

**EFEKTIVITAS KANDUNGAN BIOAKTIF TERIPANG EMAS
(Stichopus hermanii) TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG) PADA
PROSES REMODELING TULANG STUDI IN VIVO**

TESIS PENELITIAN



Oleh :

Astri Al hutami Aziz

J015 202 010

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS PROSTODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

EFEKTIVITAS KANDUNGAN BIOAKTIF TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*) TERHADAP EKSPRESI OSTEOPROTEGERIN (OPG) PADA PROSES REMODELING TULANG STUDI IN VIVO

TESIS

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Profesi Spesialis-1 dalam Bidang Ilmu Prostodonsia pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

OLEH:

ASTRI AL HUTAMI AZIZ

NIM. J015202010

PEMBIMBING:

Prof. Dr. drg. BAHRUDDIN THALIB, M.Kes.,Sp.Pros.,Subsp.PKIKG(K)

drg. IRFAN DAMMAR, Sp.Pros.,Subsp. MFP(K)

**EFEKTIVITAS KANDUNGAN BIOAKTIF TERIPANG EMAS
(*Stichopus hermanii*) TERHADAP EKSPRESI
OSTEOPROTEGERIN (OPG) PADA PROSES REMODELING
TULANG STUDI *IN VIVO***

OLEH:

ASTRI AL HUTAMI AZIZ

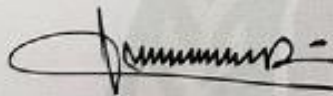
NIM. J015202010

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

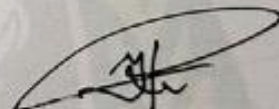
Makassar, November 2023

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. drg. Bahruddin Thalib, M.Kes
Sp.Pro.,Subsp.PKIKG(K)
NIP. 19640814 199103 1 003



drg. Irfan Dammar, Sp.Pro.,
Subsp.MFP(K)
NIP. 19770630 200904 1 003

Mengetahui,
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Prostodonsia FKG UNHAS



drg. Irfan Dammar, Sp.Pro.,Subsp.MFP(K)
NIP. 19770630 200904 1 003

PENGESAHAN UJIAN TESIS

**EFEKTIVITAS KANDUNGAN BIOAKTIF TERIPANG EMAS
(*Stichopus hermannii*) TERHADAP EKSPRESI
OSTEOPROTEGERIN (OPG) PADA PROSES REMODELING
TULANG STUDI *IN VIVO***

Diajukan Oleh:

ASTRI AL HUTAMI AZIZ

NIM. J015202010

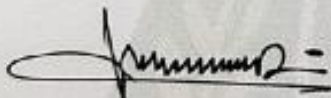
Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Telah disetujui:

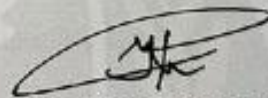
Makassar, November 2023

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Prof. Dr. drg. Bahruddin Thalib, M.Kes
Sp.Pro.,Subsp.PKIKG(K)
NIP. 19640814 199103 1 003



drg. Irfan Dammar, Sp.Pro.,
Subsp.MFP(K)
NIP. 19770630 200904 1 003

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Prosthodontia FKG UNHAS



drg. Irfan Dammar, Sp.Pro., Subsp.MFP(K)
NIP. 19770630 200904 1 003

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D
NIP. 19810215 200801 1 009

TESIS

**EFEKTIVITAS KANDUNGAN BIOAKTIF TERIPANG EMAS
(*Stichopus hermannii*) TERHADAP EKSPRESI
OSTEOPROTEGERIN (OPG) PADA PROSES REMODELING
TULANG STUDI *IN VIVO***

OLEH:

ASTRI AL HUTAMI AZIZ

NIM. J015202010

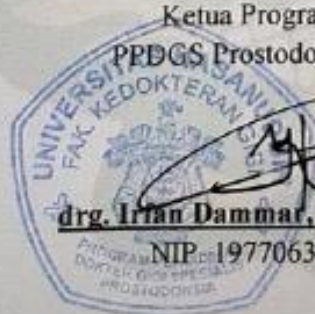
Telah Disetujui:
Makassar, November 2023

1. Penguji I: Prof. Dr. drg. Bahruddin Thalib, M.Kes.,Sp.Prof.,Subsp.PKIKG(K)
2. Penguji II: drg. Irfan Dammar, Sp.Prof.,Subsp.MFP(K)
3. Penguji III: drg. Eri Hendra Jubhari, M.Kes.,Sp.Prof.,Subsp.PKIKG(K)
4. Penguji IV: drg. Acing Habibie Mude, Ph.D.,Sp.Prof.,Subsp.OGSTK(K)
5. Penguji V: drg. Vinsensia Launardo, Sp.Prof.,Subsp.MFP(K)



Mengetahui,
Ketua Program Studi (KPS)

PPDGS Prostodonsia FKG UNHAS



drg. Irfan Dammar, Sp.Prof.,Subsp.MFP(K)

NIP. 19770630 200904 1 003

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Astri Al hutami Aziz

NIM : J015202010

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Prostodonsia Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis akhir yang saya buat ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis ini merupakan hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 November 2023

A 10,000 Rupiah Indonesian banknote is shown with a signature written over it. The banknote features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA' and 'DAPAT BERKUALITAS'. The serial number 'K30BAK079482254' is visible at the bottom.

Astri Al hutami Aziz

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah robbil'alamiin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Rabb yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "**Efektivitas Kandungan Bioaktif Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terhadap Ekspresi Osteoprotegerin (OPG) pada Proses Remodeling Tulang Studi In Vivo**".

Shalawat serta salam tak lupa pula penulis panjatkan kepada Rasulullah Shalallahu 'alayhi wasallam beserta para keluarganya dan para sahabatnya yang senantiasa kebersamai perjuangannya membawa kebenaran untuk ummatnya.

Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Spesialis Prostodonsia pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. Kami sebagai penulis menyadari banyak hambatan pada proses penyusunan tesis ini, namun dengan adanya bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulisan tesis ini Alhamdulillah dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih sedalam-dalamnya kepada **Prof. Dr. drg. Bahruddin Thalib, M. Kes., Sp. Pros., SubSp. PKIKG(K)** selaku pembimbing I dan **drg. Irfan Dammar, Sp.Pros., SubSp.MFP(K)** selaku pembimbing II, yang penuh kesabaran meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan, arahan serta petunjuk yang sangat berguna dalam penyusunan tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada **drg. Eri Hendra Jubhari, M. Kes., Sp. Pros.,**

SubSp.PKIKG(K), drg. Acing Habibie Mude, Ph.D., Sp.Pros., SubSp.OGST(K), dan drg. Vincensia Launardo, Sp. Pros., SubSp.MFP(K) selaku tim penguji yang telah memberikan saran, arahan dan kritiknya yang sangat bermanfaat.

Selain itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin dan **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
2. **Kementerian Kesehatan Republik Indonesia**, selaku pemberi bantuan biaya penelitian melalui Beasiswa Pendidikan Dokter Spesialis/Pendidikan Dokter Gigi Spesialis.
3. Bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. **Rosmaniar, S.Si**, laboran pendamping di Laboratorium FIKP Unhas dan **Pak Wibi** Laboran di Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang sebagai pendamping dalam pelaksanaan penelitian tesis ini.
4. **drg. Irfan Dammar, Sp.Pros., SubSp.MFP(K)** selaku ketua Program Studi Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
5. Kepada Penasehat Akademik **Prof. Dr. drg. Bahruddin Thalib, M. Kes., Sp. Pros., SubSp. PKIKG(K)**, yang telah banyak memotivasi penulis dalam rangka menimba ilmu yang sebanyak-banyak selama pendidikan.
6. Staf Dosen PPDGS Prostodonsia **Prof. drg. Moh. Dharma Utama, Ph.D M.Kes., Sp.Pros., Subsp. PKIKG(K), Prof. Dr. drg. Edy Machmud,**

Sp.Pros., Subsp. OGST(K), drg. Ike Damayanti Habar, Sp.Pros., Subsp. PKIKG(K), drg. Muhammad Iqbal, Ph.D., Sp.Pros., Subsp. PKIKG(K), drg. Rifa'at Nurrahma, Sp. Pros., Subs. MFP(K), drg. Rahmat, Sp.Pros., yang telah memfasilitasi, membimbing dan memberikan ilmu serta pengalamannya yang sangat banyak kepada penulis selama menempuh pendidikan.

