
Gambar 2 : Peran osteoblas dan steoklas dalam remodeling tulang ...	20
Gambar 3 : Osteoklastogenesis dan osteoblastogenesis.....	22
Gambar 4 : Mediator kunci dalam interaksi osteoklas dan osteoblas...	23
Gambar 5 : Gambaran histologi osteoklas dan osteoblas	24
Gambar 6: Grafik Perbandingan nilai rerata osteoklas pada kelompok P (teripang-HA) dan kelompok K+ berdasarkan hari pengamatan	52
Gambar 7 : Grafik Perbandingan nilai rerata osteoblas pada kelompok P (teripang-HA) dan kelompok K+, berdasarkan hari pengamatan	52
Gambar 8 : Gambaran histologi osteoklas dan osteoblas pada pembesaran 1000x	
Gambar 9 : Grafik Perbandingan nilai rerata osteoklas baseline dengan kelompok P (teripang-HA) dan kelompok K+ berdasarkan hari pengamatan	53 54
Gambar 10:Grafik Perbandingan nilai rerata osteoblas baseline dengan kelompok P (teripang-HA) dan kelompok K+ berdasarkan hari pengamatan	55
Gambar 11: Grafik Perbandingan nilai rerata osteoklas dan osteoblas antar lama pengamatan berdasarkan kelompok	57
Gambar 12: Grafik dinamika nilai rerata osteoklas dan osteoblas kedua kelompok perlakuan (teripang-HA dan Kontrol Positif) berdasarkan hari pengamatan	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1 : Perbandingan rerata dan simpang baku jumlah osteoklas dan osteoblas antar kelompok perlakuan pada hari ke 0 (baseline), 14 dan 21	51
Tabel 2 : Perbandingan osteoklas baseline dengan Perlakuan dan Kontrol Positif pada hari ke 14 dan 21	54
Tabel 3 : Perbandingan osteoblas baseline dengan Perlakuan dan Kontrol Positif pada hari ke 14 dan 21	55
Tabel 4 : Perbandingan osteoklas dan osteoblas antar lama pengamatan berdasarkan kelompok	56
Tabel 5 : Perbandingan Osteoklas dan Osteoblas antar kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lembar etik penelitian
Persiapan pembuatan gel teripang emas
Pembuatan Bone graft di Lab UNM
Hasil Analisa Kandungan senyawa bahan setelah diolah dengan Analisa XRF
Adaptasi Hewan
Perlakuan pada hewan coba
Pengambilan jaringan tulang
Pembuatan Slide
Pemeriksaan Histologi
Hasil Analisa data IBM SPSS Statistic versi 26

DAFTAR SINGKATAN

OC	:	Osteoclast
OB	:	Osteoblast
IGF	:	Insulin Growth Factor
TGF- β	:	Transforming Growth Factor
FGF	:	Fibroblas Growth Factor
EGF	:	Epidermal Growth Factor
WNTs	:	Wingless And Int-1
CaCO ₃	:	Calcium Carbonat
CaO	:	Calcium Oxide
WSM	:	Water Soluble Matrix
β -TCP	:	β -tricalcium phosphate
ALP	:	Alkaline Phosphatase
BSP	:	Bone Sialoprotein
OC	:	Osteocalcin
CEJ	:	Cemento Enamel Junction
AC	:	Alveolar Crest
RGD	:	Arg-Gly-Asp.
PDGF	:	Platelet-Derived Growth Factor
AAC	:	Amorphous Calcium Carbonat
MSC	:	Mesenchymal Stem Cells
M-CSF	:	Macrophage colony-stimulating factor
RANKL	:	Receptor activator of NFkB ligand
RANK	:	Receptor activator of NFkB
OPG	:	Osteoprotegerin
TNF α	:	Tumor Necrosis Factor α
IL-1:	:	Interleukin 1
IL-6	:	Interleukin 6
IL-11	:	Interleukin 11
IL-25	:	Interleukin 25
VEGF	:	Vascular Endothelial Growth Factor
ECM	:	Ekstraselular matriks
NFkB	:	Receptor activator kappa B
FFB	:	Fresh frozen bone
FDBA	:	Freeze Dried Bone
DFDBA	:	Demineralized freeze-dried bone allograft
DFDBBX	:	Demineralized Freeze-Dried Bovine Bone Xenograft
DBBM	:	Deproteinized bovine bone mineral
WSM	:	Water soluble matrix
MC3T3-E1	:	The murine calvarial pre-osteoblasts cell line
BOSIR	:	Bone Ocular Spherical Implant Radiasi
FDBX	:	Freeze-Dried Bone Xenograft steril radiasi
FDBX-chip	:	Freeze-Dried Bone Allograft Steril Radiasi
ALS-Steril	:	Amnion Liofilisasi steril Radiasi
GRC	:	Glassfibre Reinforced Concrete
AAS	:	Atomic Absorption Spectrophotometry

FTIR : Fourier Transform Infra Red
XRF : X-Ray Fluorescence
XRD : X-Ray Diffraction
PBS : Phosphate Buffer Saline

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hasil laporan nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2018 mengenai kesehatan gigi dan mulut, menunjukkan bahwa gusi bengkak/abses adalah sebesar 14%, gusi mudah berdarah saat menyikat gigi 13,9%, gigi hilang karena dicabut atau tanggal sendiri 48,1%, persentase masyarakat Indonesia yang mendapatkan perawatan gusi/periodontal adalah hanya 0,4%, persentase masyarakat yang mendapatkan pelayanan kesehatan gigi dari dokter gigi spesialis adalah hanya 0,2%. Dari data ini menunjukkan bahwa masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih perlu menjadi perhatian dalam bidang kesehatan. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Pasarelli, dkk, mengenai alasan pencabutan gigi pada orang dewasa disimpulkan bahwa penyebab utama kehilangan gigi adalah karies gigi dan penyakit periodontal (karies 52,2% dan penyakit periodontal 35,7%), hanya 6,9% karena masalah endodontik, 2,9% karena indikasi prostetik dan 2,3% oleh karena kegagalan perawatan sebelumnya.^{1,2}

