

**Pengaruh Aplikasi Gel *Virgin Coconut Oil* (VCO) Pada Periodontitis Dengan Induksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Melalui Analisis Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* Pada *Ratus Norvegicus* Secara In Vivo**

**The Effect of Application of Virgin Coconut Oil (VCO) Gel on Periodontitis with *Porphyromonas Gingivalis* Bacteria Induction through In Vivo Analysis of Platelet Derived Growth Factor Expression in *Ratus Norvegicus***



**RESKY RAMADHANI**

**J035 212 004**

**PROGRAM 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)

**Pengaruh Aplikasi Gel Virgin Coconut Oil (VCO) Pada Periodontitis Dengan Induksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Melalui Analisis Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* Pada *Ratus Norvegicus* Secara In Vivo**

**RESKY RAMADHANI**

**J035 212 004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS**

**PROGRAM STUDI PERIODONSIA**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



**Pengaruh Aplikasi Gel Virgin Coconut Oil (VCO) Pada Periodontitis Dengan Induksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Melalui Analisis Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* Pada *Ratus Norvegicus* Secara In Vivo**

**TESIS**

**Sebagai salah satu syarat untum mencapai gelar dokter gigi spesialis**

**Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis**

**Program Studi Periodonsia**

**Disusun dan diajukan oleh**

**RESKY RAMADHANI**

**J035212004**

**kepada**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS**

**PROGRAM STUDI PERIODONSIA**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**



TESIS

Pengaruh Aplikasi Gel Virgin Coconut Oil (VCO) Pada Periodontitis Dengan Induksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Melalui Analisis Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* Pada *Ratus Norvegicus* Secara In Vivo

RESKY RAMADHANI

J035212004

telah dipertahakankan di hadapan Panitia Ujian Hasil Tesis pada tanggal Empat bulan Oktober tahun 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis

Program Studi Periodonsia

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin

Makassar

Mengesahkan :

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio (K)  
NIP. 19581110 198609 1 002

Dian Setiawaty, drg., Sp. Perio., Subsp.M.P (K)  
NIP. 198403282009012002

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin,

Universitas Hasanuddin,



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

Irfan Sugianto, drg., M.Med.Ed., Ph.D  
NIP. 19812152008011009

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS  
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Pengaruh Aplikasi Gel Virgin Coconut Oil (VCO) Pada Periodontitis Dengan Induksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Melalui Analisis Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* Pada Ratus *Norvegicus* Secara In Vivo" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing Pembimbing I Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio (K) dan Pembimbing II Dian Setiawaty, drg., Sp. Perio., Subsp.M.P (K). 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 telah dipublikasikan di African Journal of Biological Sciences (Resky Ramadhani, Venda Novi Rianta, Hasanuddin Thahir, Dian Setiawati, Volume 6, Halaman 9719-9735, dan DOI : [10.48047/AFJBS.6.14.2024.9719-9735](https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.14.2024.9719-9735)) sebagai artikel dengan judul "Virgin Coconut Oil as a Biomaterial of Choice in Periodontitis Therapy Through PDGF Expression". 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, 7 Oktober 2024



RESKY RAMADHANI

NIM J035212004



## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillah, dengan mengucapkan segala puji Syukur atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang Allah Subhanahuwataala, tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan dan arahan dari Pembimbing 1 Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp.Perio, Subsp. M.P (K) dan Pembimbing 2 Dian Setiawaty, drg., Sp. Perio., Subsp.M.P (K). Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada beliau guru sekaligus orang tua yang dapat menjadi tempat meminta bimbingan atas proses terciptanya tesis ini,

Ucapan terima kasih sy ucapkan yang setinggi-tingginya kepada Ketua Program Studi Periodonsia Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R. P. I. D (K) yang mengizinkan saya untuk dapat mengemban Pendidikan dan melewati proses perjuangan untuk mendapatkan gelar spesialis ini, berbagai dukungan yang tak henti-hentinya diberikan agar kami dapat menjalankan proses ini dengan semangat. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada penguji tesis saya Prof. Dr. Andi Mardiana Adam, drg., M.S dan Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio., Subsp.R.P.I. D (K) atas segala masukan dan arahan terhadap tesis saya. Ucapan terima kasih juga kepada Dosen-Dosen Program Studi Periodonsia serta Dosen-Dosen Fakultas Kedokteran Gigi dan Pimpinan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Kepada Kementerian Kesehatan Republik Indonesia atas beasiswa penuh yang diberikan kepada saya selama proses Pendidikan spesialisasi ini.

