

**PEMANFAATAN HIDROGEL PROPOLIS DAN BOVINE BONE GRAFT
TERHADAP REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS RANKL
PADA SOCKET PRESERVATION
(Penelitian in Vivo pada Cavia Cobaya)**

**Utilization of Propolis Hydrogel and Bovine Bone Graft on Bone Regeneration
Through Rankl Analysis in Socket Preservation
(in Vivo Research on Cavia Cobaya)**



**REZKY MEILINDA PERMATASARI
J035 212 002**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PEMANFAATAN HIDROGEL PROPOLIS DAN BOVINE BONE GRAFT TERHADAP
REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS RANKL
PADA SOCKET PRESERVATION
(Penelitian in Vivo pada Cavia Cobaya)**



OLEH :

**REZKY MEILINDA PERMATASARI
J035 212 002**

PEMBIMBING:

1. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio.,Subsp.R.P.I.D (K)
2. Prof. Dr. drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes

PENGUJI :

1. Dr. drg. Asdar, M.Kes
2. Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp. Perio.,Subsp.R.P.I.D (K)
3. drg. Surijana Mappangara, Sp. Perio, M.Kes (K)

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



**PEMANFAATAN HIDROGEL PROPOLIS DAN BOVINE BONE GRAFT
TERHADAP REGENERASI TULANG MELALUI ANALISIS RANKL
PADA *SOCKET PRESERVATION*
(Penelitian in Vivo pada *Cavia Cobaya*)**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister
Program Studi Periodonsia

Disusun dan diajukan oleh

**REZKY MEILINDA PERMATASARI
J035212002**

Kepada



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

Pemanfaatan Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft Terhadap Regenerasi Tulang Melalui Analisis RANKL pada *Socket Preservation*

REZKY MEILINDA PERMATASARI

J035212002

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Profesi Spesialis-1 pada tanggal 4 Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

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

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Sri Oktawan, drg., Sp.Perio., Subsp. R.P.I.D (K)
NIP. 19641003 199002 2 001

Pembimbing Pendamping

Prof. Dr. drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes
NIP. 19680505 199903 2 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS



g. Sp.Perio, Subsp. R.P.I.D (K)
2 001



Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
UNIVERSITAS HASANUDDIN
Irfan Sugianto, drg., M. Med., Ed., PhD
NIP. 19810215 200801 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Pemanfaatan Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft Terhadap Regenerasi Tulang Melalui Analisis RANKL pada *Socket preservation*” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing Prof. Dr. drg. Sri Oktawati., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K) sebagai Pembimbing Utama Prof. Dr. drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini akan dipublikasikan di Jurnal *Journal of Dentomaxillofacial Science* sebagai artikel dengan judul, *Utilization of Propolis Hydrogel and Bovine Bone Graf ton Bone Regeneration Through RANKL Analysis in Socket Preservation*. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Oktober 2024



REZKY MEILINDA PERMATASARI
J035212002



UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan disertasi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K) sebagai promotor dan Prof. Dr. drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes sebagai ko-promotor-1. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Prof. Dr. drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes bimbingan dan masukannya mengenai penelitian yang sedang saya lakukan. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNHAS, Laboratorium Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNHAS, Klinik Dokter Hewan *Doc Pet* dan Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian.

Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., dekan Fakultas Kedokteran Gigi Irfan Sugianto, drg., M.Med.Ed., Ph.D. dan Kepala Program Studi Periodonsia Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K) yang telah memfasilitasi saya menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia. Terima kasih kepada para dosen Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K), Prof. Dr. A. Mardiana Adam, M.S., Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp. Perio (K), Surijana Mappangara, drg., M. Kes., Sp.P erio (K), Dian Setiawaty, drg., Sp.Perio (K) dan Sitti Raodah Juanita Ramadhan, drg., Sp.Perio serta Dr. Asdar Gani, drg., M. Kes dan Supiaty, drg., M.Kes. Terima kasih kepada Kak Uul dan Kak Isaura sebagai rekan dalam tim penelitian serta teman-teman angkatan saya Venom (Kak Venda, Kak Ersan, Kak Kiki dan Ainun) yang saling support selama masa pendidikan. Kepada kakak dan adek junior (Phoenix, Falcon, Vision, Scarlet, Ultron), saya ucapkan terima kasih telah memberikan dukungan dan selamat selama menempuh pendidikan.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya Ayah Dr. H. Mauli Kasmi, S.Pi, M.Si dan Ibunda Hj. Faridah, SE saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Terima kasih kepada saudara saya Reizaldy Musarra Mauli atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis



REZKY MEILINDA PERMATASARI. **Pemanfaatan Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft Terhadap Regenerasi Tulang Melalui Analisis RANKL pada Socket Preservation (Penelitian in Vivo pada Cavia Cobaya)** (dibimbing oleh Sri Oktawatii dan Nurlinda Hamrun)

Latar Belakang : Penyakit periodontal yang terjadi pada masyarakat Indonesia tergolong cukup tinggi. Bahan utama yang digunakan untuk mempertahankan tulang alveolar pasca ekstraksi gigi adalah graft. Salah satu bahan bone graft yang sering digunakan pada prosedur socket preservation adalah bovine bone graft (BBG) yang memiliki fungsi untuk menginduksi aktivitas osteogenetik agar mempercepat pembentukan tulang. Selain bone graft, dapat juga digunakan bahan alami seperti propolis yang dapat mempercepat proses remodelling tulang. **Tujuan:** Untuk melihat manfaat dari hidrogel propolis dan bovine bone graft terhadap regenerasi tulang melalui analisis RANKL pada *socket preservation*. **Metode:** Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian experimental posttest group only with control group design yang menggunakan hewan Cavia Cobaya sebagai subjek penelitian. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, yaitu Kelompok kontrol negatif (Placebo), Kelompok 2: Kelompok kontrol positif (Pemberian Bovine Bone Graft), Kelompok 3: Kelompok kontrol negatif (Pemberian hidrogel propolis 10% + Bovine Bone Graft), Kelompok 4 : kelompok kontrol negatif (Pemberian hidrogel propolis 15% + Bovine Bone Graft). Jenis data yang digunakan adalah data primer, pengolahan data menggunakan program R versi 3.4.0 dan IBM SPSS Statistics V.2.5. Analisa data menggunakan one-way Anova dan uji post-hoc dan penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik. **Hasil:** Ekspresi RANKL meningkat secara signifikan pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif pada hari ke 7, 14 dan 21. **Kesimpulan:** Manfaat dari hidrogel propolis dan bovine bone graft sangat efektif dalam regenerasi tulang yang ditandai dengan penurunan RANKL.

Kata Kunci : Hidrogel propolis, Bovine bone graft, RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*), *Socket Preservation*.



REZKY MEILINDA PERMATASARI. **Utilization of Propolis Hydrogel and Bovine Bone Graft on Bone Regeneration through RANKL Analysis in Socket Preservation (In Vivo Study on Cavia Cobaya)**
(Supervised by Sri Oktawatii and Nurlinda Hamrun)

Background: Periodontal disease that occurs in Indonesian society is quite high. The main material used to maintain alveolar bone after tooth extraction is graft. One of the bone graft materials that is often used in socket preservation procedures is bovine bone graft (BBG) which has a function to induce osteogenetic activity to accelerate bone formation. In addition to bone graft, natural materials such as propolis can also be used to accelerate the bone remodeling process. **Objective:** To assess the benefits of propolis hydrogel and bovine bone graft on bone regeneration through RANKL analysis in socket preservation. **Methods:** This type of research is a laboratory experiment with an experimental posttest group only with control group design that uses Cavia Cobaya animals as research subjects. This study used 4 treatment groups, namely the negative control group (Placebo), Group 2: Positive control group (Administration of Bovine Bone Graft), Group 3: Negative control group (Administration of 10% propolis hydrogel + Bovine Bone Graft), Group 4: negative control group (Administration of 15% propolis hydrogel + Bovine Bone Graft). The type of data used is primary data, data processing using the R version 3.4.0 program and IBM SPSS Statistics V.2.5. Data analysis using one-way Anova and post-hoc tests and data presentation in the form of tables and graphs. **Results:** RANKL expression increased significantly in the treatment group and the positive control group on days 7, 14 and 21. **Conclusion:** The benefits of propolis hydrogel and bovine bone graft are very effective in bone regeneration characterized by a decrease in RANKL.