7. Teman-teman seperjuangan Angkatan 14 **drg. Eka Fibrianti, drg. Nurimah Wahyuni, drg. Risnawati, drg. Ainun Bazira, drg. Muthia Mutmainnah Bachtiar, drg. Ludfia Ulfa, M.Kes, drg. Iswanto Sabirin, M.Kes drg. Aksani Taqwim, M.Kes, drg. Probo Damoro Putro** yang tanpa hentinya memberikan semangat yang luar biasa. Terima kasih banyak atas kebersamaannya selama tiga tahun dalam kebersamai menempuh pendidikan, memberikan ide-ide cemerlang, dan nasihat-nasihatnya kepada penulis sehingga kami bisa menjadi lebih baik.
8. Sebagai bentuk ucapan penuh kebahagiaan, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada suami **Muhammad Bachkamil Basir, S.H** dan anak tercinta **Muhammad Nizam Al Fatih Bachkamil** atas segala doa, bimbingan, dan dukungan dalam bentuk moril maupun materil yang tidak dapat terbalaskan dengan apapun dan selalu memberikan yang terbaik untuk penulis dan terima kasih banyak untuk anakku sayang atas kesabaran yang baik selama ummi menempuh pendidikan.
9. Kedua orang tua dan kedua mertua, Bundaku tersayang **Hj. Helmiaty Najamuddin (Rahimahullaah)** dan Ayahku terkasih **Abdul Aziz, BSc**

- (Rahimahullaah)** Ibu Mertua **Hj. Herlinda** dan Ayah Mertua **H. Basir** serta kepada adikku ku tersayang **Apt. Asy'ari Al hutama Aziz, S.Si.,M.Si** atas semua doa dan dukungan yang senantiasa tercurah untuk kesuksesan penulis.
10. Ukhti-ukhti sahabat dunia akhirat ku yang doa-doanya senantiasa menembus langit, **drg. Tri Aminah, drg. Rizky Fathhiyah Wahab, drg. Mentari Syahirah Yusuf, drg. St. Aisyah Noviyanti, drg. Mardhiyah, drg. Akmalia Rosyada, drg. Ervin Agustin, drg. Nirwana, drg. Rini Riyanti.** Jazaakunallahu khayran katsiran.
 11. Senior-senior PPDGS Prostodonsia FKG Unhas, terutama **drg. Nina Permatasari, Sp. Pros., drg. Ian Afifah Sudarman, Sp.Pro., drg. Mariska Juanita, Sp.Pro., drg. Nur Inriany, Sp.Pro., drg. Raodah, drg. Fitri Endang, drg. R Alfian Djamaluddin, Sp.Pro., dan drg. Syakhrul Affandy, SP. Pros** atas bantuan, dukungan, dan sarannya selama menjadi residen.
 12. Kepada teman-teman residen Prostodonsia Unhas **Angkatan X, XI, XII, XIII, XV, XVI, XVII, XVIII, dan XIX**, yang telah banyak membantu, memberikan semangat dan selalu memotivasi penulis agar dapat menyelesaikan pendidikan tepat waktu.
 13. Spesial kepada Kakanda **drg. Mughnyrati dan drg. Siti Sarah Aulia Amrullah** yang juga banyak berperan dalam menyemangati dan memberikan ide-ide penyusunan awal tesis ini. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, semua saran dan kritik akan diterima dengan segala kerendahan hati. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi berbagai pihak serta berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran gigi.

Makassar, November 2023

drg. Astri Al hutami Aziz

ABSTRAK

Pendahuluan: Teripang emas (*Stichopus hermanii*) memiliki potensi sebagai bahan baku obat sehingga dapat menjadi terapi tambahan dalam kedokteran gigi. Salah satu kandungan aktif teripang emas adalah kondroitin sulfat yang berpengaruh secara fungsional dengan sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan dalam elemen dan struktur tulang alveolar tempat osteoblas dan osteoklas bekerja sama untuk mengkoordinasikan proses remodeling tulang. Luka pada jaringan lunak dan jaringan keras soket gigi akibat pencabutan dapat menyebabkan terjadinya penurunan dimensi tulang alveolar pada area edentulous. Kehilangan tulang alveolar ini akan mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi dan penempatan implan gigi, dan pada akhirnya menyebabkan berkurangnya kenyamanan pada pasien. Waktu yang paling baik untuk mempersiapkan ridge alveolar adalah pada saat pencabutan. Penggunaan material gel dari kandungan bioaktif di dalam soket pasca pencabutan gigi diharapkan dapat memperlambat resorpsi dinding soket dan mempercepat proses remodeling tulang.

Tujuan: Menganalisis efektivitas kandungan bioaktif pada teripang terhadap ekspresi osteoprotegerin pada pembentukan tulang pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*).

Bahan dan metode: Ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan post-test only control group design. Penelitian dilakukan pada marmut jantan (*Cavia cobaya*) yang dibagi ke dalam 4 kelompok dan masing-masing terdiri dari 6 sampel ($n = 24$). Ekstrak teripang emas dibuat dalam sediaan gel dengan konsentrasi 0,8%, 1,6%, dan 3,2%. Gigi insisivus kanan rahang bawah pada setiap marmut dilakukan, setelah itu soket diirigasi dengan larutan salin, kemudian diberi perlakuan pada masing-masing kelompok, yaitu: soket diisi gel teripang emas 0,8% dan dijahit dengan benang (Kelompok I); soket diisi gel teripang emas 1,6% dan dijahit dengan benang (Kelompok II); soket diisi gel teripang emas 3,2% dan dijahit dengan benang (Kelompok III); pencabutan soket tanpa pemberian gel dan dijahit dengan benang (Kelompok IV). Pada hari ke-14, marmut dikorbankan dan spesimen mandibula pasca ekstraksi dilakukan pemeriksaan histologi. Analisis data menggunakan metode ANOVA.

Hasil: Rerata kadar OPG paling tinggi pada kelompok perlakuan yang diberi konsentrasi 3,2% gel teripang emas dan terdapat perbedaan signifikan antara keempat kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Terdapat perbedaan signifikan jumlah osteoblast antara kelompok kontrol dengan kelompok konsentrasi 1,6% dan 3,2% ($p < 0,05$) dengan konsentrasi 1,6% adalah yang paling efektif untuk meningkatkan sel osteoblas setelah 14 hari aplikasi gel ekstrak teripang emas pada soket pasca pencabutan marmut dibandingkan dengan konsentrasi 0,8% ($p = 0,004$) dan konsentrasi 3,2% ($p = 0,001$).

Kesimpulan: Kandungan bioaktif Teripang Emas (*Stichopus hermanii*) terbukti efektif dalam meningkatkan ekspresi OPG dan jumlah osteoblast pada hari ke 14 setelah aplikasi gel pada soket pasca pencabutan gigi marmut.

ABSTRACT

Background: Golden sea cucumber (*Stichopus hermanii*) has potential as medicinal material hence it can be an additional therapy in dentistry. One of active ingredients of golden sea cucumbers is chondroitin sulfate which has functional effect with cytokines, chemokines and growth factors in alveolar bone elements and structures where osteoblasts and osteoclasts work together to coordinate the bone remodeling process. Injuries to soft and hard tissue of tooth socket due to extraction can cause reduction of alveolar bone dimensions in edentulous area. This bone loss will affect stability, retention, and support of dental prostheses as well as dental implant placement; ultimately result in less patient comfort. The best time to prepare the alveolar ridge is at time of extraction. The use of gel material containing bioactive component in socket after tooth extraction expected to slow down the resorption of the socket wall and increasing bone remodeling process.

Objective: Analyzing the effectiveness of the bioactive component in golden sea cucumbers on the expression of osteoprotegerin in bone formation after tooth extraction in guinea pigs (*Cavia cobaya*).

Materials and methods: This is an experimental study with a post-test only control group design. The research was conducted on male guinea pigs (*Cavia cobaya*), divided into 4 groups and each consisted of 6 samples ($n = 24$). Golden sea cucumber extract made in gel preparations with concentrations of 0.8%, 1.6% and 3.2%. The extraction of mandibular right incisor teeth in each guinea pig performed, furthermore the socket was irrigated with saline solution, then gel filled in each socket: socket filled with 0.8% golden sea cucumber gel and sutured (Group I); socket filled with 1.6% golden sea cucumber gel and sutured (Group II); socket filled with 3.2% golden sea cucumber gel and sutured (Group III); socket extraction without gel application and sutured (Group IV). On the 14th day, the guinea pigs were sacrificed and post-extraction mandibular specimens were subjected to histological examination. Data analysis used the ANOVA method.