Dukungan keluarga juga turut menjadi hal penguat terbesar selama proses Pendidikan ini. Terima kasih atas doa orang tua Bapak H. Bustamin Betta, SH, MH, dan Ummi Hj. Fitri Abbas yang menjadi Support system untuk anak-anak kami juga. Serta kasih sayang yang masih terus dapat saya rasakan dari Mama Rahimahullah Hj. Herlinawati Abbas. Dukungan Materil dan kasih sayang dari Kakek dan Nenek H. Abbas dan Hj, Faisah, serta saudara-saudara yang menjadi tempat berbagi keresahan. Paling special untuk Suami Tercinta IPDA Rahmat Akbar Sultan, S.Sos, M.Si yang selalu ada dalam segala hal, material dan kasih sayang yang selalu terus diusahakan untuk kelancaran Pendidikan ini, Anak-anak baik yang selalu sabar menanti selesainya sekolah mamanya Raniah Zaura Rahmat, Raiqa Khumaira Rahmat, Raisa Shidqia Rahmat.

Teman-teman senasib sepenanggungan Venom (Ulfah Chaerani Saputri, Venda Novi Rianta, Ainun Isnaeni Ilham, Rezky Meilina Permatasari, Yoseph Saferius Kanisius Ani, Isaura Merry Sanger), Kakak-kakak Senior Nemesix dan Dextra, Adek-adek Junior Phoenix, Falcon, Vision, Scarlet, dan Ultron terima kasih

nya selama ini.



Penulis

Resky Ramadhani

## ABSTRAK

RESKY RAMADHANI. **Pengaruh Aplikasi Gel Virgin Coconut Oil (VCO) Pada Periodontitis Dengan Induksi Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Melalui Analisis Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* Pada *Ratus Norvegicus* Secara In Vivo** (dibimbing oleh Hasanuddin Thahir dan Dian Setiawati)

**Latar Belakang:** Virgin Coconut Oil (VCO) dan minyak kelapa merupakan produk yang diperoleh dari kopra yang mengandung komposisi trigliserida lebih dari 90% asam lemak jenuh rantai pendek-menengah dan sisanya merupakan lemak tak jenuh. Kelapa merupakan komoditas alam yang produksinya melimpah di Indonesia. Pemanfaatan kelapa menjadi VCO dapat menjadi biomaterial alternatif yang dapat digunakan secara aman dan luas sebagai pengganti bahan kimia dalam pengobatan periodontitis. Faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF) adalah faktor pertumbuhan yang paling banyak dipelajari di bidang periodontik. PDGF mendorong regenerasi tulang, sementum, dan ligamen periodontal. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh gel VCO terhadap regenerasi periodontal pada periodontitis melalui analisis ekspresi PDGF sebagai faktor pertumbuhan penyembuhan jaringan. **Metode:** Penelitian ini mengacu pada etika yang dikeluarkan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Hasanuddin dengan nomor 0141/PL.09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2023. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan desain penelitian post-test only control group. Tiga puluh ekor tikus percobaan Wistar berumur 6-8 bulan dengan berat 200-250 gram dilakukan dalam penelitian ini. Minyak kelapa murni merupakan bahan utama yang diperoleh dengan mengolah kelapa menjadi minyak dan mengolahnya kembali dengan bahan-bahan sehingga konsistensinya menjadi gel. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* diinduksi pada setiap jaringan lunak gingiva tikus Wistar. Kelompok sampel dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan jenis perlakuan yang diberikan, observasi dilakukan pada hari ke 7 dan 21, selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunohistokimia sediaan jaringan untuk mengamati ekspresi PDGF pada jaringan tikus wistar. **Hasil:** Terdapat peningkatan ekspresi PDGF pada kelompok sampel yang diberikan scalling dan root planing + gel VCO dibandingkan dua kelompok lainnya yang diberikan skalling dan root planing + gel metronidazol, serta pada kelompok sampel yang diberikan scalling dan rooting. perencanaan. Peningkatan kadar PDGF dan IGF menunjukkan efektivitas gel VCO dalam penyembuhan periodontitis yang ditunjukkan dari ekspresi penanda penyembuhan jaringan yang berasal dari faktor pertumbuhan yang muncul ketika gel VCO diaplikasikan. Ekspresinya meningkat pada hari ke 7 dan hari ke 21 dimana waktu pemantauan menandai fase proliferasi jaringan. **Kesimpulan:** Gel minyak kelapa murni dapat sebagai bahan alternatif periodontitis akibat bakteri yang dapat digunakan secara luas karena pengaruhnya terhadap penanda penyembuhan



