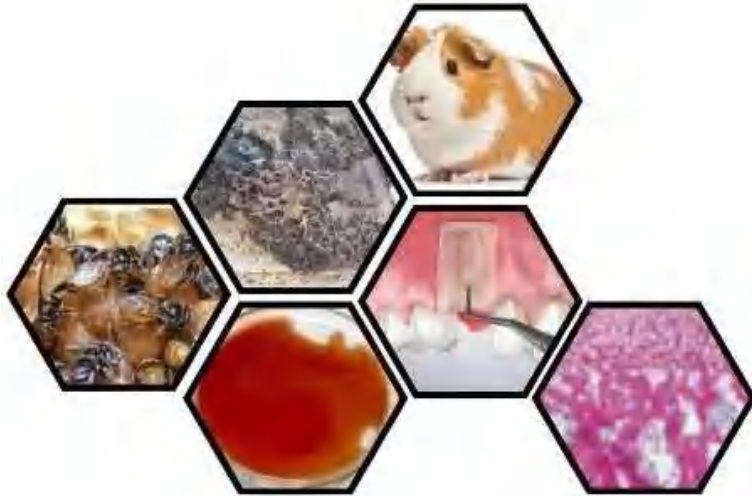


**Efektivitas Kombinasi Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft terhadap Level Tumor Nekrosis Factor – Alfa (TNF- $\alpha$ ) pada Tindakan *Socket Preservation* (Studi in Vivo pada Soket Bekas Pencabutan Gigi Marmut)**

**Effectiveness of Propolis Hydrogel and Bovine Bone Graft Combination on *Tumor Necrosis Factor - Alpha* (TNF- $\alpha$ ) Level in Socket Preservation**

**(In Vivo Study on Extracted Sockets of *Cavia Cobaya* Teeth)**



**ISAURA MERRY SANGER**

**J035212003**



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

Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**Efektivitas Kombinasi Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft  
terhadap Level Tumor Nekrosis Factor – Alfa (TNF- $\alpha$ )  
pada Tindakan *Socket Preservation*  
(Studi in Vivo pada Soket Bekas Pencabutan Gigi Marmut)**

**ISAURA MERRY SANGER**

**J035212003**



**Dosen Pembimbing 1: Prof. Dr. drg. A. Mardiana Adam, M.S**

**Dosen Pembimbing 2: drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp. Perio (K)**

**Dosen Penguji 1: Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K)**

**Dosen Penguji 2: Dian Setiawati, drg., Sp.Perio., Subsp.M.P (K)**

**Dosen Penguji 3: Dr. drg. Asdar., M.Kes**



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

**Efektivitas Kombinasi Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft  
terhadap Level Tumor Nekrosis Factor – Alfa (TNF- $\alpha$ )  
pada Tindakan *Socket Preservation*  
(Studi in Vivo pada Soket Bekas Pencabutan Gigi Marmut)**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Spesialis  
Program Studi Periodonsia

Disusun dan diajukan oleh

**ISAURA MERRY SANGER  
J035212003**

kepada

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



## TESIS

Efektivitas Kombinasi Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft terhadap Level Tumor Nekrosis Factor – Alfa (TNF- $\alpha$ ) pada Tindakan *Socket Preservation* (Studi in Vivo pada Soket Bekas Pencabutan Gigi Marmut)

**ISAURA MERRY SANGER**  
**J035212003**

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. A. Mardiana Adam, drg., M.S.  
NIP. 19551021198503 2 001

Pembimbing Pendamping



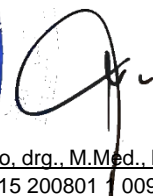
drg. Surijana Maopangara, M.Kes.,  
Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K)  
NIP. 19590901198702 2 001

Ketua Program Studi (KPS)  
PDDGS Periodonsia FKG-UNHAS



Sp.Perio., Subsp. R.P.I.D (K)  
101

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 “.Efektivitas Kombinasi Hidrogel Propolis dan Bovine Bone Graft terhadap Level Tumor Nekrosis Factor – Alfa (TNF- $\alpha$ ) pada Tindakan *Socket Preservation*” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S, sebagai Pembimbing Utama dan drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio (K) 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, *Effectiveness of Propolis Hydrogel and Bovine Bone Graft Combination on Tumor Necrosis Factor - Alpha (TNF- $\alpha$ ) Level in Socket Preservation*. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia mempertanggung jawabkan atas perbuatan tersebut.

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

Makassar, Oktober 2024



ISAURA MERRY SANGER  
J035212003



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan disertasi ini dapat terampungkan atas anugerah dan penyertaan Tuhan Yesus Kristus serta atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S, sebagai promotor dan Surijana Mappangara, drg., M. Kes., Sp.Perio (K). sebagai ko-promotor-1. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka atas bimbingan dan masukannya mengenai penelitian yang sedang saya lakukan. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Laboratorium Farmasi UNHAS, Klinik Dokter Hewan *Doc Pet*, Laboratorium Patologi Anatomi RSP UNHAS dan Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian.

Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada seluruh Hamba – hamba Tuhan atas setiap topangan doa yang diberikan dalam studi saya. Terima kasih 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.Perio (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 Uul dan adik Meilin sebagai rekan dalam tim penelitian serta teman-teman angkatan saya Venom (Kak Ersan, adik Ainun, Kiki, dan adik Venda) 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 suami saya Yuliranto Rante Pongbu'tu dan anak terkasih kami Eleanorelle Amora N. Pongsirante, serta kedua orang tua tercinta saya Papa Ventje Brury Sanger, SH dan Mama Meyske Marike Netty Kesek, saya mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Terima kasih kepada kedua adik saya terkasih Megah Gloria Sanger dan Stevany Elshadai Sanger atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis



Isaura Merry Sanger



ISAURA MERRY SANGER. **EFEKTIVITAS KOMBINASI HIDROGEL PROPOLIS DAN BOVINE BONE GRAFT TERHADAP LEVEL TUMOR NEKROSIS FAKTOR ALFA (TNF- $\alpha$ ) PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION** (dibimbing oleh Mardiana Adam dan Surijana Mappangara)

**Latar belakang:** Populasi kasus yang sering dijumpai saat kesehatan gigi dan mulut tidak terjaga adalah tindakan pencabutan gigi. Pencabutan gigi merupakan tindakan perawatan gigi yang terbanyak kedua di Indonesia menurut data RISKESDAS tahun 2018. Tindakan ini dilakukan karena pada umumnya pasien datang ke dokter gigi disaat keadaan giginya sudah tidak dapat dipertahankan lagi sehingga perawatan terakhirnya adalah pencabutan. Pencabutan gigi jika dilakukan tanpa adanya pencegahan perbaikan tulang atau yang dikenal dengan istilah *socket preservation* akan menyebabkan jumlah volume tulang menurun lebih cepat. Tindakan *socket preservation* dapat dilakukan dengan pengaplikasian *bovine bone graft*. Namun penggunaan bahan graft ini diketahui memiliki kekurangan dalam sifat osteokonduktif sehingga perlu ditambahkan dengan bahan lainnya yang memiliki sifat osteokonduktif yang baik dan dapat membantu meningkatkan fungsi hidroksiapatit sebagai bahan *graft* pada tindakan *socket preservation*. Transformasi yang sedang dikembangkan salah satunya yaitu sebagai penanganan dalam regenerasi tulang tulang alveolar yang terbuat dari bahan ekstrak propolis. Kandungan ekstrak propolis ini diantaranya memiliki keunggulan sebagai antimikroba, anti inflamasi, biokompatibel, osteokonduktif, dan biodegradasi yang baik. Penggunaan kombinasi hidrogel propolis dan *bovine bone graft* diharapkan dapat mempercepat proses regenerasi tulang, khususnya pada tahap *remodelling*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penambahan hidrogel propolis terhadap bahan bone graft terhadap level *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ). **Bahan dan Metode:** Pengujian bahan ekstrak propolis ini dilakukan pada 36 ekor marmut jantan yang telah dilakukan adaptasi selama tujuh hari, kemudian perlakuan dilakukan pada marmut yang dibagi dalam empat kelompok yaitu kelompok perlakuan yang diberi kombinasi hidrogel propolis 10% dan bovine bone graft, hidrogel propolis 15% dan bovine bone graft, kontrol positif diberikan bovine bone graft, dan kontrol negatif diberikan gel plasebo. Hewan coba di *sacrifice* pada hari ke 7,14, dan 21 dan tulang mandibula diambil untuk pemeriksaan imunohistokimia dengan marker Tumor Nekrosis Faktor Alpha (TNF- $\alpha$ ). Uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dan hasil uji statistik menggunakan uji ANOVA dan uji Posthoc Tukey. **Hasil:** Level TNF- $\alpha$  secara signifikan mengalami penurunan pada keempat kelompok penelitian pada hari ke 7, 14, dan 21. Peningkatan yang lebih tinggi terjadi pada kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. **Kesimpulan:** Kombinasi material hidrogel propolis dan bovine bone graft memberikan toleransi positif dengan peningkatan ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alpha (TNF- $\alpha$ ) yang memegang peranan penting dalam proses regenerasi tulang.

**Kata Kunci:** Hidrogel Propolis, Bovine Bone Graft, TNF- $\alpha$ , *Socket Preservation*



ISAURA MERRY SANGER. **EFFECTIVENESS OF PROPOLIS AND BOVINE BONE GRAFT HYDROGEL COMBINATION ON TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA (TNF- $\alpha$ ) LEVELS IN SOCKET PRESERVATION** (Supervised by Mardiana Adam and Surijana Mappangara)

**Background:** The population of cases that are often encountered when oral health is not maintained is tooth extraction. Tooth extraction is the second most common dental treatment in Indonesia according to RISKESDAS data in 2018. This action is carried out because in general, patients come to the dentist when the condition of their teeth can no longer be maintained so that the last treatment is extraction. Tooth extraction if carried out without prevention of bone repair or what is known as socket preservation will cause the amount of bone volume to decrease faster. Socket preservation can be done by applying bovine bone graft. However, the use of this graft material is known to have deficiencies in osteoconductive properties so that it needs to be added with other materials that have good osteoconductive properties and can help improve the function of hydroxyapatite as a graft material in socket preservation. One of the transformations that is being developed is as a treatment in bone regeneration of alveolar bone made from propolis extract. The content of propolis extract includes advantages as antimicrobial, anti-inflammatory, biocompatible, osteoconductive, and good biodegradation. The use of a combination of propolis hydrogel and bovine bone graft is expected to accelerate the process of bone regeneration, especially in the remodeling stage. This study aims to determine the effectiveness of adding propolis hydrogel to bone graft material on tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) levels. **Materials and Methods:** Testing of propolis extract material was carried out on 36 male guinea pigs that had been adapted for seven days, then the treatment was carried out on guinea pigs divided into four groups, namely the treatment group given a combination of 10% propolis hydrogel and bovine bone graft, 15% propolis hydrogel and bovine bone graft, positive control given bovine bone graft, and negative control given placebo gel. Animals were sacrificed on days 7, 14, and 21 and mandibular bones were taken for immunohistochemical examination with Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) marker. Normality test using Shapiro-Wilk test and statistical test results using ANOVA test and Posthoc Tukey test. **Results:** TNF- $\alpha$  level significantly decreased in all four study groups on days 7, 14, and 21. A higher increase occurred in the positive control and negative control groups. **Conclusion:** The combination of propolis hydrogel material and bovine bone graft provides a positive correlation with an increase in the expression of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) which plays an important role in the process of bone regeneration.