Result: The highest mean OPG levels were in treatment group with concentration of 3.2% golden sea cucumber gel and there were significant differences between four treatment groups ($p < 0.05$). There was significant difference in the number of osteoblasts between the control group with the 1.6% and 3.2% concentration groups ($p < 0.05$). The 1.6% concentration was the most effective for increasing osteoblast cells after 14 days of application of golden sea cucumber extract gel on post-extraction sockets from guinea pigs were compared with 0.8% concentration ($p = 0.004$) and 3.2% concentration ($p = 0.001$).

Conclusion: Bioactive component of golden sea cucumber (*Stichopus hermanii*) proven effective in increasing OPG expression and number of osteoblasts on day 14 after application of the gel into the post-extraction socket of guinea pig teeth.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERSETUJUAN PERSETUJUAN TESIS	Error! Bookmark not defined.
PENGESAHAN UJIAN TESIS	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PERSETUJUAN PENGUJI	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi	8

2.2 Socket Preservation.....	9
2.2 Remodeling Tulang.....	11
2.4 Teripang Emas.....	17
2.6 Kondroitin Sulfat.....	23
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	28
3.1 Kerangka Teori.....	28
3.2 Kerangka Konsep.....	29
3.3 Hipotesis.....	30
BAB IV METODE PENELITIAN.....	31
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	31
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	31
4.3 Variabel dan Defenisi Operasional Penelitian.....	32
4.4 Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian	33
4.5 Kriteria Sampel	34
4.7 Prosedur Penelitian	37
BAB V.....	47
BAB VI.....	55
BAB VII PENUTUP.....	66
6.1 Simpulan	66
6.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Proses penyembuhan luka pasca pencabutan	11
Gambar 2.2. Gambaran osteoklas perbesaran 400x	13
Gambar 2.3. Osteoblas dan osteoklas perbesaran 500x.....	16
Gambar 5.1. Immunostaining osteoprotegerin OPG tulang alveolar marmut	54
Gambar 5.2. Gambaran histologi sel osteoblast dengan pewarnaan IHC	54

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Rerata jumlah OPG dan Osteoblast pada setiap kelompok.....	48
Tabel 5.2 Perbedaan kadar OPG pada setiap kelompok perlakuan	48
Tabel 5.3 Perbandingan jumlah ekspresi OPG antara kontrol dengan kelompok perlakuan	49
Tabel 5.4 Perbandingan jumlah ekspresi OPG antara kelompok perlakuan.....	50
Tabel 5.5 Perbandingan jumlah ekspresi Osteoblast antara kontrol dengan kelompok perlakuan	51
Tabel 5.6 Perbandingan jumlah ekspresi Osteoblast antara kelompok perlakuan	52

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah/Singkatan	Kepanjangan/Pengertian
OPG	Osteoprotegerin
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand
RANK	Receptor activator of nuclear factor kappa B
GAGs	Glukosaminoglycan
M-CSF	Macrophage colony stimulating factor
BMS	Benua Maritim Spesifik
TNF-α	Transforming Growth Factor Alfa
IL	Interleukin
BMP	Bone Morphogenetic Protein
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
IGF	Insulin Growth Factor
SOST	Skelorostin
MEPE	Matriks ekstraseluler fosfolipoprotein
PTH	Hormon paratiroid
OC	Osteocalcin
Col1a1	kolagen tipe 1 alfa 1
TRAIL	TNF-related apoptosis inducing ligand
MTA	Methyltetradecanoic acid
EPA	eicosapentaenoic
DHA	docosahexaenoic
HA	Hyaluronic acid
IHC	Immunohistochemistry
ERK	Ekstraselular Regulated Kinase
CD	Cluster of Differential

MAPK	Mitogen-activated protein kinase
Na-CMC	Natrium Carboxymethyl Cellulosa
LSD	Least Significant Difference
BMI	Benua Maritim Indonesia
FTIR	Fourier Transform Infra Red
ALP	Alkaline Fosfatase

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia mempunyai garis pantai sepanjang 81.000 km terpanjang kedua setelah Kanada dan merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan 18.000 lebih pulau. Sekitar 75% wilayah kedaulatan Indonesia merupakan laut, dengan potensi sumber daya laut yang berlimpah. Keanekaragaman biota laut tersebut sangat bervariasi sehingga disebut pula negara yang memiliki keanekaragaman tertinggi di dunia. Adapun Biota laut yang memiliki potensi sebagai bahan baku obat sehingga dapat memberikan harapan baru dalam pengobatan berbagai penyakit, termasuk sebagai terapi tambahan dalam kedokteran gigi adalah teripang emas.¹⁻³

Penelitian teripang emas sebagai obat dalam kedokteran gigi baru berkembang pada dekade terakhir. Teripang mempunyai kandungan bahan aktif dan sifat terapeutik yang potensial seperti triterpene glikosida, karotenoid, peptide bioaktif, asam lemak, kolagen, gelatin, kondroitin sulfat, vitamin, mineral, asam amino, protein 86,8%, asam lemak esensial, asam doco sahexanoat, antiseptif alamiah, faktor pertumbuhan sel, glukosaminoglycan (GAGs), glukosamin, glikosida keratin, lektin, mineral, mukopolisakarida, omega 3, 6, dan kolagen 80,0%. Bahan aktif tersebut sangat potensial digunakan untuk konsumsi nutrisi atau sebagai obat.⁴⁻⁶

Komponen aktif dalam teripang emas diyakini dapat menstimulasi proses regenerasi tulang. Salah satu kandungan aktif teripang emas adalah kondroitin sulfat yang dapat memulihkan penyakit-penyakit sendi serta membantu pembentukan tulang rawan.⁷ Penelitian oleh Noengky dkk menemukan bahwa teripang emas dapat mempercepat proses osteogenesis pada kasus relaps gigi orthodonti.⁸ Rima dkk juga menggabungkan antara teripang dan cangkang mutiara dan menemukan adanya peningkatan pembentukan anyaman tulang.⁹

Teripang telah lama digunakan sebagai makanan dan obat tradisional di negara Asia seperti *Stichopus hermannii* sebagai spesies yang sangat bernilai tinggi karena kandungan bahan bioaktifnya seperti triterpene, glikosida, karotenoid, peptide bioaktif, vitamin, mineral asam lemak tidak jenuh, kolagen, gelatin, asam amino dan kondroitin sulfat.⁽⁵⁾ Kondroitin sulfat merupakan salah satu glikosaminoglikan yang berpengaruh secara fungsional dengan sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan dalam elemen dan struktur tulang alveolar tempat osteoblas dan osteoklas bekerja sama untuk mengkoordinasikan proses remodeling tulang.¹⁰⁻¹² Kondroitin sulfat dapat menghambat inflamasi dan meningkatkan kerja growth factor pada fase reversal remodelling tulang.^{11,13}

Efek antiosteoklastogenik dan flavonoid dari kondroitin sulfat dapat meningkatkan ekspresi osteoprotegerin (OPG), meningkatkan diferensiasi osteoblas serta menurunkan ekspresi receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL).¹⁴ Kondroitin sulfat pada permukaan osteoblas atau matriks tulang berikatan dengan molekul adhesi sel seperti integrin pada sel pra- osteoklastik dan

menghambat diferensiasi menjadi osteoklas sehingga dapat terjadi pembentukan tulang. Kondroitin sulfat mempercepat proses remodeling tulang.¹²

Tahapan remodeling tulang pada keadaan normal selalu sama, yaitu aktivasi, resorpsi tulang oleh osteoklas, fase reversal, lalu diikuti pembentukan oleh osteoblas untuk memperbaiki defek. Resorpsi tulang diatur oleh interaksi receptor activator of nuclear factor kappa 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.¹⁵

Luka pada jaringan lunak dan jaringan keras soket gigi akibat pencabutan dapat menyebabkan terjadinya penurunan dimensi tulang alveolar pada area edentulous baik secara bukolingual maupun apikokoronal.¹⁶ Terdapat kehilangan ridge alveolar sekitar 30% akibat resorpsi setelah pencabutan gigi. Beberapa studi menunjukkan bahwa, selama tiga bulan setelah pencabutan gigi, dua pertiga jaringan keras dan lunak mengalami resorpsi. Sebagian besar kehilangan tulang terjadi dalam enam bulan pertama setelah pencabutan gigi. Setelah itu, setiap tahun kecepatan resorpsi meningkat rata-rata 0,5-1%.¹⁶ Dalam 12 bulan setelah ekstraksi terjadi kehilangan lebar tulang alveolar hingga 50%. Kehilangan tulang alveolar ini akan mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi dan penempatan implan gigi, dan pada akhirnya menyebabkan berkurangnya kenyamanan pada pasien. Waktu yang paling baik untuk mempersiapkan ridge alveolar adalah pada

saat pencabutan. Penggunaan material gel dari kandungan bioaktif di dalam soket pasca pencabutan gigi diharapkan dapat memperlambat resorpsi dinding soket dan mempercepat proses remodeling tulang.¹⁷⁻¹⁹