## ABSTRACT

RESKY RAMADHANI. **The Effect of Application of Virgin Coconut Oil (VCO) Gel on Periodontitis with Porphyromonas Gingivalis Bacteria Induction through In Vivo Analysis of Platelet Derived Growth Factor Expression in Ratus Norvegicus** (supervised by Hasanuddin Thahir and Dian Setiawati)

**Background:** Virgin Coconut Oil (VCO) and coconut oil are products obtained from copra which contain a triglyceride composition of more than 90% short-medium chain saturated fatty acids and the rest is unsaturated fat. Coconut is a natural commodity whose production is abundant in Indonesia. Utilizing coconut into VCO can be an alternative biomaterial that can be used safely and widely as a substitute for chemicals in treating periodontitis. Platelet-derived growth factor (PDGF) is the most studied growth factor in the field of periodontics. PDGF promotes regeneration of bone, cementum, and periodontal ligament. **Objective:** This study aims to see the effect of VCO gel in periodontal regeneration in periodontitis through analyzing PDGF expression as the growth factor of tissue healing. **Methods:** This study refers to the ethics issued by the Health Research Ethics Committee of Hasanuddin University Dental and Oral Hospital with the number 0141/PL.09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2023. This study is a laboratory experimental research with a post-test only control group research design. Thirty experimental 6-8 months old Wistar rats weighing 200-250 grams were conducted in this study. Virgin coconut oil is the main ingredient obtained by processing coconut into oil and reprocessing it with ingredients that make the consistency into a gel. *Porphyromonas gingivalis* bacteria was induced to each Wistar rats gingival soft tissue. The sample group was divided into three groups based on the type of treatment given, observations were made on the 7<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days, then immunohistochemical examination of tissue preparation was conducted to observe the expression of PDGF in Wistar rats tissue. **Results:** There was an increase in PDGF expressions in the sample group that was given scaling and root planning + VCO gel compared to the other two groups that were given scaling and root planning + metronidazole gel, and the sample group that was given scaling and root planning. The increasing of PDGF and IGF levels shows the effectiveness of VCO gel on healing periodontitis which showed from the expression of tissue healing markers derived from growth factor that appears when VCO gel is applied. The expression increased on day 7 and day 21 which the monitoring time marked the proliferation phase during tissue healing. **Conclusion:** Virgin coconut oil gel can be used as an alternative material of bacteria-induced periodontitis that can be widely utilized because of its effect on tissue healing markers.

Keywords: Virgin Coconut Oil, PDGF, Periodontitis.



