

**EFEKTIVITAS GEL KOLAGEN SISIK BARRAMUNDI (*Lates calcarifer*)  
TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT PADA *Rattus novergicus* SEBAGAI  
MARKER *REMODELING* PASCA INDUKSI PERIODONTITIS**

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk Melengkapi Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Sarjana  
Kedokteran Gigi*



**OLEH**

**ENDAH NOOR LATIFAH**

**J011201032**

**DEPARTEMEN PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**2023**

**EFEKTIVITAS GEL KOLAGEN SISIK BARRAMUNDI (*Lates calcarifer*)  
TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT PADA *Rattus novergicus* SEBAGAI  
MARKER *REMODELING* PASCA INDUKSI PERIODONTITIS**

*(Effectiveness of Barramundi (*Lates Calcarifer*) Scales Collagen Gel on  
Lymphocyte Count in *Rattus Novergicus* as a Marker of Remodeling After  
Induction of Periodontitis)*

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk Melengkapi Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Sarjana  
Kedokteran Gigi*

**ENDAH NOOR LATIFAH**

**J011201032**

**DEPARTEMEN PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

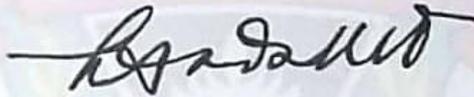
**2023**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Efektivitas Gel Kolagen Sisik Barramundi (*Lates calcarifer*)  
Terhadap Jumlah Limfosit Pada *Rattus novergicus* Sebagai  
Marker *Remodeling* Pasca Induksi Periodontitis  
Oleh : Endah Noor Latifah/ J011201032

Telah Diperiksa dan Disahkan  
Pada Tanggal 04 Desember 2023

Oleh:



Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio (K)

NIP. 19581110 198609 1 002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin



Irfan Sugianto, drg., M.Med.ed., Ph.D

NIP. 19810215 200801 1 009

## SURAT PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum di bawah ini :

Nama : Endah Noor Latifah

NIM : J011201032

Judul : Efektivitas Gel Kolagen Sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) Terhadap Jumlah Limfosit Pada *Rattus novergicus* Sebagai Marker Remodeling Pasca Induksi Periodontitis

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul yang diajukan adalah judul baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Makassar, 04 Desember 2023

Koordinator Perpustakaan FKG Unhas



Amiruddin, S.Sos  
NIP: 19661121 199201 1 003

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Endah Noor Latifah

NIM : J011201032

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Efektivitas Gel Kolagen Sisik *Barramundi (Lates calcarifer)* Terhadap Jumlah Limfosit Pada *Rattus novergicus* Sebagai Marker *Remodeling* Pasca Induksi Periodontitis” benar merupakan karya saya. Judul skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi. Jika di dalam skripsi ini terdapat informasi yang berasal dari sumber lain, saya nyatakan telah disebutkan sumbernya di dalam daftar pustaka.

Makassar, 04 Desember 2023



Endah Noor Latifah  
J011201032

## HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Pembimbing :

1. Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio (K)

Tanda Tangan



(            )

Judul Skripsi:

Efektivitas Gel Kolagen Sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) Terhadap Jumlah Limfosit Pada *Rattus novergicus* Sebagai Marker *Remodeling* Pasca Induksi Periodontitis

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul seperti tersebut di atas telah diperiksa, dan dikoreksi dan disetujui oleh pembimbing untuk di cetak dan/atau diterbitkan.

## **MOTTO**

Good things take time.

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim*

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena berkat dan rahmat-Nya-lah penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Efektivitas Gel Kolagen Sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) Terhadap Jumlah Limfosit Pada *Rattus novergicus* Sebagai Marker *Remodeling* Pasca *Induksi Periodontitis*”**. Shalawat serta salam penulis haturkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Lebih dari itu, penulis sangat mengharapkan dapat memberikan manfaat bagi para mahasiswa, masyarakat, dan peneliti untuk menambah informasi rasional dalam bidang ilmu kedokteran gigi.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis mengalami beberapa kendala yang dihadapi. Namun, berkat bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, melalui kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kedua orang tua penulis, **Syahminan** dan **Sarmini** serta kakak **Yudi** yang telah memberikan dukungan baik berupa moral dan materil serta do'a yang

tiada hentinya kepada penulis selama ini. Semoga Allah melimpahkan rahmat-Nya serta memberikan kesehatan.

2. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan motivasi kepada seluruh mahasiswa untuk menyelesaikan skripsi tepat waktu.
3. **Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio (K)**, selaku dosen pembimbing dalam penulisan skripsi ini yang banyak meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan arahan, bimbingan, dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. **drg. Adelia Chandra Carolina**, terima kasih karena telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi dan penelitian penulis. Mulai dari penyusunan proposal sampai pencarian tempat pengolahan kolagen, klinik hewan yang akan dijadikan sebagai tempat pemeliharaan hewan coba, tempat pembelian hewan coba, *sacrificed* hewan coba, laboratorium pembuatan preparat dan hitung sel, serta penyusunan bab hasil dan pembahasan. Terima kasih banyak dok atas semua bantuan, arahan, dan bimbingannya dok
5. **drh. Andi Fitra Ardiansyah, drh. Frissil, drh. Fiah, Kak Rahmat, dan kakak-kakak di klinik hewan La Costae**, terima kasih karena telah membantu dalam adaptasi, perlakuan, dan *sacrificed* hewan coba
6. **Supiaty, drg., M.Kes dan Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)** selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan-masukan bermanfaat untuk kesempurnaan dalam penyusunan skripsi ini.

7. **Seluruh Dosen, Staf Akademik, Staf Tata Usaha, dan Staf Perpustakaan FKG UNHAS** serta **Staf Departemen Periodonsia** yang telah banyak membantu penulis.
8. **Cut dan Igo**, selaku teman seperjuangan penelitian penulis yang telah memberikan dukungan dan bantuan dari awal penulisan skripsi, penelitian, dan hingga penulisan skripsi selesai.
9. Teman-teman angkatan **ARTIKULASI 2020** selaku teman seperjuangan penulis yang telah membersamai dan memberikan motivasi serta do'a mulai dari awal hingga akhir perkuliahan kepada penulis.
10. **Sasa dan Syarifa** selaku teman dekat penulis yang selalu memberikan dukungan selama penyusunan skripsi.
11. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis sangat mengharapkan dalam tulisan ini mampu menjadi sumber informasi rasional yang bermanfaat dalam bidang ilmu kedokteran gigi untuk ke depannya. Penulis menyadari dalam penulisan ini sangat jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk membantu menyempurnakan skripsi ini.

Makassar, 04 Desember 2023

Penulis

## **ABSTRACT**

### ***EFFECTIVENESS OF BARRAMUNDI (*Lates Calcarifer*) SCALES COLLAGEN GEL ON LYMPHOCYTE COUNT IN *Rattus novergicus* AS A MARKER OF REMODELING AFTER INDUCTION OF PERIODONTITIS***

*Endah Noor Latifah<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Dental Student of Hasanuddin University, Indonesia*

*[endahlatifahnoor@gmail.com](mailto:endahlatifahnoor@gmail.com)<sup>1</sup>*

**Introduction:** Periodontitis is one of the problems in the teeth and mouth that is often experienced by the community. The prevalence of periodontitis in Indonesia is 74.1%. Treatment that can be done in periodontitis is in the form of periodontal tissue regeneration with bone graft material and therapy used in the form of xenograft. The xenograft material that can be used is derived from fish scales. Fish scales are known to contain collagen which has good potential to be used as a material for periodontal tissue regeneration. In addition, the use of fish scales as an alternative material can help reduce fish processing waste which reaches above 50-70% and annually as much as 49,000 tons of fish scale waste. Barramundi fish is one of the fish that has a wide distribution and the collagen content in its scales has good tensile strength so that it can be used as a material for periodontal tissue regeneration. Collagen itself plays a role in the regeneration process of periodontal tissue by affecting inflammatory cells, namely lymphocytes.

**Methods:** The type of research used is laboratory experimental research, with the post test only control group design method then analyzing data on lymphocytes using the Kruskal Wallis Test and Dunn Test.