Keywords: Propolis Hydrogel, Bovine Bone Graft, TNF- $\alpha$ , Socket Preservation





## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Teori .....	3
1.2.1 Tulang .....	3
1.2.2 Proses Regenerasi Tulang .....	4
1.2.3 TNF- $\alpha$ dalam proses regenerasi tulang.....	7
1.2.4 <i>Socket Preservation</i> .....	9
1.2.5 Bone Graft .....	10
1.2.6 Lebah Trigona Sp .....	12
1.2.7 Hidrogel Propolis .....	14
1.2.8 Sintesa Penelitian .....	16
1.3 Perumusan Masalah.....	18
1.4 Hipotesa .....	18
1.5 Tujuan Penelitian .....	18
1.5.1 Tujuan Umum.....	18
1.5.2 Tujuan Khusus .....	18
1.6 Manfaat Penelitian .....	18
1.6.1 Manfaat Pengembangan Ilmu.....	18
1.6.2 Manfaat Praktis .....	19
1.7 Teori Konseptual .....	20
1.7.1 Kerangka Teori.....	20
1.7.2 Kerangka Konsep .....	21
1.7.3 Deskripsi Teori Konseptual.....	21
<b>BAB II METODE PENELITIAN</b>	
2.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
2.1.1 Tempat Penelitian .....	22
2.1.2 Waktu Penelitian .....	22
2.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	22
2.2.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Cavia Cobaya .....	22
2.2.2 Alat dan Bahan Hidrogel Propolis.....	22
a) Bahan Perlakuan Hewan Coba .....	23
a) Bahan Pembuatan Immunohistokimia .....	24
a) Bahan Penelitian .....	25
a) Desain Penelitian.....	25
a) Sumber Data (Penentuan Besar Sampel).....	25
a) Sampel .....	25



2.3.4 Variabel Penelitian .....	26
2.3.5 Definisi Operasional .....	26
2.4 Pelaksanaan Penelitian.....	26
2.4.1 Persiapan Penelitian .....	26
2.4.2 Jalannya Penelitian.....	27
2.4.3 Parameter Pengamatan .....	28
2.5 Analisis Data .....	29
2.6 Etik Penelitian .....	29
2.7 Alur Penelitian .....	29
<b>BAB III HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>30</b>
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	<b>37</b>
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>43</b>



## DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 1. Tahapan <i>remodeling tulang</i> .....	6
2. Gambar 2. Peran makrofag dalam homeostasis tulang.....	8
3. Gambar 3. Morfologi Lebah Trigona Sp .....	12
4. Gambar 4. Kerangka Teori .....	20
5. Gambar 5. Karakteristik dan biokompatibilitas hidrogel propolis .....	27
6. Gambar 6. Spektrum FTIR Hidrogel Propolis .....	30
7. Gambar 7. Daya Hambat Hidrogel Propolis.....	31
8. Gambar 8. Hasil pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$ dengan pemeriksaan imunohistokimia (IHC) pada hari ke-7.....	31
9. Gambar 9. Hasil pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$ dengan pemeriksaan imunohistokimia (IHC) pada hari ke-14 .....	32
10. Gambar 10. Hasil pengamatan ekspresi TNF- $\alpha$ dengan pemeriksaan imunohistokimia (IHC) pada hari ke-21 .....	32
11. Gambar 11. Grafik Perbandingan TNF- $\alpha$ antara kelompok perlakuan .....	35
12. Gambar 12. Hasil pemeriksaan IHC pembesaran 100x, 400x,1000X.....	35



## DAFTAR TABEL

1. Tabel 1. Sintesa penelitian .....	16
2. Tabel 2. Perbandingan TNF- $\alpha$ berdasarkan kelompok perlakuan .....	33
3. Tabel 3. Uji Posthoc LSD Ekspresi TNF- $\alpha$ antara kelompok Perlakuan .....	34



## DAFTAR SINGKATAN

<b>GBD</b>	: <i>Global Burden of Disease</i>
<b>RISKESDAS</b>	: Riset Kesehatan Dasar
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
<b>BBG</b>	: Bovine bone graft
<b>IGF</b>	: <i>Insulin Growth Factor</i>
<b>IL-6</b>	: Interleukin 6
<b>PDGF</b>	: <i>Platelet Derivative Growth Factor</i>
<b>M-CSF</b>	: <i>Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
<b>RANK</b>	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B</i>
<b>RANKL</b>	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand</i>
<b>OPG</b>	: Osteoprotegerin
<b>COX-2</b>	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
<b>BMP-2</b>	: <i>Bone Morphogenetic Protein-2</i>
<b>DMP-1</b>	: <i>Dentin Matrics Protein 1</i>
<b>HA</b>	: Hidroksiapatit
<b>VEGF</b>	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
<b>FTIR</b>	: <i>Fourier Transform Infra Red</i>
<b>IHC</b>	: Immunohistochemistry
<b>K</b>	: Placebo



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang paling umum terjadi pada manusia, dimana prevalensi kejadian penyakit ini bervariasi di tiap negara. Menurut studi GBD (Global Burden of Disease) dari tahun 1990-2010 menunjukkan bahwa periodontitis adalah penyakit ke 6 yang paling umum ditemui diseluruh dunia, dengan prevalensi 11,2% dan sekitar 743 juta orang terkena penyakit ini. Menurut hasil riset kesehatan dasar pada tahun 2018 disebutkan bahwa prevalensi masalah gigi dan mulut penduduk Indonesia sebesar 57,6%. Hasil ini menunjukkan peningkatan prevalensi masalah gigi dan mulut (Riskesdas, 2018).

Masalah Kesehatan gigi dan mulut khususnya penyakit periodontal dapat berdampak serius dalam kehidupan sehari-hari seperti kesulitan dalam mengunyah, berbicara, dan kehilangan gigi. Sebuah penelitian menyatakan bahwa 52,2% kehilangan gigi disebabkan oleh karena karies dan 35,7% karena penyakit periodontal, 6,9% oleh karena masalah endodontik, 2,9% pencabutan karena indikasi prostetik, dan 2,3% oleh karena kegagalan perawatan sebelumnya (Pasarelli et al 2020).

Penyakit infeksi kronis multifaktorial dari penyakit periodontal ditandai dengan respon inflamasi jaringan periodontal terhadap bakteri patogen periodontal, level tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin proinflamatori yang dilepaskan oleh makrofag yang telah diketahui peranannya dalam kehilangan tulang yang terjadi pada inflamasi jaringan periodontal dan dapat dideteksi pada saliva dan cairan crevicular gingiva baik pada individu sehat dan individu dengan periodontitis. Periodontitis mempengaruhi sekitar 14% dari populasi orang dewasa di seluruh dunia (Machado et al 2018).

Kebanyakan populasi kasus yang dilakukan pencabutan gigi penyebabnya adalah karena karies dan penyakit periodontal, kondisi ini mengakibatkan setelah pencabutan gigi dapat terjadi kehilangan ridge alveolar sekitar 30% akibat resorpsi. Beberapa studi menunjukkan bahwa, selama tiga bulan setelah pencabutan gigi, dua pertiga jaringan keras dan lunak mengalami resorpsi. Sebagian besar terjadi dalam enam bulan pertama setelah pencabutan gigi. Resorpsi meningkat rata-rata 0,5-1% setiap tahun. Kehilangan lebar tulang alveolar hingga 50% dalam 12 bulan. Kehilangan tulang alveolar ini akan mempengaruhi stabilitas, fungsi protesa gigi dan penempatan implan gigi, dan pada akhirnya mengurangi kenyamanan pada pasien. Waktu yang paling baik untuk ridge alveolar adalah pada saat pencabutan, untuk itu dapat



dilakukan tindakan socket preservation ('Periodontology 2000 - 2016 - Chappuis - Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction.pdf', no date; Lin et al., 2019)

Penggunaan material graft di dalam socket preservation gigi diharapkan dapat memperlambat resorpsi dinding soket dan meregenerasi jaringan lunak dan keras. Kriteria penting yang harus dipenuhi oleh bone graft adalah dapat diterima tubuh atau biocompatible dan menguntungkan pada proses osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis tulang. Osteokonduktif dan osteoinduktif adalah fase terpenting untuk biomaterial reasonable guna mendorong dan mengarahkan formasi pertumbuhan jaringan. Salah satu bahan bone graft yang sering digunakan dalam prosedur socket preservation adalah bovine bone graft. Bovine bone graft sering digunakan karena komponen matriks anorganik osteokonduktifnya yang berfungsi menyediakan perancah untuk regenerasi tulang tanpa terlibat dalam pembentukan tulang itu sendiri. Bahan inovatif tersebut diperlukan untuk menginduksi aktivitas osteogenetik guna mempercepat pembentukan tulang. Bovine bone graft merupakan hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) dari mineral anorganik yang membentuk 70% tulang (Rasmiyanti, Amalia and Setiadji, 2022; Korani et al., 2024). Material ini berasal dari tulang sapi telah lama diteliti karena memiliki struktur dan morfologi yang mirip dengan tulang manusia. Sifat hidroksiapatit biokompatibel, bioaktif, dan osteokonduktif, sehingga sering digunakan dalam regenerasi jaringan keras, akan tetapi hidroksiapatit memiliki kekurangan, yaitu bersifat rapuh dan relatif sulit diresorpsi oleh tubuh. Untuk meningkatkan sifat biokompatibel hidroksiapatit, beberapa penelitian mengkombinasikan bahan alami dari ekstrak propolis dalam bentuk hydrogel dan bovine bone graft dengan tujuan mengimbangi sifat mekanis hidroksiapatit yang lemah dan meningkatkan bioaktivitas serta perlekatan biomaterial pada tulang (Lunardhi, Kresnadi and Agustono, 2019; Kresnadi, Lunardhi and Agustono, 2020; Kresnadi, Sari and Laksono, 2023).

Beberapa penelitian menggunakan hydrogel propolis dan bovine bone graft membuktikan adanya pengaruh yang positif terhadap pembentukan tulang. Hal ini terbukti bahwa 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 (Prabowo, Kresnadi and Hidayati, 2020). Sementara, penelitian lain juga menunjukkan jumlah osteoblas yang signifikan adanya perbedaan bermakna pada jumlah osteoblas pada 3 dan 7 hari munculnya jaringan alveolar pada soket pencabutan gigi (Kresnadi et al., 2020).



rasasi tulang, proses remodeling tulang dapat dipengaruhi oleh faktor lokal. Beberapa polipeptida yang dihasilkan baik oleh maupun oleh jaringan ekstraosesus lain dapat bekerja sebagai seluler, pertumbuhan, diferensiasi dan proliferasi sel-sel tulang, IGF (Insulin growth factor) -I dan II, TGF- $\beta$  (transforming growth factor), bone morphogenetic factor), PDGF (platelet derivative

growth factor), FGF (fibroblast growth factor), EGF (Endothelial growth factor), VEGF (Vascular endothelial growth factor), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor), M-CSF (macrophage colony stimulating factor), dan TNF- $\alpha$  (tumor necrotizing factor-alpha).(Li et al., 2016).