Proses remodelling tulang dihasilkan dari interaksi aktif antara osteoblast dan osteoklas, dimodulasi oleh adanya faktor- faktor seperti macrophage colony stimulating factor (M-CSF), receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK), receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) dan osteoprotegerin (OPG). Proses ini dimulai dengan adanya osteoklas pada dinding soket dan struktur trabekula marginal pada woven bone. Proses inilah yang menyebabkan perubahan dimensi tulang setelah pencabutan.^{10,11,20}

Berdasarkan penelitian yang sudah ada sebelumnya, teripang emas memiliki banyak kandungan aktif yang dapat mempercepat remodelling tulang diantaranya seperti kolagen, glikoprotein, dan heparin sulfat yang dapat memicu migrasi dan adhesi fibroblas, juga memiliki kandungan aktif proteoglikan yang bersifat hidrofilik sehingga memiliki kemampuan mengikat air, flavonoid kondrotin, omega 3,6 dan 9 serta glikosaminoglikan yang berperan memodulasi heparin-growth factor binding. Senyawa aktif yang terdapat pada teripang seperti kondroitin sulfat telah terbukti mempercepat proses remodeling tulang.¹² Selain itu, glikosaminoglikan yang terdapat pada teripang emas juga terbukti dapat menstimulasi osteoblast dengan mencegah osteoklastogenesis. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa gel teripang emas dengan konsentrasi 0,8% paling efektif dalam mempercepat pembentukan woven bone⁹.

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik untuk mengetahui efektivitas kandungan bioaktif teripang emas terhadap ekspresi osteoprotegerin pada pembentukan tulang pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*). Oleh karena penelitian tentang kandungan bioaktif pada teripang emas yang dapat meningkatkan ekspresi osteoprotegerin (OPG) belum pernah dilakukan untuk merangsang pembentukan tulang pasca pencabutan gigi dengan menggunakan dan menaikkan konsentrasi dengan penelitian sebelumnya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah kandungan bioaktif teripang emas (*Stichopus hermanii*) pada konsentrasi 0,8%, 1,6%, dan 3,2% efektif dalam meningkatkan ekspresi osteoprotegerin (OPG) ?
2. Apakah ada perbedaan antara konsentrasi teripang emas (*Stichopus hermanii*) 0,8%, 1,6%, dan 3,2% terhadap peningkatan OPG ?
3. Berapa konsentrasi yang paling efektif dari kandungan bioaktif teripang emas (*Stichopus hermanii*) untuk meningkatkan ekspresi OPG ?
4. Apakah kandungan bioaktif teripang emas efektif pada peningkatan sel osteoblast dalam remodeling tulang ?
5. Berapa konsentrasi yang paling efektif dari kandungan bioaktif teripang emas (*Stichopus hermanii*) untuk meningkatkan sel osteoblast ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Untuk menganalisis efektivitas kandungan bioaktif pada teripang emas sebagai bahan alternatif remodeling tulang.

2. Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui bahwa kandungan bioaktif dari teripang emas (*Stichopus hermanii*) pada konsentrasi 0,8%, 1,6%, dan 3,2% efektif dalam meningkatkan ekspresi osteoprotegerin (OPG)
2. Untuk mengetahui bahwa ada perbedaan antara konsentrasi teripang emas (*Stichopus hermanii*) 0,8%, 1,6%, dan 3,2% terhadap peningkatan OPG
3. Untuk mengetahui berapa konsentrasi yang paling efektif dari kandungan bioaktif teripang emas (*Stichopus hermanii*) untuk meningkatkan ekspresi OPG
4. Untuk mengetahui kandungan bioaktif teripang emas efektif pada peningkatan sel osteoblast dalam remodeling tulang
5. Untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif dari kandungan bioaktif teripang emas (*Stichopus hermanii*) untuk meningkatkan sel osteoblast

1.4 Manfaat Penelitian

1. Pemanfaatan sumber daya laut Indonesia berbasis Benua Maritim Spesifik (BMS).

2. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi teripang emas (*Stichopus hermanii*) pada bidang Prostodonsia.
3. Memberikan kontribusi pengetahuan ilmiah mengenai potensi kandungan bioaktif dari teripang emas (*Stichopus hermanii*) terhadap remodeling tulang pada bidang prostodonsia.
4. Penelitian ini diharapkan menjadi dasar pengembangan ilmu pengetahuan dan penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi

Penyembuhan luka pasca pencabutan memiliki beberapa fase diantaranya adalah fase inflamasi, fase proliferasi dan remodeling. Fase inflamasi terjadi pada hari ke 3 hingga ke 5 pasca pencabutan yang ditandai dengan vasokonstriksi pembuluh darah dan terjadi agregasi platelet yang akan menempel satu sama lain untuk membentuk fibrin plug sehingga akan terjadi haemostasis yang akan mengatur pembentukan matriks sementara. Setelah haemostasis terjadi, permeabilitas vascular akan meningkat sehingga menyebabkan plasma darah dan mediator seluler untuk penyembuhan melewati dinding pembuluh darah dengan cara diapedesis. Manifestasi dari hal ini adalah pembengkakan, kemerahan, panas, dan nyeri.²¹ Pada fase ini juga akan muncul mediator pro-inflamasi seperti TNF- α , interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-11, dan IL-18 yang akan muncul pada beberapa hari awal terjadinya luka. Akibat dari kerusakan pembuluh darah, maka daerah disekitar tidak mendapatkan suplai darah dan nutrisi yang berujung pada nekrosis. Makrofag berfungsi untuk memfagositosis daerah yang mengalami nekrosis dan memfasilitasi regenerasi dengan melepaskan beberapa sinyal seperti BMP, bFGF, TGF- β , PDGF, dan IGF. Growth factors ini akan berperan untuk migrasi, rekrutmen dan proliferasi dari stem sel mesenkimal yang akan berdiferensiasi menjadi angioblas, kondroblas, dan osteoblast.²²

Fase proliferasi pada hari ke empat hingga hari ke-14 pasca pencabutan yang ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi yang berisi sel inflamasi dan sekresi kolagen, epitelisasi, angiogenesis dan pembentukan kolagen. Setelah jaringan granulasi terbentuk, maka proses selanjutnya adalah provisional matrix dan mineralisasi dimana sel-sel mesenkim akan disusun menjadi jaringan padat di dalam serat kolagen dan pembuluh darah. Proses mineralisasi akan terjadi dimulai dari formasi tulang immature dari dasar soket.²³ Fase terakhir adalah fase remodeling yang terjadi pada minggu ke 6 pasca pencabutan. Selama fase ini, serat-serat kolagen akan digantikan oleh serat kolagen baru yang lebih kuat untuk menahan gaya tarik pada luka dengan lebih baik.²⁴ Pada fase ini tulang yang immature akan mengalami remodeling dan menjadi tulang trabekular dan spongiosa. Manifestasi klinis yang sesuai adalah warna jaringan yang normal dan terlihat adanya pembentukan scar.²¹

2.2 Socket Preservation

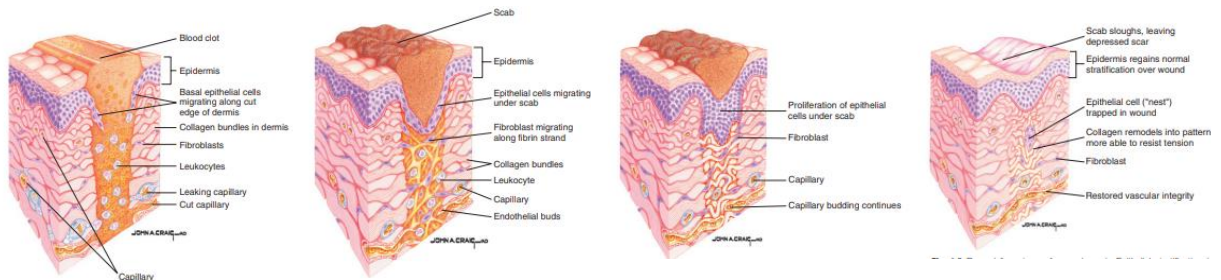
Socket preservation adalah seluruh prosedur yang dilakukan saat pencabutan yang berguna untuk meminimalkan resorpsi ridge eksternal dan pembentukan tulang pada daerah soket, yang bertujuan untuk preservasi dan menjaga dimensi dari tulang alveolar pasca pencabutan. Hal ini sangat penting untuk meminimalisir resorpsi tulang pada daerah yang membutuhkan estetik. Prosedur ini akan mengharapkan terjadinya remodeling tulang yang baru. Keuntungan dari socket preservation adalah meminimalisir resorpsi tulang alveolar pasca pencabutan, mempersiapkan area yang akan dilakukan pemasangan implant

dengan efektif dan rasa sakit yang minim, meningkatkan regenerasi tulang dan mencegah augmentasi ridge preservation dengan prosedur bedah.²⁵