**Results:** Based on the results of the study, it was found that the number of lymphocytes in the group without treatment was higher than the test group. Meanwhile, the number of lymphocytes in the group treated with metronidazole gel has an insignificant difference ( $p=0.000$ ) so that the results of therapy with *Lates calcarifer* collagen in periodontitis can resemble the results of metronidazole gel therapy.

**Conclusion:** Collagen gel from barramundi scales (*Lates calcarifer*) is effective in reducing the number of lymphocytes in periodontal tissue regeneration.

**Keywords:** Periodontitis, collagen gel, *Lates calcarifer*, periodontal tissue regeneration

## ABSTRAK

### EFEKTIVITAS GEL KOLAGEN SISIK BARRAMUNDI (*Lates calcarifer*) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT PADA *Rattus novergicus* SEBAGAI MARKER *REMODELING* PASCA INDUKSI PERIODONTITIS

Endah Noor Latifah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Indonesia

[endahlatifahnoor@gmail.com](mailto:endahlatifahnoor@gmail.com)<sup>1</sup>

**Pendahuluan :** Periodontitis merupakan salah satu masalah pada gigi dan mulut yang sering dialami oleh masyarakat. Prevalensi periodontitis di Indonesia yaitu sebanyak 74,1%. Perawatan yang dapat dilakukan pada periodontitis yaitu berupa regenerasi jaringan periodontal dengan bahan *bone graft* dan terapi yang digunakan berupa xenograft. Bahan xenograft yang dapat digunakan yaitu berasal dari sisik ikan. Sisik ikan diketahui mengandung kolagen yang berpotensi baik untuk digunakan sebagai bahan regenerasi jaringan periodontal. Selain itu, penggunaan sisik ikan sebagai bahan alternatif dapat membantu dalam mengurangi limbah pengolahan ikan yang mencapai di atas 50-70% dan setiap tahunnya sebanyak 49.000 ton limbah sisik ikan. Ikan barramundi merupakan salah satu ikan yang mempunyai persebaran yang luas dan kandungan kolagen pada sisiknya mempunyai *tensile strength* yang baik sehingga dapat dijadikan sebagai bahan regenerasi jaringan periodontal. Kolagen sendiri berperan dalam proses regenerasi jaringan periodontal dengan mempengaruhi sel radang yaitu limfosit.

**Metode :** Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratorium, dengan metode *post test only control group design* kemudian analisis data pada limfosit menggunakan Uji *Kruskal Wallis* dan Uji *Dunn*.

**Hasil :** Berdasarkan hasil penelitian maka didapatkan jumlah limfosit kelompok tanpa perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok uji. Sementara itu, jumlah limfosit pada kelompok yang diterapi gel metronidazole memiliki perbedaan yang tidak signifikan ( $p=0.000$ ) sehingga hasil terapi dengan kolagen *Lates calcarifer* pada periodontitis mampu menyerupai hasil terapi gel metronidazole.

**Kesimpulan :** Gel kolagen dari sisik barramundi (*Lates calcarifer*) efektif dalam menurunkan jumlah limfosit pada regenerasi jaringan periodontal

**Keywords:** Periodontitis, gel kolagen, *Lates calcarifer*, regenerasi jaringan periodontal

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	vi
MOTTO.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
<i>ABSTRACT</i> .....	xi
ABSTRAK.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR DIAGRAM .....	xviii
BAB I.....	19
PENDAHULUAN .....	19
1.1    Latar Belakang .....	19
1.2    Rumusan Masalah .....	21
1.3    Tujuan Penelitian.....	21
1.4    Manfaat Penelitian .....	21
BAB II .....	23
TINJAUAN PUSTAKA .....	23
2.1    Periodontitis.....	23
2.1.1    Definisi Periodontitis .....	23
2.1.2    Etiologi Periodontitis .....	24
2.1.3    Patogenesis Periodontitis .....	25
2.1.4    Klasifikasi Periodontitis .....	27
2.1.5    Proses Penyembuhan Luka Pasca Periodontitis .....	29
2.2    Regenerasi.....	33
2.2.1    Regenerasi Jaringan Periodontal .....	33
2.2.2    Peran Kolagen Untuk Regenerasi Jaringan Periodontal .....	35

2.3	<b>Ikan Barramundi</b> .....	<b>36</b>
2.3.1	<b>Klasifikasi Ikan Barramundi</b> .....	<b>36</b>
2.3.2	<b>Kandungan Gizi dan Manfaat Ikan Barramundi</b> .....	<b>37</b>
2.3.3	<b>Peran Sisik Ikan Untuk Penyembuhan Luka</b> .....	<b>37</b>
2.4	<b>Limfosit</b> .....	<b>38</b>
<b>BAB III</b> .....		<b>40</b>
<b>KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESA</b> .....		<b>40</b>
3.1	<b>Kerangka Teori</b> .....	<b>40</b>
3.2	<b>Kerangka Konsep</b> .....	<b>41</b>
3.3	<b>Hipotesa</b> .....	<b>41</b>
<b>BAB IV</b> .....		<b>42</b>
<b>METODE PENELITIAN</b> .....		<b>42</b>
4.1	<b>Rancangan Penelitian</b> .....	<b>42</b>
4.2	<b>Lokasi dan Waktu Penelitian</b> .....	<b>42</b>
4.2.1.	<b>Lokasi Penelitian</b> .....	<b>42</b>
4.2.2.	<b>Waktu Penelitian</b> .....	<b>42</b>
4.3	<b>Subjek Penelitian</b> .....	<b>42</b>
4.3.1.	<b>Kriteria Inklusi</b> .....	<b>42</b>
4.3.2.	<b>Kriteria Eksklusi</b> .....	<b>42</b>
4.3.3.	<b>Kriteria <i>Drop Out</i></b> .....	<b>43</b>
4.3.4.	<b>Jumlah Subjek Penelitian</b> .....	<b>43</b>
4.4	<b>Variabel Penelitian dan Definisi Operasional</b> .....	<b>44</b>
4.4.1.	<b>Variabel Penelitian</b> .....	<b>44</b>
4.4.2.	<b>Definisi Operasional</b> .....	<b>44</b>
4.5	<b>Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	<b>45</b>
4.5.1	<b>Alat</b> .....	<b>45</b>
4.5.2	<b>Bahan</b> .....	<b>45</b>
4.6	<b>Prosedur Penelitian</b> .....	<b>46</b>
4.6.1.	<b>Ekstraksi Kolagen Sisik Ikan Barramundi</b> .....	<b>46</b>
4.6.2.	<b>Pemeliharaan Hewan Coba</b> .....	<b>49</b>
4.6.3.	<b>Perlakuan Hewan Coba</b> .....	<b>50</b>
4.6.4.	<b><i>Sacrified</i> Hewan Coba</b> .....	<b>52</b>
4.7	<b>Pembuatan Preparat dan Hitung Sel</b> .....	<b>54</b>