Kehilangan gigi dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain pencabutan gigi baik disebabkan oleh karies, kerusakan jaringan periodontal sehingga gigi geligi goyang (periodontitis), dan penyakit keganasan maupun akibat trauma kecelakaan. Kehilangan gigi geligi 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.^{3,4}

Periodontitis adalah penyakit inflamasi progresif penyebab patogenik utama kehilangan gigi, menyebabkan kerusakan ligamentum periodontal dan tulang alveolar. Tujuan utama dari perawatan periodontal adalah mengembalikan kesehatan dan fungsi gigi asli menjadi nyaman. 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.^{5,6,7}

Penelitian untuk mengembangkan berbagai bahan graft sintetis terus dilakukan oleh para ahli. Kemajuan yang sangat besar di bidang ilmu biomaterial, pengurangan resiko penularan penyakit, morbiditas serta biaya mendorong para ahli untuk menemukan bahan graft alternatif yakni alloplast. Keuntungan dari alloplast adalah tidak adanya sifat antigenik, tidak ada potensi penularan penyakit, ketersediaan yang tidak terbatas, bersifat osteokonduktif, membentuk dukungan struktural dalam bentuk kekuatan tekan. Berdasarkan adanya kelebihan dan kekurangan bonegraf, maka saat ini dikembangkan berbagai bahan bonegraft yang berasal dari bahan alami, salah satunya adalah teripang emas (*Stichopus hermanii*).⁸

Indonesia adalah negara perairan dan mengandung banyak kekayaan laut salah satunya adalah teripang emas (*Stichopus*

hermanii), merupakan hewan laut yang memiliki khasiat yang sangat tinggi dalam pengobatan berbagai jenis penyakit dengan nilai ekonomi yang juga tinggi. Teripang emas kaya akan *growth factor* sehingga dapat memperbaiki sel-sel rusak dan mempunyai kandungan kolagen yang tinggi sehingga baik dalam melakukan regenerasi sel-sel.⁹

Teripang emas merupakan salah satu bahan *alloplast*, mempunyai kandungan bahan aktif dan sifat terapeutik yang potensial seperti triterpene glikosida, karotenoid, peptide bioaktif, asam lemak, kolagen, gelatin, kondroitin sulfat, vitamin, asam amino, asam lemak esensial, asam docosahexanoat, 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.¹⁰

Teripang mengandung kolagen 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.¹⁰

Seiring berkembangnya teknologi material, telah ditemukan hidroksiapatit yang strukturnya hampir sama dengan struktur tulang manusia. Hidroksiapatit (HA) termasuk kelompok apatit yang paling banyak digunakan dibidang medis karena memiliki sifat biokompatibel dan osteokonduktif. Hidroksiapatit (HA) memiliki rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang mempunyai ikatan mineral stabilitas dan memiliki kemiripan struktur kristal pada jaringan tulang manusia. Selain itu, HA juga bersifat bioaktif, biokompatibel, dan osteo-konduktif sehingga dapat menyatu dengan tulang (*bone integration*) dan dapat mempercepat regenerasi tulang (*bone regeneration*) yang senantiasa dibutuhkan dalam proses penyembuhan trauma tulang. 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. Sintesis hidroksiapatit menggunakan bahan sintetik dapat menggunakan CaO , CaCl_2 , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, dan CaCO_3 . Sintesis hidroksiapatit menggunakan bahan alami lebih baik karena bahan tersebut dapat meningkatkan sifat bioaktif, osteokonduktif, dan biokompatibel. Pemilihan bahan alami pada sintesis hidroksiapatit didasarkan pada besarnya kadar kalsium. Cangkang telur memiliki kadar kalsium

yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai prekursor dalam sintesis hidroksiapatit. Cangkang telur terdiri dari kalsium karbonat (CaCO_3), kalsium fosfat (CaPO_4), magnesium karbonat (MgCO_3), dan magnesium fosfat (MgPO_4). Cangkang telur ayam mengandung kalsium 71,11%. Hidroksiapatit memiliki kekurangan bersifat rapuh, tidak bersifat osteoinduktif, sifat mekanik rendah dan ketidakstabilan struktur pada saat bercampur dengan cairan tubuh atau darah pasien, oleh karena itu dibutuhkan kombinasi hidroksiapatit dengan bahan lain dalam penggunaannya.⁹

Kandungan teripang emas yang terdiri dari 80% protein dan terbukti memiliki efek antiinflamasi dan anti bakteri serta kandungan Hidroksiapatit yang terdiri dari 70% mineral dan kalsium yang sangat bermanfaat dalam homeostasis kalsium pada proses remodeling tulang. Oleh karena kandungan kedua bahan tersebut, maka kombinasi kedua bahan ini dianggap sangat bermanfaat pada penyembuhan jaringan sehingga dianggap berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan bonegraft.^{9,10}