Keywords: Propolis hydrogel, bovine bone graft, RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand), Socket Preservation.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
UCAPAN TERIMAKASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH	xiii
DAFTAR SINGKATAN / LAMBANG	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori	3
1.2.1. <i>Socket Preservation</i>	3
1.2.2. Fase Penyembuhan Luka	4
1.2.3. RANKL (<i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand</i>)	7
1.2.4. Bone Graft	8
1.2.5. Bovine Bone Graft	9
1.2.6. Propolis	10
1.2.7. Hidrogel propolis	11
1.2.8. Tabel Sintesa	12
1.3 Rumusan Masalah	14
1.4 Hipotesa	14
1.5 Tujuan Penelitian	14
1.5.1. Tujuan Umum	14
1.5.2. Tujuan Khusus	14
1.6 Manfaat Penelitian	14
1.6.1. Manfaat Pengembangan Ilmu	14
1.6.2. Manfaat Praktis	14
1.7 Teori Konseptual	15
1.7.1. Kerangka Teori	15
1.7.2. Kerangka Konsep	16
1.7.3. Deskripsi Teori Konseptual	17
BAB II METODE PENELITIAN	18
2.1 Waktu dan Waktu	18
2.2 Tempat Penelitian	18
2.3 Jenis Penelitian	18
2.4 Bahan dan Alat Penelitian	18
2.5 Tahap Penelitian	18



2.2.2 Bahan Penelitian.....	19
2.3 Metode Penelitian.....	19
2.3.1 Jenis dan Desain Penelitian	19
2.3.2 Penentuan Sumber Data (Penentuan Besar Sampel).....	19
2.3.3 Definisi Operasional.....	20
2.4 Pelaksanaan Penelitian	20
2.4.1 Persiapan Penelitian.....	20
2.4.2 Jalannya Penelitian.....	21
2.4.3 Parameter Pengamatan	22
2.5 Analisis Data.....	22
2.6 Etik Penelitian.....	22
2.7 Alur Penelitian	23
BAB III HASIL PENELITIAN	24
BAB IV PEMBAHASAN	29
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Sintesis penelitian.....	12
2. Perbandingan Ekspresi RANKL antara Kelompok Perlakuan Berdasarkan Waktu Pengamatan	27
3. Uji Posthoc LSD Ekspresi RANKL antara Kelompok Perlakuan	28



DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Ilustrasi dari Tahap-Tahap yang Terlibat dalam Perbaikan Jaringan	4
2. Tahap Perbaikan Luka	5
3. Interaksi RANKL/OPG Kompleks Biomelekul.....	8
4. Propolis	10
5. Spektrum FT-IR Sampel Propolis.....	24
6. Daya Hambat Konsentrasi Hidrogel Propolis.....	25
7. Gambaran Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi RANKL Kelompok Kontrol Negatif (Plasebo).....	25
8. Gambaran Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi RANKL Kelompok Kontrol Positif (Bovine Bone Graft)	25
9. Gambaran Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi RANKL Kelompok Kontrol Perlakuan (Hidrogel Propolis 10% + Bovine Bone Graft)	26
10. Gambaran Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi RANKL Kelompok Kontrol Perlakuan (Hidrogel Propolis 15% + Bovine Bone Graft)	26
11. Grafik Perbandingan Ekspresi RANKL Antara Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke-7,14 dan 21	28



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Etik Penelitian.....	37
2. Lembaran perbaikan Ujian Seminar Hasil PPDGS Periodonsia.....	38
3. Alur Penelitian	40
4. Foto Pelaksana Penelitian.....	41
5. Output Uji Statistik Ekspresi RANKL.....	45



DAFTAR ISTILAH

Istilah	Arti dan Penjelasan
CAPE	Ester asam caffeic, turunan asam fenolik. CAPE memiliki struktur mirip flavonoid dan merupakan salah satu komponen utama pada propolis
<i>Drug delivery system</i>	Biasanya juga disebut dengan sistem penghantaran obat yang merupakan suatu sistem untuk mengirimkan zat terapeutik atau obat yang telah digunakan secara klinis dan pra-klinis dalam pengobatan suatu penyakit.
Fenol	Senyawa organik dengan gugus fungsi -OH yang terikat pada benzen.
Flavonoid	Metabolit tanaman yang bermanfaat bagi kesehatan melalui jalur pensinyalan sel dan memiliki efek antioksidan
Fourier Transform Infra Red	Pengujian bahan Propolis yang bertujuan untuk melihat kandungan dan karakteristik bahan tersebut.
Lignan	Molekul yang memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi
Uji Posthoc LSD	Jenis ujistatistik yang dilakukan setelah dilakukan analisis ANOVA yang merupakan perbandingan rerata antara kelompok perlakuan.



DAFTAR SINGKATAN / LAMBANG

Singkatan / Lambang	Arti dan Penjelasan
ASP	Alveolar Socket Preservation
BBG	Bovine Bone Graft
BG	Kontrol Positif Bovine Bone Graft
CAPE	Caffeic Acid Phenethyl Ester
CNF	Cellulose Nanofiber
FGF 2	Fibroblast growth factor 2
FTIR	Fourier Transform Infra Red
HCL	Asam Klorida
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
K(-)	Kontrol Negatif Plasebo
K(+) 10% + BG	Kelompok Perlakuan Hidrogel Propolis 10% + Bovine Bone Graft
K(+) 15 % + BG	Kelompok Perlakuan Hidrogel Propolis 15% + Bovine Bone Graft
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MMP-8	Metalloproteinase 8
NFAT	Nuklir Faktor dari Aktivasi Sel T
NF- κ B	Nuclear Factor Kappa Beta
OPG	Osteoprotegerin
PDL	Periodontal Ligamen
PVA	Polyvinyl Alcohol
RANK	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor κB</i>
	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor κB-Ligan</i>
	Stimulate Activators of Transcription
	Transforming Growth Factor Beta
	Tumor Necrosis Factor Alpha



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut dengan prevalensi yang tinggi di dunia bahkan menurut *US Centers for Diseases Control and Prevention*, dinyatakan bahwa penyakit periodontal dianggap sebagai pandemi secara global dan menyebabkan gangguan bicara serta berkurangnya rasa percaya diri. Penyakit periodontal yang terjadi pada masyarakat Indonesia tergolong cukup tinggi dengan prevalensi sebesar 96,58%. Data Riskesdas tahun 2018, memperlihatkan prevalensi penyakit periodontal tergolong cukup tinggi khususnya prevalensi terjadinya periodontitis dengan persentase 74,1%. Adanya peradangan jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh infeksi bakteri merupakan tanda penyakit periodontal. Infamasi gingiva (gingivitis) dan periodontitis merupakan penyakit periodontal yang paling sering ditemui. Banyaknya kasus penyakit gigi juga berdampak pada kerusakan gigi seringkali berujung pada pencabutan gigi yang menjadi penyebab utama kehilangan gigi pada masyarakat Indonesia. Dampak yang ditimbulkan akibat kehilangan gigi yaitu berkurangnya fungsi mastikasi dan mengganggu estetika pada penderitanya. (Ulfah et al,2023 ; Suratri,2020 ; Kresnodi et al,2023 ; Prabowo et al,2020 ; Kusumaningrum et al,2022)

Beberapa studi menunjukkan bahwa selama tiga bulan setelah pencabutan gigi, dua pertiga jaringan keras dan lunak mengalami resorpsi. Resorpsi tulang alveolar merupakan ciri khas dari periodontitis dan jika tidak dihentikan, dapat menyebabkan perkembangan mobilitas gigi. Dipercaya bahwa mekanisme utama yang terlibat dalam periodontitis proses degradasi jaringan tulang adalah regulasi RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*) dan regulasi osteoprotegerin. Sebagian besar kehilangan tulang terjadi dalam enam bulan pertama setelah pencabutan gigi. Setelah itu, kecepatan resorpsi meningkat rata-rata 0,5-1% setiap tahun. Diperkirakan terdapat kehilangan lebar tulang alveolar hingga 50% dalam 12 bulan setelah ekstraksi. Waktu yang paling baik untuk mempersiapkan *ridge alveolar* adalah pada saat pencabutan. Untuk itu dapat dilakukan tindakan *socket preservation*. (Morais et al,2020 ; Andriyani et al, 2023 ; Passarelli et al, 2020)

Mempertahankan tulang alveolar telah menjadi fokus penelitian terbaru dan salah satu bahan utama yang digunakan untuk mempertahankan tulang alveolar adalah graft. Graft adalah bahan yang digunakan untuk mendukung regenerasi tulang, merekonstruksi tulang alveolar dengan mengisi soket pencabutan gigi untuk mempertahankan tinggi dan lebar ridge alveolar. Salah satu bahan bone graft yang dapat digunakan dalam prosedur socket preservation adalah bovine bone graft (BBG). Proses ini melibatkan penempatan bahan bone grafting pada lokasi luka post ekstraksi untuk bertindak sebagai *scaffold* atau perancah pertumbuhan tulang baru, yang akan memicu terjadinya osteogenesis (Prabowo et al, 2020 ; Kresnodi et al, 2020 ; Simova 2014).



Bovine bone graft sering digunakan karena komponen matriks anorganik osteokonduktifnya, yang berfungsi menyediakan *scaffold* untuk regenerasi tulang tanpa terlibat dalam pembentukan tulang itu sendiri. Bahan inovatif ini diperlukan untuk menginduksi aktivitas osteogenetik agar mempercepat pembentukan tulang. (Prabowo et al, 2020 ; Kresnoadi et al, 2020). Selain bone graft yang digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan gigi dan mulut serta penyakit periodontal, banyak peneliti telah melakukan penelitian mengenai obat-obatan alami. Beberapa tanaman herbal yang dapat digunakan untuk terapi periodontitis adalah *Aloe vera*, *Allivum sativum*, *Acacia catechu*, *Syzygium aromaticum*, *Piper cubeca*, *Mikania glomerate*, *Drosera peltata*, *Helichrysumitalicum*, serta *propolis*. Produk alami seperti propolis juga dapat mencegah perkembangan infeksi. Produk ini sangat aman dan hemat biaya serta dapat mengurangi efek samping. Propolis dapat mempercepat proses remodelling tulang. Propolis memiliki aktivitas antiinflamasi yang mengandung caffeic acid phenethyl ester (CAPE). CAPE menghambat RANKL yang diinduksi melalui aktivitas nuclear factor kappa beta (NF- κ B) selama proses pembentukan osteoklas. (Asdar et al, 2015 ; Aslani et al, 2016 ; Prabowo et al, 2020)

Propolis adalah produk alami berupa cairan yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai tanaman. Lebah menggunakan propolis sebagai bahan untuk membangun sarang dan membuatnya tahan terhadap infeksi bakteri dan jamur. Propolis tidak hanya bertindak sebagai agen anti mikroorganisme, tetapi juga sebagai agen antioksidan dan anti-inflamasi. Propolis juga memiliki kemampuan untuk meregenerasi tulang dengan cara meningkatkan aktivitas osteoblas dan menurunkan aktivitas osteoklas. Sifat antioksidan propolis berasal dari flavonoid dan polifenol, zat yang dapat menghilangkan radikal bebas dari jaringan, sehingga mendukung regulasi RANKL. Ekspresi RANKL dapat ditingkatkan, sedangkan ekspresi osteoprotegerin (OPG) dapat diturunkan karena kepekaannya. (Kresnoadi et al, 2023 ; Kusumawati et al, 2020)