## **CURRICULUM VITAE**

### **A. Data Pribadi**

1. Nama : Resky Ramadhani
2. Tempat, tgl. Lahir : Sengkang, 1 Mei 1988
3. Alamat : Jl. Lembu, Sengkang
4. Kewarganegaraan : Warga Negara Indonesia

### **B. Riwayat pendidikan**

1. Tamat SMA tahun 2006 di SMA Negeri 3 Sengkang, Kabupaten Wajo
2. Sarjana (S1) tahun 2007 di Universitas Hasanuddin
3. Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis tahun 2021 di Universitas Hasanuddin.

### **C. Pekerjaan dan Riwayat Pekerjaan**

- Jenis Pekerjaan : Pegawai Negeri Sipil
- NIP : 198805012014122001
- Pangkat/ Jabatan : III.d / Dokter Gigi Muda

### **D. Karya Ilmiah yang Telah dipublikasikan :**

Ramadhani R, Feblina AR, Setiawati D. Combination Of Regenerative Therapy And Free Gingival Graft In Stage Iv Periodontitis: Case Report. *interdental* [Internet]. 2024 Apr. 21 [cited 2024 Apr. 24];20(1):34-9. Available from: <https://e-journal.unmas.ac.id/index.php/interdental/article/view/8639>. Doi : [10.46862/interdental.v20i1.8639](https://doi.org/10.46862/interdental.v20i1.8639).

### **E. Makalah pada Seminar/Konferensi Ilmiah Nasional dan Internasional.**

1. Ramadhani R, et al. Evaluasi Respon Nyeri Setelah Gingivektomi Dengan Laser Dioda Sebagai Terapi Tambahan : Sebuah Sistematis Review. Sulawesi Periodontics Confrence. 2 Juni 2022. Makassar. Indonesia.
2. Ramadhani R, Gani A. The Effectiveness of Using Several Types of *Periodontal dressings* on Tissue Healing After Periodontal Treatment : A Literature Review. Periodontics Seminar V. 17 Februari 2023. Surabaya Indonesia.
3. Ramadhani R, Djais AI. Efektifitas Terapi Periodontal Non-Bedah dengan Terapi Tambahan Sebagai Penanganan Awal Pada *Aggressive Periodontitis*: Sebuah Tinjauan Sistematis. The 12<sup>th</sup> International Scientific Meeting in Dentistry and 8<sup>th</sup> International Conference on Oral Care in Dentistry. 16 Maret 2023. Makassar. Indonesia.
4. Ramadhani R, et al.. Aesthetic Surgery With Crown Lengthening On Maxilla: Case Report. FDCU International Symposium 2023. 2023. Bangkok, Thailand.
5. Ramadhani R, Feblina AR, Setiawati D. Combination Of Regenerative And Free Gingival Graft In Stage Iv Periodontitis: Case Report.



The 7<sup>th</sup> National Scientifics Seminar in Periodontics. 29 September 2023. Bali. Indonesia.



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

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN PENGAJUAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TESIS</b> .....	v
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	vi
<b>ABSTRAK</b> .....	vii
<b>ABSTRAC</b> .....	viii
<b>CURRICULUM VITAE</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Teori .....	4
1.2.1 Definisi Periodontitis .....	4
1.2.2 Etiologi Periodontitis .....	5
1.2.3 Patogenesis Periodontitis .....	7
1.2.4 Regenerasi Jaringan .....	9
1.2.5 PDGF (Platelet Derived Growth Factor) .....	17
1.2.6 <i>Virgin Coconut Oil</i> .....	18
1.2.7 Sintesa Penelitian .....	22
1.3 Rumusan Masalah .....	25
1.4 Hipotesa .....	25
1.5 Tujuan Penelitian .....	25
1.5.1 Tujuan Umum .....	25
1.5.2 Tujuan Khusus .....	25
1.6 Manfaat Penelitian .....	26
1.6.1 Manfaat Pengembangan Ilmu .....	26
1.6.2 Manfaat Praktis .....	26
1.7 Teori Konseptual .....	27
1.7.1 Kerangka Teori .....	27
1.7.2 Kerangka Konsep .....	28
1.7.3 Deskripsi Teori Konseptual .....	28
<b>REVISI PENELITIAN</b> .....	30
Waktu .....	30
Metode Penelitian .....	30
Tempat Penelitian .....	30
Alat .....	30
Prosedur Pembuatan Gel VCO .....	30
Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba .....	31