Indikasi dari prosedur ini adalah pada area tulang bagian bukal kurang dari 1,5- 2mm, pada daerah dimana dinding soket memiliki kerusakan yang luas, pada area yang butuh untuk mempertahankan volume tulang sehingga meminimalisir resiko pada struktur anatomi penting seperti daerah posterior rahang atas maupun bawah, dan pada pasien post ekstraksi dan butuh untuk dilakukan preservasi di daerah ridge untuk restorasi lanjutan.²⁵ Preservasi ini perlu dilakukan karena 3 minggu setelah dilakukan pencabutan gigi maka akan terjadi resorpsi horizontal sekitar 20% dan penurunan tulang dinding bagian bukal sebesar 50%. Prosedur ini telah terbukti menunjukkan dimensi tulang yang lebih baik pasca pencabutan dibandingkan dengan kasus dimana tidak dilakukan socket preservation sama sekali.²⁶

Terdapat beberapa cara yang digunakan untuk melakukan socket preservation diantaranya adalah dengan ekstraksi dengan minimal trauma, penggunaan bone graft. Bonegraft merupakan bahan pengisi dan scaffold yang dapat memfasilitasi pembentukan tulang dan juga mempercepat penyembuhan luka.²⁷ Dalam bidang kedokteran gigi, bone graft digunakan untuk merangsang pembentukan kerusakan tulang dan regenerasi kerusakan tulang akibat infeksi, tumor, trauma, dan kelainan kongenital.²⁸ Penggunaan membran juga merupakan salah satu cara untuk melakukan socket preservation, membran disini akan berfungsi untuk melindungi blood cloth serta mencegah migrasi sel dari jaringan epitel dan jaringan ikat ke arah apikal. Selain itu socket preservation dapat

dilakukan dengan mengkombinasikan membran dengan bone graft, menggunakan implant serta penggunaan connective tissue graft.²⁵



Gambar 2.1. Proses penyembuhan luka pasca pencabutan. (Sumber: Hupp JR, Tucker MR, Ellis E. Contemporary Oral and maxillofacial surgery-E-book. Elsevier health sciences; 2019)

2.2 Remodeling Tulang

Remodeling tulang merupakan proses dimana terus menerus terjadi pergantian tulang yang baru. Remodeling tulang merupakan proses penting untuk mempertahankan homeostasis mineral, mempertahankan kekuatan tulang, dan memperbaiki tulang yang rusak. Pada orang dewasa, diperkirakan 10% tulang diganti setiap tahunnya. Proses remodeling melibatkan tindakan terkoordinasi sel-sel tulang termasuk osteoklas, osteoblas, dan osteosit. Proses remodeling ini akan ditandai dengan adanya resorpsi dan pembentukan tulang yang terkoordinasi secara temporal dan spasial untuk menjaga integritas tulang. Tulang yang mengalami resorpsi dan yang baru dibentuk oleh osteoblas harus memiliki jumlah yang sama agar masa tulang tetap terjaga. Terjadinya resorpsi oleh osteoklas dikendalikan oleh beberapa mediator seperti RANKL dan OPG.²⁹ Fase remodeling ini diatur oleh beberapa sinyal seperti IL-1, TNF- α , BMP dan TGF- β . Proses remodeling ini akan dikoordinasi oleh aktivitas osteoklas dan osteoblas selama beberapa bulan.³⁰ Pada awal proses remodeling akan terjadi resorpsi kalus yang dilakukan oleh osteoklas,

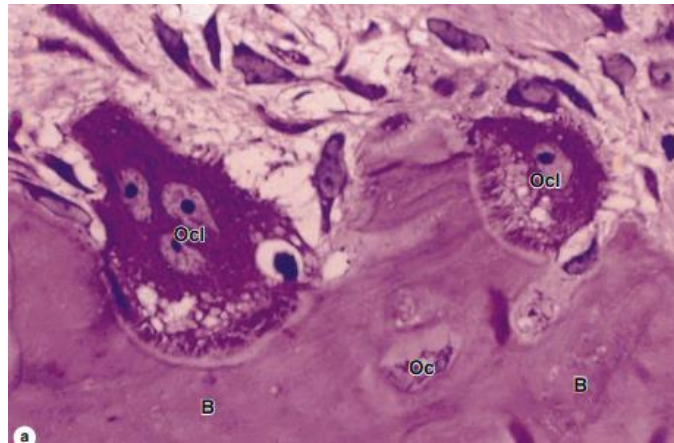
dan akan terjadi pembentukan tulang lamellar.^{30,31} Adanya proses remodeling ini akan didapatkan tulang dengan bentuk, ukuran dan biomekanikal yang sama dengan tulang yang belum mengalami defek atau fraktur.²¹ Fase remodeling ini dapat terjadi berbulan-bulan hingga bertahun-tahun.

Proses remodeling melalui empat fase yaitu aktivasi sel, resorpsi, reversal, dan pembentukan tulang. Fase pertama dari remodeling tulang adalah aktivasi sel yang melibatkan rekrutmen dan aktivasi makrofag monosit dan prekursor osteoklas dari sirkulasi. Fase kedua adalah resorpsi yang dimediasi oleh osteoklas dan diatur oleh spektrum besar penanda inflamasi seperti interleukin IL-1 dan IL-6. Fase ketiga adalah reversal, dimana preosteoblas direkrut bersamaan dengan coupling signal yang menandakan akhir resorpsi tulang dan awal pembentukan tulang. Langkah terakhir, pembentukan tulang, dimediasi oleh osteoblas yang mensintesis matriks organik kolagen baru. Dalam proses remodeling sel osteoblas akan beragregasi dengan zat interseluler tulang yang mengandung kolagen untuk membentuk serat kolagen baru dan membentuk osteoid. Pada saat osteoid terbentuk, beberapa sel osteoblas terperangkap dalam osteoid dan selanjutnya disebut osteosit.³² Hasil akhir dari remodeling tulang ini adalah terbentuknya osteon baru.³³

2.3.1 Osteoklas

Osteoklas adalah sel berinti banyak / multinukleat yang berasal dari progenitor hemopoietik. Osteoklas berdiferensiasi setelah terpapar Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) dan receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) yang berasal dari osteoblast dan osteosit. Selama proses

diferensiasi osteoklas, pra-osteoklas pertama-tama berdiferensiasi menjadi sel mononuklear TRAP-positif, kemudian menjadi giant cell berinti banyak melalui fusi beberapa sel dan sitokinesis yang tidak sempurna. Osteoklas dewasa, yang berukuran raksasa, terpolarisasi dan berinti banyak, dapat mendegradasi matriks tulang dengan menghasilkan sealing zone.³⁴



Gambar 2.2. Gambaran osteoklas perbesaran 400x. (Sumber: Mescher AL. Junqueira's basic histology: text and atlas. New York: McGraw Hill; 2016)

Osteoklas merupakan sel multinukleat yang berperan dalam resorpsi tulang dan setelah tugasnya selesai maka osteoklas akan mengalami apoptosis. Osteoklas memiliki kisaran diameter 20 hingga 100 μm .³⁵ Osteoklas berasal dari organ sumsum tulang dan merupakan derivat dari gabungan monosit. Osteoklas memiliki ukuran diameter sekitar 40 sampai 100 μm . Osteoklas berada di dalam lekukan yang terbentuk akibat resorpsi, yang dikenal dengan Lakuna Howship. Osteoklas menyekresi kolagenase dan enzim lain, membentuk lingkungan yang asam untuk memecah hidroksiapatit dan meningkatkan pemecahan kolagen.³⁶

2.3.2 Osteosit

Osteosit merupakan perkembangan dari sel osteoblas dewasa yang tertanam dalam matriks tulang. Fungsi osteosit secara umum ialah menjaga homeostasis

mineral tulang, sensor tekanan mekanis pada tulang, dan memproduksi molekul sinyal yang mempengaruhi kedua sel osteoklas dan osteoblast.³⁷ Osteosit menempati ruang lakuna dalam tulang yang termineralisasi. Jaringan osteosit melalui saluran kecil yang disebut kanalikuli, mengarah ke pengembangan sistem lakunokanalikular. Sistem ini memungkinkan komunikasi antara osteosit dan sel tulang lainnya.