Graft adalah suatu bagian jaringan yang diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama maupun yang berlainan. Tujuannya adalah untuk memperbaiki suatu defek yang disebabkan oleh penyakit, kecelakaan, atau anomali pertumbuhan dan perkembangan. Pada rongga mulut, defisit tulang rahang sering dikaitkan dengan kecelakaan (lalu lintas, pekerjaan, olahraga, penembakan), operasi pengangkatan lesi jinak (kista, tumor gigi) atau neoplasma ganas,

kelainan bawaan seperti sumbing atau tulang tengkorak visceral hipoplasia, inflamasi periodontal, abses atau pencabutan gigi dan akhirnya atrofi rahang karena bertambahnya usia atau penyakit umum. Bone graft adalah pilihan yang banyak digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang periodontal. ¹¹⁻¹⁶

Bonegraft adalah bahan yang digunakan sebagai pengisi atau pengganti tulang yang dapat membantu dalam proses penyembuhan tulang. Fungsi bone graft secara garis besar terhadap tulang resipien yaitu mendorong terjadinya osteogenesis (pembentukan tulang) dan memberi dukungan mekanis pada kerangka resipien (*mechanical support*). Terapi regeneratif pada penyakit periodontal dengan menggunakan bone graft untuk menggantikan kerusakan tulang dapat diperoleh dari bahan alami (autograft, allograft, xenograft) dan sintetis (alloplast).¹⁷

Autograft adalah graft yang berasal dari donor sendiri yang dipindahkan dari satu tempat ke tempat lainnya dalam tubuh sendiri. Secara fisiologis paling unggul dan telah diterima luas sebagai *gold standart* karena memiliki sifat-sifat osteokonduktif osteoinduktif dan osteogenesis, namun mempunyai beberapa kekurangan yakni jumlahnya terbatas, sulit mengambil material graft, meningkatkan resiko infeksi, meningkatkan resiko kehilangan darah dan menambah waktu anestesi, menyebabkan morbiditas serta kemungkinan resorpsi akar pada daerah donor. Xenograft (xenogenik) adalah bahan graft yang diambil dari spesies yang berbeda, biasanya berasal dari lembu atau babi, untuk digunakan

pada manusia. Graft hidroksilapatit yang berasal dari tulang lembu dibuat melalui proses kimia (Bio-Oss) atau pemanasan tinggi. Salah satu kekurangan dari xenograft adalah kemungkinan adanya resiko penyebaran penyakit antar spesies, tidak dapat menghasilkan sel-sel hidup dalam proses osteogenesis.⁸

Allograft adalah jaringan yang ditransplantasikan dari seseorang kepada yang lain baik dalam spesies yang sama maupun berbeda, meskipun allograft mungkin memiliki kemampuan menginduksi regenerasi tulang, bahan ini juga dapat membangkitkan respons jaringan yang merugikan dan respons penolakan hospes, kecuali diproses secara khusus. Keuntungan menggunakan allograft dibandingkan autograft adalah pasien tidak perlu mengalami luka bedah tambahan untuk pengambilan donor dari tubuhnya sendiri sementara potensi perbaikan tulangnya tetap sama. Kekurangan allograft adalah resiko terjadinya transmisi penyakit, teknik allograft yang menggunakan tulang mayat memiliki masalah dalam reaksi imunogenik dan resiko penyakit menular (AIDS dan hepatitis), tidak bersifat osteogenik dan penolakan sistem imun.⁸

Tulang mengalami *modelling* dan *remodelling* untuk tumbuh atau berubah bentuk dalam kehidupan. *Modelling* adalah proses dimana tulang berubah bentuk atau ukuran sebagai respon terhadap pengaruh fisiologis atau kekuatan mekanik yang dialami oleh rangka, sementara *remodelling* tulang terjadi dengan tujuan dapat mempertahankan kekuatannya dan homeostasis mineral. Proses

yang dominan di masa kanak-kanak adalah *modelling* tulang, sedangkan di masa dewasa *remodelling* tulang mendominasi. Sel-sel primer yang menentukan pembentukan tulang dan remodeling adalah osteoblas, osteoklas, dan osteosit. 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.¹¹⁻¹⁴

Selama ini dianggap bahwa sel osteoblas adalah sel dominan yang mengatur remodeling tulang, namun sel-sel osteoklastik memainkan peran penting dalam regulasi osteoblas dan sel-sel lain dalam lingkungan mikro tulang, dalam proses *remodelling* tulang, regenerasi tulang ditandai dengan berkurangnya jumlah sel osteoklas dan meningkatnya jumlah sel osteoblas.¹⁸

Penelitian mengenai kombinasi teripang emas dengan hidroksiapatit telah dilakukan. Wahyuningtyas, dkk pada tahun 2018 melakukan penelitian mengkombinasikan kolagen dari teripang emas dengan HA, dan menyatakan bahwa kombinasi antara kolagen dari teripang emas dan HA dapat meningkatkan pembentukan osteoblas sehingga meningkatkan kecepatan penyembuhan tulang dan kombinasi bahan ini merupakan biomaterial yang menjanjikan untuk aplikasi biomedis remodeling tulang.¹⁹⁻²⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Sari dan Kurniawan 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.²¹ Mardiana Adam, dkk²² meneliti pengaruh pemberian *deproteinized* teripang terhadap peningkatan ekspresi osteokalsin dan jumlah osteoblas, dan menyimpulkan bahwa *deproteinized* teripang efektif dalam meningkatkan ekspresi osteokalsin dan jumlah osteoblas. Safina, dkk melakukan penelitian mengenai efektifitas kombinasi terapi oksigen hiperbarik dan gel teripang emas terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada tikus yang diinduksi bakteri *Phorpyromonas gingivalis*, menyimpulkan bahwa terdapat peningkatan jumlah osteoblas yang bermakna pada kelompok uji.²³