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) adalah sitokin proinflamasi yang dilepaskan oleh makrofag yang dikenal karena perannya yang penting dalam kehilangan tulang yang dimediasi socket preservation. Hal ini dapat dideteksi dalam saliva dan cairan sulkus gingiva (GCF) baik dalam kesehatan maupun periodontitis (Annunziata et al., 2019; Botelho et al., 2021). Peningkatan konsentrasi yang diamati pada socket preservation berkorelasi erat dengan kerusakan jaringan dan respons imun. Pemeriksaan TNF- $\alpha$  dapat dilakukan melalui metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) maupun melalui pemeriksaan imunohistokimia (IHC) untuk melihat level TNF- $\alpha$  pada suatu jaringan dalam kemampuan regenerasi suatu bahan bone graft (Kresnoadi et al., 2020).

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, penulis menjadi tertarik untuk melihat efektivitas kombinasi hydrogel propolis dan bovine graft pada tindakan socket preservation terhadap level tumor necrosis factor - alpha (TNF- $\alpha$ ).

## 1.2 Teori

### 1.2.1 Tulang

Tulang adalah jaringan ikat khusus yang terdiri atas matriks tulang dan komponen selular. Komponen matriks tulang terdiri dari protein kolagen dan protein non kolagen. Protein kolagen terdiri dari matriks organik sekitar 80%-90% dalam jaringan tulang termineralisasi yang dihasilkan dari osteoblas dan fibroblas. Sedangkan, protein non kolagen seperti osteokalsin, osteonektin, osteopontin, sialoprotein, dan proteoglikan. Komponen berikutnya adalah komponen selular dari tulang yaitu osteogenic precursor cell, osteoblas, osteoklas, osteosit.(Green, Lai and Jung, 2014)

- a. Osteogenic precursor cell terdapat pada periosteum dan endosteum. Periosteum merupakan jaringan ikat yang menutupi tulang, yang terdiri atas lapisan luar dan lapisan dalam. Lapisan luar terdiri dari jaringan ikat padat yang iregular sedangkan lapisan dalam disebut juga osteogenic layer terdiri dari sel-sel osteogenic. Pada endosteum hanya terdapat selapis sel osteogenic dan tidak mempunyai tulang komponen jaringan ikat.



adalah merupakan sel tulang yang mensintesis dan menjadi perantara osteoid. Osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor mesenchymal (MSC) dan jaringan ikat lainnya, yang berdiferensiasi dan menjadi osteoblas sebelum membentuk tulang. Beberapa fungsi osteoblas adalah mensintesis kolagen dan non-kolagen dari matriks ekstraseluler, mengarahkan susunan fibril matriks ekstraseluler, mineralisasi tulang, dan mediasi resorpsi osteoblas melalui sintesis sitokin spesifik, dan



mensintesis growth factors. Sel dimediasi oleh sejumlah besar bone morphogenetic proteins (BMPs), growth factors dan sitokin. Osteoblas bertahan selama 1-10 minggu, memiliki tiga perjalanan perkembangan yaitu osteoblas inaktif menjadi bone-lining cells, matriks termineralisasi yang dihasilkan akan menggilingi osteoblas dan menjadi osteosit.

- c. Osteosit merupakan osteoblas dewasa yang terjebak dalam matriks tulang. Setiap osteosit melakukan kontak dengan osteosit lain, sum-sum tulang, lapisan osteoblas, dan pembuluh darah melalui tubular kanalikuli. Osteosit berperan dalam regulasi konsentrasi kalsium dan fosfat ekstraseluler serta dalam reaksi adaptasi terhadap lingkungan lokal. Osteosit didefinisikan sebagai sel yang terletak di dalam matriks tulang, diturunkan dari sel punca mesenkim melalui diferensiasi osteoblas, berkomunikasi secara luas dengan populasi sel tulang lainnya untuk mengatur metabolisme tulang. Distribusi osteosit dalam tulang adalah matriks tiga dimensi yang sangat terorganisir yang dirancang untuk meningkatkan adaptasi.
- d. Osteoklas (sel pemecah tulang) adalah sel terpenting pada resorpsi tulang yang berasal dari sel induk sumsum tulang (penghasil makrofag-monosit). yang diregulasi oleh mekanisme hormonal dan seluler. Pada proses resorpsi tulang tersebut osteoklas melekat pada permukaan tulang dan melepaskan enzim hidrolitik yang menyebabkan hidrolisis dari matriks tulang dan calcified cartilage. Proses tersebut menghasilkan terbentuknya cekungan pada tulang yang disebut lakuna Howship (Dwipa, 2022).

Osteoklas merupakan sel besar berinti banyak yang berasal dari makrofag hematopoietik dan monocyte stem-cell line, Bila distimulasi sel ini berproliferasi dan bergabung membentuk large multinucleated osteoclast, biasanya memiliki 3-20 nukleus dan sejumlah besar mitokondria, lisosom, dan memproduksi asam fosfatase yang berfungsi untuk melarutkan mineral dalam tulang. Faktor-faktor yang mempengaruhi diferensiasi sel osteoklas diantaranya macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) yang disekresikan oleh osteoprogenitor mesenchymal cells dan osteoblas, RANK ligand yang disekresikan oleh osteoblas, osteosit dan sel stroma. Kedua faktor ini mengaktifasi faktor transkripsi dan Levelgen osteoklas. Pembentukan osteoklas terjadi saat RANKL berikatan dengan RANK, dimana proses ini disebut osteoklastogenesis. Di sisi lain osteoprotegerin yang disekresikan oleh osteoblas, sel stroma, gingiva, dan fibroblast periodontal berikatan dengan RANKL, mencegah interaksi RANK/RANKL sehingga menghambat osteoklastogenesis. Sistem RANKL / RANK / TNF- $\alpha$  adalah mediator kunci dari osteoklastogenesis.(Compton and Lee, 2014; Suchetha et al., 2017)



## Generasi Tulang

Pembentukan tulang baru diawali oleh fase inflamasi. Fase ini : dalam proses pembekuan darah dan sel polimorfonuklear serta limfosit. Sel-sel inflamasi akan memfagosit jaringan nekrotik seperti interleukin 1 (IL-1) dan IL-6, tumor necrosis factor GE2. Sitokin tersebut berfungsi untuk menarik sel progenitor

yang dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas, sel endotelial, dan osteoklas. Sitokin dan faktor pertumbuhan ini dapat memodulasi proses seluler selanjutnya (migrasi sel, proliferasi, dan diferensiasi) untuk merangsang proses angiogenesis dan regenerasi tulang. Fase inflamasi berlangsung antara minggu pertama sampai minggu ke-2 (Gani et al., 2022; Kedokteran et al., 2023).

Fase kedua yaitu fase reparasi yang dimulai dalam beberapa hari setelah fraktur atau luka dan tumpang tindih dengan fase inflamasi. Pada fase ini, lingkungan lokal yang bersifat asam dan hipoksia selama fase inflamasi berangsur-angsur menjadi netral dan sedikit basa untuk memungkinkan mineralisasi tulang. Bone graft akan merangsang pertumbuhan tulang dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang. Setelah itu, luka akan distabilisasi oleh kartilago (soft callus) yang nantinya akan menjadi tulang (hard callus). Fase ini berlangsung dalam hitungan beberapa bulan. Selama fase reparatif yaitu terjadi diferensiasi dari sel mesenkim pluripotensial menjadi fibroblast, chondroblast, dan osteoblast. Chondroblast dan fibroblast akan menginfeksi daerah hematoma fraktur dan kemudian membawa matriks pada daerah luka. Pada minggu ke-4 hingga minggu ke-6 akan terbentuk soft callus yang tersusun dari jaringan fibrous dan kartilago. Sel osteoblast akan membantu proses mineralisasi soft callus dengan cara mensekresi matriks (kolagen tipe I) yang nantinya akan menjadi hard callus atau woven bone. Pada fase ini, tulang masih imatur dimana tulang masih lemah terhadap tekanan (Kedokteran et al., 2023) (Suprianto et al., 2019).

Terakhir fase remodeling tulang merupakan proses yang sangat kompleks dimana tulang tua diganti dengan tulang baru, dengan siklus yang terdiri dari tiga fase yaitu inisiasi resorpsi tulang oleh osteoklas, transisi (periode reversal) dari resorpsi ke pembentukan tulang baru, dan pembentukan tulang oleh osteoblas. Pada fase ini terjadi perkembangan epitelium baru, maturasi kolagen dan siklus resorpsi tulang oleh osteoklas yang diikuti dengan pembentukan dan remineralisasi tulang oleh osteoblas. Woven bone akan diganti dengan lamellar bone dan bone marrow yang merupakan proses remodeling, sedangkan resorpsi tulang terjadi pada dinding soket yang mengarah ke perubahan dimensi ridge alveolar merupakan hasil dari modeling tulang (Kedokteran et al., 2023).

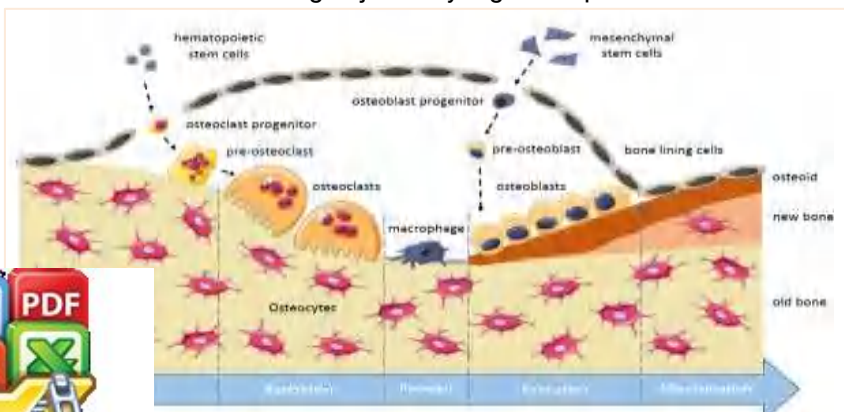
Proses ini terjadi karena tindakan terkoordinasi dari osteoklas, osteoblas, osteosit, dan sel lapisan tulang yang bersama-sama membentuk struktur anatomi sementara yang disebut basic multicellular unit (BMU). BMU memainkan peran penting dalam menjaga kualitas tulang dan integritas struktural serta dalam logis (Truesdell and Saunders, 2020; Hu et al., 2023)



Modeling tulang melibatkan beberapa tahap yaitu quiescent, reversal, formasi dan terminasi (Fernandez-Tresguerres 2006; Katsimbri, 2017) :