Formulasi propolis ke dalam bentuk sediaan topikal seperti hidrogel akan menjamin penggunaannya dalam penyembuhan luka. Metode formulasi modern untuk pemberian bahan sintesis atau alami dalam perawatan penyembuhan luka telah berkembang. Hidrogel adalah jaringan polimer hidrofilik tiga dimensi yang dapat menyerap air atau cairan biologis dalam jumlah besar. Karena ikatan silang fisik dan kimiawi, struktur jaringan ini tidak dapat larut di alam, memberikan integritas fisik. Karena kompatibilitas termodinamikanya, struktur hidrogel ini membengkak dalam lingkungan berair. Dari segi kadar air, kelembutan, dan sifat lainnya, hidrogel ini secara struktural dan fungsional mirip dengan jaringan asli. Hasilnya, hidrogel telah menunjukkan kegunaannya sebagai lensa kontak, bahan kulit buatan, dan untuk penghantaran obat. (Agbamu et al, 2022 ; Kapare et al, 2023)

Beberapa penelitian menggunakan hydrogel propolis dan bovine bone graft



pengaruh yang positif terhadap pembentukan tulang. Prabowo dkk bahwa terdapat adanya peningkatan jumlah sel osteoblas dimana hi pembentukan tulang alveolar pada *socket preservation* ta menghambat pelepasan sitokin inflamasi dan meningkatkan kin anti inflamasi. Sementara, penelitian lain oleh Ha dkk. (2009),

dimana kandungan aktif CAPE dalam propolis dapat menekan osteoklastogenesis pada kultur sel prekursor sumsum tulang. Aktivitas transkripsi NFkB dan pengikatan DNA juga berkurang akibat pemberian CAPE. CAPE juga menghambat induksi NFATc1 dan c-Fos serta menghambat RANKL, sehingga pembentukan osteoklas pada calvaria tikus dapat dihambat. (Prabowo et al, 2020 ; Kresnoadi et al, 2021)

Kresnoadi, dkk (2021) menunjukkan bahwa propolis dan bovine bone graft memiliki sifat osteokonduktif dan osteoinduktif yang merupakan persyaratan bahan bone graft untuk mendukung regenerasi tulang dan mempercepat penyembuhan luka. Pada penelitiannya Kresnoadi dkk (2023), bahwa kombinasi propolis dan bovine bone graft dapat meningkatkan kadar OPG serta menurunkan sekresi dari RANKL pada perawatan *socket preservation*. (Kresnoadi et al, 2021; Kresnoadi et al,2023)

Penelitian Asdar Gani, dkk (2015) menunjukkan bahwa pemberian gel propolis sebagai anti-inflamasi, anestetik, hipotensif, immuno-stimulatori serta mendorong regenerasi tulang terjadi perubahan bermakna dengan penurunan kadar Matriks metalloproteinase 8 (MMP-8) yang berperan penting dalam kerusakan tulang dan mengurangi kedalaman poket. Hal ini menunjukkan kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft dapat menjadi biomaterial yang menjanjikan untuk regenerasi jaringan tulang ketika digunakan pada *socket preservation* pencabutan gigi. Oleh karena itu, dalam berbagai penelitian hidrogel telah digunakan sebagai pembawa untuk mengendalikan pelepasan propolis guna meningkatkan efektivitasnya. Meskipun penggunaan propolis telah meningkat di beberapa daerah di dunia, hanya ada sedikit penelitian yang menggunakan propolis sebagai agen terapeutik dalam perawatan penyakit periodontal. (Asdar dkk,2015 ; Andrade,2017 ; Fee L,2017)

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk mengidentifikasi pengaruh kombinasi bahan hidrogel propolis dan bovine bone graft dalam proses penyembuhan luka dan meregenerasi jaringan tulang pada prosedur *socket preservation* pada hewan coba *Cavia Cobaya*.

1.2 Teori

1.2.1 *Socket Preservation*

Salah satu prosedur yang dapat dilakukan untuk menjaga integritas tulang alveolar setelah pencabutan gigi adalah *socket preservation*. Perawatan ini melibatkan penempatan bahan grafting tulang ke dalam soket pasca-ekstraksi. Berdasarkan sifat dasar bone grafting seperti osteoinduksi, osteokonduksi dan osseointegrasi, diharapkan bahan tersebut akan merangsang pembentukan tulang alveolar baru dengan integritas yang sama seperti sebelum ekstraksi. Dengan demikian, volume tulang yang mengalami regenerasi tidak jauh berbeda dengan kondisi sebelumnya ketika masih ada gigi di soket



ervation pada gigi yang telah dicabut diperlukan untuk mengurangi lang alveolar. Alveolar socket preservation (ASP) adalah prosedur ditempatkan di soket gigi yang dicabut pada saat pencabutan, aplikasi membran barrier atau penutup jaringan lunak, untuk u meningkatkan dimensi ridge yang asli dan untuk memungkinkan eal. (Dimova, 2013 ; Alenazi et al, 2021 ; Raja et al 2022)

Socket preservation adalah prosedur untuk meminimalkan resorpsi tulang alveolar setelah pencabutan gigi. Prosedur ini biasanya dilakukan segera setelah pencabutan gigi dengan menempatkan bahan bone graft, membran barrier dan agen biologis pada soket gigi. Akibat pencabutan gigi akan menyebabkan perubahan dimensi tulang alveolar baik secara vertikal maupun horizontal, kondisi ini akan menyulitkan dokter gigi saat melakukan penggantian gigi baik dengan implan maupun protesa lepasan. (Raja et al 2022).

Proses penyembuhan soket setelah pencabutan gigi terdiri dari tiga fase yang pertama adalah fase inflamasi, kemudian fase proliferasi dan fase maturasi. Pada fase proliferasi, fibroblas berperan penting dalam membentuk jaringan granulasi dan mensekresikan kolagen untuk membentuk matriks ekstraseluler. Sehingga jika fibroblas mengalami peningkatan proliferasi sel, maka hal tersebut dapat mengindikasikan adanya proses penyembuhan luka yang bertahap. (Naini et al, 2019)

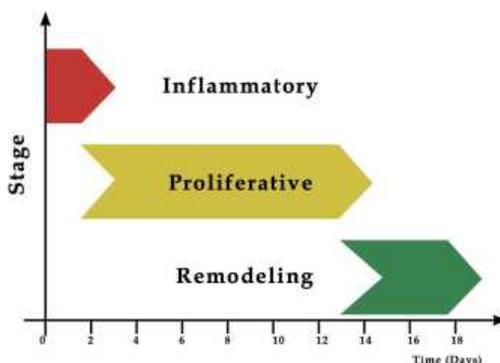
1.2.2 Fase Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan soket setelah pencabutan gigi terdiri dari tiga fase, yang pertama adalah fase inflamasi, kemudian fase proliferasi dan fase maturasi. Pada fase proliferasi, fibroblas berperan penting dalam membentuk jaringan granulasi dan mensekresikan kolagen untuk membentuk matriks ekstraseluler. Sehingga jika fibroblas mengalami peningkatan proliferasi sel, maka hal tersebut dapat mengindikasikan adanya proses penyembuhan luka yang bertahap. (Naini et al, 2019)

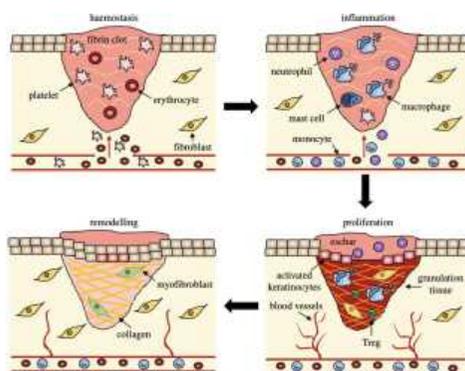
Penyembuhan luka adalah proses regenerasi jaringan multistage yang terdiri dari fase hemostasis/inflamasi, proliferasi dan remodeling. Untuk meningkatkan regenerasi jaringan yang cepat, jaringan yang mati digantikan dengan sel-sel sehat/baru yang mengurangi reaksi inflamasi akut yang disebabkan oleh kerusakan dan nekrosis pada matriks di sekitarnya. (Kapare et al, 2023 ; Wang et al, 2018)

Proses penyembuhan luka dapat terjadi lebih lama bahkan lebih cepat dari waktu yang diprediksikan dan juga luka terbuka yang tidak diobati juga mempunyai potensi untuk mengalami infeksi tergantung dengan bagaimana cara penanganan perawatan lukanya apakah dilakukan secara optimal atau tidak. Luka memiliki dampak yang substansial tetapi seringkali tidak disadari pasien, keluarga maupun sistem perawatan kesehatan. Faktanya fenomena luka disebut juga dengan *silent epidemic* yaitu luka dapat memiliki efek mendalam pada kualitas hidup seseorang. (Asyifa et al, 2023)





Gambar 1 Ilustrasi dari tahap-tahap yang terlibat dalam perbaikan jaringan (Gonzales et al, 2016)



Gambar 2. Tahap perbaikan luka (A) Hemostatis, (B) Inflammation, (C) Remodelling, (D) Proliferation. (Wilkinson et al, 2020)