Sel osteoklas dan osteoblas merupakan sel yang berperan dalam proses remodeling tulang dimana sel osteoklas berperan dalam proses penghancuran tulang sedangkan sel osteoblas berperan dalam proses pembentukan tulang, oleh karena itu maka dalam suatu penelitian, penurunan jumlah osteoklas dianggap merupakan keberhasilan suatu bahan dalam menghambat proses resorpsi dan peningkatan jumlah osteoblas dianggap merupakan keberhasilan suatu bahan dalam menstimulasi proses formasi (pembentukan sel-sel tulang). Penelitian menggunakan bahan teripang emas telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Penelitian-penelitian yang menggunakan bahan teripang emas belum menilai secara spesifik efek teripang terhadap biomarker tulang dan belum ada penelitian mengenai efek teripang emas yang dikombinasikan

dengan hidroksiapatit terhadap dinamika jumlah osteoklas dan osteoblas. Dengan beberapa alasan ini maka peneliti tertarik melakukan penelitian dengan mengkombinasikan bahan hidroksiapatit sintesis dan teripang emas yang diolah menjadi gel teripang emas sebagai bonegraft, yang kemudian melihat pengaruhnya terhadap dinamika jumlah osteoklas dan osteoblas pada proses regenerasi tulang sehingga diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan dalam pemilihan bahan alami sebagai bahan bonegraft dalam regenerasi tulang.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimanakah dinamika rasio pembentukan sel osteoklas dan osteoblas pada remodeling tulang setelah diberikan gel teripang emas (*Stichopus hermanii*) kombinasi hidroksiapatit sintesis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Untuk melihat efektifitas gel teripang emas (*Stichopus hermanii*) kombinasi hidroksiapatit sintesis dalam mempengaruhi dinamika osteoklas dan osteoblas pada regenerasi tulang.

Tujuan Khusus

1. Mengetahui jumlah osteoklas dan osteoblas sebelum dan sesudah aplikasi gel Teripang Emas yang dikombinasikan dengan HA sintetik (P) dan bonegraft BATAN sebagai kontrol positif (K+) pada regenerasi tulang
2. Mengetahui perbedaan jumlah osteoklas dan osteoblas sebelum dan sesudah aplikasi gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA sintetik (P) dan aplikasi Bonegraft BATAN (K+) pada regenerasi tulang
3. Melihat dinamika jumlah osteoklas dan osteoblas pada kelompok aplikasi gel Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) yang dikombinasikan dengan HA sintetik (P) dan aplikasi Bonegraft BATAN (K+) pada regenerasi tulang

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat dalam bidang klinis adalah sebagai bahan alternatif yang dapat digunakan pada perawatan regenerasi jaringan periodontal khususnya sebagai bahan cangkok tulang
2. Manfaat dalam bidang pengembangan ilmu pengetahuan adalah menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi teripang emas pada bidang periodonsia sehingga timbul motivasi untuk mengembangkan bahan alami ini dalam bidang regenerasi jaringan.
3. Memotivasi masyarakat untuk membudidayakan bahan alami teripang emas sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan ekonomi dan kesehatan masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis dan Regeneratif Periodontal

Periodontitis adalah penyakit inflamasi progresif penyebab patogenik utama kehilangan gigi dan menyebabkan kerusakan ligamentum periodontal dan tulang alveolar dengan pembentukan poket. Tujuan utama dari perawatan periodontal adalah mengembalikan kesehatan dan fungsi gigi asli menjadi nyaman. Terdapat beberapa pilihan perawatan, tetapi hanya sedikit yang dapat dianggap sebagai prosedur yang regeneratif.²³

Terapi periodontal regeneratif sampai saat ini hanya dapat memulihkan sebagian kecil dari volume jaringan asli. Dengan demikian, restorasi periodontal secara keseluruhan masih dapat dianggap sebagai hal yang tidak memungkinkan. Beberapa penelitian telah mencoba menggunakan molekul yang aktif secara biologis untuk mendapatkan regenerasi periodontal. Di antara molekul ini adalah: *extracellular matrix proteins* dan *cell-attachment factors*; mediator metabolisme dan aktivitas sel; dan *growth/differentiation factors*. Banyak *growth factor*, baik sendiri maupun kombinasi, telah diuji untuk regenerasi periodontal pada hewan percobaan. Diantaranya adalah *insulin-like growth factors*, *fibroblast growth factors*, *epidermal growth factor*, *platelet-derived growth factors (PDGF)*, *vascular endothelial growth factor*, *parathyroid hormone*, *transforming growth factor- β (TGF- β)* and

bone morphogenetic proteins. ^{24,25}

Peningkatan ilmu pengetahuan saat ini dalam bidang regenerasi jaringan semakin meningkat. Defek pada tubuh yang disebabkan oleh penyakit, kecelakaan, atau anomali pertumbuhan dan perkembangan dapat diterapi dengan menggunakan graft, yakni suatu bagian jaringan yang diambil dari satu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama maupun yang berlainan. Pada rongga mulut, defisit tulang rahang sering dikaitkan dengan kecelakaan (lalu lintas, pekerjaan, olahraga, penembakan), operasi pengangkatan lesi jinak (kista, tumor gigi) atau neoplasma ganas, kelainan bawaan seperti sumbing atau tulang tengkorak visceral hipoplasia, inflamasi periodontal, abses atau pencabutan gigi dan akhirnya atrofi rahang karena bertambahnya usia atau penyakit umum.^{15,16}