4.8	Analisa Data .....	56
4.9	Alur Penelitian.....	57
<b>BAB V</b> .....		58
<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b> .....		58
5.1	Jumlah Limfosit berdasarkan Hasil Mikroskopik .....	58
5.2	Analisis Data Jumlah Limfosit .....	60
5.2.1	Uji Normalitas dan Homogenitas .....	60
5.2.2	Uji Beda dengan <i>Kruskal Wallis</i> .....	61
<b>BAB VI</b> .....		64
<b>PENUTUP</b> .....		64
6.1	Kesimpulan.....	64
6.2	Saran .....	64
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....		65
<b>LAMPIRAN</b> .....		71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Patogenesis Periodontitis .....	28
Gambar 2.2 Proses Penyembuhan Luka .....	33
Gambar 2.3 Ikan Barramundi ( <i>Lates calcarifer</i> ) .....	36
Gambar 4.1 Sisik ikan yang telah dibersihkan.....	46
Gambar 4.2 Penimbangan sampel sisik ikan .....	47
Gambar 4.3 Perendaman sisik ikan dalam larutan NaOH .....	47
Gambar 4.4 Perendaman sisik ikan dalam larutan EDTA .....	47
Gambar 4.5 Perendaman sisik ikan dengan CH <sub>3</sub> COOH .....	48
Gambar 4.6 Sampel diekstrak dengan aquades selama 3 jam.....	48
Gambar 4.7 Pembekuan kolagen dan dikeringkan dengan freez dryer.....	49
Gambar 4.8 Kolagen yang sudah jadi .....	49
Gambar 4.9 Pengadaptasian hewan coba.....	50
Gambar 4.10 Anestesi dengan Ketamine dan Xylazine.....	50
Gambar 4.11 Anestesi pada paha tikus secara intramuskular.....	50
Gambar 4.12 Induksi bakteri <i>Poryphyromonas gingivalis</i> .....	51
Gambar 4.13 Pemberian gel kolagen .....	51
Gambar 4.14 Pemberian gel metronidazole.....	52
Gambar 4.15 Sacrified kelompok uji .....	52
Gambar 4.16 Sacrified kelompok kontrol positif.....	53
Gambar 4.17 Sacrified kelompok kontrol negatif.....	53
Gambar 4.18 Pengambilan sampel hewan coba.....	53
Gambar 4.19 Preparat Kelompok Kontrol Negatif .....	54
Gambar 4.20 Preparat Kelompok Kontrol Positif.....	54
Gambar 4.21 Preparat Kelompok Uji .....	54
Gambar 4.22 Pengamatan Preparat Kelompok Kontrol Negatif.....	55
Gambar 4.23 Pengamatan Preparat Pada Kelompok Kontrol Positif .....	55
Gambar 4.24 Pengamatan Preparat Pada Kelompok Uji .....	56

## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Jumlah Limfosit pada Setiap Kelompok Penelitian.....	58
Tabel 5.2 Uji Normalitas dan Homogenitas Jumlah Limfosit .....	61
Tabel 5.3 Uji Beda terhadap Jumlah Limfosit .....	61
Tabel 5.4 Uji <i>Post Hoc</i> terhadap Jumlah Limfosit.....	62

## DAFTAR DIAGRAM

Diagram batang 5.1 Perbedaan Jumlah Limfosit.....	61
---	----

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang penting bagi kesehatan tubuh karena ketika terjadi gangguan pada gigi dan mulut seseorang maka dapat dikatakan kesehatannya terganggu serta dapat mempengaruhi kesehatan tubuh secara menyeluruh.<sup>1</sup> Berdasarkan data dari Riskesdas pada tahun 2018, penduduk Indonesia sebesar 57,6% mengalami masalah pada gigi dan mulutnya serta prevalensi periodontitis di Indonesia yaitu sebanyak 74,1%. Dengan demikian, perlu adanya peningkatan pelayanan kesehatan gigi dan mulut sebagai upaya dalam meningkatkan derajat kesehatan gigi dan mulut masyarakat Indonesia.<sup>2</sup>

Gingivitis dan periodontitis merupakan penyakit periodontal yang umum terjadi pada masyarakat. Gingivitis merupakan penyakit periodontal yang ditandai dengan adanya gingiva berwarna merah, bengkak, mudah berdarah, dan tidak adanya kerusakan pada tulang alveolar.<sup>3</sup> Penyakit periodontal lainnya adalah periodontitis yang ditandai dengan adanya inflamasi destruktif pada jaringan periodontal dan ditandai dengan adanya poket, gigi goyang, perlekatan gigi hilang, dan resesi gingiva. Terdapat beberapa bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit periodontal yaitu *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Tannerella forsythensis*, dan *Prevotella intermedia*.<sup>4</sup>

Penyakit periodontal perlu segera dilakukan perawatan agar tidak mengganggu kesehatan gigi dan mulut dan mengganggu aktivitas seseorang sehingga membuatnya tidak nyaman. Regenerasi jaringan periodontal merupakan perawatan yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan periodontitis. Peranan dari regenerasi jaringan periodontal yaitu untuk mengembalikan kembali jaringan periodontal yang telah rusak karena adanya periodontitis. Salah satu perawatan dari regenerasi jaringan periodontal ini yaitu *bone graft* yang terbagi lagi menjadi autograft, allograft, xenograft, dan alloplastik. Autograft merupakan

bahan *bone graft* yang berasal dari tulang sendiri. Allograft merupakan terapi cangkok tulang yang bahannya berasal dari spesies yang sama. Xenograft merupakan bahan *bone graft* yang digunakan berasal dari spesies lain.<sup>5</sup>

*Bone graft* dengan terapi xenograft dapat berasal dari tulang sapi dan babi yang keduanya mampu menghasilkan kolagen dan berperan pada proses regenerasi jaringan periodontal. Akan tetapi, kedua bahan tersebut bertentangan dengan kepercayaan yang dianut masyarakat sehingga diperlukan bahan lain yang tidak bertentangan atau bersinggungan dengan kepercayaan manapun. Bahan xenograft yang berasal dari perairan atau dalam hal ini adalah ikan merupakan alternatif kolagen yang dapat digunakan karena tidak bertentangan dengan kepercayaan manapun. Penggunaan ikan sebagai alternatif kolagen merupakan pilihan yang cukup baik karena kolagen yang dihasilkan oleh ikan atau dalam hal ini adalah sisiknya mempunyai potensi yang cukup baik untuk digunakan sebagai bahan regenerasi jaringan periodontal. Selain itu, menjadikan sisik ikan sebagai alternatif bahan kolagen dapat membantu dalam mengurangi limbah pengolahan ikan yang mencapai di atas 50-70% dan setiap tahunnya sebanyak 49.000 ton limbah sisik ikan dihasilkan selama proses pengolahan ikan, sehingga pengolahan sisik ikan sebagai bahan baku pembuatan kolagen dapat membantu dalam mengurangi limbah ikan.<sup>6</sup>

Ikan kakap putih atau Barramundi (*Lates calcarifer*) merupakan salah satu komoditas laut yang dapat dikonsumsi dan mempunyai nilai ekonomis cukup tinggi. Ikan ini mempunyai persebaran yang cukup luas pada wilayah Hinda-Pasifik Barat mulai dari Asia Tenggara sampai Papua Nugini dan Australia. Pada Provinsi Sulawesi Selatan, ikan ini mempunyai persebaran sepanjang Selat Makassar.<sup>7</sup> Dengan persebaran yang cukup luas tersebut, ikan kakap putih dapat digunakan sebagai salah satu alternatif sumber kolagen. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Sankar et al kandungan kolagen yang berasal dari sisik ikan *Lates calcarifer* yang telah dilakukan evaluasi dengan menggunakan IR (*Infrared Spectroscopy*), TGA (*Thermo Gravimetric Analysis*), dan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) menunjukkan bahwa sisik ikan ini mempunyai kandungan

berupa *tensile strength* yang baik sehingga dapat dijadikan sebagai bahan untuk penyembuhan luka.<sup>8</sup>

Kolagen mempunyai peranan lain yaitu dalam proses penyembuhan luka, kolagen berperan dalam hemostasis, interaksi dengan trombosit, interaksi dengan fibronektin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, dan meningkatkan faktor pertumbuhan.<sup>9</sup> Selain kolagen, pada proses penyembuhan luka berperan juga limfosit. Pada fase inflamasi awal, limfosit akan tampak dan menginfiltrasi daerah yang mengalami luka bersamaan dengan neutrofil dan makrofag. Pada fase proliferasi, limfosit akan mengalami peningkatan, limfosit akan menurun jumlahnya jika telah terjadi proses regenerasi.<sup>10</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Tingginya prevalensi periodontitis di Indonesia dan dibutuhkannya penanganan yang cepat sehingga penggunaan bahan alternatif dapat dijadikan sebagai pilihan perawatan periodontitis. Berdasarkan hal tersebut, rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah terdapat efek pemberian gel kolagen sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) terhadap jumlah limfosit pada *Rattus novergicus* pasca induksi periodontitis?.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian yaitu :

1. Untuk mengetahui pengaruh aplikasi gel kolagen sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) terhadap jumlah limfosit pada *Rattus novergicus* pasca induksi periodontitis.
2. Untuk mengetahui perbandingan keefektifan antara gel kolagen sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) dengan gel metronidazole terhadap jumlah limfosit.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dilakukannya penelitian ini yaitu

1. Bagi penulis, diharapkan dapat menambah pengetahuan penulis mengenai efek pemberian gel kolagen sisik Barramundi (*Lates calcarifer*) terhadap jumlah limfosit pada *Rattus novergicus* pasca induksi periodontitis.