Tahap-tahap perbaikan luka dan komponen seluler utama. Perbaikan luka dimulai dengan hemostatis, dimana plug platelet mencegah kehilangan darah dan matriks fibrin preliminar terbentuk. Inflamasi kemudian mengakibatkan untuk menghapus debris dan mencegah infeksi, dimulai dengan aliran neutrofil yang dipromosikan oleh pelepasan histamin dari sel mast. Monosit tiba kemudian dan membedakan menjadi makrofag jaringan untuk membersihkan sisa-sisa sel dan neutrofil. Selama fase proliferasi, keratinocytes bermigrasi untuk menutup celah luka, pembuluh darah reformasi melalui angiogenesis dan fibroblasts menggantikan gumpalan fibrin awal dengan jaringan granulasi. Macrophages dan regulator T sel (Tregs) juga penting untuk tahap penyembuhan ini. Akhirnya, matriks yang tersimpan dimodifikasi lebih lanjut oleh fibroblast, pembuluh darah regresi dan myofibroblast menyebabkan kontraksi luka secara keseluruhan. (Wilkinson et al, 2020)



nostatis

asis adalah tahap awal segera setelah cedera dan ditandai dengan vaskular. Tujuan utama hemostatis adalah untuk membatasi an darah, membangun kontrol bakteri dan menutup luka. Tahap ini seringkali hanya berlangsung berjam-jam. Pembuluh darah yang tinggi jaringan yang cedera menyempit untuk membatasi aliran

darah ke tempat luka. Trombosit yang diaktifkan berkumpul di dalam pembuluh darah rusak yang memicu koagulasi sehingga muncul kembali dalam pembentukan pembekuan. Gumpalan yang baru terbentuk berfungsi sebagai penghalang pelindung terhadap bakteri yang menyerang serta penutup sementara untuk migrasi sel. (Simmons, 2022)

b. Fase Inflamasi

Fase inflamasi juga dimulai tidak lama setelah cedera dengan pelepasan cytokines selama hemostasis yang mengarahkan leukosit ke tempat luka. Fungsi utama dari fase inflamasi adalah untuk membangun tempat luka yang bersih. Neutrofil adalah pertama dari leukosit yang tiba di site terluka dan melalui aktivitas enzim akan menghilangkan bakteri. Awal neutrofil aktif ini akan berkurang seiring perkembangan fase inflamasi. Ketika jumlah neutrofil menurun, makrofag akan bertambah jumlahnya dengan tujuan menghilangkan bakteri mati, neutrophils dan sisa-sisa seluler. Fungsi kunci lainnya dari makrofag adalah pembebasan faktor pertumbuhan untuk merangsang angiogenesis, migrasi fibroblast, proliferasi dan pembentukan jaringan ikat. (Simmons,2022)

Dalam respons inflamasi vaskular, kerusakan koagulasi pembuluh darah berkontribusi memelihara integritasnya. Koagulasi terdiri dari agregasi trombosit dan platelet dalam jaringan fibrin, bergantung pada tindakan faktor-faktor spesifik melalui aktivasi dan agregasi sel-sel ini. Jaringan fibrin selain mengembalikan homeostasis dan membentuk hambatan terhadap invasi mikroorganisme, mengatur matriks sementara yang diperlukan untuk migrasi sel (Gambar 2), yang pada gilirannya memulihkan fungsi sebagai penghalang pelindung, mempertahankan integritas. Ini juga memungkinkan migrasi sel ke mikro lesi dan stimulasi proliferasi fibroblast. (Gonzales et al,2016)

c. Fase Proliferasi

Tujuan dari tahap proliferasi adalah untuk mengurangi area jaringan yang rusak dengan kontraksi dan fibroplasia, menciptakan penghalang epitelial yang layak untuk mengaktifkan keratinocytes. Tahap ini bertanggung jawab untuk penutupan lesi itu sendiri yang mencakup angiogenesis, fibro-plasia dan reepithelialization. Proses ini dimulai di lingkungan mikro dari lesi dalam 48 jam pertama dan dapat berkembang hingga hari ke-14 setelah dimulainya lesi. (Gonzales et al, 2016)

Pembuluh baru yang menyediakan tempat luka dengan nutrisi dan oksigen terbentuk melalui angiogenesis. Fibroblast bertanggung jawab untuk sintesis kollaen Tipe III, yang akan berfungsi sebagai penghalang untuk jaringan yang berkembang di daerah luka. Sinyal yang disediakan oleh mendorong migrasi fibroblast, matriks ekstraseluler dan jaringan untuk mengisi daerah luka dengan jaringan granulasi. Setelah luka dengan jaringan granulasi, sel-sel epitel akan bermigrasi dari tepi melalui tempat daerah luka, mengakibatkan kontraksi luka. (Simmons,2022)



d. Fase Remodeling

Tahap ketiga penyembuhan terdiri dari remodeling, yang terjadi dua hingga tiga minggu setelah awal lesi dan dapat berlangsung selama satu tahun atau lebih. Tujuan inti dari tahap remodeling adalah untuk mencapai kekuatan tegangan maksimum melalui reorganisasi, degradasi dan resintesis matriks ekstraseluler. Pada tahap akhir penyembuhan lesi ini, upaya untuk memulihkan struktur jaringan normal terjadi dan jaringan granulasi secara bertahap dimodifikasi, membentuk jaringan bekas luka yang kurang seluler dan vascular yang menunjukkan peningkatan progresif dalam konsentrasi serat kolagen. (Gonzales et al,2016)

1.2.3 RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*)

Sistem RANKL adalah mediator inflamasi yang berperan dalam osteoklastogenesis. Limfosit T dapat mengaktifkan RANKL selama inflamasi pada jaringan periodontal yang menyebabkan ekspresi RANKL meningkat selama periodontitis. RANKL dan OPG adalah faktor penting dalam penyembuhan tulang yang memainkan peran penting dalam osteoklastogenesis. RANKL akan berikatan dengan RANK, sehingga menginduksi proses osteoklastogenik. Ikatan RANK-RANKL akan menginisiasi diferensiasi prekursor osteoklas menjadi osteoklas matang, menstimulasi kapasitas resorpsi tulang dan mengurangi apoptosis osteoklas. Dalam proses ini, OPG bertindak sebagai inhibitor, mencegah RANKL berikatan dengan RANK dengan cara berikatan dengan RANKL. (Devitaningtyas et al,2020 : Kresnoadi et al,2023)

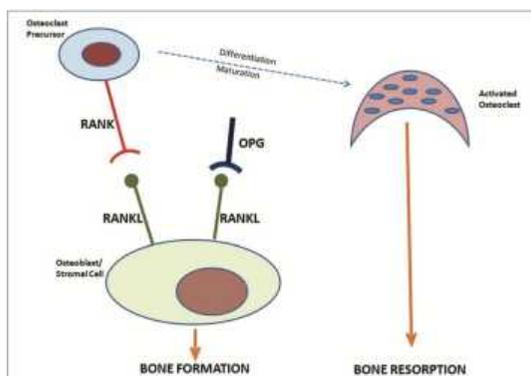
Sistem RANKL/RANK/OPG dikenal karena perannya dalam pematangan osteoklas dan remodeling tulang. Reseptor aktivator NF- κ B (RANK), reseptor aktivator ligan NF- κ B (RANKL) dan osteoprotegerin (OPG) adalah komponen utama dari sistem pensinyalan ini. RANKL sebagai protein homotrimerik, diproduksi oleh osteoblas dan beberapa sel lain seperti sel T yang diaktifkan. Jenis RANKL yang disekresikan adalah hasil dari pembelahan proteolitik atau perubahan penyambungan pada bentuk membran. Matriks metaloprotease (MMP3 atau 7) dan ADAM (domain disintegrin dan metaloprotease) bertanggung jawab atas pembelahan proteolitik RANKL. RANKL yang merupakan sekresi preosteoblas, osteoblas, osteosit dan sel periosteal membuat RANK diaktifkan yang diekspresikan oleh osteoklas dan prekursornya. RANKL memiliki tugas untuk menstimulasi diferensiasi preosteoklas, menempelkan osteoklas ke jaringan tulang dan aktivasi selanjutnya. (Tobeiha et al, 2020)

Sistem RANKL adalah sitokin yang mengatur remodeling tulang dan diekspresikan oleh sel osteoblas. Ekspresi RANKL distimulasi oleh sitokin yang berikatan dengan reseptor gp130, seperti IL-6, IL-1 dan TNF- α . Pada periodontitis, IL-6 dan TNF- α akan stimulate activators of transcription (STAT) dan protein kinase (MAPK) pada sel osteoblas, sehingga ekspresi RANKL menstimulasi osteoklastogenesis. RANKL dan dua reseptor RANK memainkan peran dalam proses remodeling karena mereka mengaktifkan faktor osteoklastogenesis yang



penting. Dalam tulang, RANKL diungkapkan oleh sel-sel garis osteoblast dan ligamen periodontal (PDL) dan ia melakukan efeknya setelah mengikat ke reseptor RANK pada permukaan sel sel garis osteoklast sebagai faktor diferensiasi osteoclast. Ikatan ini mengarah pada diferensiasi cepat dari precursor osteoklast hematopoietic ke osteoclast matang. Interaksi antara RANK dan RANKL mengindikasikan dimulainya osteoklastogenesis dan aktivasi osteoklas. Secara struktural, RANK adalah heterotrimer. RANK ditemukan untuk dinyatakan pada permukaan sel-sel progenitor osteoklast, osteoclast matang, chondrocytes, sel dendritic dan trophoblasts. (Devitaningtyas et al,2020 ; Arnez et al,2017 ; Kohli et al, 2011)