Meningkatnya penyakit gigi dan mulut khususnya bagian periodontal mendorong dikembangkannya berbagai teknologi salah satunya adalah bonegraft yang merupakan banyak digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang periodontal. Bone graft adalah prosedur pembedahan yang menggantikan tulang yang hilang dengan bahan dari tubuh pasien sendiri, buatan, sintetis, atau pengganti alami. Bone graft dimungkinkan karena jaringan tulang memiliki kemampuan untuk regenerasi sepenuhnya jika disediakan ruang yang harus tumbuh. Saat tulang alami tumbuh, umumnya akan diganti bahan graft

sepenuhnya, menghasilkan wilayah yang sepenuhnya terintegrasi tulang baru. Dengan graft tulang diharapkan ada perbaikan klinis pada tulang periodontal, hal ini lebih baik bila dibandingkan dengan cara bedah pembersihan biasa tanpa penambahan bahan graft.²⁶

2.2 Struktur Jaringan Tulang

Jaringan 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.²⁵

Tulang disusun oleh 4 jenis sel tulang, yaitu:

A. *Bone lining cell*

Bone lining cell merupakan lapisan sel pipih dan memanjang yang melapisi permukaan tulang ketika permukaan tulang tidak dalam fase formatif atau resorptif, 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).^{27,28}

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

C. Osteosit (sel tulang utama)

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.²⁹

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 granulotik 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*.²⁷

2.3 Proses Remodeling Tulang

Remodeling tulang adalah proses yang terjadi secara kontinyu dimana tulang lama akan diresorpsi dan tulang baru akan dibentuk. Proses remodeling mengontrol pembentukan kembali atau penggantian tulang selama pertumbuhan tulang. 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.^{30,31}

Tahapan remodeling tulang pada keadaan normal antara lain :

1. Tahap aktivasi (*activation phase*)

adalah tahap interaksi antara 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.²⁹

2. 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- κ B Ligand (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.³²

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*.³³

3. Tahap reversal (*reversal phase*)

Pada akhir proses resorpsi tulang, pada rongga hasil resorpsi akan dipenuhi oleh sel mononuklear, termasuk monosit, osteosit yang dilepaskan dari matriks tulang, dan preosteoblas yang direkrut untuk memulai pembentukan tulang baru. 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.²⁹

Sejumlah faktor pensinyalan kimia parakrin dan autokrin terlibat dalam remodeling, resorpsi, proliferasi, dan *coupling*. Faktor *coupling* dilepaskan dari protein pengikatnya selama resorpsi oleh lingkungan

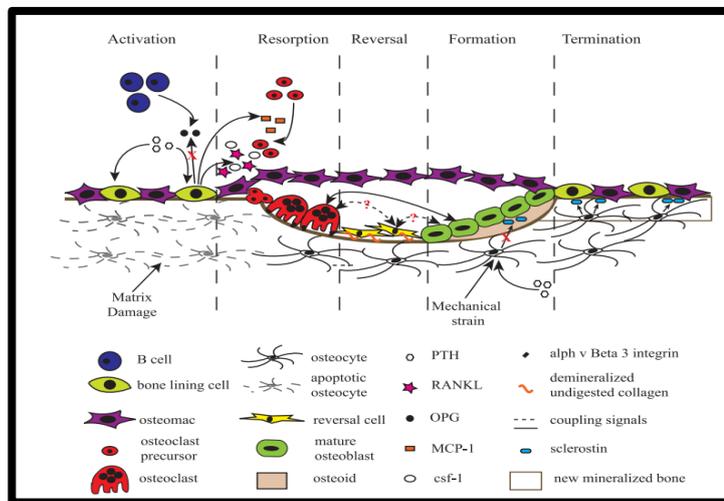
asam yang diciptakan oleh osteoklas, dan selanjutnya menghambat resorpsi melalui umpan balik negatif, menekan pembentukan osteoklas dan menstimulasi osteoblastogenesis. Dengan demikian, dalam serangkaian peristiwa aktivasi sel autoregulasi yang dikendalikan secara lokal, fase resorptif osteoklastik sepuluh 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.²⁹

4. Tahap formasi (*formation phase*)

Adalah tahap pada waktu terjadi proliferasi dan diferensiasi prekursor osteoblas yang dilanjutkan dengan pembentukan matriks tulang yang baru dan akan mengalami mineralisasi. 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.²⁹

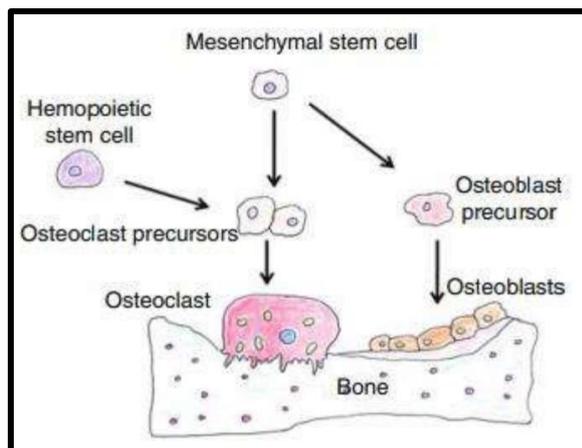
Protein matriks tulang nonkolagen berperan penting dalam mineralisasi matriks, adhesi seluler, dan regulasi aktivitas sel selama pembentukan dan resorpsi tulang. Osteocalcin, salah satu protein yang paling melimpah, memiliki peran vital dalam mineralisasi, dapat bertindak sebagai chemoattractant, dan 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.²⁹



Gambar 1. Proses remodeling tulang

(Sumber: 1. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. J Biol Chem. 2010;285(33):25103–8.)