2.2.3	Alat Dan Bahan Perlakuan Hewan Coba .....	32
2.3	Metode Penelitian .....	32
2.3.1	Jenis Dan Desain Penelitian .....	32
2.3.2	Penentuan Sumber Data (Penentuan Besar Sampel) .....	32
2.3.3	Definisi Operasional .....	34
2.4	Pelaksanaan Penelitian .....	34
2.4.1	Persiapan Penelitian .....	34
2.4.2	Jalannya Penelitian .....	35
2.4.3	Parameter Pengamatan .....	36
2.4.4	Analisis Data .....	38
2.4.5	Alur Penelitian .....	39
	<b>BAB III. HASIL PENELITIAN</b> .....	40
	<b>BAB IV. PEMBAHASAN</b> .....	46
	<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	54
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	55
	<b>LAMPIRAN</b> .....	60



## DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Skema mekanisme Regenerasi Periodontal.....	3
2. Periodontitis bersifat multifaktorial dan akibat dari keberadaan bakteri patogen, respon inflamasi dan imunitas host, serta faktor risiko lingkungan dan sistemik lainnya yang teridentifikasi.....	4
3. Biomaterial fungsional untuk pengobatan periodontitis yang komprehensif.....	10
4. Tahapan utama penyembuhan luka. Penyembuhan luka terdiri dari Tiga tahap yang saling terpaut.....	10
5. Ilustrasi skema anatomi jaringan periodontal, defek periodontal, pendekatan scaffold rekayasa jaringan dan sistem penghantaran obat.....	11
6. Tahapan penyembuhan jaringan.....	13
7. Ilustrasi konseptual hidrogel peptida yang meniru PDGF mendorong penyembuhan luka .....	18
8. Diagram Bar ekspresi PDGF pada tiga kelompok perlakuan.....	43
9. Diagram Batang ekspresi PDGF pada tiga kelompok perlakuan.....	44
10. Gambaran hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi PDGF pada ketiga kelompok percobaan pada hari ke-7.....	44
11. Gambaran hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi PDGF pada ketiga kelompok percobaan pada hari ke-21 .....	45
12. Etiologi Periodontitis, interaksi antara delta plak dan Host.....	46
13. Faktor virulensi dari <i>p.gingivalis</i> .....	47
14. Pensinyalan reseptor PDGF dalam migrasi dan proliferasi sel.....	52
15. Dampak berbagai faktor pertumbuhan pada regenerasi jaringan periodontal.....	53
16. Ilustrasi konseptual hidrogel peptida yang meniru PDGF mendorong penyembuhan luka.....	52



## DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
1. Faktor pertumbuhan dan karakteristiknya pada penyembuhan jaringan periodontal.....	14
2. Beberapa faktor pertumbuhan yang terlibat dalam penyembuhan luka.....	16
3. Sintesa Penelitian.....	22
4. Tabel perbandingan ekspresi PDGF pada tiap kelompok sampel.....	40
5. Tabel perbandingan ekspresi PDGF pada waktu pemantauan pada hari ke-7 dan hari ke-21.....	41
6. Perbandingan ekspresi PDGF pada waktu pemantauan hari ke-7 dan hari ke-21 pada tiap kelompok sampel.....	41
7. Tabel uji lanjutan perbandingan ekspresi PDGF pada waktu pemantauan hari ke-7 dengan Uji Post Hoc LSD .....	42
8. Tabel uji lanjutan perbandingan ekspresi PDGF pada waktu pemantauan hari ke-7 dengan Uji Post Hoc LSD.....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Halaman
1. Lembar Etik Penelitian.....	61
2. Alur Penelitian.....	62
3. Dokumentasi Proses Penelitian : Pembuatan VCO.....	63
4. Dokumentasi Proses Penelitian : Pembuatan Gel VCO.....	64
5. Hasil pemeriksaan kandungan uji bahan Gel VCO yang dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia PNUP.....	65
6. Dokumentasi Proses Penelitian : Perlakuan Hewan Coba (Induksi Periodontitis).....	66
7. Dokumentasi Proses Penelitian : Perlakuan Hewan Coba (berdasarkan kelompok sampel).....	67
8. Dokumentasi Proses Penelitian : Saccrified Hewan Coba hari ke-7 dan 21).....	68
9. Lembar Perbaikan Ujian Seminar Hasil PPDGS Periodonsia.....	69
10. Lampiran Output SPSS Uji Statistik Data Penelitian.....	71