1. Quiescent merupakan fase istirahat yang menggambarkan tulang dalam keadaan aktif sebelum proses remodeling.

- b. Tahap aktivasi: pada tahap ini terjadi aktivasi permukaan tulang sebelum resorpsi, melalui retraksi sel-sel lapisan tulang (osteoblas matang memanjang di permukaan endosteal). Permukaan termineralisasi akan menarik sirkulasi osteoklas yang berasal dari pembuluh di sekitarnya.
- c. Tahap resorpsi: berlangsung sekitar 2 minggu dimana osteoklas melarutkan matriks mineral dan menguraikan matriks osteoid. Proses ini diselesaikan oleh makrofag dan melepaskan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam matriks, seperti transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ), platelet derived growth factor (PDGF), dan insulin-like growth factor I and II (IGF-I dan II).
- d. Tahap reversal: berlangsung dalam waktu 4 sampai 5 minggu. Pada tahap ini resorpsi tulang beralih ke formasi, terjadi dua peristiwa penting yaitu permukaan tulang yang baru diserap disiapkan untuk deposisi matriks tulang baru dan terjadi pensinyalan lebih lanjut resorpsi ke formasi untuk memastikan tidak ada kehilangan tulang. Persiapan permukaan tulang dilakukan oleh sel-sel turunan osteoblas yang menghilangkan matriks kolagen yang tidak termineralisasi, dan matriks mineralisasi non-kolagen.
- e. Tahap formasi: Pembentukan tulang membutuhkan waktu 4 sampai 6 bulan. Osteoblas mensintesis matriks protein baru untuk mengisi rongga yang ditinggalkan oleh osteoklas. Osteoid adalah matriks tulang baru yang terdiri dari protein seperti kolagen tipe I. Sebagai matriks tulang baru secara bertahap termineralisasi membentuk tulang baru. Osteoblas terus berlanjut membentuk tulang baru sampai berubah menjadi sel lapisan istirahat yang benar-benar menutupi permukaan tulang yang baru terbentuk.
- f. Mineralisasi: fase terakhir yang dimulai sekitar 30 hari setelah pembentukan osteoid. Pada tulang trabekuler proses ini berakhir 90 hari setelah deposisi osteoid, sedangkan pada tulang kortikal berakhir pada 130 hari. Kemudian mineralisasi tulang akan memasuki fase istirahat dan jumlah tulang yang terbentuk kembali sama dengan jumlah yang diserap.



pan remodeling tulang. Diagram skematis menunjukkan fase dari remodeling tulang : aktivasi, resorpsi, pembalikan, an mineralisasi (Saunders, Marnie & Truesdell, Sharon.,2019)



### 1.2.3 TNF- $\alpha$ dalam proses regenerasi tulang

*Tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ )* adalah sitokin yang banyak disekresikan oleh makrofag dan memiliki banyak peran metabolisme seperti proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, metabolisme lipid, dan koagulasi.<sup>2</sup> *TNF- $\alpha$*  merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri Gram negatif dan mikroba lainnya. Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF dalam jumlah besar yang menimbulkan reaksi sistemik. TNF disebut TNF- $\alpha$  atas dasar historis dan untuk membedakannya dari TNF- $\beta$  atau limfotoksin. Sumber utama TNF- $\alpha$  ialah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast (Machado *et al.*, 2020). Lipopolisakarida merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk menyekresi TNF. IFN- $\gamma$  yang diproduksi sel T dan sel NK juga merangsang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF. TNF- $\alpha$  mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran pro trombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrophil dan makrofag. TNF- $\alpha$  juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasite (Suprianto *et al.*, 2019).

TNF- $\alpha$  diproduksi oleh makrofag dan diaktifkan oleh sel T limfosit, antigen, sel NK, dan sel mast. TNF- $\alpha$  biasanya tidak terdeteksi pada individu sehat tapi sering ditemukan dalam kondisi inflamasi dan infeksi dalam serum. Kerja supresif TNF- $\alpha$  pada osteoblastogenesis telah mengungkapkan target tambahan di mana TNF- $\alpha$  mengganggu sinyal protein dan ekspresi gen. Faktor-faktor ini yang mengatur sintesis bahan tulang sangat penting untuk pembentukan osteoblas fungsional. Namun, beberapa model eksperimental telah menunjukkan bahwa kolagen tipe 1 (COL1a1) yang bertanggung jawab untuk *remodelling* matriks ekstraseluler dan osteokalsin, keduanya merupakan protein matriks, dipengaruhi oleh TNF- $\alpha$  (Humidat *et al.*, 2018).

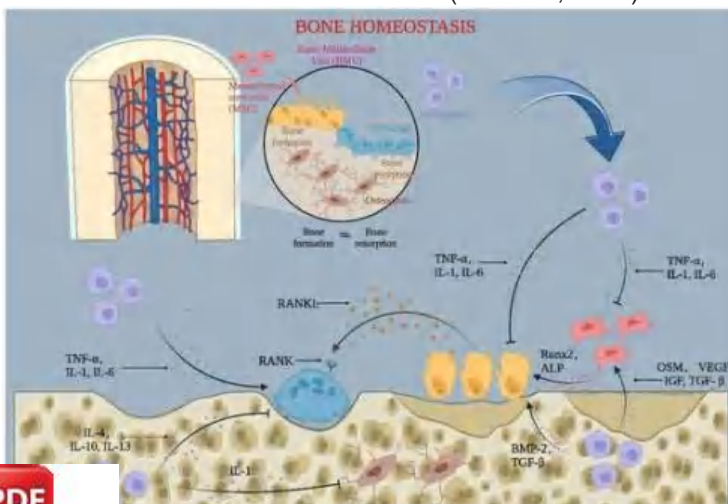
Penelitian lain menunjukkan TNF- $\alpha$  telah dilaporkan mempengaruhi faktor-faktor yang berhubungan dengan pembentukan dan kelangsungan hidup osteoblas melalui regulasi negatif faktor transkripsi penting, seperti Runx2 dan osterix yang merupakan matriks yang diatur oleh TNF- $\alpha$ . Faktor-faktor ini diperlukan untuk mengembangkan dan memelihara sistem tulang, melalui transkripsi berbagai gen termasuk osteokalsin, COL1A, OPG, alkalinephosphatase (ALP) Penelitian pada tikus knockout transgenik dengan penghapusan menunjukkan peran penting mereka, karena tikus berkembang tua akan tulang rawan karena defisiensi dalam diferensiasi lakmampuan untuk membentuk tulang yang termineralisasi (Graham *et al.*, 1991).



Osteoblas merupakan sel pengatur yang penting, yang memiliki kapasitas untuk mengatur resorpsi dan regenerasi tulang osteoklastik. Hal ini dicapai dengan memproduksi molekul pemberi sinyal proosteoklastik seperti M-CSF, RANKL dan interleukin di mana TNF- $\alpha$  berperan dalam meningkatkan ekspresi gen-gen ini, selain mendorong produksi enzim proteolitik seperti matriks metaloproteinase. Peningkatan faktor pendukung osteoklastogenesis ini diamati terjadi bersamaan dengan penekanan factor pro-osteoblastik yang disebutkan di atas, yang menunjukkan peran penting TNF- $\alpha$  pada kehilangan tulang periodontal dan inflamasi

Osteoklastogenesis yang dipicu oleh RANKL berkontribusi terhadap perkembangan fisiologis dan remodeling tulang. TNF memainkan peran utama, sebagian besar bersinergi dengan RANKL, dalam mendorong osteoklastogenesis patologis dan resorpsi tulang; namun, TNF saja tidak secara efektif menginduksi diferensiasi osteoklas. TNF dapat berfungsi in vivo untuk meningkatkan prekursor osteoklas, serta secara tidak langsung meningkatkan osteoklastogenesis melalui augmentasi ekspresi RANK pada prekursor osteoklas dan *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF) (Hu *et al.*, 2023).

Makrofag merupakan komponen seluler ketiga tulang selain sel spektrum osteogenik dan sel osteoklas. Tidak hanya itu makrofag juga menjadi salah satu komponen pengaturan homeostatis tulang. Makrofag terdapat di hampir semua jaringan sebagai sel imun bawaan dan penting untuk mempertahankan homeostasis jaringan normal. Makrofag meningkatkan homeostasis jaringan selama stres oksidatif dengan memfagositosis mikroorganisme yang menyerang, meningkatkan respons inflamasi, dan merekrut sel kekebalan tambahan (Hu *et al.*, 2023).



makrofag dalam homeostasis tulang. Makrofag menyatu dan adi osteoblas. Makrofag mengeluarkan sitokin, termasuk TNF- $\alpha$  yang menghambat pembentukan tulang dan mendorong resorpsi dapat melepaskan sitokin seperti IL-4, IL-10, dan IL-13, yang dapat diferensiasi osteoklas. OSM, VEGF, IGF, TGF- $\beta$ , dan BMP-2 dapat merangsang diferensiasi osteoblast (Hu *et al.*, 2023)

Homeostasis tulang dikendalikan oleh berbagai sel, termasuk osteoklas, sel induk mesenkim sumsum tulang (BMSCs), osteoblas, osteosit, dan makrofag. Dalam keadaan inflamasi yang diperantarai TNF, stimulasi TNF pada sel induk mesenkim (BMSC) menginduksi aktivasi sinyal dan menghambat diferensiasinya menjadi osteoblas. BMSC adalah kelas sel yang ada di sumsum tulang yang memiliki potensi diferensiasi multiarah dan mampu berkontribusi terhadap osteoblastogenesis (Hu *et al.*, 2023).

Peran serta regulasi TNF- $\alpha$  dalam regenerasi tulang sangatlah kompleks dan sejumlah besar penelitian sampai saat ini secara umum menunjukkan peningkatan resorpsi tulang secara keseluruhan dan karenanya menyebabkan hilangnya tulang. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa TNF- $\alpha$  merangsang proliferasi, migrasi dan pembentukan osteoklas selain itu meningkatkan aktivitas yang sinergis ketika bertindak bersamaan dengan faktor-faktor lain seperti RANKL dan IL-1. Namun hal yang lainnya TNF- $\alpha$  berhubungan dengan pembentukan dan kelangsungan hidup osteoblast (Compton and Lee, 2014).

#### 1.2.4 Socket Preservation

Tulang alveolar merupakan bagian dari maksila dan mandibula yang membentuk dan menopang soket gigi. Tulang alveolar terbentuk saat gigi erupsi melalui proses osifikasi tulang untuk memberikan perlekatan pada ligamentum periodontal. Kehilangan tulang alveolar dihubungkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah pencabutan gigi yang dapat mengakibatkan deformitas tulang, termasuk penurunan tinggi dan lebar dari *ridge* sisa (Kassim, Ivanovski and Mattheos, 2014).

Ketika gigi hilang, tulang alveolar atau bagian tulang rahang yang menahan gigi di mulut, tidak lagi menerima rangsangan yang diperlukan, sehingga mengalami kerusakan atau penyusutan. Tanpa intervensi (penyembuhan alami), hasil dari sembilan penelitian menunjukkan hilangnya lebar *ridge* yang signifikan (-2,6 hingga 4,6 mm), dan hasil dari lima penelitian menunjukkan hilangnya tinggi *ridge* tulang yang signifikan secara statistik (-0,55 hingga 3,3 mm). Sebaliknya, tidak terlihat penurunan yang signifikan pada tinggi *ridge* dari baseline dengan intervensi preservasi soket tertentu (Shaheen, 2022).

Pertimbangan untuk melakukan preservasi soket alveolar segera setelah pencabutan gigi, antara lain (Faria-Almeida *et al.*, 2019):



...ilkan koagulum di dalam soket dan menghindari kemungkinan volume jaringan keras yang diperlukan untuk regenerasi tulang. Erupsi tulang vertikal dapat diharapkan sebagai bagian dari pola penyembuhan tulang setelah pencabutan gigi, pada sebagian besar penelitian ditemukan adanya pengurangan dimensi vertikal *ridge* alveolar tulang setelah pencabutan gigi.