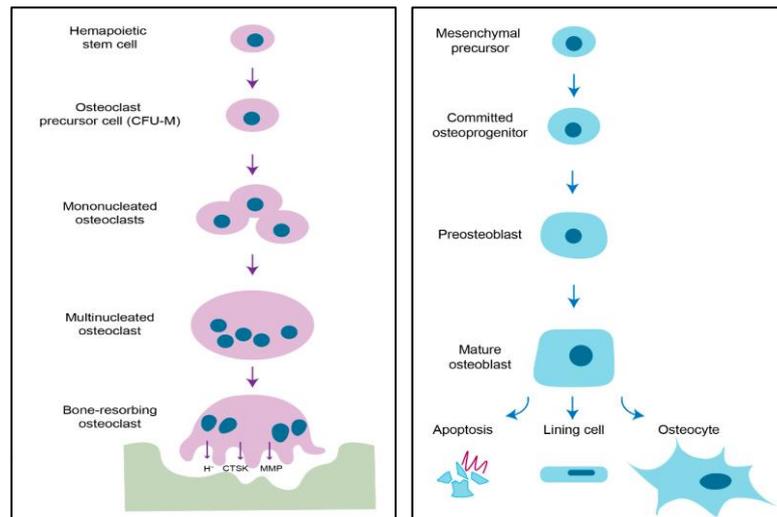


Gambar 2. Peran osteoblast dan osteoklas dalam remodeling tulang
(Usha Kini & Nandeesh,2012)

2.4 Dinamika Osteoklas dan osteoblas dalam remodelling tulang

Tulang adalah jaringan dinamis yang mengalami remodeling terus menerus sepanjang hidup, memberikan dukungan mekanis untuk pergerakan dan melindungi organ vital seperti sumsum tulang dan otak. Tulang juga berfungsi sebagai reservoir kalsium dan fosfat. Remodeling terus menerus diperlukan untuk mempertahankan kedua fungsi penting ini dengan mencegah akumulasi kerusakan tulang dan mempertahankan kekuatan mekanik tulang dan homeostasis kalsium.²⁹

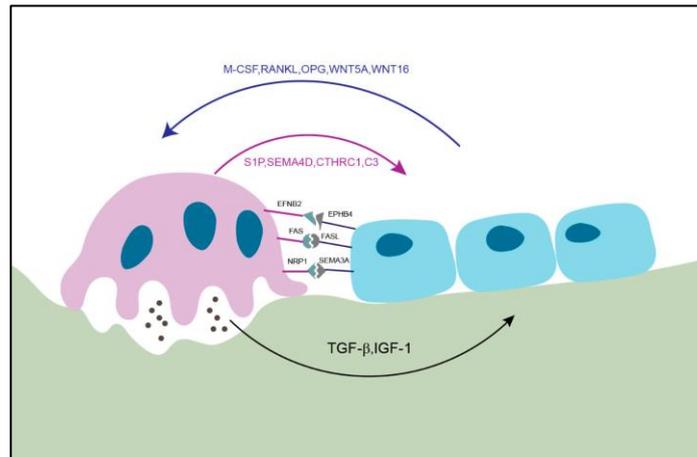
Remodeling tulang adalah proses dimana tulang tua atau rusak dihilangkan oleh osteoklas dan diganti dengan tulang baru yang dibentuk oleh osteoblas. Osteoklas, sel penyerap tulang, berasal dari sel punca hematopoietik (HSC) dan mendegradasi tulang melalui sekresi asam dan enzim proteolitik, seperti cathepsin K (CTSK), yang melarutkan kolagen dan protein matriks lainnya selama resorpsi tulang. Osteoblas, sel pembentuk tulang, muncul dari ikatan prekursor mesenkim dengan garis turunan osteoprogenitor melalui aksi berurutan dari faktor transkripsi dan akhirnya berdiferensiasi menjadi osteosit. Osteoblas menghasilkan protein ekstraseluler, termasuk osteocalcin, alkaline phosphatase dan kolagen tipe I, yang terakhir membentuk lebih dari 90% protein matriks tulang. Matriks ekstraseluler pertama-tama disekresikan sebagai osteoid yang tidak termineralisasi dan selanjutnya termineralisasi melalui akumulasi kalsium fosfat dalam bentuk hidroksiapatit. Strategi berurutan osteoklastogenesis dan osteoblastogenesis ditunjukkan pada gambar berikut :^{28,29}



Gambar 3. A. Osteoklastogenesis. B. Osteoblastogenesis

Sumber : Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells*. 2020;9(9):1–14.

Remodeling tulang secara tradisional dianggap terdiri dari empat fase berurutan yaitu fase aktivasi ketika progenitor osteoklas direkrut ke permukaan tulang yang rusak; fase resorpsi ketika osteoklas dewasa menyerap tulang yang rusak; fase pembalikan ketika osteoklas mati dan progenitor osteoblas direkrut; fase pembentukan ketika osteoblas matang menghasilkan matriks tulang baru (osteoid) dan matriks ini termineralisasi. Hampir semua pembentukan tulang baru diamati di daerah dengan resorpsi sebelumnya dan dalam struktur anatomi yang berbeda yang disebut unit multiseluler dasar (BMUs). Keseimbangan antara pembentukan tulang yang dimediasi oleh osteoblas dan resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas diatur secara ketat tanpa perubahan besar dalam massa tulang bersih atau kekuatan mekanik di bawah kondisi homeostatis.²⁹