Fungsi RANKL berfokus pada biologi tulang, lebih spesifik metabolisme tulang. RANKL memainkan peran penting dalam osteoclastogenesis. Di bawah interaksi yang kompleks dari RANKL dan M-CSF yang progenitor monosit dari reservoir myeloid hematopoietic membedakan menjadi osteoclasts matang. Osteoklast terutama bertanggung jawab untuk resorpsi tulang dan RANKL mempengaruhi aktivasi mereka. Untuk resorpsi tulang yang efektif, osteoclasts melekat pada permukaan tulang melalui podosom. Karena podosom ini, mereka membentuk segel yang ketat dengan matriks tulang yang mendasarinya dalam ekstensi sirkuler dari sitoplasma mereka dan dalam zona tertutup ini mereka membentuk membran perbatasan yang rusak. Ruffling membran sitoplasma meningkatkan area permukaan sel untuk sekresi enzim proteolitik, kathepsin K dan asam klorida (HCl) ke permukaan tulang. Melalui mekanisme pengikatan dan sekresi ini, matriks tulang secara bersamaan degradasi dan mineral tulang dilarutkan, sambil melindungi sel-sel tetangga dari efek berbahaya HCl. RANKL dan sinyal beta-integrin dari matriks tulang mengaktifkan osteoklast. OCP menggabungkan satu sama lain dan menjadi multinucleated di bawah pengaruh RANKL. RANKL juga menginduksi ekspresi fosfatase asam resisten tartrat dan kathepsin K melalui faktor nuklir dari sel-sel T yang diaktifkan, dengan demikian menetapkan hubungan antara rankl dan aktivasi osteoklast. RANKL memiliki tindakan tipe antagonis ganda pada osteoklastogenesis, tergantung pada jenis reseptor yang berinteraksi dengan: RANK atau OPG, meskipun keduanya reseptor milik keluarga reseptor TNF yang sama. Dengan demikian, RANKL memainkan peran kunci dalam aktivasi osteoklast, sehingga mempengaruhi resorpsi tulang. (Kohli et al, 2011)



3 Interaksi RANKL-RANK/OPG kompleks biomolekul (Kohli et al,2011)

1.2.4 Bone Graft

Bone graft adalah bahan yang sering digunakan untuk menggantikan massa tulang yang hilang. Jaringan tulang menunjukkan kemampuan regeneratif dan dapat tumbuh di tempat yang disediakan oleh graft. Material bone graft yang digunakan dalam pemeliharaan soket pasca-ekstraksi dapat mempercepat regenerasi sel tulang karena sifat osteoinduktif dan osteokonduktifnya. Ada berbagai jenis bone graft seperti autograft, allograft, xenograft dan alloplast, meskipun autograft adalah gold standard dalam bidang kedokteran gigi. Namun, autograft membutuhkan tempat pembedahan tambahan agar bahan graft dapat diperoleh. Oleh karena itu, xenograft digunakan dalam penelitian ini karena aksesibilitasnya yang lebih besar, sifat osteokonduktif dan kemiripan struktural dengan tulang manusia. Osteokonduktivitas pada xenograft dapat mendukung pertumbuhan tulang baru di dalam graft, sehingga jarang terjadi interposisi jaringan ikat. Bovine bone graft adalah jenis xenograft yang paling banyak digunakan dalam kedokteran gigi. (Kresnoadi et al,2022 ; Kresnoadi et al,2023)

a. Autograft

Graft ditransfer dari satu posisi ke posisi lain di dalam individu yang sama. Tulang autogen adalah yang terbaik karena mungkin memiliki potensi osteogenetik dan osteoinduktif. Ini dianggap sebagai prosedur *grafting gold standard*. Mereka diserap dan digantikan oleh beberapa tulang variabel. Sumber tulang meliputi tulang ilia, simfisis mandibular (area chin), ramus mandibuler anterior (proses coronoid) dan tulang yang dihilangkan selama osteoplasty dan ostectomy. (Kumar et al,2021)

b. Allograft

Allograft berasal dari manusia. Perbedaan adalah bahwa alograft didapat dari individu yang berbeda dari yang menerima transplantasi. Tulang Allograft adalah osteoconductive dan osteoinductive, tetapi tidak memiliki sifat osteogenic dari autograft. Keuntungan utamanya termasuk ketersediaan dalam berbagai bentuk dan ukuran dan tidak ada morbiditas situs donor. Namun, itu hanya sebagian mempertahankan kekuatan struktural autograft, meskipun beberapa studi telah menunjukkan transmisi penyakit melalui allograft. (Saima et al, 2016 ; Martineau et al,2022)

c. Xenograft

Xenograft adalah transplantasi tulang dari spesies lain selain manusia, seperti sapi dan digunakan sebagai matriks kalsifikasi. (Martineau et al, 2022) Osteokonduktif, biokompatibel, dan struktural mirip dengan tulang manusia. Dua sumber xenograft digunakan untuk penggantian tulang dalam periodontik: bovine bone graft dan natural coral. (Nurchayanti et al,2023)



› Graft

Bahan bone graft yang sering digunakan pada prosedur *socket* bovine bone graft. Bovine bone graft sering digunakan karena norganik osteokonduktifnya, yang berfungsi untuk menyediakan erasi tulang tanpa terlibat dalam pembentukan tulang itu sendiri. diperlukan untuk menginduksi aktivitas osteogenetik untuk

mempercepat pembentukan tulang. Bovine Bone Graft yang sering digunakan karena kualitas osteokonduktifnya merupakan komponen matriks anorganik yang menyediakan skeleton/scaffold selama regenerasi tulang, meskipun hasilnya jauh lebih tidak stabil dari yang diharapkan. Bahan dari bovine bone graft mampu mendukung penempelan dan proliferasi sel osteoblas, yang merupakan langkah pertama dalam proses osteogenesis. Komponen aktif dalam bovine bone graft lebih bersifat osteokonduktif daripada osteoinduktif sehingga pada penelitian ini terjadi peningkatan kuantitas FGF 2, VEGF, dan osteoblas pada soket pencabutan yang diberi bovine bone graft. (Kresnoadi et al,2020 ; Kresnoadi et al,2022 ; Prabowo et al,2020)

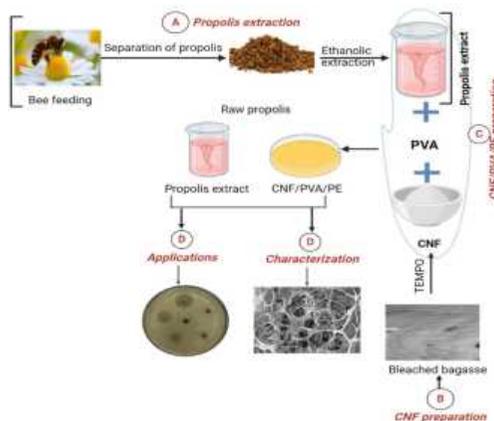
Bovine bone graft adalah jenis xenograft yang berasal dari bovine. Bovine xenograft merupakan graft yang paling sering digunakan karena memiliki hidroksiapatit yang hampir sama dengan tulang manusia sehingga memungkinkan graft untuk melakukan revaskularisasi dan digantikan dengan tulang yang baru. Xenograft digunakan untuk menstimulasi proliferasi fibroblas, osteoblas dan sel endotel. Bahan anorganik dari bovine bone graft dapat mendukung perlekatan dan proliferasi sel osteoblas yang merupakan langkah pertama dalam proses osteogenesis. Bahan ini mendukung matriks tulang untuk pengaturan melalui tiga mekanisme yaitu (1) membentuk ruang yang kuat untuk pengisi; (2) membentuk perlekatan dan proliferasi osteoblas dan (3) bertindak sebagai sarana untuk merangsang pembentukan tulang. Fungsi osteoblas tidak hanya terbatas pada pembentukan tulang tetapi juga bertanggung jawab untuk inisiasi resorpsi tulang. (Kresnoadi et al,2020 ; Lunardhi et al,2019)

1.2.6 Propolis

Propolis adalah zat resin alami yang dihasilkan oleh lebah yang memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antivirus, antijamur dan perangsang kekebalan tubuh. Selain itu, propolis juga memiliki kemampuan untuk meregenerasi jaringan tulang dengan cara meningkatkan aktivitas osteoblas dan menurunkan aktivitas osteoklas. (Kusumawati et al, 2021)

Propolis adalah produk sampingan alami dari peternakan lebah yang telah digunakan untuk penyembuhan luka sejak zaman kuno. Lebih dari 300 senyawa terdapat dalam propolis dan warnanya bervariasi tergantung pada vegetasi daerah dan sumber tanamannya. Tergantung pada vegetasi daerah, warnanya bisa hijau kekuningan atau coklat tua. Komponen polifenol utama propolis adalah flavonoid dan ester asam fenolik, diikuti oleh asam aromatik, lignan dan terpenoid. Biasanya lilin lebah terdiri dari 30% campuran, serbuk sari terdiri dari 5%, dan resin serta balsam nabati terdiri dari 50%. Selain zat balsam, resin dan zat bergetah, propolis juga mengandung serbuk sari, air liur, dan lilin, serta berasal dari eksudat dan kecambah tanaman oleh lebah madu. (Saleh et al. 2023)





Gambar 4 : Propolis (A) ekstrak propolis; (B) preparasi CNF (Cellulose Nanofiber); (C) CNF/PVA (Cellulose Nanofiber/ polyvinyl alcohol) yang dimuati PE (Propolis extract); (D) karakterisasi struktur mikro sampel yang diperoleh; dan (D) aplikasi biologis. (Saleh et al, 2023)

Propolis memiliki aktivitas antiinflamasi yang mengandung caffeic acid phenethyl ester (CAPE). CAPE menghambat RANKL yang diinduksi melalui aktivitas nuklir faktor kappa beta ($\text{NF-}\kappa\text{B}$) selama proses pembentukan osteoklas. Ekstrak propolis diketahui mengandung antioksidan yang dapat meningkatkan kepadatan tulang alveolar, serta mempercepat proses pembentukan tulang. Selain itu, CAPE yang terkandung dalam ekstrak propolis juga diketahui memiliki sifat kuat yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan tulang manusia, serta mengaktifkan sel progenitor osteoblas untuk meningkatkan pembentukan kolagen. Oleh karena itu, ekstrak propolis juga dapat menghambat pembentukan dan pematangan osteoklas. CAPE adalah penghambat $\text{NF-}\kappa\text{B}$ alami yang berasal dari propolis; penghambatan $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dan nuklir faktor dari aktivasi sel T (NFAT) yang dipicu oleh CAPE dapat menyebabkan melemahnya osteoklastogenesis. Dengan kata lain, CAPE dapat menekan osteoklastogenesis dan keropos tulang melalui penghambatan mitogen-activated protein kinase (MAPK) yang diinduksi oleh mitogen-RANKL. (Prabowo et al, 2020)