Osteosit membantu dalam mempertahankan tulang kortikal dan trabekular melalui koordinasi resorpsi tulang oleh osteoklas, dan pembentukan tulang oleh osteoblas sebagai respon terhadap beban mekanis dengan sekresi faktor-faktor seperti sklerostin (SOST) dan reseptor aktivator of nuclear factor kappa B ligand Kappa-B ligan (RANKL) di antara sitokin lainnya.³⁸ Faktor-faktor yang disekresikan osteosit juga mengatur metabolisme kalsium dan fosfat lokal serta sistemil untuk mengontrol mineralisasi. Faktor tersebut antara lain DMP1, Matriks ekstraseluler fosfoglikoprotein (MEPE), gen peregulasi fosfat dengan homologi untuk endopeptidase pada kromosom X (PHEX), dan growth factor fibroblast 23 (FGF23). Osteosit mengontrol osteoklastogenesis melalui jalur pensinyalan RANKL/RANK. Osteosit mengeluarkan RANKL sebagai respons terhadap hormon paratiroid (PTH), yang merupakan faktor utama yang memulai osteoklastogenesis. Osteosit juga dapat mengeluarkan reseptor pemikat untuk RANKL yang disebut osteoprotegerin (OPG), yang diregulasi oleh SOST, selanjutnya mengontrol osteoklastogenesis. Osteosit melepaskan kalsium dari tulang selama menyusui melalui proses osteocytic osteolysis dengan cara yang bergantung pada hormon paratiroid 1 reseptor (PTH1R).³⁸

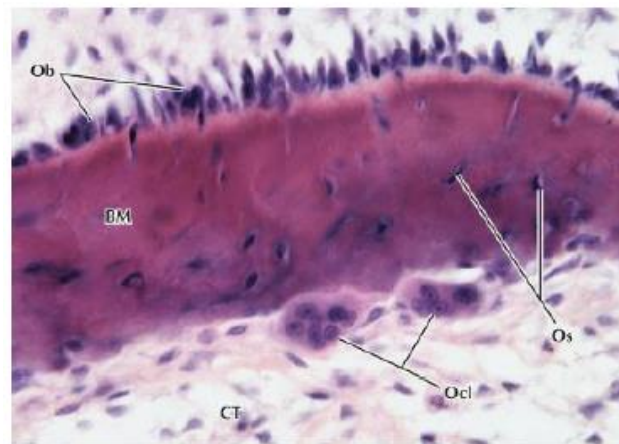
2.3.3 Osteoblas

Osteoblas adalah sel yang berasal dari diferensiasi sel mesenkimal dan terletak pada permukaan tulang. BMP dan TGF- β akan menstimulasi sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblast.³⁹ Dalam keadaan aktif mensintesis matriks, osteoblas memiliki bentuk kuboid dengan sitoplasma basofilik, sedangkan saat sedang tidak mensintesis, osteoblast menjadi gepeng dan sifat basofilik pada sitoplasma akan menurun. Aktivitas osteoblast paling tinggi selama pembentukan dan pertumbuhan embryonic skeletal, namun pada orang dewasa osteoblast aktif ketika ada kebutuhan untuk regenerasi defek atau ketika matriks tulang mulai berkurang. Osteoblas akan mensekresi protein matriks tulang, termasuk kolagen tipe 1 alfa 1 (Col1a1), osteocalcin (OC), dan alkaline phosphatase (Alp).⁴⁰

Osteoblas akan mensintesis RANKL, MCSF, IGF-1, PTH yang akan menghasilkan dan mengeluarkan makromolekul tambahan seperti osteocalcin, osteonectin, osteopontin, bone sialprotein, dan osteoprotegerin (OPG).³⁹ Osteoblas yang telah melingkari diri dengan matriks tulang akhirnya berdiferensiasi menjadi osteosit, yang merupakan sel stellar yang saling berhubungan yang mengatur pergantian material tulang. Osteoblas yang tetap berada di permukaan tulang yang menghadap pada periosteum memiliki pilihan untuk menjadi sel pelapis tulang yang inert atau mengalami apoptosis.⁴⁰

Sel osteoblas juga berperan dalam diferensiasi osteoklas dengan mengeluarkan beberapa sinyal. Sinyal pertama adalah M-CSF yang berikatan dengan reseptor pada precursor osteoklas. Molekul sinyal yang kedua adalah

RANKL yang nantinya akan berikatan dengan reseptor RANK dan akan meningkatkan differensiasi osteoklas. Sinyal lain yang dikeluarkan oleh osteoblast adalah IL-6 yang akan memfasilitasi differensiasi osteoklas. IL-1 juga merupakan sinyal yang dikeluarkan oleh osteoblast yang berfungsi untuk proliferasi osteoklas. Sinyal yang terakhir adalah OPG yang akan menghambat produksi dari osteoklas.³⁹



Gambar 2.3. Osteoblas dan osteoklas perbesaran 500x. (Sumber: Mescher AL. Junqueira's basic histology: text and atlas. New York: McGraw Hill; 2016)

2.3.3 Osteoprotegerin

Osteoprotegerin atau juga dapat disebut dengan TNF receptor-related molecule-1 (TR-1) berasal dari bahasa latin “os” untuk tulang dan “protegere” untuk melindungi. Osteoprotegerin merupakan bagian dari superfamili tumor necrosis factor receptor. Osteoprotegerin (OPG) disekresikan oleh sel stroma dan osteoblastic lineage cell. mRNA OPG dikeluarkan dalam tulang, kulit, hati, paru-paru, perut, plasenta, otak dan berbagai jaringan lainnya yang disintesis oleh osteoblas sebagai propeptida.⁴¹

Osteoprotegerin (OPG) akan menghambat osteoklastogenesis dengan mencegah interaksi activator dari receptor activator of nuclear factor kappa B ligand

(RANKL) dengan receptor activator of nuclear factor kappa B (RANK).⁴² Ikatan RANK dan RANKL ini akan menstimulasi differensiasi dari monosit/ macrophage progenitor cells menjadi osteoklas yang aktif dan matur melalui berbagai macam signaling pathways.⁴¹ Osteoprotegerin ini akan berfungsi sebagai reseptor umpan untuk activator RANKL yang merupakan bagian integral dari sistem RANKL/RANK/osteoprotegerin karena 'menyelaraskan' keseimbangan antara pembentukan dan resorpsi tulang. Studi terbaru menunjukkan bahwa osteoprotegerin terlibat dalam pergerakan gigi ortodontik, periodontitis, erupsi gigi dan berbagai proses fisiologis atau patologis lainnya.⁴³ Selain itu, OPG juga memainkan peran kunci dalam kelangsungan hidup sel melalui interaktivitasnya dengan TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL). Ikatan OPG dengan TRAIL apoptosis yang diinduksi TRAIL pada beberapa jenis sel dan banyak sel kanker dihambat. OPG juga dianggap sebagai faktor kelangsungan hidup sel endotel mikrovaskular manusia karena dapat mengikat dan memblokir apoptosis yang diinduksi TRAIL.⁴¹

2.4 Teripang Emas

Teripang emas atau *Stichopus hermanii* telah diketahui sebagai salah satu sumber makanan dengan protein tinggi, dan menjadi salah satu komoditas perikanan dengan prospek baik dan nilai ekonomis tinggi. Biota laut ini telah lama dimanfaatkan sebagai makanan dan obat oleh sejumlah kalangan di Asia dan Timur Tengah. Hewan ini termasuk dalam invertebrata laut kulir duri (Echinodermata) dan dimanfaatkan pula sebagai obat serta suplemen. Diketahui mengandung beberapa senyawa seperti saponin, teriperten glikosida, kondroitin sulfat, neuritogenic

gangliosides, 12-methyltetradecanoic acid (12-MTA), dan lektin. Protein pada teripang mempunyai asam amino yang lengkap, baik asam amino esensial maupun asam amino non esensial.⁴⁴