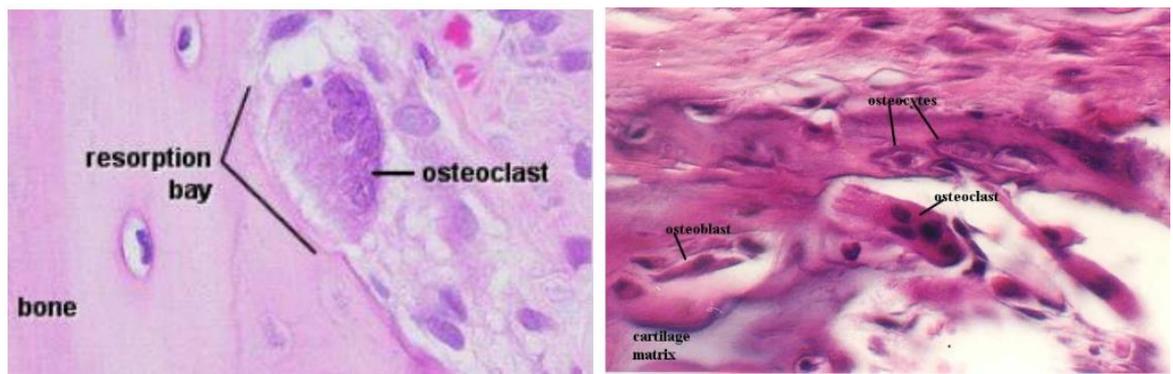
Gambar 4. Mediator kunci dalam interaksi osteoklas-osteoblas
 Sumber : Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells*. 2020;9(9):1–14

Komunikasi osteoblas-osteoklas penting untuk penyesuaian remodeling tulang selama homeostasis tulang. Osteoblas dan osteoklas memiliki kontak langsung melalui interaksi antara EFN2-EPHB4, FAS-FASL dan NRP1-SEMA3A untuk mengatur proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel. Resorpsi tulang yang dimediasi osteoklas melepaskan TGF- β dan IGF-1 dari matriks tulang untuk menginduksi pembentukan tulang yang dimediasi oleh osteoblas. Osteoblas mensekresi M-CSF, RANKL, WNT5A yang mendorong pembentukan dan perkembangan osteoklas dan OPG dan WNT16 yang menghambat aktivitas osteoklas. Sebaliknya, osteoklas mensekresi S1P, CTHRC1 dan C3 yang mendorong diferensiasi osteoblas dan SEMA4D yang menekan diferensiasi osteoblast (Gambar 4)

Osteoklas adalah sel besar berinti banyak dengan kemampuan untuk mendegradasi jaringan tulang dengan mensekresikan, cathepsin

K (CtsK) dan matriks metaloproteinase (MMPs) di daerah resorpsi. Sel ini berasal dari hematopoietic stem cell yang merupakan prekursor monosit/makrofag yang kaya dengan enzim lisosom yang meliputi tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). Osteoklas berperan pada proses resorpsi tulang dan selama proses resorpsi, ion hidrogen yang dibentuk dari carbonic anhydrase memasuki membran plasma untuk melarutkan matriks tulang, lebih lanjut enzim lisosom yaitu kolagenase dan katepsin K dikeluarkan untuk kemudian mencerna matriks tulang.³⁴

Progenitor osteoblas mensekresikan RANKL yang akan membentuk ikatan yang bersifat aktif dengan RANK pada sel progenitor osteoklas dan akan mengakibatkan terjadi pematangan osteoklas sehingga membentuk osteoklas yang fungsional, dan pada saat yang sama juga akan disekresikan faktor penghambat osteoklastogenesis yang dikenal sebagai osteoprotegerin (OPG). OPG kemudian akan berikatan dengan RANKL untuk menghambat osteoklastogenesis.³⁴



Gambar 5. Gambaran Histologi Osteoklas dan Osteoblas
Kenkre JS, Bassett JHD. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem.* 2018;55(3):308–27.

2.5 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.^{35,36,19}

Stichopus hermanii merupakan salah satu teripang yang mudah ditemukan di Asia Tenggara, bagian barat pasifik hingga perairan Indonesia barat. *Stichopus hermanii* 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%).³⁷

Teripang emas memiliki kandungan aktif 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.^{38,39}

2.6 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) 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 logam prostese untuk meningkatkan sifat biologi dan mekanik. Ada dua sumber utama serbuk HA yaitu dari material sintetik secara kimia dan dari sumber biologi alami seperti tulang sapi, koral, cangkang telur, gypsum alami, kalsit alami dan cangkang kepiting.⁴⁰

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 (β 1 dan β 2)* dan *retinoic acid*.⁴⁰

2.7 Karakteristik Hewan Percobaan

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia

Ordo	: Rodentia
Famili	: Sciuridae
Upafamili	: Xerinae
Bangsa	: Marmutini
Genus	: Marmuta
Lama Hidup	: 8 tahun atau lebih
Lama Produksi Ekonomis	: 1-2 tahun
Lama Hamil	: 55-75 hari, rata-rata 68 hari
Umur Disapih	: 14-21 hari
Umur dewasa	: 55-70 hari
Siklus Kelamin	: Poliestrus
Siklus Estrus(Birahi)	: 16-19 hari
Periode Estrus	: 6-11 jam
Perkimpoian	: Pada waktu estrus
Ovulasi	: rata-rata 10 jam sesudah timbul estrus, spontan
Fertilisasi	: 1-15 jam sesudah kimpoi
Berat dewasa	: 600-1000 gram (Jantan) ; 600 - 800 gram (Betina)
Berat Lahir	: 75-100 gram(tergantung jumlah anak)
Jumlah anak	: rata-rata 4 maksimal 8
Perkimpoian Kelompok	: 20 Ekor betina dengan satu ekor jantan
Aktivitas	: Krespuskular (Senja dan Subuh)
Kecepatan Tumbuh	: 6,4-6,6 gram per hari