- b. Alasan lain untuk menempatkan cangkok ke dalam soket ekstraksi adalah untuk menyediakan *scaffold* pertumbuhan ke dalam komponen seluler dan vaskular untuk membentuk tulang baru dengan kualitas dan kuantitas yang dapat diterima. Beberapa teknik dapat digunakan untuk preservasi soket dan meminimalkan kehilangan tulang setelah pencabutan gigi. Profilaksis alveolar *ridge* segera setelah pencabutan gigi yaitu preservasi prosesus alveolar dengan cara 1) Retensi akar yang dirawat secara endodontik (paling diterima secara fisiologis), 2) Regenerasi tulang terpadu (*Guided bone regeneration*), 3) Penempatan *immediate* implan, dan 4) Penggunaan analog akar.

Dalam hal regenerasi tulang terpadu (*guided bone regeneration*), metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan kecepatan pembentukan tulang dan menambah volume tulang antara lain :

1. Osteoinduksi, dengan menggunakan faktor pertumbuhan yang sesuai;
2. Osteokonduksi, dengan menggunakan bahan graft yang berfungsi sebagai *scaffold* untuk pertumbuhan tulang baru
3. Distraksi osteogenesis, fraktur diinduksi melalui pembedahan dan fragmen tulang kemudian ditarik secara perlahan
4. Regenerasi jaringan terarah (*guided tissue regeneration*), yang memungkinkan ruang dipertahankan oleh membran penghalang untuk diisi dengan tulang baru.

Semua bahan atau teknik yang dapat memaksimalkan volume tulang dan jaringan lunak pasca pencabutan memiliki potensi untuk meningkatkan hasil perawatan. *Ridge preservation* atau *socket preservation* melibatkan penempatan bahan graft ke dalam soket pencabutan. Berdasarkan konsep ini, *socket preservation* seringkali dilakukan dengan cara *guided bone regeneration* yaitu dengan menggunakan membran, baik *resorbable* maupun *non-resorbable*, kombinasi bone graft dengan atau tanpa membran, atau dengan penggunaan molekul bioaktif untuk regenerasi tulang pada daerah soket.

### 1.2.5 Bone Graft

Bone graft adalah bahan yang diambil dari suatu tempat yang ditransplantasikan untuk menggantikan tulang yang rusak atau hilang. Bahan bone graft harus memiliki sifat biokompatibilitas, osteogenesis, osteoinduksi, osteokonduksi. Karakteristik ideal yang dimiliki bone graft antara lain tidak toksik,



tidak terhadap infeksi, tidak ada resorpsi akar atau ankilosis, kuat adaptasikan, siap dan tersedia secara memadai, merangsang jaringan mampu memicu osteogenesis, sementogenesis dan jaringan periodontal fungsional. Secara umum bone graft dapat diklasifikasi menjadi 4 yaitu sebagai berikut:

1) Autogenik: merupakan bahan yang diambil dari bagian anatomi dan

ditransplantasikan ke bagian lain dalam individu yang sama, biasa disebut dengan bone graft autologus. Graft ini dianggap sebagai gold standar karena memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenik, serta dapat berintegrasi ke tulang inang dengan lebih cepat dan lengkap.

b. Allograft

Jaringan tulang yang diambil dari satu individu dan ditransplantasikan ke individu lain yang satu spesies. Allograft dapat bersifat imunogenik dan menunjukkan tingkat kegagalan yang lebih tinggi, disebabkan oleh aktivasi antigen major histocompatibility complex (MHC).

c. Xenograft

Graft yang berasal dari spesies yang berbeda selain manusia, seperti sapi, babi dan karang. Ketiga sumber ini dapat menghasilkan produk yang biokompatibel dan secara struktural mirip dengan tulang manusia. Xenograft bersifat osteokonduktif, mudah diperoleh dan bebas dari resiko transmisi penyakit. Namun graft ini memiliki kekurangan sifat mekanik yang cukup buruk sehingga menyebabkan resorpsi partikel yang lambat. Terdapat beberapa jenis xenograft antara lain seperti *anorganic bovine derived bone xenograft* (BDX), *anorganic porcine derived bone xenograft*, dan *coralline calcium carbonate* (Kresnoadi, Widjaja and Laksono, 2021).

Salah satu bahan BDX adalah *bovine hydroxiapatite* (BHA) atau *bovine bone graft* (BBG) yang mirip dengan tulang kanselus manusia, baik dari segi kristalin maupun struktur morfologi, memiliki sifat biokompatibel dan osteokonduktif. Namun, bahan graft ini memiliki kekurangan tidak osteoinduktif serta tingkat dan mekanisme resorpsinya lambat. Sartori dkk dalam studi follow up 10 tahun, melaporkan resorpsi BBG yang lambat tetapi prosesnya berkelanjutan. Mereka menemukan bahwa laju resorpsi 3,6% per tahun untuk 2 tahun pertama dan kemudian menurun secara konsisten dalam 8 tahun berikutnya, dengan nilai rata-rata 0,58% per bulan (Dorozhkin, 2011; Endang, 2022)

d. Alloplast

Graft yang berasal dari bahan sintetik inorganik yang biokompatibel. Yang termasuk dalam jenis alloplast adalah Polimer Polymethylmethacrylate and Polyhydroxyethylmethacrylate (PMMA-PHEMA), Demineralized Dentin Matrix (DDM), hidroksiapatit (HA), Calcium Phosphate Cement (CPC),  $\beta$ -Tricalcium Phosphate (TCP), Calcium Sulfate, Bioactive Glasses (BG), Oily CaOH<sub>2</sub> Suspension, Porous Titanium Granules. Alloplast merupakan bahan graft yang dibuat secara sintesis yang diturunkan dari berbagai kombinasi HA,  $\beta$ -TCP,

atau kaca bioaktif. Meskipun alloplast memiliki permukaan yang memungkinkan perlekatan dan proliferasi sel serta tulang, alloplast secara umum menunjukkan kemampuan yang lebih rendah dibandingkan bahan graft lainnya. Alk alloplast telah dikombinasikan dengan berbagai faktor ekombinan yang mampu memfasilitasi regenerasi tulang dan





## 1.2.6 Lebah Trigona Sp.

### a. Taksonomi Lebah Trigona Sp.

Taksonomi dari lebah Trigona Sp, memiliki struktur badan hampir sama dengan struktur badan insekta serangga lain yaitu badan memiliki tiga bagian yaitu kepala (caput), perut (abdomen), dada (thoraks) dan keseluruhan badan lebah ditumbuhi oleh rambut. Arsitektur dan badan untuk membuat sarang pada lebah Trigona Sp. sangatlah unik. Tempat bersarangnya dapat berupa lubang pohon, dahan pohon, kayu, tanah, atau daun pintu yang terbuat dari kayu berlapis dua bahkan bisa pada lemari. Sarangnya terdiri dari batumen (campuran cerumen, propolis, lumpud/kapur, kotoran hewan atau serat tumbuhan). Pintu masuk sarang ada yang kecil hanya bisa dilewati oleh satu lebah saja dan ada yang lebih besar. Sekeliling pintu masuknya dilapisi campuran lumpur, tetesan resin dan propolis sehingga menyerupai bingkai. Ada spesies tertentu mendekorasi sarangnya dengan cerobong pipa dari cerumen atau resin untuk sirkulasi udaranya tetapi pada malam hari ditutup lagi (Nuraeni,2007)



Gambar 3 Morfologi Lebah Trigona Sp

Taksonomi lebah Trigona Sp, adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Artropoda
Subfilum	: Mandibulata
Kelas	: Insecta (Hexapoda)
Ordo	: Hymenoptera
Subordo	: Apocrita
Famili	: Apidae
	i : Meliponinae
	: Trigona sp.



Trigona Sp. merupakan lebah asli Asia yang memiliki karakteristik menghasilkan madu dengan rasa asam namun tahan terhadap pembusukannya karena mengandung senyawa organik. Harga jualnya sangat tinggi karena harganya lebih mahal daripada madu dari hasil lebah genus Apis. Lebah jenis ini banyak digunakan untuk menghasilkan propolis yang bermanfaat bagi manusia (Winarso, 2004).

## b. Sumber Pakan

Lebah membutuhkan pakan untuk memenuhi kebutuhannya, pertumbuhan koloni, produksi madu dan aktivitas reproduksi. Pakan lebah yang penting adalah nektar dan polen yang dihasilkan tanaman. Hampir semua tanaman berbunga adalah penghasil nektar yang polen yang diperlukan lebah. Lebah juga memerlukan air untuk kelangsungan hidup anggota koloni (Situmorang dan Hasanudin, 2014). Berikut akan dijelaskan beberapa sumber pakan lebah dan tumbuhan yang memprodukannya.

### 1) Nektar

Nektar adalah cairan berasa manis yang berasal dari kelenjar - kelenjar nektar pada bunga yang kelak menjadi madu lebah. Nektar adalah suatu zat yang mempunyai susunan yang sangat kompleks yang dihasilkan oleh kelenjar nektaria tanaman dalam bentuk larutan gula dengan konsentrasi yang bervariasi. Nektar yang berasal dari bunga (nektar flora) dan selain bunga (ekstra flora) terdapat pada batang, daun, dan ranting. Pada kondisi normal umumnya lebah *Trigona Sp.* hanya mengambil nektar flora, sedangkan ekstra flora diperlukan pada musim paceklik (bahan membangun sarang). Produksi madu dari nektar oleh lebah melalui proses kimiawi dengan kelenjar ludah dan kelenjar makanan yang terdapat dikepalanya (Situmorang dan Hasanudin, 2014).

Adapun komponen utama nektar (madu) berupa gula (sukrosa, glukosa, dan fruktosa), dan komponen-komponen lain seperti protein, asam organik, vitamin, pigmen, enzim, mineral dan zat aroma. Nektar dari tanaman ditentukan oleh musim. Pada musim paceklik, yaitu saat musim kemarau panjang dapat mengakibatkan produksi nektar berkurang. Cuaca panas kering berangin, bunga akan rusak/tidak muncul sehingga nektar tidak dapat keluar/tidak ada (Situmorang dan Hasanudin, 2014).

### 2) Pollen

Pollen adalah serbuk sari pada bunga yang merupakan alat reproduksi jantan pada bunga. Serbuk sari yang dibawa oleh lebah pekerja pencari serbuk sari untuk disimpan didalam pot-pot yang terbuat dari propolis. Serbuk sari yang siap dikonsumsi lebah *Trigona* disebut dengan bee pollen atau bee bread. Lebah membutuhkan banyak serbuk sari untuk pertumbuhan tubuhnya, khususnya dari mulai larva, pupa, hingga lebah muda yang sedang dalam pertumbuhan dan perkembangan sistem kelenjar. Tepung sari (pollen) adalah serbuk sari bunga yang diambil lebah dan dibawa ke sarangnya dengan dilekatkan pada kaki belakang (Gowda, 2011).