Propolis menurut Wieckiewicz dkk, juga mengandung komponen lain seperti asam amino, mineral, vitamin (vitamin A, vitamin B kompleks, dan vitamin E) serta zat-zat biokimiawi aktif yang tinggi yaitu bioflavonoid (vitamin P), fenol dan komponen-komponen aromatik. Aktivitas biologis propolis berkaitan dengan flavonoid dan turunan asam hidroksisinamat. Flavonoid adalah metabolit tanaman yang bermanfaat bagi kesehatan melalui jalur pensinyalan sel dan memiliki efek antioksidan. Molekul flavonoid ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran. Flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi, diabetes, antikanker dan pelindung saraf. (Kresnoadi et al, 2020)



Propolis

Propolis regional telah menarik perhatian besar untuk aplikasi rekayasa material karena hidrofilisitas, fleksibilitas dan potensi perekat yang unik biologis. Karakteristik khas ini memainkan peran penting dalam

meningkatkan waktu tinggal bahan terapeutik yang diberikan dalam kontak langsung dengan target biologisnya. (Saleh et al, 2023)

Hidrogel adalah jaringan polimer hidrofilik tiga dimensi yang dapat menyerap air atau cairan biologis dalam jumlah besar. Karena ikatan silang fisik dan kimiawi, struktur jaringan ini tidak dapat larut di alam, memberikan integritas fisik. Karena kompatibilitas termodinamikanya, struktur hidrogel ini membengkak dalam lingkungan berair. Dari segi kadar air, kelembutan dan sifat lainnya, hidrogel ini secara struktural dan fungsional mirip dengan jaringan asli. Hasilnya hidrogel telah menunjukkan kegunaannya sebagai lensa kontak, bahan kulit buatan dan untuk penghantaran obat. (Kapare et al, 2023)

Kendala utama dalam perawatan menggunakan antibiotik adalah resistensi dari mikroba terhadap antibiotik, hal ini dapat dihindari dengan penggunaan Hidrogel karena mekanisme yang kerja berbeda dari bahan tersebut. Perbedaan mekanisme kerja tersebut berada pada aplikasi lokal dari hidrogel yang ditempatkan secara langsung ke lokasi infeksi dan memiliki kemampuan *gradual release* sehingga mikroba akan terkena dampak dari antibiotik secara gradual dan tidak melewati sistem sistemik antibiotik lain pada umumnya, sehingga memiliki potensi untuk melewati kendala yang timbul akibat resistensi antibiotik. (Mensah et al.2023)



1.2.8 Tabel Sintesa

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai propolis maupun kombinasi propolis-*bovine bone graft*.

Tabel 1. Sintesis Penelitian

No	Penulis	Tahun	Judul	Jurnal	Kesimpulan
1	Tanongpitchayes et al	2021	Effectiveness of a Nanohydroxyapatite-Based Hydrogel on Alveolar Bone Regeneration in Post-Extraction Sockets of Dogs with Naturally Occurring Periodontitis.	Vet Sci	Aplikasi <i>Hydrogel Hydroxyapatite</i> memiliki efektifitas yang baik sebagai bahan perawatan <i>Socket Preservation</i> karena memiliki kemampuan Osteogenesis serta memiliki kemampuan sebagai Scaffolding.
2	Asdar et al	2015	Antibacterial activity test of South Sulawesi Propolis extract against <i>Streptococcus mutans</i> .	Scholars Journal of Dental Sciences	Pemberian gel propolis sebagai anti-inflamasi, anestetik, hipotensif, immuno-stimulatori, serta mendorong regenerasi tulang terjadi perubahan bermakna dengan penurunan kadar MMP-8 yang berperan penting dalam kerusakan tulang dan mengurangi kedalaman poket.
3	Vanitha et al	2022	Socket Preservation using Gelatin Hydrogel: A case report with radiographic analysis.	Int J Periodontol Implantol	Gelatin Hydrogel memiliki efektifitas yang baik dalam perawatan <i>Socket Preservation</i> dan sebagai pengganti tulang dengan kelebihan ekonomis serta potensi penolakan yang rendah dari tubuh.
		2023	Socket Preservation Using a Combination of Propolis Extract and Bovine Bone Graft Towards the Expression of Receptor Activator of Nuclear κ B Ligand and Osteoprogenin.	Folia Medica	Kombinasi Propolis dan Bovine Bone Graft dapat meningkatkan kadar OPG serta menurunkan sekresi dari RANKL pada perawatan <i>Socket Preservation</i> .



5	Kresnoadi et al	2021	Ethanol extract of propolis-bovine bone graft combination as a prospective candidate for socket preservation: Enhancing BMP7 and decreasing NFATc1.	Elsevier	Propolis dan BBG memiliki sifat osteokonduktif dan osteoinduktif yang merupakan persyaratan bahan bone graft untuk mendukung regenerasi tulang dan mempercepat penyembuhan luka.
6	Lunardhi et al	2019	The effect of a combination of propolis extract and bovine bone graft on the quantity of fibroblast, osteoblast and osteoclast in tooth extraction sockets.	Dent J	Kombinasi Ekstrak Propolis dan Bovine Bone Graft dapat meningkatkan jumlah fibroblast dan osteoblast serta menurunkan osteoklast pada socket post-ekstraksi dengan konsentrasi Propolis 2%.
7	Agbamu et al	2022	Evaluation of the healing activity of propolis hydrogel in an excision-based model.	International Journal of Biosciences	Hidrogel propolis menginduksi pembentukan jaringan granulasi, pembentukan jaringan luka, vaskularisasi baru, serta pembentukan jaringan ikat dan stroma jaringan fibrosa yang luas. Sehingga dapat disimpulkan hidrogel propolis dapat digunakan untuk menginduksi penyembuhan luka.
8	Prabowo et al	2020	Effective dose of propolis extract combined with bovine bone graft on the number of osteoblasts and osteoclasts in tooth extraction socket preservation.	Dental Journal	Hidrogel propolis dan bovine bone graft memiliki pengaruh positif, terdapat adanya peningkatan jumlah sel osteoblas dimana efektif mempengaruhi pembentukan tulang alveolar pada preservasi soket pencabutan gigi serta menghambat pelepasan sitokin inflamasi dan meningkatkan produksi stimulan sitokin anti inflamasi.



1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Apakah pemberian kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft mampu menurunkan kadar ekspresi RANKL terhadap proses regenerasi tulang pada *socket preservation* ?

1.4 Hipotesa

Penambahan kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft pada *socket preservation* dapat menurunkan ekspresi RANKL.

1.5 Tujuan Penulisan

1.5.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dilakukan untuk melihat efektivitas kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft dalam proses penyembuhan luka dan meregenerasi tulang pada prosedur *socket preservation*.

1.5.2 Tujuan Khusus

Untuk melihat analisis ekspresi RANKL pada regenerasi tulang periodontal Cavia Cobaya yang mengalami periodontitis yang diberi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft.

1.6 Manfaat Penelitian

1.6.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi aplikasi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft terhadap regenerasi tulang pada *socket preservation*,