Marmut memiliki karakter lebih penakut dibandingkan mencit dan kelinci, mengeluarkan suara, berupa dengkingan, siulan, dan

suara mendengus. Marmut pada umumnya jarang menggigit, memiliki proporsi berat badan dan kaki yang tidak sebanding, sehingga tidak dapat melompat atau memanjat, oleh karena itu dalam pemeliharaannya secara berkelompok sering ditempatkan di kandang terbuka bagian atas karena ketidakmampuannya untuk melarikan diri. Ruang kandang untuk pemeliharaan marmut hendaknya tertutup dan terjaga dari rodensia liar dan predator serta serangga. Standar suhu ruang pemeliharaan marmut rata-rata 26°C, sebaiknya ruang pemeliharaannya didasarkan pada keperluan masing-masing spesies, perilaku, kecocokan hewan, jumlah hewan dan tujuan dari pemeliharaannya.⁴¹

2.8 Pemeliharaan Hewan Coba ^{41,42}

Hewan coba adalah hewan yang dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model yang berkaitan untuk pembelajaran dan pengembangan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Hewan bisa digunakan sebagai hewan coba apabila hewan tersebut bebas dari mikroorganisme patogen, mempunyai kemampuan dalam memberikan reaksi imunitas yang baik, kepekaan hewan terhadap suatu penyakit, dan performa atau anatomi tubuh hewan percobaan yang dikaitkan dengan sifat genetiknya.

Marmut diadaptasikan dan dipelihara secara berkelompok (1-4 marmut per kandang) sebelum diberi perlakuan. Adaptasi hewan dilakukan selama 7 hari sebelum perlakuan untuk mengkondisikan

hewan dalam keadaan sehat. Makanan berupa pellet dan Hay yang setiap hari dikombinasikan. Minuman berupa air mineral dalam botol khusus. Temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran alamiah.

Faktor-faktor yang penting dalam pemeliharaan, yaitu

1) Kandang

Kandang yang disiapkan untuk hewan coba harus baik sehingga memberikan kenyamanan. Tidak mempunyai permukaan yang kasar dan tajam sehingga dapat melukai hewan, mudah dibersihkan, mudah diperbaiki, tidak mudah dirusak oleh hewan yang dikandang atau oleh hewan pemangsa dari luar, cukup luas agar hewan dapat bergerak leluasa untuk mencari makanan dan berbiak. Bangunan kandang harus cukup terang, mendapat air bersih, mudah dibersihkan, kering, dilengkapi dengan sistem pembuangan air limbah dan cukup ventilasi.

Hewan dalam kandang akan merasa nyaman bila kandang kering, bersih, temperatur antara 18-19° C (rata-rata 20-22°C), kelembaban relatif antara 30-70%, sinar antara 800-1300 lumen/m², pertukaran udara minimum 10 kali/ jam. Alas kandang harus diganti 1-3 kali dalam seminggu untuk menjamin kandang selalu kering dan bebas dari gas amonia yang merangsang selaput lendir sehingga hewan tidak mudah terserang penyakit saluran pernafasan. Peningkatan kadar amonia dalam kandang dapat dicegah dengan ventilasi yang baik, selalu bersih dan hindari penimbungan faeces serta urin dalam kandang.

2) Makanan

Makanan dan minuman yang diberikan harus dalam keadaan baik. Minuman harus selalu bersih dan disediakan dalam jumlah yang tidak terbatas. Makanan harus disimpan dalam wadah yang bersih dan kering untuk mencegah pencemaran oleh cendawan dan kutu makanan. Hewan percobaan harus diberi makanan yang berkualitas baik untuk menjamin tingkat pertumbuhan dan pembiakan yang normal.

Ketidakseimbangan gizi dalam makanan dapat menimbulkan macam-macam gangguan misalnya, rambut rontok, kematian anak prenatal, peka terhadap penyakit, pertumbuhan lambat, berkurangnya produksi air susu, infertil, anemia, kelainan bentuk tulang, kelainan jaringan saraf, kesulitan bergerak dan lainnya.

3) Pemberian tanda

Pemberian label pada kotak kandang, identifikasi berdasarkan warna bulu, pembuatan lubang dan guntingan pada daun telinga (pada tikus, hamster) merupakan cara untuk memberikan tanda pada hewan coba, selain itu dapat pula pemberian cincin pada jari kaki, lempengan logam bernomor yang dikaitkan pada telinga (hamster, marmoot, kelinci), pemberian zat warna pada bagian kulit yang putih, pemberian tato dan lainnya.

4) Pencegahan penyakit

Faktor-faktor yang dapat meningkatkan resiko kontak dengan agen penyakit dan menurunkan daya tahan tubuh hewan coba harus

selalu diperhatikan. Faktor-faktor tersebut perlu diperhitungkan dalam usaha pencegahan penyakit. Faktor-faktor yang mempengaruhi kepekaan hewan coba terhadap penyakit antara lain: faktor lingkungan, faktor genetik, faktor metabolisme, faktor perlakuan dalam percobaan, faktor makanan.

5) Sanitasi lingkungan

Sanitasi berhubungan dengan pembuangan kotoran dari kandang, perawatan kebersihan kandang. Hewan coba yang biasa digunakan pada skala laboratorium adalah kelinci, mencit, hamster, marmut dan tikus.