### 3) Getah/resin



*Trigona* tidak memiliki senjata sebagai alat pertahanan diri, lebah *Trigona* membutuhkan resin/getah dari tumbuhan yang sebagai alat perlindungan diri. Ketika lebah *Trigona* diserang, akan menempelkan resin/getah tanaman dibagian tubuh. Begitu juga ketika musuhnya akan masuk kedalam sarangnya, terjebak dan tidak dapat bergerak (Somerville, 2000).

### c. Kandungan Gizi dan Manfaat Propolis

Propolis adalah air liur yang dihasilkan oleh lebah untuk menyambung sekat-sekat dalam sarang serta mensterilkan bahan-bahan yang menyusun sarang yang telah disekeresikan dengan resin dari pohon konifer. Sarang lebah *Trigona Sp.* mengandung senyawa anti bakteri. Ekstrak propolis dari sarang lebah memberikan efek yang negative pada bakteri *Staphilococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Zaenal, 2007).

Propolis merupakan produk lebah yang kaya akan zat-zat esensial yang sangat berguna bagi manusia. Propolis diproduksi oleh lebah dengan mengambil resin dari pucuk atau kulit kayu berbagai jenis tanaman dan disekresikan dengan senyawa yang ada pada air liur lebah. Campuran dari berbagai elemen tersebut menghasilkan antibiotik yang dapat menangkis berbagai macam jenis mikroba. Antibiotik tersebut dapat digunakan untuk melindungi sarang dari berbagai jenis mikroba dengan meletakkannya pada pintu masuk sarang.

Kegunaan propolis pada manusia hamper sama pada lebah yaitu penangkal serangan bakteri dan jamur. Kecepatan kerja dan keaktifan propolis dalam bereaksi menahan serangan patogen merupakan keunggulan dari propolis bila dibandingkan dengan bahan alami lainnya. Propolis mengandung lebih dari seratus delapan puluh elemen biokimia diantaranya bioflavonoids, semua vitamin kecuali K, empat belas mineral kecuali sulfur, flavonoids, enzim dan co-enzim, karbohidrat, hormone, dan protein (Ramalo, 2003).

## 1.2.7 Hidrogel Propolis

Propolis merupakan substansi yang dibuat oleh lebah madu yang memiliki potensi sebagai antimikroba dan antiinflamasi. Lebah madu mengumpulkan resin ini dari retakan kulit pohon dan kuncup daun. Resin alami yang tidak beracun dengan berbagai sifat farmakologis. Komposisi propolis mengandung 55% senyawa resin, 30% wax, 10% minyak aromatik dan 5% serbuk sari lebah madu. Propolis penuh dengan Vitamin A, B1, B2, B3, biotin, bioflavonoid dan polifenol. Propolis telah digunakan sebagai obat oleh manusia sejak zaman kuno. Dalam kedokteran gigi, propolis digunakan untuk antibakteri, antiinflamasi dan penyembuhan pada lesi. Komponen resin pada propolis mengandung flavonoid, fenol dan berbagai asam. Jenis flavonoid pada propolis antara lain pinocembrin, akasetin, krisin, rutin, katekin sebagai senyawa antimikroba, anti-jamur dan antioksidan. Senyawa fenol dan asam berperan sebagai antibiotik pada propolis. Kandungan yang paling penting dari propolis adalah flavonoid. *Caffeic acid pbenethyl ester (CAPE)*, salah satu komponen utama dari propolis lebah madu, rasi keratinosit epidermis luka. Propolis sangat efektif terhadap anaerobius, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces* *Illa oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *cleatum*, dan *Veillonella parvula* (Prabowo, Kresnoadi and



Propolis merupakan substansi yang dibuat oleh lebah madu yang memiliki potensi sebagai antimikroba dan antiinflamasi. Lebah madu mengumpulkan resin ini dari retakan kulit pohon dan kuncup daun. Resin alami yang tidak beracun dengan berbagai sifat farmakologis. Komposisi propolis mengandung 55% senyawa resin, 30% wax, 10% minyak aromatik dan 5% serbuk sari lebah madu. Propolis penuh dengan Vitamin A, B1, B2, B3, biotin, bioflavonoid dan polifenol. Propolis telah digunakan sebagai obat oleh manusia sejak zaman kuno.

Dalam kedokteran gigi, propolis digunakan untuk antibakteri, antiinflamasi dan penyembuhan pada lesi. Komponen resin pada propolis mengandung flavonoid, fenol dan berbagai asam



## 1.2.8 Sintesa Penelitian

**Tabel 1. Penelitian Efektifitas kombinasi hydrogel propolis dan bovine bone graft pada tindakan socket preservation**

No	Penelitian	Jumlah Sampel	Prosedur Penelitian	Waktu Penelitian	Kelompok Penelitian		Hasil Penelitian
1.	Kresnodi, Sari and Laksono, 2023	56 ekor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cavia Cobaya dengan gigi seri kiri bawah setiap subjek dicabut.</li> <li>- Hewan disacrifice pada hari ketiga dan tujuh. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk mengamati ekspresi RANKL dan OPG menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x.</li> </ul>	3 hari, 7 hari,	Kelompok Perlakuan	Kelompok kombinasi ekstrak propolis	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rerata ekspresi RANKL tertinggi pada kelompok kontrol hari ketiga dan ketujuh,</li> <li>- Rerata ekspresi OPG tertinggi pada kelompok observasi hari ketiga dan ketujuh</li> <li>- Dilakukan uji ANOVA yang nilai signifikan &lt;0,05 antar kelompok tertentu</li> <li>- Terdapat korelasi RANKL dan OPG</li> </ul>
2.	Lunardi, Kresnodi and Agustono, 2019	56 ekor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cavia cobaya dibagi menjadi delapan kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari tujuh sampel</li> <li>- Subyek penelitian diterminasi pada hari ke 3 dan 7 pasca pencabutan. Selanjutnya pemeriksaan imunohistokimia dan histopatologi untuk mengamati ekspresi HSP 70, ekspresi osteokalsin, osteoblas, dan osteoklas</li> </ul>	3 hari, 7 hari	Kelompok Kontrol	Bovine Bone Graft (BBG), Polietilen Glikol (PEG)	<p>Kelompok kombinasi ekstrak propolis dan BBG pada hari ke 3 dan 7 ditemukan jumlah ekspresi HSP70, ekspresi osteokalsin, dan sel osteoblas tertinggi serta jumlah osteoklas terendah</p>
3.	Kresnodi, Nizar and Soekobagiono, 2022	56 ekor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cavia cobaya empat kelompok: polietilen glikol (PEG), ekstrak propolis + PEG, BBG + PEG, dan ekstrak propolis + BBG + PEG. Gigi seri kiri bawah dicabut, dan soketnya kemudian diisi dengan bahan sampel</li> </ul>	14 hari, 30 hari	Kelompok Kontrol	Polietilen glikol (PEG), ekstrak propolis + PEG, BBG + PEG, dan ekstrak propolis + BBG + PEG	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Terlihat ekspresi RUNX2 tertinggi (18,43 + 3,5) pada kelompok propolis + BBG + PEG pada hari ke-30</li> <li>- Ekspresi ALP tertinggi (23,71 + 2,0) juga terjadi pada kelompok propolis + BBG + PEG pada hari ke-30</li> </ul>
	ati, nd 20	42 ekor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Setelah direndam selama 24 jam, sisa larutan propolis dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer UV-vis untuk diukur nilai serapannya</li> <li>- persentase dilakukan untuk mengetahui jumlah propolis yang terserap ke dalam hidroksiapatit</li> </ul>	3 hari, 7 hari	Kelompok Kontrol	propolis 5%, 7,5%, dan 10%	<p>Propolis 10% merupakan konsentrasi yang paling banyak terserap dibandingkan dengan propolis 5% dan 7,5%. Semakin rendah konsentrasi propolis, semakin tinggi kandungan air sulingan gandanya, dan hal ini dapat menyebabkan larutnya hidroksiapatit berkarbonasi.</p>



5.	Prabowo, Kresnoadi and Hidayati, 2020	28 ekor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Kelompok I (PEG 25 gram), Kelompok II (ekstrak propolis dosis 0,5% yang dikombinasikan dengan cangkok tulang sapi)</li> <li>- Kelompok III (ekstrak propolis dosis 1% dikombinasikan bovine bone graft)</li> <li>- Kelompok IV (ekstrak propolis dosis 2% dikombinasikan dengan bovine bone graft).</li> </ul>	30 hari	Kelompok Kontrol	propolis 0,5%, 1%, dan 2%	Ekstrak propolis yang dikombinasikan dengan cangkok tulang sapi tidak hanya meningkatkan jumlah osteoblas tetapi juga menurunkan jumlah osteoklas. Dosis ekstrak propolis kombinasi cangkok tulang sapi yang paling efektif adalah 2%.
6.	Kresnoadi, Widjaja and Laksono, 2021	28 ekor	Ekspresi BMP7 dan NFATc1 diamati pada hari ke 7 dan hari ke 14 tiap kelompok	7 hari, 14 hari	Kelompok Kontrol	Poliethilen glikol, Ekstrak etanol propolis (EEP), Bovine Bone Graft (BBG), dan EEP-BBG	Kelompok kombinasi propolis-BBG menunjukkan ekspresi BMP7 tertinggi, baik pada hari ke 7 maupun hari ke 14. Ekspresi NFATc1, kelompok kombinasi mengalami ekspresi terendah pada hari ke 7 dan hari ke 14. .
7.	Asdar, 2015		Uji aktivitas antibakteri ekstrak Propolis Sulawesi Selatan terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	7 hari, 30 hari	Kelompok Kontrol	Ekstrak propolis	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.



### 1.3 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft efektif dalam menurunkan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada tindakan socket preservation?

### 1.4 Hipotesa

- 1.2.1 Terjadi penurunan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada soket bekas pencabutan gigi setelah aplikasi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft (BATAN) pada hari ke-7, 14 dan 21.
- 1.2.2 Terjadi penurunan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada soket bekas pencabutan gigi setelah aplikasi bovine bone graft (BATAN) pada hari ke- 7, 14 dan 21.
- 1.2.3 Terdapat perbedaan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) antara kelompok kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft (BATAN), kelompok bovine bone graft (BATAN), dan kelompok kontrol negatif pada harike-7, 14 dan 21.

### 1.5 Tujuan Penulisan

#### 1.5.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft terhadap level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada tindakan socket preservation.

#### 1.5.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui penurunan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada soket bekas pencabutan gigi setelah aplikasi bahan kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft (BATAN) pada hari ke-7, 14 dan 21
2. Untuk mengetahui penurunan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) pada soket bekas pencabutan gigi setelah aplikasi bovine bone graft (BATAN) pada hari ke-7,14 dan 21.
3. Untuk melihat perbedaan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) antara kelompok kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft (BATAN), kelompok bovine bone graft (BATAN), dan kelompok kontrol negatif pada hari ke-7, 14 dan 21

### 1.6 Manfaat Penelitian

#### 1.6.1 Manfaat Teoritis terhadap Ilmu Pengetahuan



kontribusi pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft (BATAN) pada bidang periodontal.

pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi hidrogel propolis dan bovine bone graft (BATAN) terhadap level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ).

3. Memberikan informasi terhadap penggunaan hidrogel propolis, sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang, khususnya pada socket preservation.