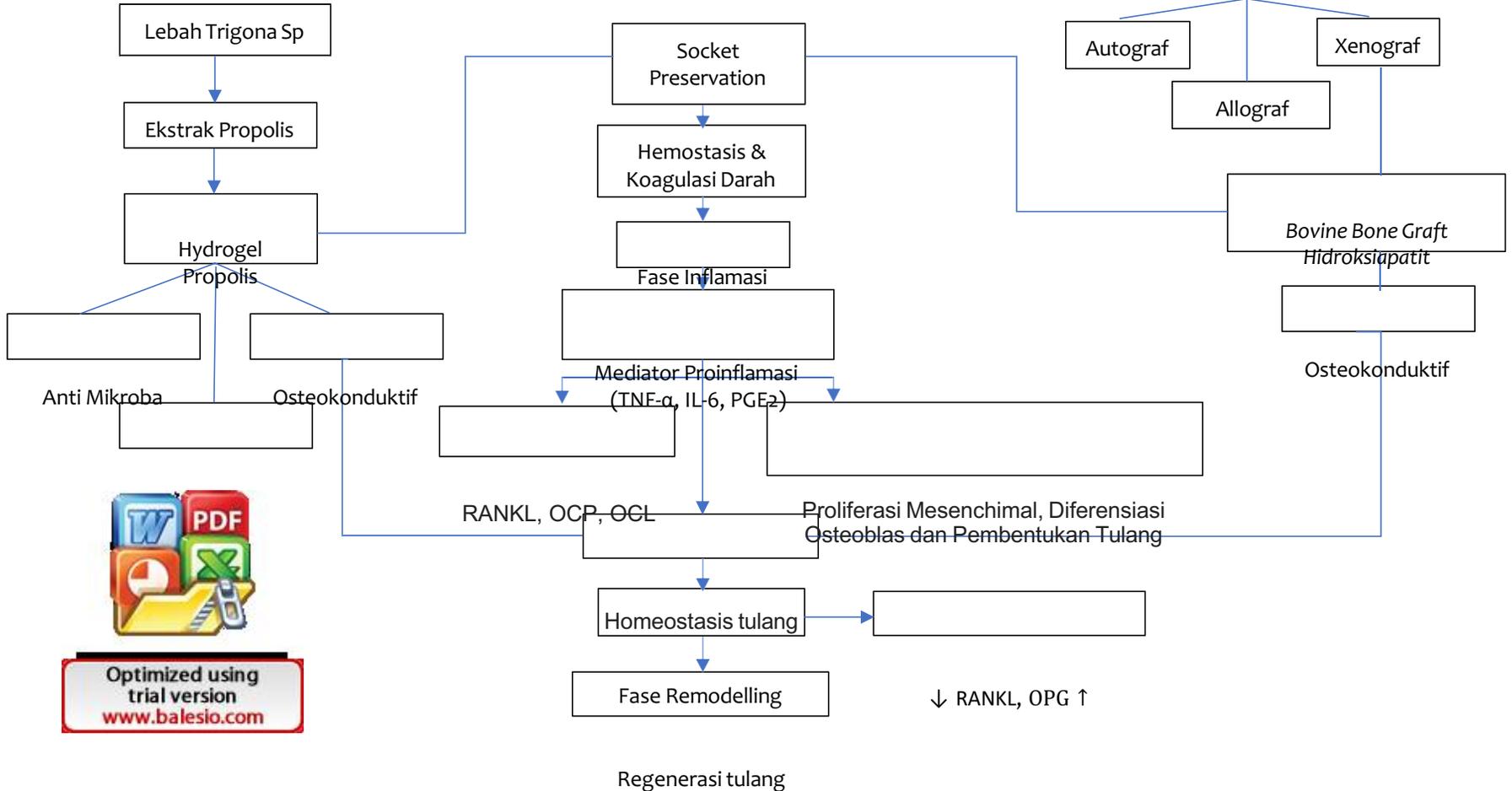
1.6.2 Manfaat Praktis

a. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi secara ilmiah mengenai pengaruh aplikasi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft pada perawatan *socket preservation* dalam regenerasi tulang.

b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan alternatif pengobatan terhadap proses regenerasi tulang pada *socket preservation*.



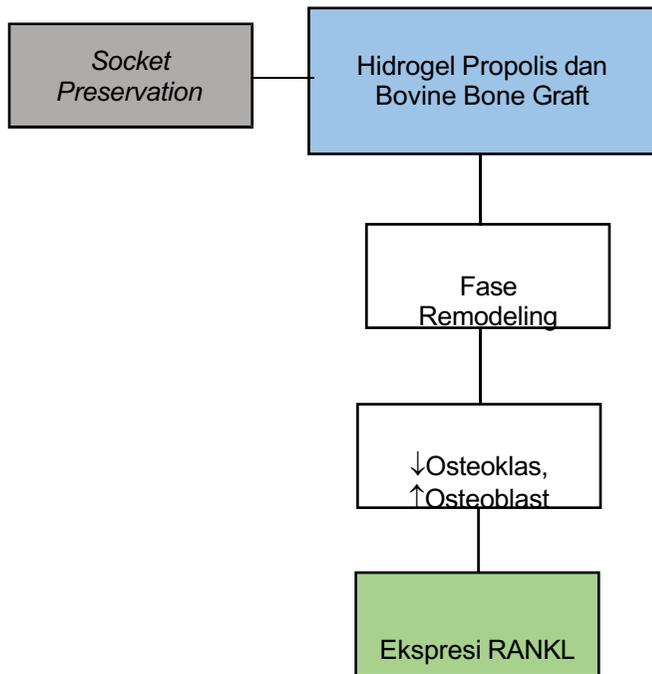
1.7 Teori Konseptual
1.7.1 Kerangka Teori





Optimized using
trial version
www.balesio.com

1.7.2 Kerangka Konsep



Keterangan :



: Variabel Bebas/Independen



: Variabel Terikat/Dependen



: Variabel Kendali



1.7.3 Deskripsi Teori Konseptual

Penelitian ini didasarkan pada hipotesa yaitu penambahan kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft pada *socket preservation* terhadap perawatan periodontitis dapat menurunkan ekspresi RANKL.

Salah satu bahan bone graft yang sering digunakan dalam prosedur *socket preservation* adalah bovine bone graft. Bahan tersebut diperlukan untuk menginduksi aktivitas osteogenetik guna mempercepat pembentukan tulang. Selain bone graft, terdapat pula bahan alami yang dapat mempercepat proses remodeling tulang salah satunya yaitu propolis. Propolis dapat menekan ekspresi RANKL pada awal fase inflamasi, RANKL menurun karena osteoblas bersiap untuk mensekresi matriks tulang. Formulasi propolis ke dalam bentuk sediaan topikal seperti hidrogel akan menjamin penggunaannya dalam penyembuhan luka dan mempercepat remodeling tulang. Terdapat empat kelompok penelitian dengan perlakuan yang berbeda, kelompok kontrol negative merupakan kelompok placebo, kelompok kontrol positif adalah kelompok sampel yang socket pencabutannya diberikan bone graft berupa bovine bone graft, kelompok ketiga adalah kelompok perlakuan yang socket pencabutannya diberikan hidrogel propolis 10% dengan kombinasi berupa bovine bone graft, serta kelompok keempat adalah kelompok perlakuan yang socket pencabutannya diberikan hidrogel propolis 15% dengan kombinasi berupa bovine bone graft.

Aplikasi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bonegraft sebagai alternatif perawatan pada periodontitis untuk melihat kemampuan dalam regenerasi periodontal melalui ekspresi RANKL.



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

2.1.1 Tempat Penelitian

- Laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS untuk pembuatan hidrogel propolis
- *Doc Pet Clinic* sebagai lokasi pemeliharaan, pembedahan dan *sacrified* hewan coba.
- Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNHAS untuk pembuatan slide imunohistokimia
- Laboratorium Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unhas untuk uji FTIR
- Laboratorium Biokimia – Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengujian sampel

2.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Maret 2024-September 2024

2.2 Bahan dan Alat Penelitian

2.2.1 Alat Penelitian

1. Kandang Marmut
2. Tempat makanan dan minuman plastic khusus yang dibeli dipetshop
3. Spuit 1ml, spuit 3ml, spuit 5 mm
4. Pinset, gunting, tang potong besar, alas kerja
5. Toples plastik besar
6. Wadah kecil untuk fiksasi jaringan
7. Tissue casset, laminar flow, gelas ukur, erlenmeyer (Pyrex), *beaker glass*, pengaduk, ose, lampu spiritus, *cutter*, gunting bedah, pinset, botol untuk dekalsifikasi, kuas kecil, deck glass, objek glass.
8. *Refrigerator*
9. Oven, blender, sendok pengaduk, micropipet dan tip untuk ekstraksi propolis
10. Mikroskop
11. Sarung tangan (Latex), masker.
12. Alat kondensor bone graft
13. Hemostat, ekskavator, sendok pengaduk, needle holder, gunting jaringan dan pinset jaringan



2.2.2 Bahan Penelitian

1. Hewan percobaan yaitu marmut jantan
2. Hydrogel propolis
3. Bone graft sintetik (Bovine bone graft)
4. Anestesi ketamine, saline
5. Diazepam ampul @2 ml
6. Chloroform, formalin
7. Parafin buffer
8. Aquades steril
9. Kapas steril , kasa steril
10. Ethanol 70%
11. Wash buffer
12. Suture absorbable 4-0

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *experimental posttest group only with control group design* yang menggunakan hewan Cavia Cobaya sebagai subjek penelitian.

2.3.2 Penentuan Sumber Data (Penentuan Besar Sampel)

Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan, yaitu:

1. Kelompok 1 : Kelompok kontrol negatif (Placebo, pemberian hidrogel)
2. Kelompok 2 : Kelompok kontrol positif (Pemberian bovine bone graft)
3. Kelompok 3 : Kelompok perlakuan (Pemberian hidrogel propolis konsentrasi 10%+ Bovine bone graft)
4. Kelompok 4 : Kelompok perlakuan (Pemberian hidrogel propolis konsentrasi 15%+ Bovine bone graft)

Perhitungan besar sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer. Cara menghitung sampel:

$$(t-1) \times (n-1) \geq 15$$

$$(4 - 1) \times (n - 1) \geq 15$$

$$\geq 15$$

$$5$$

$$3$$



Keterangan:

n = jumlah pengulangan perkelompok

t = jumlah kelompok penelitian

Dari hasil perhitungan dibutuhkan minimum 6 ekor marmut pada setiap kelompok, karena terdapat 4 kelompok perlakuan maka total sampel yang digunakan adalah 60 ekor marmut. Masing-masing kelompok diaplikasikan bahan penelitian dan diamati pada hari ke-7, 14 dan 21 sebanyak 15 ekor.

Kriteria Sampel

Subjek penelitian adalah Marmut (*Cavia Cobaya*) dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

- **Kriteria Inklusi**
 - a. Marmut jantan usia 3-4 bulan
 - b. Berat badan antara 200-250 gram
 - c. Keadaan sehat (bulu cukup, tidak rontok dan gerak aktif, konsumsi pakan lancar)
- **Kriteria Eksklusi**
 - a. Penurunan berat badan Marmut lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
 - b. Marmut nampak sakit (gerak tidak aktif)
 - c. Marmut mati selama penelitian

2.3.3 Defiisi Operasional

- Hidrogel propolis adalah sediaan propolis yang di ekstrak kemudian diformulasikan dalam bentuk hidrogel dengan pemberian konsentrasi 10 dan 15% lalu di homogenkan dan menghasilkan warna kecoklatan dengan pH berkisar antara 5 – 5,5.
- Bovine bone graft adalah bentuk sediaan bovine bone graft yang telah umum digunakan dan banyak beredar di pasaran.
- RANKL adalah persentase RANKL yang dinilai pada hasil pengamatan imunohistokimia.
- *Socket preservation* adalah suatu tindakan pemberian bone graft dan hidrogel propolis ke dalam soket bekas pencabutan gigi.