2. Diharapkan dapat menjadi bahan referensi dalam penelitian selanjutnya dan memperluas pengetahuan mengenai manfaat sisik ikan Barramundi (*Lates calcarifer*).
3. Sebagai bahan alternatif terapi periodontisis yang bersumber dari bahan alami.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Periodontitis**

##### **2.1.1 Definisi Periodontitis**

Periodontitis merupakan penyakit yang menyerang jaringan periodontal dan mempunyai perkembangan cukup pesat yaitu sekitar 10,5%-12% dari populasi di dunia. Periodontitis di Indonesia mempunyai prevalensi yang cukup besar menurut data yang disajikan oleh RISKESDAS tahun 2018 yaitu sebesar 74,1%. Bertambahnya usia menjadi salah satu faktor meningkatnya prevalensi periodontitis.<sup>11</sup>

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi multifaktorial yang terjadi karena adanya akumulasi plak. Periodontitis merupakan penyakit yang mempunyai karakter berupa adanya kerusakan yang sifatnya destruktif pada jaringan pendukung gigi seperti ligamen periodontal dan tulang alveolar. Tampilan klinis yang ditimbulkan oleh periodontitis adalah inflamasi pada gingiva, kehilangan tulang, adanya poket, gigi goyang, perdarahan ketika dilakukan probing, dan perpindahan patologi gigi.<sup>12</sup>

Periodontitis yang tidak dirawat dapat menyebabkan terjadinya inflamasi yang parah dan mobilitas yang cukup progresif pada gigi, menyebabkan rasa nyeri, kesulitan makan, estetik berkurang, dan kehilangan gigi.<sup>13</sup> Periodontitis yang tidak dirawat juga akan menyebabkan inflamasi pada gingiva yang berlanjut sehingga menyebabkan rusaknya jaringan periodontal dan tulang alveolar. Perawatan pada periodontitis perlu dilakukan secepat mungkin untuk menghindari keparahan lebih lanjut bagi jaringan periodontal.<sup>14</sup>

Periodontitis dapat didiagnosis dengan melihat adanya perubahan pada gingiva yang ditandai dengan gingivitis. Selain itu, untuk mendiagnosis periodontitis dapat dilakukan dengan melakukan pengukuran menggunakan probe periodontal yang digunakan untuk mengukur kedalaman sulkus gingiva atau poket. Tujuan dari pengukuran poket menggunakan probe periodontal yaitu untuk mengetahui *loss of attachment* dari ligamen periodontal sampai permukaan akar.

Pemeriksaan radiografi sebagai salah satu pemeriksaan penunjang juga perlu dilakukan untuk menegakkan diagnosis dari periodontitis yang berfungsi untuk mengetahui kehilangan tulang dan perluasan dari periodontitis.<sup>14</sup>

### **2.1.2 Etiologi Periodontitis**

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi destruktif yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu yang mempunyai potensi untuk menyebabkan kerusakan pada jaringan periodontal. Etiologi dari periodontitis cukup kompleks karena terdiri dari faktor lokal dan faktor sistemik. Etiologi yang berasal dari faktor lokal umumnya disebabkan oleh adanya akumulasi bakteri sehingga menyebabkan terbentuknya plak. Sementara itu, faktor sistemik dalam periodontitis dapat memperparah kondisi periodontitis. Terjadinya periodontitis juga dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, genetik, dan kebersihan rongga mulut pasien.<sup>15</sup>

Faktor lokal yang menjadi penyebab terjadinya periodontitis atau dalam hal ini adalah bakteri yang dapat ditemukan pada plak. Akumulasi plak diakibatkan oleh kurangnya pemeliharaan dalam menjaga kebersihan rongga mulut. Akumulasi plak dapat ditemukan adanya bakteri atau mikroorganisme patogen.<sup>16</sup> Mikroorganisme atau bakteri patogen yang menyebabkan terjadinya periodontitis adalah *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*), *Prevotella intermedia*, dan *Fusobacterium nucleatum*, *Wolinella recta*, serta *spirochetes*. Bakteri *P. gingivalis* merupakan bakteri yang dominan menyebabkan terjadi penyakit ini. Penyebab terjadinya periodontitis tidak hanya disebabkan oleh bakteri tetapi juga terdapat faktor *host* atau faktor pertahanan tubuh pasien yang berpotensi menyebabkan terjadinya periodontitis. Salah satu contoh dari faktor pertahanan tubuh yang berperan yaitu endotoxin/lipopolisakarida (LPS) yang diketahui juga berperan dalam rusaknya jaringan ikat dan rusaknya tulang alveolar.<sup>17</sup> Lipopolisakarida (LPS) dapat menyebabkan peningkatan produksi mediator inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL-8 sehingga kerusakan jaringan dapat terjadi.<sup>11</sup>

Faktor sistemik yang dapat mempengaruhi jaringan periodontal atau menjadi faktor yang dapat memperparah periodontitis yaitu kelainan endokrin, kelainan hematologi, penyakit imunodefisiensi, dan genetik. Penyakit-penyakit sistemik dapat menyebabkan sistem imun *host* menjadi menurun sehingga menurunkan kemampuan pasien dalam mempertahankan dirinya dari invasi bakteri. Faktor lain yang dapat meningkatkan keparahan periodontitis yaitu restorasi yang *overhanging*, restorasi yang terbuka di bagian proksimal, merokok, dan maloklusi.<sup>18,19</sup>

### 2.1.3 Patogenesis Periodontitis

Periodontitis terjadi karena adanya ketidakseimbangan yang terjadi antara mikroorganisme dengan respon inflamasi *host*. Akumulasi plak yang di dalamnya terdapat bakteri patogen dan melakukan kolonisasi pada margin gingiva akan membentuk plak subgingiva. Bakteri yang telah membentuk plak subgingiva akan memperbanyak diri. Bakteri yang telah memperbanyak dirinya akan mengeluarkan produknya seperti *hidrogen sulfide*, protease, dan ammonia. Produk yang dihasilkan oleh bakteri tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada keseluruhan jaringan periodontal seperti hilangnya perlekatan jaringan periodontal dan kerusakan yang sifatnya permanen pada tulang alveolar. Kerusakan yang terjadi tidak hanya disebabkan oleh bakteri saja tetapi juga terdapat peran dari respon imun tubuh. Periodontitis menyebabkan terjadinya proses inflamasi sehingga mengaktifkan produksi leukosit yang fungsinya untuk menghindari agar invasi bakteri tidak menjadi lebih parah. Respon imun yang diberikan ini dapat berupa respon imun *innate* dan *adaptive*.<sup>20</sup>

Respon imun *innate* dilakukan oleh sel imun spesifik yang mempunyai sifat fagosit dan mempunyai kemampuan untuk melakukan migrasi ke tempat yang mengalami infeksi contohnya seperti *natural killer cells*, neutrofil, makrofag, dan sel dendritik. Periodontitis sebagai penyakit inflamasi sehingga memicu aktivasi dari makrofag yang akan mensintesis mediator inflamasi seperti interleukin 1 (IL-1) dan *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ).<sup>11</sup> Mediator ini akan bermanfaat dalam pertahanan tubuh, tetapi jika diproduksi secara berlebih akan memberikan dampak negatif bagi jaringan atau menyebabkan kerusakan pada

jaringan, tetapi meskipun mikroorganisme terletak pada bagian luar jaringan periodontal produknya berupa MAMPs akan menstimulasi respon imun *innate* dengan mengaktifkan *Toll-like receptor* (TLR).<sup>17</sup> Kondisi ini dapat menginisiasi dan memodulasi respon imun adaptif. Respon imun adaptif adalah respon imun yang didasarkan pada kemampuan sel imun dalam mengingat dan membedakan antara sel yang satu dengan sel lainnya. Sel mikroba patogen yang telah dikenali oleh reseptor yang sesuai, sel dendritik atau makrofag akan melepaskan sitokin. Produksi sitokin yang berlebih akan menyebabkan kerusakan jaringan lunak dan resorpsi tulang. Produk sitokin salah satunya prostaglandin E2 merupakan mediator inflamasi yang mampu merangsang kegiatan osteoklas sehingga menyebabkan resorpsi tulang.<sup>20</sup>