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Periodontitis adalah penyakit inflamasi multifaktorial kronis yang terkait dengan akumulasi plak gigi yang disebut sebagai biofilm gigi, dan ditandai dengan kerusakan progresif jaringan pendukung gigi, termasuk ligamen periodontal dan tulang alveolar. Penyakit ini melibatkan interaksi dinamis yang kompleks antara bakteri pathogen spesifik, respon imun host, dan faktor lingkungan. Gambaran umum periodontitis termasuk peradangan gingiva, kehilangan perlekatan klinis, bukti radiografi berupa pengeroposan tulang alveolar, peningkatan kedalaman probing, mobilitas gigi, perdarahan setelah probing dan migrasi patologis. (Kwon, Lamster and Levin, 2021a)

Prevalensi penyakit periodontal di Indonesia menduduki urutan kedua setelah karies, yaitu mencapai 96,58%. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 masalah gigi dan mulut, termasuk penyakit periodontal mencapai 23,5%. Hasil survey data kesehatan gigi melalui Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2001 status periodontal pada kelompok umur 25-34 tahun didapatkan prevalensi penduduk dengan kalkulus yaitu 47,40%. Prevalensi penyakit periodontal di Indonesia pada semua kelompok umur mencapai 96,58%. (Rohmawati and Santik, 2019)

Menurut data dari survey *National Health and Nutrition* di Amerika Serikat tahun 2009-2014, persentase orang dewasa yang mengalami periodontitis sekitar 42%, 7,8% diantaranya dengan periodontitis kronis. Survey ini mengkonfirmasi tingginya prevalensi periodontitis di Amerika Serikat yang mempengaruhi hampir 50% populasi orang dewasa (berusia 30 tahun atau lebih). Secara global, sekitar 11% dari populasi dunia diprediksi menderita periodontitis yang parah dan mempengaruhi 743 juta individu. (Kwon, Lamster and Levin, 2021a). Angka yang cukup besar ini mengartikan masih kurangnya perhatian terhadap kesehatan gigi dan mulut. Selain usaha promotif preventif yang penting untuk lebih digalakkan, pemanfaatan terapi yang berbasis biomaterial juga perlu dipikirkan dengan baik.

Etiologi utama penyakit periodontal adalah bakteri yang menyebabkan kerusakan langsung dan tidak langsung pada jaringan pendukung. Sebagian besar kasus periodontitis dapat tertangani dengan menghilangkan massa bakteri dan kanis di lingkungan subgingival dengan *scaling* dan *root* (Walker, 2010)



merupakan salah satu dari 700 spesies bakteri didalam rongga mulut. Banyak bakteri Gram Negatif, masuk dalam golongan bakteri gram negatif. *P. gingivalis* bertanggungjawab atas pembentukan plak gigi dengan cara merusak komunitas bakteri komensal untuk