### **1.6.2 Manfaat Praktis**

Diharapkan penelitian ini bisa memberikan kontribusi dengan ditemukannya produk pemanfaatan hydrogel propolis, sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan secara klinis di bidang kedokteran gigi.

### **1.6.3 Manfaat kepada Masyarakat dan Lingkungan**

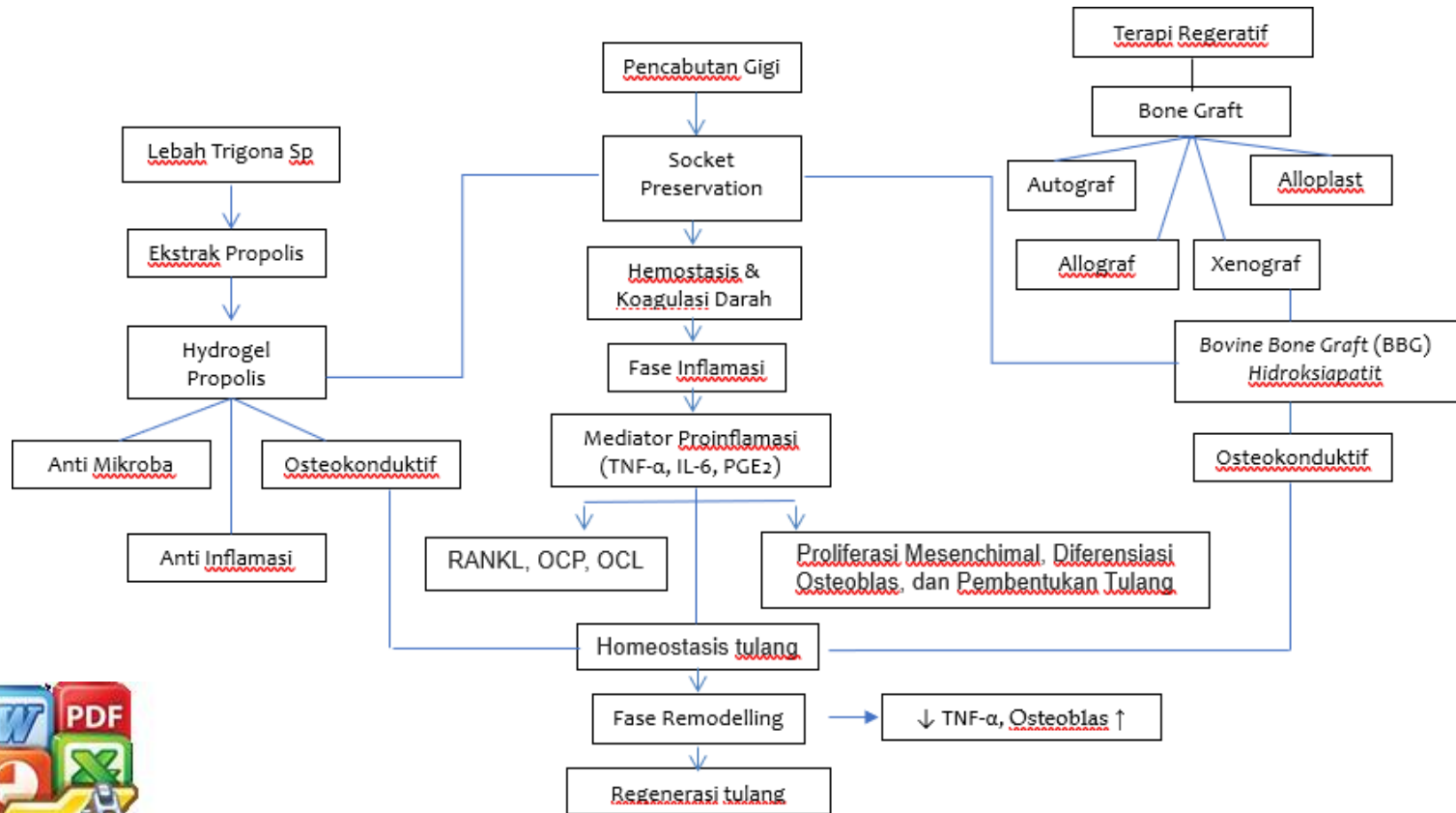
Diharapkan penelitian ini bisa mengurangi pencemaran lingkungan dengan digunakannya ekstrak lebah Trigona Sp sebagai salah satu bahan alami yang bermanfaat sebagai produk untuk meningkatkan ekonomi pada masyarakat





## 1.7 Teori Konseptual

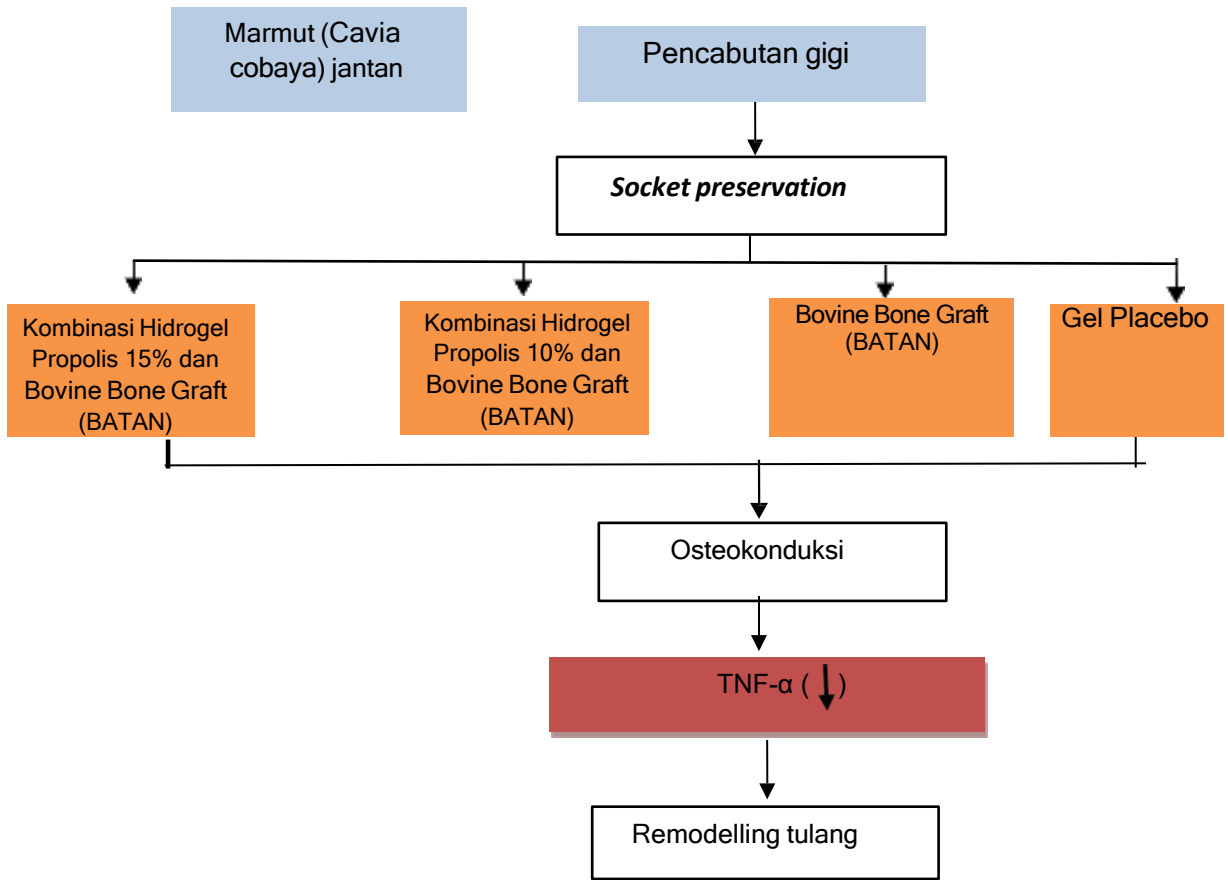
### 1.7.1 Kerangka Teori






Optimized using  
trial version  
www.balesio.com

Teori; Hydrogel Propolis yang bersifat osteokonduktif yang juga dimiliki oleh *bovine bone graft* (BBG) hidroksiapatit, dikombinasikan diharapkan dapat membantu mempercepat proses *remodelling* pada proses pencabutan gigi.

### 1.7.2 Kerangka Konsep



Keterangan :

-  = Variabel terikat
-  = Variabel bebas
-  = Variabel kendali

### 1.7.3 Deskripsi Teori Konseptual

Berdasarkan hipotesa penelitian ini dalam penambahan hidrogel propolis dan bovine bone graft pada tindakan socket preservation memberikan efek penurunan terhadap level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ). Salah satu bahan bone graft yang sering digunakan dalam prosedur socket preservation adalah bovine bone graft (BBG). BBG sering digunakan karena komponen matriks anorganik a yang berfungsi menyediakan perancah untuk regenerasi bat dalam pembentukan tulang itu sendiri. Bahan inovatif yang erikatan dengan BBG adalah propolis. Propolis berperan dalam eogenetik mempercepat pembentukan tulang. Propolis yang li hidrogel dan BBG diharapkan dapat saling berikatan sehingga enurunkan level Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) guna i kemampuan dalam proses regenerasi tulang.



## BAB II

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

##### 2.1.1 Tempat Penelitian

- Laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS untuk pembuatan hydrogel propolis
- *Doc Pet Clinic* sebagai lokasi pemeliharaan, pembedahan dan *sacrified* hewan coba.
- Laboratorium Patologi Anatomi RSPTN UNHAS untuk pembuatan preparate jaringan
- Laboratorium Biokimia – Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sebagai lokasi pemeriksaan immunohistokimia untuk pengujian sampel

##### 2.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Maret - September 2024

#### 2.2 Bahan dan Alat Penelitian

##### 2.2.1 Alat dan Bahan untuk Pemeliharaan *Cavia Cobaya* jantan

- a. Kandang marmot dengan dinding Glassfibre Rinfoced Concrete (GRC), lantai dan atap berding kawat
- b. Tempat makanan dari GRC tempat minum plastik khusus marmot yang dibeli dari *petshop*

##### 2.2.2 Alat dan Bahan untuk membuat Hydrogel Propolis (Angga, 2018)

- a. Ohmic Heating  
Digunakan sebagai alat pembangkit panas pada ekstraksi propolis, campuran antara raw propolis dan etanol. Kapasitas dari ohmic heating yang digunakan adalah 100 ml. Bahan dari tabung ohmic heating adalah pipa kaca, sedangkan abhan dari elektroda adalah stainless steel food grade.
- b. Termokontrol Digunakan sebagai alat pengukur dan pengontrol suhu pada ohmic heating pada saat proses ekstraksi. Termokontrol yang digunakan adalah termokontrol merk OMRON tipe E5CWL
- c. Termokopel  
Digunakan sebagai alat pengukur suhu untuk merubah besaran suhu menjadi besaran listrik dalam bentuk tegangan sehingga bisa diolah oleh ol. Sensor suhu yang digunakan Exposed Junction (Probe) ple type K, pemilihan jenis sensor dikarenakan jenis ini memiliki ubahan suhu yang cepat



- d. Timbangan Digital  
Digunakan sebagai alat pengukur massa bahan raw propolis yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Timbangan digital yang digunakan memiliki ketelitian hingga 0,001 gram
- e. Cawan Digunakan sebagai wadah untuk penimbangan massa bahan raw propolis yang akan digunakan.
- f. Spatula  
Digunakan sebagai alat pengambilan raw propolis yang akan ditimbang
- g. Gelas Ukur  
Digunakan sebagai alat pengukur volume etanol yang akan digunakan sebagai pelarut raw propolis.
- h. Corong Kaca  
Digunakan sebagai alat bantu untuk menuangkan etanol pada gelas ukur dan ohmic heating.
- i. Erlenmeyer  
Digunakan sebagai wadah untuk penghomogenan larutan etanol pada saat pengenceran.
- j. Botol Sampel  
Digunakan sebagai wadah penampung hasil ekstraksi propolis menggunakan metode ohmic heating.
- k. Raw Propolis  
Digunakan sebagai bahan baku utama dalam penelitian ini. Propolis yang digunakan adalah raw propolis yang diperoleh dari Kota Batu, Malang, Jawa Timur.
- l. Etanol  
Digunakan sebagai pelarut raw propolis yang akan diekstraksi dalam penelitian ini. Etanol yang digunakan adalah etanol dengan kemurnian 70%. Etanol yang digunakan diperoleh dari CV DJ (Duta Jaya) Labware, Malang.
- m. Aquades  
Digunakan sebagai pencucian wadah tempat pengukuran etanol dan pencucian tabung ohmic heating.