Empat tahapan yang menunjukkan perkembangan dari periodontitis, keempat tahapan tersebut menunjukkan gambaran klinis dan histopatologi dari jaringan periodontal. Keempat tahap tersebut yaitu *initial lesion*, *early lesion*, *established lesion*, dan *advanced lesion*.<sup>21</sup>

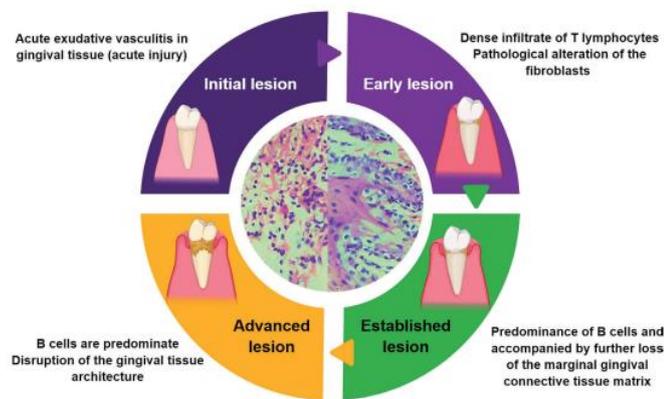
Tahap *initial lesion*, tahap ini dimulai 2-4 hari setelah akumulasi plak yang ditandai dengan adanya perubahan vaskular dan pembentukan gap interseluler. Kondisi tersebut menyebabkan peningkatan pada *gingival crevicular fluids* (GCF). Tahap ini juga dapat ditandai dengan adanya migrasi sel polimorfonuklear (PMN) melalui *epitel junction* ke sulkus gingiva dan ke area lesi dan hilangnya kolagen perivaskular..<sup>21,22</sup>

Tahap *early lesion*, tahap ini berlangsung selama 4-10 hari. Tahapan ini ditandai dengan adanya tampilan klinis berupa kemerahan pada area yang terinfeksi. PMN akan bermigrasi ke area ini dan membersihkan fibroblas yang mengalami apoptosis. Pada area lesi juga dapat ditemukan limfosit T yang mengubah fibroblas pada area lesi. Umumnya dan secara klinis tahapan ini bersifat *benign*. Kondisi ini dapat menyebabkan kerusakan pada serat kolagen sehingga berdampak pada meningkatnya ruangan untuk infiltrasi. Selain itu, dapat ditemukan juga degradasi dari matriks jaringan ikat.<sup>21,22</sup>

Tahap *established lesion*, tahap ini berlangsung selama 2-3 minggu. Sel yang mendominasi yaitu sel leukosit yang teragregasi dan sel B (sel plasma) yang

telah teraktivasi merupakan sel yang akan mendominasi pada tahap ini. Tampilan klinis tahap ini ditandai dengan adanya perubahan pada *epitel junction* dan sulkus epitelium menjadi poket epitelium atau dalam hal ini mulai terbentuknya poket gingival yang terjadi secara bertahap dan terjadi perdarahan ketika dilakukan probing. Terjadinya kehilangan tulang alveolar masih belum terlihat pada tahap ini.<sup>21,22</sup>

Tahap *advanced lesion*, tahapan ini terjadi karena adanya migrasi lebih lanjut dari mikroorganisme ke dalam poket sehingga memberikan lingkungan yang sesuai untuk mikroorganisme anaerob untuk melakukan proliferasi. Sel B atau sel plasma masih mendominasi dan berperan dalam kerusakan jaringan gingiva. Tahapan ini ditandai dengan kehilangan perlekatan yang sifatnya *irreversible* dan adanya kehilangan tulang, kedua hal tersebut dapat dilihat baik secara klinis maupun secara histologi. Kehilangan perlekatan dan tulang merupakan tanda yang khas dari tahapan ini. Tahapan lesi ini dipengaruhi oleh mikroba dan kondisi *host*.<sup>21,22</sup>



Gambar 2. 1 Patogenesis Periodontitis

#### 2.1.4 Klasifikasi Periodontitis

Klasifikasi periodontitis menurut *American Academy of Periodontology* (AAP) tahun 2017 tidak lagi dibedakan menjadi agresif dan kronis melainkan dikelompokkan berdasarkan *staging* dan *grading* yang nantinya dapat digunakan dari waktu ke waktu. Periodontitis yang dikelompokkan berdasarkan tingkat keparahan yang ditimbulkan dan perawatan yang diberikan termasuk ke dalam

kategori *stage*. Periodontitis yang dikategorikan sebagai *grade* dikelompokkan berdasarkan informasi tambahan mengenai karakteristik penyakit, progress penyakit, pemeriksaan faktor risiko yang dapat mempengaruhi perkembangan penyakit, prognosis, dan pemeriksaan penyakit sistemik atau penyakit lainnya yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan umum pasien.<sup>23</sup>

*American Academy of Periodontology* (AAP) juga mengklasifikasikan periodontitis menjadi periodontitis kronis, periodontitis agresif, dan periodontitis sebagai manifestasi dari penyakit sistemik. Periodontitis kronis merupakan periodontitis yang terjadi karena adanya inflamasi yang berlanjut pada gingiva dan telah mencapai jaringan periodontal dengan pola perkembangan yang lambat serta disertai dengan adanya kerusakan tulang secara horizontal. Keparahan yang dialami oleh pasien sebanding dengan tingkat akumulasi plak dan kalkulus pada rongga mulut. Periodontitis kronis ini terbagi lagi menjadi dua yaitu terlokalisir dan generalisir. Periodontitis kronis terlokalisir ditandai dengan jumlah gigi yang terlibat kurang dari 30% gigi dalam rongga mulut, sedangkan periodontitis kronis generalisir ditandai dengan jumlah gigi yang terlibat melebihi 30% gigi dalam rongga mulut.<sup>18</sup>

Periodontitis agresif merupakan kondisi inflamasi yang terjadi pada jaringan periodontal dengan pola perkembangan yang cepat dan kerusakan tulang yang dialami terjadi secara vertikal. Tingkat keparahan periodontitis agresif berbeda dengan periodontitis kronis karena pada periodontitis agresif tingkat keparahan penyakit tidak sebanding dengan akumulasi plak dan kalkulus yang terdapat pada rongga mulut.<sup>18</sup>

Periodontitis sebagai manifestasi dari penyakit sistemik. Periodontitis jenis ini berkaitan dengan kelainan hematologi seperti leukemia dan neutropenia, kelainan genetik (sindrom *down*, sindrom *cohen*, sindrom *pavillon leferve*, dan sindrom *ehler danlos*), penyakit diabetes mellitus tipe I, dan AIDS. Penyakit-penyakit tersebut mempunyai manifestasi pada periodontitis dan berdampak pada mekanisme tubuh dalam mempertahankan dirinya seperti menurunnya perlekatan leukosit dan neutropenia.<sup>18</sup>

### 2.1.5 Proses Penyembuhan Luka Pasca Periodontitis

Proses penyembuhan luka merupakan tahapan fisiologis yang dinamis dan dimulai dari inflamasi hingga proliferasi fibroblas yang berfungsi untuk menutup luka.<sup>1</sup> Penyembuhan luka juga merupakan suatu tahapan yang didalamnya terlibat berbagai respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik. Penyembuhan luka juga melibatkan koordinasi yang kompleks dimulai dari pendarahan, koagulasi inisiasi, respon inflamasi akut, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraseluler, *remodeling* parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen.<sup>2</sup> Proses penyembuhan luka ini terbagi menjadi beberapa fase atau tahapan yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling*.<sup>24</sup>