2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi Teripang Emas²



Gambar 2.1 Teripang emas (*Stichopus hermannii*)

Phylum: Echinodermata,

Subphylum: Eleutherozoa,

Infraphylum: Echinozoa,

Class: Holothuroidea,

Subclass: Aspidochirotea,

Order: Aspidochirotida,

Family: Stichopodidae,

Genus: *Stichopus*,

Specific name: *hermannii*,

Scientific name: *Stichopus hermannii*

Teripang emas (*Stichopus hermannii*) dikenal dengan sebutan mentimun laut (sea cucumber) berbentuk silindris memanjang, berduri, tanpa tulang belakang yang umum ditemukan pada ekosistem terumbu karang perairan pantai pada

kedalaman 1 - 40 meter. Teripang umumnya berada pada berairan bersih, jernih dengan salinitas 30 - 33% dengan dasar pasir halus dan tanaman pelindung, atau pada lingkungan hidup kaya akan detritus (busukan alga), Teripang masuk dalam kelompok echinodermata yaitu biota laut berupa hewan ditandai dengan permukaan kulit berduri. Mulutnya terletak di anterior dan posterior yang dikelilingi oleh tentakel untuk menangkap makanan.⁴⁵ Dinding tubuhnya bersifat elastis, dengan panjang dewasa pada spesies terkecil 2,45 cm hingga ukuran terpanjang mencapai 90 cm. Makanan utama teripang ialah detritus, zat organik dalam pasir, juga plankton, bakteri, dan biota mikroskopis.⁴⁵

2.4.2 Kandungan Senyawa Bioaktif Teripang Emas

Teripang emas diketahui bermanfaat sebagai bahan baku obat karena banyak mengandung senyawa bioaktif. Teripang mempunyai kandungan bahan aktif dan sifat terapeutik yang potensial seperti triterpene glikosida, karotenoid, peptide bioaktif, asam lemak, kolagen, gelatin, kondroitin sulfat, vitamin, mineral, asam amino, protein 86,8%, asam lemak esensial, asam doco sahexanoat, antiseptik alamiah, faktor pertumbuhan sel, chondroitin, glukosaminoglycan (GAGs), glukosamin, glikosida keratin, lektin, mineral, mukopolisakarida, omega 3, 6, dan kolagen 80,0%.^{2,45} Kandungan bioaktif ini berpotensi sebagai nutrisi dan medikasi.

Uji kuantitatif karakterisasi senyawa organik pada whole ekstrak sticopus hermanii oleh Rima Parwati, 2012 menunjukkan kadar protein total 18,6%, asam amino esensial 14,76%, asam amino non esensial 3,18%, glikoprotein 3,81%, kolagen 4,06%, glikosaminoglikan 3,18%, asam hialuronat 0,14%, kondroitin sulfat 0,65%, dermatan sulfat 1,82%, mukopolisakarida 0,38%, proteoglikan

2,41%, EPA-DHA 0,15%, Flavonoida 0,04%, saponin 0,12% dan cell growth factor 0,11%. Sedang uji kuantitatif karakterisasi kandungan mineral whole ekstrak *sticupus hermanii* diperoleh kadar kalsium 215, fosfor 326,4, zat besi 12,4 dan magnesium 112.⁴⁵

Hasil Uji karakteristik Ekstrak Air teripang emas yang dilakukan Damaiyanti DW, 2015 yaitu Air 5,65%, Protein total 76,82 %, As.amino Esensial 48,11%, As.amino non esensial 28,70%, Glikoprotein 4,62%, Kolagen 4,05%, Glikosaminoglikan 1,62%, As.Hyaluronat 0,29%, Heparin 0,38, %, Heparin Sulfat 1,02%, Mukopolisakarida 0,69%, Proteoglikan 1,13%, EPA-DHA 0,16%, Alkaloid 0,11%, flavonoid 0,16 %, Tanin 0,02%, Glikosida 0,81%, Saponin 0,56%, Zn 0,01% dan Ca 0,59 %. Teripang Emas mengandung Gammapeptide yang tidak ditemui pada spesies lain, diketahui bermanfaat baik untuk kesehatan badan diantaranya dapat mengurangi rasa sakit, membantu mempercepat pengobatan luka luar dan dalam, membantu memelihara aliran darah, dan menghindari inflamasi.⁴⁵

2.4.3 Manfaat Teripang Emas dalam Kesehatan

Kandungan senyawa bioaktif pada Teripang emas berperan dalam anti-inflamasi, antibakteri, antifungi, anticancer, antiseptik, antioksidan, antinosisseptif dan berbagai manfaat lainnya. Teripang telah terbukti dapat melancarkan peredaran darah, mencegah penyumbatan kolesterol pada pembuluh darah, melancarkan fungsi ginjal, meningkatkan kadar metabolisme, arthritis, diabetes mellitus dan hipertensi serta mempercepat penyembuhan luka, baik luka luar maupun luka dalam.⁴⁵ Ekstrak teripang juga menunjukkan aktivitas antiprotozoa dan penghambatan pertumbuhan sel tumor.⁵

Kandungan protein pada teripang sangat tinggi dan hal ini sangat baik untuk penyembuhan luka sebagai penyusun dasar dalam perbaikan jaringan tubuh, ketersediaan protein mempercepat regenerasi jaringan pada penyembuhan luka seperti luka pasca pencabutan gigi ataupun ulser.¹³ Teripang emas (*Stichopus hermannii*) juga diketahui dapat memodulasi respon inflamasi, dengan menstimulasi aktivasi dan proliferasi fibroblas serta meningkatkan produksi masif dari jaringan ikatan kolagen dengan waktu healing lebih singkat. Diketahui pada luka yang diaplikasikan ekstrak *Stichopus hermannii* level dari sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 α , IL-1 β , dan IL-6 menurun, serta didapatkan adanya efek regenerasi jaringan.¹¹ Diketahui bahwa kandungan EPA dan DHA yang dapat menurunkan sitokin inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α sehingga resorpsi tulang dapat terkendali. Kandungan flavonoid dapat menurunkan aktivitas makrofag dalam mengekspresikan sitokin inflamasi.⁴⁶

Teripang emas banyak mengandung kolagen, glikoprotein, dan heparin sulfat yang dapat memicu migrasi dan adhesi fibroblas, juga memiliki kandungan aktif proteoglikan yang bersifat hidrofilik sehingga memiliki kemampuan mengikat air, flavonoid kondrotin, omega 3,6 dan 9 serta glikosaminoglikan yang berperan memodulasi heparin-growth factor binding.⁴⁷ Kandungan kolagen dalam protein teripang sekitar 80% dari seluruh protein yang terdapat dalam tubuh. Termasuk glikoprotein, kolagen, glikosaminoglikan (Asam Hyaluronic, Chondroitin Sulfate, Dermatan Sulfate, Heparin, Heparin Sulfate), mucopolysaccharides, proteoglikan.⁴⁸ Kolagen berfungsi untuk pertumbuhan tulang, gigi, sendi, otot, dan kulit. Proteinnya juga mudah dicerna oleh enzim pepsin. Kolagen dibutuhkan untuk

pembentukan tulang, gigi, dan metabolisme dalam tubuh. Asupan kolagen akan membantu pertumbuhan jaringan mukosa, gingiva, otot, dan tulang, meningkatkan imunitas tubuh, serta menyembuhkan luka baik pada jaringan lunak maupun jaringan tulang. Penelitian oleh Wahyuningtyas 2018 mengkombinasikan kolagen dari teripang emas dengan hidroksiapatit dan didapati dapat meningkatkan jumlah osteoblast pada remodeling tulang.⁴⁹ Selain itu adapun sulfated glikosaminoglikan (sulfated GAGs) dari ekstrak teripang emas dengan beberapa GAGs antara lain heparin, heparin sulfat dan hyaluronan atau hyaluronic acid (HA) yang merupakan kunci dari proses biologis seperti: a) stabilisator, kofaktor dan atau ko-reseptor untuk growth factor, sitokindan kemokin; b) sebagai regulator aktifitas enzim; c) molekul signaling terhadap respon kerusakan seluler seperti luka, infeksi dan tumorigenesis.⁵⁰ Sumber glikosaminoglikan lainnya ialah kondroitin sulfat yang berperan dalam proses remodeling tulang.