### 2.2.3 Alat dan Bahan untuk perlakuan hewan coba

- a. Alat & Bahan anastesi ketamin 20 mg/kg
- b. Xylazine 10 mg/kg
- c. Spoit 3 cc untuk anastesi
- d. Spoit 10 cc untuk irigasi
- e. Larutan irigasi (salin & metronidazole infus 500 mg)



diamond diameter dan kedalaman 3 mm  
 Low speed  
 sensor Bone graft

benang blue nylon 5.0 dan vycril 5.0

- l. Kapas dan kasa
- m. Alcohol 70%
- n. sarung tangan
- o. masker
- p. periostel alevator
- q. gunting
- r. Needle holder
- s. Eter
- t. Botol steril
- u. Betadin solution
- v. Alat sentrifugasi
- w. Tabung eppendorf

**2.2.4** Alat dan Bahan untuk pembuatan dan pengamatan immunohistokimia (Chen, Cho and Yang, 2010) :

- a. Spuit 1ml, spuit 3ml, spuit 5 mm
- b. pinset, gunting, tang potong besar, alas kerja
- c. toples plastik besar
- d. wadah kecil untuk fiksasi jaringan
- e. Tissue casset, laminar flow, gelas ukur, erlenmeyer (Pyrex), beaker glass, pengaduk, ose, lampu spiritus, cutter, gunting bedah, pinset, botol untukdekalsifikasi, kuas kecil, deck glass, objek glass.
- f. Refrigerator
- g. Besi bentuk L untuk alat cetak blok paraffin
- h. Mikrotom (Leica RM 2135)
- i. Microtom Blade System (Tissue-Tek, Jepang)
- j. Block holder mikrotom
- k. Waterbath (Memmert)
- l. Hot Plate (Labinco B.V., Belanda)
- m. Oven (Memmert)
- n. Mikroskop
- o. Sarung tangan (Latex), masker.
- p. Kaca objek silanized
- q. Chloroform, formalin
- r. Parafin buffer
- s. Aquades steril
- t. Kapas steril, kasa steril
- u. alkohol 70% dan 95



ol  
er  
roksidase 5%

## 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)

Rumus Federer digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan agar diperoleh data yang valid. Jumlah pengulangan ini bisa diartikan dengan jumlah sampel/hewan uji dalam tiap kelompok.

Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan, yaitu:

Kelompok 1 : Kelompok kontrol uji (Pemberian hydrogel propolis 15%+BATAN)

Kelompok 2 : Kelompok kontrol uji (Pemberian hydrogel propolis 10%+BATAN)

Kelompok 3 : Kelompok kontrol positif (Pemberian BATAN)

Kelompok 4 : Kelompok kontrol negatif (Gel Plasebo)

Penentuan jumlah sampel menurut Federer :

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

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan / intervensi

n = jumlah replikasi/ sampel

$$(n-1) \times (3-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 7.5$$

$$n \geq 7.5 + 1$$

$$n \geq 8.5 = 9$$

Dari hasil perhitungan dibutuhkan 9 ekor marmut pada setiap kelompok. Karena ada 4 kelompok perlakuan maka total sampel yang akan digunakan sebanyak 36 ekor marmut

### 2.3.3 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah *Cavia Cobaya* dengan persyaratan sebagai berikut:

#### Kriteria Inklusi



usia 3-4 bulan

berat antara 200-300 gram

sehat (bulu cukup, tidak rontok dan gerak aktif, konsumsi pakan

berat badan Marmut lebih dari 10% setelah masa adaptasi di

2. Marmut nampak sakit (gerak tidak aktif)
3. Marmut mati selama penelitian

### 2.3.4 Variabel Penelitian

Menurut fungsinya, variabel dalam penelitian ini antara lain :

1. Variabel terikat : level TNF- $\alpha$
2. Variabel bebas : kombinasi hydrogel propolis dan bovine bone graft
3. Variabel kendali : umur, jenis kelamin, berat badan Cavia cobaya, makanan, pemeliharaan, metode pencabutan gigi marmut, pengaplikasian bahan dalam soket pencabutan

### 2.3.5 Definisi Operasional

- A. Hidrogel propolis adalah sediaan propolis yang di ekstrak kemudian diformulasikan dalam bentuk hidrogel dengan pemberian konsentrasi 2% lalu di homogenkan.
- B. Bovine bone graft adalah bentuk sediaan bovine bone graft (BATAN) yang telah umum digunakan dan banyak beredar di pasaran.
- C. TNF- $\alpha$  adalah kadar TNF- $\alpha$  yang diukur pada sampel darah marmut dengan metode Imunohistokimia menggunakan kit Human TNF- $\alpha$  Biolegend® dengan metode Imunohistokimia dengan pre coated plates Immuno assay Legend max TM yang diproduksi oleh BiolegendInc (Canada, USA) dengan satuan pg/ml.
- D. Socket preservation adalah suatu tindakan pemberian bone graft dan hidrogel propolis ke dalam soket bekas pencabutan gigi.

## 2.4 Pelaksanaan Penelitian

### 2.4.1 Persiapan Penelitian

- a. Pembuatan Ekstrak Propolis.

Metode ekstraksi yang digunakan ialah teknik maserasi. Maserasi merupakan penyarian yang sederhana. Adapun tahap ekstraksi ialah:

1. Propolis yang sebelumnya didinginkan dalam refrigerator,
2. Untuk mempercepat pelarutan, propolis dihancurkan dengan pengaduk dan menggunakan Ethanol 70% sebanyak 3L.



cepat pelarutan propolis dihancurkan dengan pengaduk propolis dalam cairan ethanol selama 48 jam. Selama didiamkan, hari.

ng telah didiamkan kemudian disaring dengan penyaringan dan an dibiarkan selama waktu tertentu untuk mengendapkan zat-zat diperlukan tetapi tidak ikut terlarut dalam ethanol.

6. Sisa penyaringan kemudian dicampurkan kembali ke dalam larutan etanol 70%, kemudian lakukan tahapan 3-5. Ulangi hingga tiga kali penyaringan.

b. Pembuatan Hidrogel Propolis

Tahapan pembuatan hidrogel propolis sebagai berikut :

1. 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 (Prabowo, Kresnoadi and Hidayati, 2020).

2. Penampilan Visual Hidrogel Propolis

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



Gambar 5 Karakteristik dan biokompatibilitas hidrogel propolis

### 2.4.2 Jalannya Penelitian



#### Coba

1 cobaya) dianestesi menggunakan obat ketamin (0,4 - 0,6 ml/kg ml/ekor) dan xylazine (1-2 ml/kg atau 0,25-0,5 ml/ekor)

kanan rahang bawah diekstraksi tanpa rotasi menggunakan



- c. Pada kelompok 1 (n=15), soket pencabutan diberikan hidrogel kosongan (Placebo), sebagai kontrol negatif dan dilakukan penjahitan.
- d. Pada kelompok 2 (n=15), soket pencabutan diberikan bone graft berupa bovine bone graft dengan diameter granul 0.25 - 1 mm sebagai kontrol positif dan dilakukan penjahitan.
- e. Pada kelompok 3 (n=15), soket pencabutan diberikan hidrogel propolis konsentrasi 10% dengan kombinasi berupa bovine bone graft sebagai kelompok perlakuan/Uji. 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 Pembuatan Immunohistokimia

- a. Pada hari ke-7, 14, dan 21, hewan coba dikorbankan sebanyak tiga ekor dari masing-masing kelompok menggunakan eter pada wadah tertutup.
- b. Rahang mandibula Cavia cobaya diambil dengan cara dipotong, lalu disimpan dalam larutan formalin buffer 10%.
- c. Spesimen tulang rahang dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNHAS untuk dilakukan pembuatan slide preparat guna pemeriksaan level TNF- $\alpha$  dengan Immunohistokimia (IHC).
- d. Penilaian level TNF- $\alpha$  dilakukan pada Laboratorium Biokimia - Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Blok paraffin berisi jaringan tulang dipotong dengan ketebalan 4  $\mu$ m menggunakan mikrotom kemudian dilakukan deparafin-nisasi dengan xilol. Selanjutnya dilakukan rehidrasi dengan etanol konsentrasi menurun, diikuti pembilasan dengan Phosphate Buffer Saline (PBS) selama 3x5 menit. Sediaan jaringan kemudian diinkubasi pada Buffer Antigen Retrieval pada microwave dengan suhu 94°C selama 20 menit dan dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu ruang selama 20 menit. Langkah selanjutnya, sediaan dicuci dengan PBS selama 3x5 menit, dan diinkubasi pada Blok Peroksidase selama 20 menit. Selanjutnya sediaan dicuci kembali selama 3  $\times$  5 menit dan diinkubasi pada Blok Protein selama 20 h itu dicuci kembali dengan PBS selama 3  $\times$  5 menit dan overnight (12-18 jam) dengan antibodi primer protein TNF- $\alpha$  suhu Selanjutnya adalah pembilasan dengan PBS selama 3  $\times$  5 menit dan dengan larutan post primary dan post protein selama 45 menit dan



dilanjutkan dengan inkubasi antibodi sekunder Horse Radish Peroxidase (HRP) selama 60 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi, sediaan dicuci dengan PBS selama 3 × 5 menit dan dilakukan counterstain dengan hematoksilin (Novocastra).

Selanjutnya, dilakukan dehidrasi menggunakan etanol konsentrasi meningkat. Proses selanjutnya adalah dilakukan penjernihan dengan xilol, kemudian dilakukan mounting. Keringkan slide lalu tetesi dengan entelan dan tutup dengan deck glass. Amati di Mikroskop.

## 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 way Anova dan uji post-hoc dan penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik.

## 2.6 Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapat izin dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dengan Nomor: 0173/PL.09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2024.

## 2.7 Alur Penelitian