#### A. Fase Inflamasi Awal (Hemostasis)

Fase ini terjadi ketika adanya jaringan yang terluka sehingga menyebabkan pembuluh darah terputus dan terjadi pendarahan. Pendarahan yang terjadi akan mengalami kontak dengan kolagen dan matriks ekstraseluler sehingga menstimulasi pengeluaran platelet atau trombosit. Trombosit ini nantinya akan melakukan agregasi atau menempel satu sama lain sehingga terbentuklah *clotting*. *Clotting* akan membentuk *scaffold* yang fungsinya sebagai tempat untuk sel-sel radang yang melakukan migrasi.<sup>24</sup>

Tanda-tanda lainnya yang terjadi pada fase ini yaitu vasokonstriksi pembuluh darah selama lima sampai sepuluh menit dan mengakibatkan terjadinya hipoksia, peningkatan glikolisis, dan penurunan PH yang akan direspon dengan terjadinya vasodilatasi. Leukosit dan trombosit akan bermigrasi ke jaringan luka yang telah membentuk *scaffold*, migrasi kedua sel ini distimulasi oleh adanya aktivasi pada *associated kinase membrane* yang berperan dalam meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion  $Ca^{2+}$  dan mengaktifasi kolagenase dan elastase, yang juga merangsang migrasi sel tersebut ke matriks provisional yang telah terbentuk. Trombosit akan mengalami degranulasi, mengeluarkan sitokin-sitokin dan mengaktifkan jalur intrinsik dan ekstrinsik yang menstimulasi sel-sel netrofil bermigrasi ke *scaffold* dan memulai fase inflamasi. Sitokin yang diproduksi oleh trombosit

akan memproduksi berbagai faktor pertumbuhan yang fungsinya untuk memicu penyembuhan sel, diferensiasi, dan pengembalian jaringan yang mengalami kerusakan. Faktor-faktor pertumbuhan tersebut yaitu *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Interleukin-1* (IL-1), *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), sitokin, dan kemokin.<sup>24</sup>

## **B. Fase Inflamasi Akhir**

Fase inflamasi akhir terjadi pada saat terjadinya luka hingga hari kelima setelahnya. Fase ini bertujuan untuk menghilangkan jaringan yang telah mati dan mencegah adanya kolonisasi bakteri atau terjadinya infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme pathogen. Sel-sel seperti neutrofil, limfosit, dan makrofag merupakan sel yang bermigrasi pertama kali ke daerah luka dengan fungsi untuk membersihkan sisa-sisa matriks seluler, benda-benda asing, dan melawan benda infeksi.<sup>25</sup>

Makrofag akan bermigrasi ke daerah luka karena adanya agen kemoatraktif seperti faktor pembekuan, komponen komplemen, sitokin seperti TGF-β, *platelet derived growth factor* (PDGF), *leukotriene* B4, faktor trombosit IV, dan produk pemecah elastin dan kolagen. Setelah itu, makrofag akan berdiferensiasi menjadi *makrofag efferositosis* (M2) yang nantinya akan mensekresikan sitokin antiinflamasi seperti IL-4, IL-10, IL-13.<sup>24,25</sup>

Limfosit akan masuk ke daerah luka karena adanya stimulus dari mekanisme aksi *interleukin-1* (IL-1) yang berperan dalam proses kolagenase, komponen komplemen, dan produk pemecah *immunoglobulin* G. Limfosit sendiri mempunyai peranan yang penting karena mempunyai kaitan dengan reaksi respon imun dalam mempertahankan homeostasis tubuh dari mikroba dan makromolekul maupun benda asing. Terdapat dua macam limfosit yaitu limfosit T dan limfosit B. Limfosit B akan berdiferensiasi menjadi sel plasma dan menghasilkan antibodi yang fungsinya untuk mengenali antigen spesifik sehingga ketika antigen spesifik mencoba masuk maka tubuh akan memberikan respon yang cepat terhadap antigen spesifik tersebut, sedangkan

limfosit T merupakan sel limfosit yang berperan langsung dalam menghancurkan sel-sel sasaran. Sel-sel sasaran yang akan dihancurkan oleh limfosit T adalah sel tubuh yang sel tubuh yang dimasuki jejas berupa mikroorganisme patogen.<sup>25</sup>

Limfosit akan mengalami peningkatan jumlah yang menunjukkan bahwa tubuh sedang melakukan respon pertahanan terhadap mikroorganisme atau benda asing yang masuk. Peranan limfosit pada fase inflamasi ini yaitu untuk membunuh mikroorganisme yang dapat menghambat penyembuhan luka.<sup>26</sup>

### C. Fase Proliferasi

Fase proliferasi terjadi pada hari ke-3 hingga hari ke-14 setelah trauma. Fase ini ditandai dengan digantikannya platelet dan makrofag secara bertahap oleh migrasi sel fibroblas dan deposisi sintesis matriks ekstraseluler. Fase ini juga ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang terdiri dari jaringan pembuluh darah baru, fibroblas, makrofag, granulosit, sel endotel, dan kolagen yang berfungsi dalam pembentukan matriks ekstraseluler dan neovaskular. Terdapat empat proses utama yang terjadi pada fase proliferasi yaitu re-epitelisasi, migrasi dan proliferasi fibroblas, angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru, serta pembentukan jaringan granulasi.<sup>24,25</sup>

Jaringan granulasi terdiri dari berbagai komponen seluler seperti fibroblas dan sel inflamasi yang bersama dengan kapiler baru akan melekat pada jaringan longgar ekstraseluler dari fibronectin, matriks kolagen, dan asam hialuronat. Aktivasi fibroblas yang dikendalikan oleh *interleukin-4* (IL-4) yang dihasilkan oleh sitokin sel Th 2 dan berfungsi untuk mensintesis kolagen. Fibroblas mempunyai peranan dalam proses perbaikan jaringan dan akan berproliferasi serta mengeluarkan kolagen, asam hialuronidase, elastin, fibronectin, dan proteoglikan.<sup>25</sup>

Proses angiogenesis juga terjadi pada fase ini yang merupakan proses pembentukan kembali pembuluh darah kapiler pada daerah luka. Proses ini merupakan proses yang penting pada tahapan penyembuhan luka

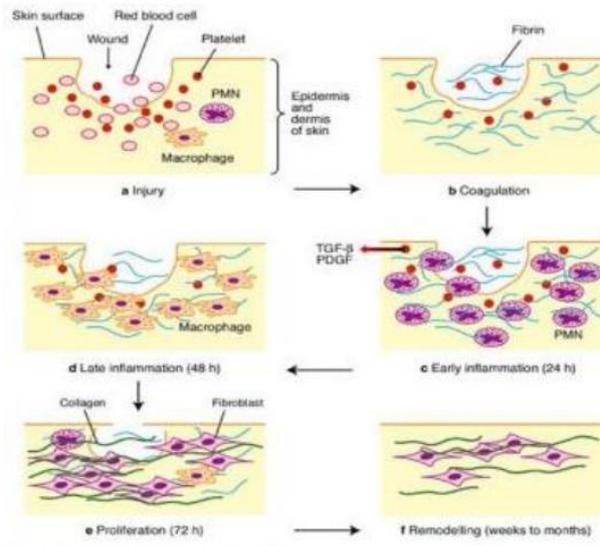
dan ditandai dengan adanya kemerahan karena adanya pembentukan kapiler di area tersebut. Faktor pertumbuhan yang terlibat dalam proses ini adalah *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), angiopoetin, *Fibroblas Growth Factor* (FGF) dan TGF- $\beta$ .<sup>24,25</sup>

#### **D. Fase Maturasi (*Remodeling*)**

Fase ini berlangsung pada hari ke-21 hingga sekitar satu tahun, tetapi durasi fase ini tergantung pada perluasan dan dalamnya luka. Fase ini bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru yang menutup luka, pertumbuhan epitel, dan pembentukan jaringan parut. Kontraksi dari luka dan *remodeling* kolagen terjadi pada fase ini. Aktivitas fibroblas yang berdiferensiasi karena adanya pengaruh dari sitokin TGF-  $\beta$  menjadi *myofibroblas* yang akhirnya menyebabkan kontraksi luka.  $\alpha$ -SMA ( *$\alpha$ -Smooth Muscle Action*) yang dihasilkan oleh *myofibroblas* yang menyebabkan kontraksi luka.<sup>24,25</sup>