2.4 Pelaksanaan Penelitian

2.4.1 Persipan Penelitian

- **Pembuatan Ekstrak Propolis**



aksi yang digunakan ialah teknik maserasi. Maserasi merupakan sederhana. Adapun tahap ekstraksi ialah :
 ang sebelumnya didinginkan dalam refrigerator, dimasukkan ke selama tiga hari dengan suhu 40 °C.
 ng telah dimasukkan ke dalam oven kemudian ditambahkan cairan 6 sebanyak 3 L.

- c) Untuk mempercepat pelarutan, propolis dihancurkan dengan pengaduk.
- d) Diamkan propolis dalam cairan ethanol selama 48 jam. Selama didiamkan, aduk setiap hari.
- e) Propolis yang telah didiamkan kemudian disaring dengan penyaringan dan hasil saringan dibiarkan selama waktu tertentu untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi tidak ikut terlarut dalam ethanol.
- f) Sisa penyaringan kemudian dicampurkan kembali ke dalam larutan ethanol 70%, kemudian lakukan tahapan 3-5. Ulangi hingga tiga kali penyaringan.

- Pembuatan Hidrogel Propolis

Tahapan pembuatan hidrogel propolis sebagai berikut :

a. Formulasi hidrogel Propolis

Tahap penentuan konsentrasi basis gel polivinil alkohol dengan cara melakukan optimasi awal menggunakan konsentrasi 10 dan 15%. Polivinil alkohol didispersikan ke dalam aquadest didiamkan kemudian dihomogenkan, setelah itu diukur viskositasnya menggunakan viskometer. Hasil viskositas yang diharapkan yaitu rentang 29.000 – 32.000 cps. Selanjutnya basis gel yang memenuhi syarat viskositas, digunakan untuk membuat sediaan hidrogel propolis. Ekstrak propolis dimasukkan ke dalam basis hydrogel kemudian dihomogenkan dan menghasilkan warna kecoklatan dengan pH berkisar antara 5 – 5,5. Selanjutnya dilakukan pengujian viskositas.

b. Penampilan Visual Hidrogel Propolis

Sediaan hidrogel propolis diamati organoleptisnya antara lain: warna, bau, dan homogenitas.

- Pemeliharaan Hewan Coba Cavia Cobaya

Semua marmut (60 ekor) diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi intake makanan berupa pelet.

2.4.2 Jalannya Penelitian

- Perlakuan Hewan Coba

- a. Marmut (cavia cobaya) dianastesi menggunakan obat ketamin (0,4 – 0,6 ml/kg atau 0,1 – 0,15 ml/ekor) dan xylazine (1-2 ml/kg atau 0,25-0,5 ml/ekor).
- b. Gigi insisivus kanan rahang bawah diekstraksi tanpa rotasi menggunakan needle holder.
- c. Pada kelompok 1 (n=15), soket pencabutan diberikan hidrogel kosong sebagai kontrol negatif dan dilakukan penjahitan.
 kelompok 2 (n=15), soket pencabutan diberikan bone graft berupa bovine dengan diameter granul 0.25 – 1 mm sebagai kontrol positif dan penjahitan.
 kelompok 3 (n=15), soket pencabutan diberikan hidrogel propolis 100% dengan kombinasi berupa bovine bone graft sebagai kelompok kontrol. Setelah soket diisi, dilakukan penjahitan.



- f. Pada kelompok 4 (n=15), soket pencabutan diberikan hidrogel propolis konsentrasi 15% dengan kombinasi berupa bovine bone graft sebagai kelompok perlakuan/Uji. Setelah soket diisi, dilakukan penjahitan.
- g. Diberikan antibiotik suspensi doksisisiklin via oral 1-5 hari setelah ekstraksi gigi.

2.4.3 Parameter Pengamatan

- Tahapan Pembuatan Preparat

- a. Sebanyak 5 ekor Marmut *disacrificed* pada masing-masing kelompok perlakuan pada hari ke 7,14 dan 21 untuk pengambilan jaringan soket pencabutan dan pengamatan preparat untuk pemeriksaan histologi.
- b. Marmut dilakukan euthanasia menggunakan eter.
- c. Pengambilan spesimen rahang mandibula Marmut diambil dengan cara dipotong, lalu disimpan dalam larutan formalin buffer 10 %.
- d. Spesimen tulang rahang dibawa ke Laboratorium PA Fakultas Kedokteran Unhas untuk dilakukan pembuatan preparat histologi.

- Tahapan Pemeriksaan Imunohistokimia

Pada hari ke 7,14 dan 21 seluruh anggota kelompok diterminasi melalui pemberian ketamine dosis spesifik 50 mg/kg. Mandibula dari hewan diambil kemudian difiksasi selama 24 jam dalam larutan buffer formalin dan didekalsifikasi selama 2 bulan dalam asam etilendiamintetraasetat 10%. Alkohol yang diencerkan secara bertahap digunakan untuk mendehidrasi subjek sebelum dihilangkan dengan xylol dan ditanamkan dalam parafin, yang kemudian diaplikasikan pada objek kaca setelah dipotong dengan ketebalan 4 μ m.

Alkohol dan xylol diaplikasikan untuk mendeparafinisasi sediaan. Untuk mengamati protein RANKL, antibodi monoklonal RANKL diberikan pada sediaan. Substrat kromogen 3,3' -Diamininobenzidine juga ditambahkan. Analisis IHC tripel sekuensial dilakukan dengan pengamatan menggunakan mikroskop spektral (panjang gelombang; 420 hingga 720 nm, interval; 20 nm) dimana gambar multi spektral diambil dari area yang dipilih, menggunakan kamera CRi Nuance (Nuance, Thermo Fisher Scientific), dipasang ke mikroskop Brightfield (Leica CTR5500, Leica).

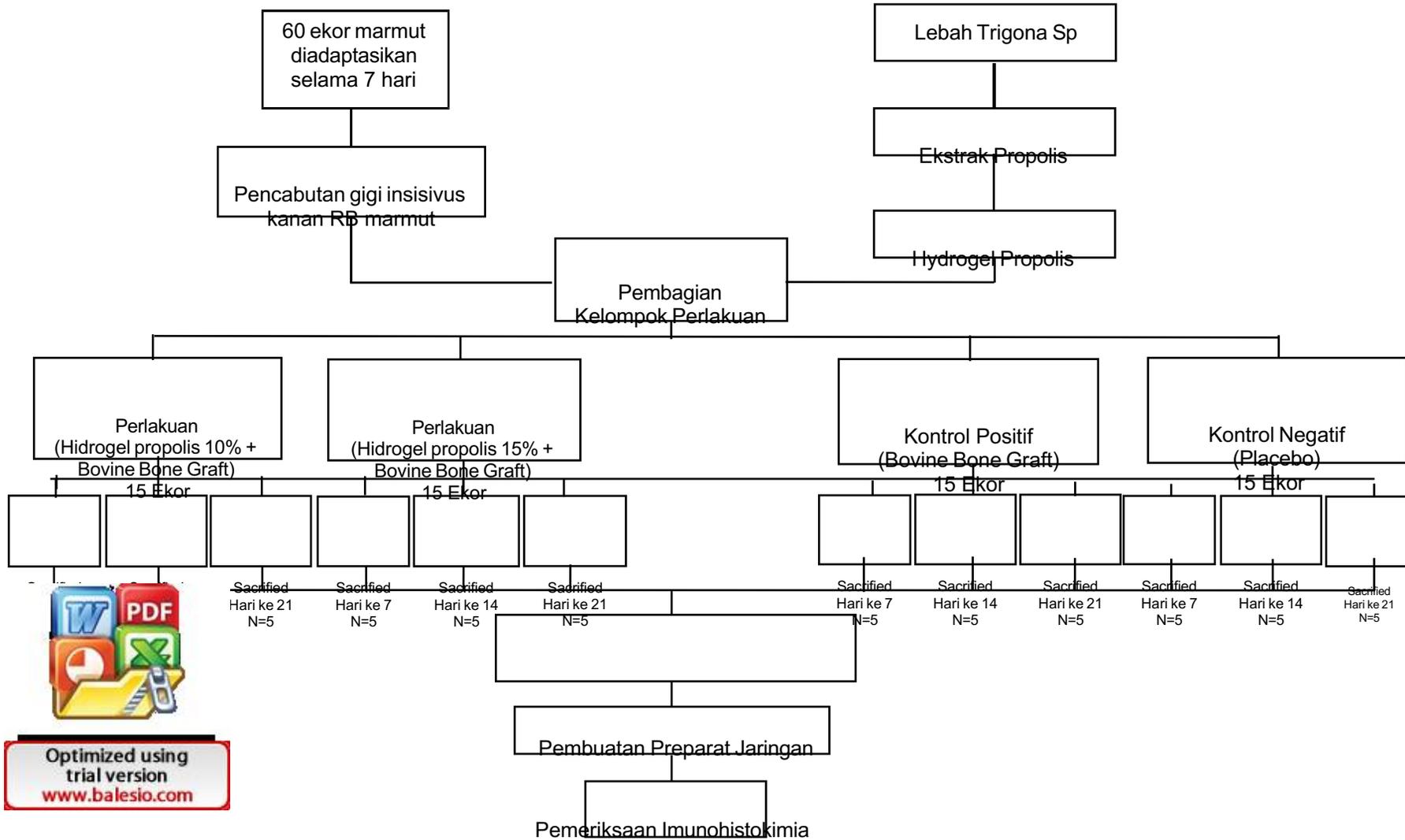
2.5 Analisis Data

Jenis data yang digunakan adalah data primer, pengolahan data menggunakan program R versi 3.4.0 dan IBM SPSS Statistics V.2.5. Analisa data menggunakan one st-hoc dan penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik.



i telah mendapatkan izin dari Komite Etik Penelitian Fakultas iversitas Hasanuddin dengan Nomor : 0174/PL.09/KEPK FKG-

2.7 Alur Penelitian





Optimized using
trial version
www.balesio.com