2.5 Kolagen

Kolagen adalah protein yang banyak terdapat dalam tubuh manusia dan mencapai 30% dari seluruh protein penyusun tubuh manusia. Kolagen merupakan polimer alami yang banyak digunakan sebagai bahan pengganti tulang dalam tissue engineering dan perbaikan jaringan. Penggunaan senyawa ini dalam dunia kedokteran karena kolagen memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah sifat antigenitas rendah, afinitas dengan air tinggi, tidak beracun, biocompatible and biodegradable, relatif stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk sesuai kebutuhan dan mudah dilarutkan dalam air maupun asam.⁵¹ Selain itu, Kolagen mudah diserap dan didegradasi oleh tubuh, serta memiliki kemampuan menempel

pada sel yang baik, namun memiliki sifat mekanik yang rendah dibandingkan tulang.⁴⁸

Teripang emas kaya akan growth factor yang dapat memperbaiki sel-sel yang rusak dan protein yang mencapai hingga 82% dari seluruh komponen stichopus hermannii, 80% diantaranya adalah kolagen. Kolagen berfungsi sebagai pengikat jaringan dalam pertumbuhan tulang dan kulit. Kolagen adalah protein struktural utama dalam tulang dan tulang rawan.⁴⁸ Kolagen penting dalam proses penyembuhan luka maupun tulang. Kolagen mempunyai banyak kemampuan seperti homeostatis, interaksi dengan fibronectin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan growth factor, dan mendorong proses fibroplasia dan terkadang proliferasi epidermis.⁵²

2.6 Kondroitin Sulfat

Kondroitin sulfat merupakan biomakromolekul alami yang dapat ditemui pada hampir semua invertebrata dan vertebrata (dan juga pada manusia) yang terlibat dalam banyak proses biologis.⁵³ Berdasarkan keragaman struktural organisme-ke-organisme dan jaringan-ke-jaringan dalam panjang rantai dan pola sulfasi, kondroitin sulfat menyediakan fungsi biologis spesifik pada tingkat molekuler, seluler, dan organ seperti adhesi sel, pembelahan dan diferensiasi sel, morfogenesis, organogenesis, dan pembentukan saraf.⁵³

2.6.1 Karakteristik Kondroitin Sulfat

Kondroitin sulfat adalah glikosaminoglikan tersulfasi yang terdiri dari rantai asam D-glukuronat bergantian dan N-asetil-D-galaktosamin. Disakarida kondroitin sulfat dapat memiliki jumlah dan pola sulfasi yang berbeda, oleh karena itu

polisakarida heterogen yang kompleks dengan kepadatan muatan dan berat molekul yang bervariasi, dapat mempengaruhi sifat kimia dan aktivitas biologis serta farmakologisnya.⁵³ Produk kondroitin sulfat dapat diturunkan dari berbagai jaringan hewan, yang dapat menghasilkan produk yang memiliki struktur berbeda; dengan berbagai teknik ekstraksi dan pemurnian dapat digunakan, menghasilkan kandungan, komposisi, kemurnian, efek biologis, manfaat klinis dan keamanan yang berbeda.⁵⁴

2.6.2 Kondroitin Sulfat dalam Regenerasi Jaringan Keras

Kondroitin sulfat telah terbukti memiliki berbagai efek menguntungkan: efek anti-inflamasi, peningkatan kolagen tipe II dan proteoglikan, pengurangan resorpsi tulang dan keseimbangan anabolik/katabolik yang lebih baik dalam kondrosit.⁴⁸ Salah satu jenis glikosaminoglikan ini memiliki pengaruh pada sitokin, kemokin, dan growth faktor pada tulang alveolar dan struktur dimana osteoblas serta osteoklas berkoordinasi pada proses remodeling tulang. Kondroitin sulfat dapat menghambat apoptosis osteosit dan meningkatkan osteoblas pada proses remodeling. Diketahui bahwa kondroitin sulfat memiliki efek antiosteoklastogenik dan flavonoid yang dapat meningkatkan ekspresi OPG, diferensiasi osteoblas, dan menurunkan ekspresi RANKL.⁴⁸ Glikosaminoglikan yang berikatan dengan RANKL dapat memblokir interaksi antara RANKL dan RANK.⁴⁸ Glikosaminoglikan memiliki afinitas terhadap RANKL dan secara signifikan mencegah osteoklastogenesis yang diinduksi RANKL dengan mengaktifkan jalur ERK.

Interaksi lokal antara sel-sel tulang merupakan faktor penting untuk mengontrol remodeling dan pembentukan tulang. Efek keseluruhan glikosaminoglikan pada osteoblas adalah stimulasi, bersama dengan kemampuan glikosaminoglikan ini untuk mencegah osteoklastogenesis. Glikosaminoglikan menggeser homeostasis remodeling tulang cenderung ke arah pembentukan tulang dengan lebih memilih osteoblastogenesis dibandingkan osteoklastogenesis.¹² Efek pemberian glikosaminoglikan (GAGs) seperti kondroitin sulfat secara oral telah terbukti meningkatkan kalsium total dan penyerapan kalsium usus, yang selanjutnya mempengaruhi peningkatan kapasitas tulang yang injuri untuk beregenerasi selama proses osteogenesis.¹²

Pembentukan tulang pada vertebrata melalui proses endochondral dan osifikasi intramembranosa. Studi untuk mengamati peran ikatan kondroitin sulfat dalam osteogenesis dilakukan dengan mengamati sel MC3T3-E1 pada tikus yang mewakili sel osteoblastik pada proses osifikasi intramembranosa secara *in vitro*. Khususnya, sel-sel MC3T3-E1 mengekspresikan N-cadherin dan cadherin-11, dan kontak sel-sel yang dimediasi cadherin dikenal penting untuk permulaan diferensiasi osteogenik. Analisis biokimia rantai kondroitin sulfat dalam membedakan kultur MC3T3-E1 mengungkapkan peningkatan rantai kondroitin sulfat dengan proporsi unit E yang relatif tinggi.

Kondroitin sulfat-E, berikatan dengan N-cadherin dan cadherin-11 dengan adanya divalensi, dan meningkatkan diferensiasi osteogenik. Yang penting, bahkan dalam kultur sel MC3T3-E1 kepadatan rendah, di mana kontak sel-sel yang dimediasi cadher tidak terjadi, aplikasi eksogen polimer kondroitin sulfat-E dan

heksasakarida yang ditentukan dapat mengaktifkan pensinyalan intraseluler yang diperlukan untuk osteogenesis. Selain itu, overproduksi unit E dalam sel MC3T3-E1 yang ditransfeksi secara stabil dengan GalNAc4S-6ST menjadikan sel lebih adesif pada pelat berlapis N-cadherin/cadherin-11. Temuan ini menunjukkan bahwa kondroitin sulfat-E adalah ligan selektif untuk reseptor kondroitin sulfat potensial, N-cadherin dan cadherin-11, yang mengarah ke osteogenesis sel MC3T3-E1, dan dengan demikian dapat berguna sebagai agen pemacu osteogenesis.⁶⁰

2.7 Glukosamin

Glukosamin merupakan komponen monosakarida amino yang penting dalam susunan matriks kartilago, biasanya dikonsumsi sebagai suplemen anti-osteoarthritis dan meningkatkan fungsi sendi. Glukosamin pertama kali ditemukan oleh Georg Ledderhose di tahun 1876 melalui hidrolisis kitin dengan asam klorida pekat. Glukosamin terdapat dalam tubuh manusia yang terdiri dari glukosa dan asam amino glutamin serta prekursor penting dalam sintesis biokimia, protein, dan lipid.⁵⁶ Glukosamin terkandung dalam berbagai bahan alami, termasuk *Stichopus hermannii*. Studi menunjukkan ekstrak *Stichopus hermannii* mengandung asam amino, kondroitin, dan glukosamin hidroklorida (<5.00) yang berfungsi sebagai anti-inflamasi, stimulasi pertumbuhan tulang, termasuk anti-kanker.⁵⁷

Penggunaan glukosamin sebagai bahan aktif untuk alternatif bahan kimiawi pada kasus tulang banyak digunakan. Selain itu, Jiang et al menyatakan menyatakan bahwa glukosamin dapat menstimulasi osteogenesis, melindungi osteoblas dari kerusakan oksidatif secara *in vitro*.⁵⁸ Aktivitas osteoblas yang dapat ditingkatkan

oleh glukosamin ini dapat menstimulai pembentukan tulang. Diketahui glukosamin dapat mengurangi kehilangan tulang pada studi in vivo tikus wistar yang mengalami osteoporosis, dengan mencegah penuaan sel osteoblast.⁵⁹ Glukosamin terbukti dapat menstimulasi produksi tulang rawan dan menghambat enzim yang menghancurkan tulang rawan.