Kolagen akan berkembang dan membentuk matriks serta akan tersebar secara acak seperti serat fibril sehingga meningkatkan kekuatan dan ketegangan jaringan. Kolagen tipe III yang berperan dalam terjadinya *tensile strength* dan diameter dari kolagen tipe III akan bertahap digantikan oleh kolagen tipe I yang dibantu dengan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag, dan sel endotel. Ketika fase maturasi kolagen tipe III yang banyak ditemukan pada fase proliferasi dan digantikan dengan kolagen tipe I yang lebih kuat. Serabut kolagen ini akan tersusun dan terangkai dengan rapi pada daerah luka.<sup>24,25</sup>

*Tensile strength* awal akan terjadi pada minggu keempat dan maksimal pada 12 bulan setelah luka. Meskipun demikian, serat kolagen tidak dapat kembali seperti semula dan hanya 80%. Sementara itu, hasil akhir dari fase maturasi ini adalah adanya jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya.<sup>24</sup>



Gambar 2. 2 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka pada jaringan periodontal terdiri dari dua jenis yaitu penyembuhan primer dan sekunder. Ketika penyembuhan luka periodontal primer ditandai dengan tidak ditemukannya kehilangan baik sel maupun jaringan serta struktur yang mengalami luka dapat kembali ke posisi anatomi yang sama dan dengan struktur yang sama seperti sebelum mengalami luka. Tidak adanya resiko infeksi dan adanya prosedur bedah untuk menutup luka. Penyembuhan luka periodontal sekunder ditandai dengan luka yang terbuka, hilangnya sel dan jaringan yang besar serta dapat terjadi infeksi contoh dari penyembuhan luka periodontal sekunder yaitu area luka yang sengaja tidak tertutup jaringan epitel (soket bekas ekstraksi dan *apically repositioned flap*).<sup>27</sup>

## 2.2 Regenerasi

### 2.2.1 Regenerasi Jaringan Periodontal

Fase regenerasi jaringan periodontal membutuhkan vaskularisasi yang baik sehingga dapat memberikan nutrisi bagi sel-sel agar dapat melakukan regenerasi.<sup>28</sup> Sel progenitor yang telah terstimulasi merupakan hal yang penting pada regenerasi jaringan periodontal karena dapat mengisi defek atau kerusakan. Dalam regenerasi jaringan periodontal, faktor pertumbuhan mempunyai peranan yang penting karena bertindak sebagai pengatur migrasi, perlekatan, proliferasi,

dan diferensiasi sel progenitor periodontal. Beberapa faktor pertumbuhan yang berperan dalam regenerasi jaringan periodontal secara *in vitro* yaitu *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor-β* (TGF-β).<sup>29</sup>

Terdapat beberapa proses pada regenerasi jaringan periodontal yang bertujuan untuk mengembalikan kembali jaringan periodontal yang mengalami luka, yaitu :

**a. *Regeneration***

Istilah *regeneration* digunakan untuk menunjukkan adanya penyembuhan jaringan periodontal yang ditandai dengan terbentuknya perlekatan baru atau sementum baru, tulang alveolar, dan ligamen periodontal yang rusak. Tahap ini ditandai dengan epitel pada gingiva akan digantikan oleh epitel yang baru dan jaringan ikat serta ligamen periodontal akan digantikan oleh jaringan ikat yang merupakan prekursor terhadap keduanya. Tahap ini juga ditandai dengan pembentukan kembali tulang alveolar dan sementum berasal dari osteoblas dan sementoblas yang berkembang dari jaringan ikat yang belum mengalami proses diferensiasi. Proses regenerasi ini akan membentuk kembali jaringan yang sebelumnya rusak menjadi jaringan yang fungsional.<sup>30,31</sup>

**b. *Repair***

Proses *repair* merupakan proses pergantian jaringan yang rusak dengan jaringan yang baru. Proses ini juga disebut dengan penyembuhan dengan jaringan parut dan ditandai dengan kerusakan tulang berhenti, tetapi kerusakan pada perlekatan gingiva dan ketinggian tulang alveolar tetap. Perlekatan gingiva baik sebagian maupun seluruhnya pada permukaan akar dapat terjadi jika dilakukan tindakan khusus atau menggunakan material khusus. Jaringan dikatakan hanya mengalami proses *repair* jika hasil dari perawatan atau tindakan yang telah dilakukan mengalami kegagalan. Contoh dari tahapan ini yaitu berkurangnya kedalaman probing pada poket supraboni setelah dilakukan perawatan, pembentukan *long junctional epithelium*, adesi jaringan ikat baru, dan ankilosis. Proses ini dapat dikatakan

gagal jika kurangnya kontrol terhadap infeksi, tidak adekuatnya debridemen lesi, dan tidak adanya rencana perawatan lanjutan.<sup>30,31</sup>

**c. *Re-attachment***

Proses perlekatan kembali jaringan ikat ke permukaan akar sering disebut dengan *re-attachment*. Proses ini ditandai dengan perlekatan jaringan baru seperti perlekatan serat ligamen periodontal yang baru ke permukaan sementum baru dan epitel gingiva yang melekat kembali ke permukaan gigi karena sebelumnya perlekatan hilang disebabkan oleh penyakit periodontal.<sup>30,31</sup>

### **2.2.2 Peran Kolagen Untuk Regenerasi Jaringan Periodontal**

Kolagen merupakan salah satu jenis protein yang banyak ditemukan pada tubuh manusia dengan persentase 25-35% dari total protein yang terdapat dalam tubuh. Kolagen merupakan bahan berpotensi untuk aplikasi rekayasa jaringan karena mempunyai sifat yang biokompatibel, *biodegradable*, dan antigenisitas yang rendah.<sup>32</sup> Pada regenerasi jaringan periodontal, kolagen berperan dalam rekonstruksi sementum, ligamen periodontal, tulang alveolar, dan mencegah terjadinya ankilosis. Kolagen juga berperan dalam proses penyembuhan luka yaitu meningkatkan pembentukan jaringan granulasi, menstimulasi proliferasi, mempercepat proses penyembuhan pada jaringan lunak, dan mengurangi rasa nyeri setelah dilakukan tindakan.<sup>33</sup>

Kolagen juga berpengaruh terhadap proses koagulasi, kolagen akan menyediakan matriks tiga dimensi dengan mengikat platelet dalam jumlah yang besar sehingga terjadi agregasi platelet. Platelet yang telah teragregasi akan mensekresikan thromboxane A2 yang mempunyai fungsi dalam menguatkan pembentukan *clot* darah. Kolagen akan mengalami degradasi dan dilepaskan sebagai mediator inflamasi dengan menstimulasi neutrofil, makrofag, dan respon imun. Kolagen juga berperan pada tahapan angiogenesis, diketahui bahwa kolagen tipe I berperan dalam angiogenesis melalui *in vitro* dan *in vivo*.<sup>33</sup>

Proses angiogenesis juga akan terjadi dengan peran kolagen yang akan menyebabkan sel-sel endotel bermigrasi dan melakukan proliferasi baik secara langsung dari kapiler sumsum tulang maupun secara tidak langsung melalui

kapiler gingiva yang melewati penghalang membran dan ke pusat defek tulang. Kolagen tipe I berperan sebagai agen hemostatis, mengencangkan hubungan antar fibrin, dan meningkatkan penyembuhan tulang.<sup>34</sup>

## 2.3 Ikan Barramundi

### 2.3.1 Klasifikasi Ikan Barramundi

Ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) merupakan salah satu komoditas laut yang mempunyai nilai ekonomis penting dan mengandung gizi yang tinggi sebagai ikan konsumsi. Ikan kakap putih sesuai dikembangkan menjadi komoditas usaha budidaya ikan baik budidaya dalam skala kecil maupun skala besar karena mempunyai kemampuan untuk beradaptasi pada perairan dengan kandungan garam tinggi yang dipengaruhi oleh pencemaran lingkungan. Ikan kakap putih ini juga mempunyai pertumbuhan yang cepat dan mudah untuk dibudidayakan.<sup>35</sup>

Habitat dari ikan ini yaitu di sungai, danau, muara, dan perairan pesisir. Indonesia sendiri ikan kakap putih dikenal sebagai pelak, petakan, cabik, dan Barramundi. Klasifikasi dari ikan kakap putih, yaitu :<sup>36</sup>



Gambar 2. 3 Ikan Barramundi (*Lates calcarifer*)

<b>Kingdom</b>	: <i>Animalia</i>
<b>Filum</b>	: <i>Chordata</i>
<b>Sub Filum</b>	: <i>Vertebrata</i>
<b>Kelas</b>	: <i>Pisces</i>
<b>Ordo</b>	: <i>Percomorphi</i>
<b>Famili</b>	: <i>Centropomidae</i>

**Genus** : *Lates*

**Spesies** : *Lates calcarifer*

Ikan kakap putih mempunyai morfologi berupa bentuk yang memanjang, kepala lancip di bagian atas (dahi), batang sirip ekor lebar dengan bentuk yang membulat, mulut lebar, di bagian atas penutup insang terdapat lubang telinga bergerigi, sirip anal bulat, dan tidak mempunyai gigi taring. Operkulum bagian tepi bawah terbentuk dari tulang keras dengan ukuran sirip dorsal terdiri dari 7-9 jari-jari keras dan 10-11 jari-jari lemah. Ikan kakap putih mempunyai warna tubuh coklat zaitun atau hijau biru di bagian atas dengan sisi tubuh dan bagian perut berwarna perak. Pada sirip dan badan tidak ada corak berupa bintik.<sup>36,37</sup>

### **2.3.2 Kandungan Gizi dan Manfaat Ikan Barramundi**

Ikan kakap putih atau Barramundi merupakan ikan konsumsi yang mempunyai berbagai kandungan gizi dan manfaat. Ikan ini mengandung protein sebesar 22,74 gram dalam 100 gram ikan kakap putih. Kandungan protein dengan jumlah kalori yang rendah pada ikan kakap putih bermanfaat bagi orang yang sedang melakukan diet dan menjaga bentuk tubuh. Kandungan lemak yang dimiliki oleh ikan kakap putih yaitu sebesar 5% dan termasuk lemak tak jenuh sehingga bermanfaat dalam menjaga kesehatan jantung. Ikan kakap putih juga memiliki kandungan omega-3 yang berfungsi dalam menurunkan risiko penyakit jantung dan membantu menstabilkan kadar kolesterol tubuh.<sup>38,39</sup>

Sisik ikan Barramundi menyumbang sekitar 10-12% dari berat keseluruhan ikan dan mengandung kolagen yang cukup tinggi. Beberapa studi menunjukkan bahwa kolagen dari kulit ikan Barramundi yang diekstrak menggunakan ekstraksi asam dan enzim dapat menghasilkan kolagen sebesar 15.8% dan 44%.<sup>40</sup>

### **2.3.3 Peran Sisik Ikan Untuk Penyembuhan Luka**

Kolagen yang berasal dari sisik ikan mempunyai ketahanan terhadap kerusakan fisik dan kimia karena mampu hidup pada berbagai suhu dan tekanan. Kolagen yang berasal dari sisik ikan kakap putih atau Barramundi sendiri

mempunyai kandungan kolagen dengan struktur yang lebih stabil dan sulit mengalami degradasi, permukaan yang poros, dan mempunyai *tensile strength* cukup baik.<sup>15</sup>

Sisik ikan sendiri mengandung kolagen yang mengandung kolagen tipe I. Kolagen tipe I dan nanofibers akan meningkatkan kelangsungan hidup dari *Human Derma* Fibroblas (HDFs). HDFs ini berperan sebagai matriks protein ekstraselular dengan meningkatkan proliferasi sel sehingga dapat mempengaruhi fisiologis dan morfologi sel secara langsung.<sup>12</sup> Peran kolagen dari sisik ikan pada proses penyembuhan luka akan membantu proses angiogenesis sehingga kolagen berperan dalam menyediakan vaskularisasi dan nutrisi yang cukup.<sup>39</sup>

Kolagen yang berasal dari sisik ikan dapat dijadikan sebagai alternatif bahan dalam penyembuhan luka dan harus memenuhi syarat seperti biokompatibel, mudah diterima oleh *host*, tidak toksik, tidak mengiritasi, non-kariogenik, dan non-alergen. Penelitian yang dilakukan untuk menguji toksisitas kolagen dari sisik ikan yang dilakukan oleh Pati (2012) menunjukkan kolagen yang diekstrak dari sisik ikan air tawar dapat menstimulasi sel tanpa memberikan efek sitotoksik yang signifikan.<sup>40</sup> Penelitian serupa juga dilakukan oleh Prahasanti (2018) yang menunjukkan proliferasi fibroblas setelah diaplikasikan kolagen sisik ikan gurame memberikan nilai sebesar 94% lebih tinggi 50% yang artinya hasil tersebut menunjukkan bahwa kolagen dari sisik ikan gurame sebagai bahan yang tidak toksik karena menurut parameter toksisitas suatu bahan dikatakan toksik jika sel yang hidup persentasenya kurang dari 50%.<sup>41</sup> Berdasarkan penelitian tersebut menunjukkan bahwa kemampuan sel untuk melakukan proliferasi merupakan indikator suatu bahan termasuk toksik atau tidak toksik. Berdasarkan hal tersebut, sisik ikan dapat digunakan sebagai bahan dalam penyembuhan luka karena mampu meningkatkan proliferasi dari fibroblas yang berperan dalam proses penyembuhan luka.<sup>41</sup>

## **2.4 Limfosit**

Limfosit merupakan sel yang mempunyai peran penting dalam sistem imun tubuh karena berpengaruh terhadap respon imun, mikroorganisme infeksius, dan benda asing lainnya. Limfosit dapat ditemukan pada darah dan limfe (cairan

tak berwarna di pembuluh limfatik yang menghubungkan nodus limfatikus di tubuh satu sama lain melalui aliran darah). Limfosit juga didapatkan pada organ limfoid seperti timus, nodus limfatikus, limpa, dan apendiks (pada manusia).<sup>42</sup>

Limfosit mempunyai ukuran diameter sebesar 7-20 mikrometer. Secara mikroskopis, limfosit ditandai dengan nukleus yang besar berwarna ungu tua atau biru dengan sedikit atau tanpa sitoplasma eosinofilik. Jumlah limfosit pada keadaan normal dalam darah berkisar 15.45% atau 800-4.000 mm<sup>3</sup> dengan umur limfosit berkisar antara 100-300 hari.<sup>42,43</sup>

Limfosit merupakan bagian dari respon imun adaptif yang akan memediasi reaksi imun spesifik untuk melawan mikroorganisme infeksius atau molekul asing dan mengenali molekul tersebut sehingga mampu mempertahankan tubuh dari infeksi jika molekul tersebut kembali menginfeksi tubuh.<sup>44</sup> Limfosit mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan *receptor activator of nuclear factor kB ligand* (RANKL) yang akan berikatan dengan *receptor activator of nuclear factor-kB* (RANK). Berikatannya RANKL pada RANK akan menyebabkan terjadinya diferensiasi dan aktivasi dari osteoklas sehingga jumlah osteoklas akan meningkat dan menyebabkan terjadinya resorpsi tulang. Resorpsi tulang menjadi salah satu tanda dari penyakit periodontal yaitu periodontitis.<sup>11</sup>

Limfosit juga berperan dalam proses penyembuhan luka atau dalam hal ini adalah fase inflamasi. Limfosit akan mengalami peningkatan pada daerah perlukaan pada fase inflamasi, tetapi jumlah limfosit juga dapat mengalami penurunan yang menunjukkan bahwa proses inflamasi menjadi lebih singkat dan luka dapat sembuh lebih cepat.<sup>10</sup>