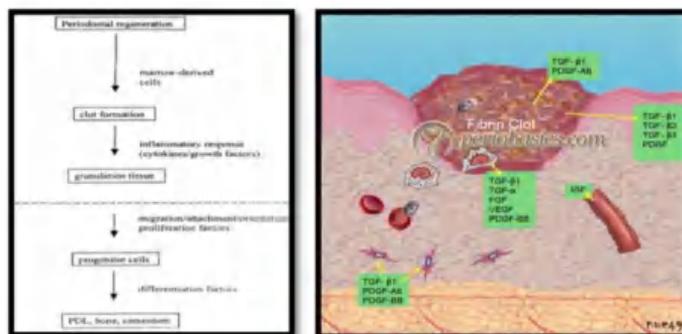
meningkatkan keadaan dysbiosis. Sepanjang evolusi, bakteri ini telah mengembangkan mekanisme yang rumit seperti perubahan pensinyalan peradangan, sistem komplemen, siklus sel, dan apoptosis, serta interaksi pada berbagai reseptor inang sehingga mampu merekayasa atau memodifikasi lingkungan reseptor inang untuk memodulasi seluruh ekosistem bertahan pada jaringan inang. *P. gingivalis* sangat bergantung pada beragam faktor virulensi, termasuk komponen strukturalnya sendiri (lipopolisakarida, fimbrae dll) serta komponen sekretori (gingipains dan membran luar vesikel). *P. gingivalis* di jaringan periodontal lokal dapat memasuki pembuluh darah melalui epitel yang mengalami ulserasi dan pembuluh getah bening segera setelah aktifitas sehari-hari, seperti menyikat gigi dan mengunyah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *p.gingivalis* dapat bertahan hidup di organ lain selain rongga mulut. (Mei *et al.*, 2020)

Gangguan pada gingiva disebabkan oleh peradangan lokal karena infeksi bakteri yang bermanifestasi sebagai kerusakan jaringan pendukung gigi. Periodontitis pada jaringan pendukung gigi dikarakteristikkan dengan infiltrasi sel inflamasi yang disebabkan oleh adanya produk toksin dari bakteri sehingga merusak epitel dan struktur jaringan periodontal. Produk toksin ini berasal dari bakteri periodontopatogen *p.gingivalis*. (Harefa *et al.*, 2022)

Regenerasi struktur periodontal yang hilang selama terjadinya penyakit periodontal merupakan proses biologi kompleks yang diatur oleh interaksi antara sel dan faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan merupakan polipeptida aktif biologis yang mempengaruhi proliferasi, kemotaksis, dan diferensiasi sel dari epitel, tulang, dan jaringan ikat. Faktor pertumbuhan ini mengekspresikan aksi pengikatan reseptor pada permukaan sel spesifik yang ada pada berbagai sel target seperti osteoblast, sementoblast, dan fibroblast ligament periodontal. Neovaskularisasi diperlukan untuk memberikan nutrisi pada luka dan membantu menjaga jaringan granulasi. Trombosit yang teraktifasi pada tepi luka melepaskan faktor pertumbuhan PDGF, TGF- $\alpha$ , dan EGF. (Sehar *et al.*, 2020)

*Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) merupakan faktor pertumbuhan yang telah dipelajari secara menyeluruh dalam perawatan klinis periodontik pada kerusakan jaringan lunak dan tulang secara lokal, ditemukan pertama kali untuk mempromosikan regenerasi tulang, sementum, dan ligamen periodontal. (Nevins *et al.*, 2013) Beberapa studi in vitro dan in vivo menunjukkan bahwa PDGF merupakan faktor kemotaktik dan mitogenik yang kuat untuk fibroblas ligament al, sementoblast, dan osteoblast. (Kaigler *et al.*, 2011).





Gambar 1. Skema mekanisme Regenerasi Periodontal. (Sehar *et al.*, 2020)

Biomaterial yang dapat menjadi alternatif terapeutik yang digunakan untuk membantu mengendalikan proses penyakit serta kerusakan yang disebabkan oleh patologi inflamasi kronis masih diselidiki secara terus menerus. Penelitian mengenai berbagai biomaterial sudah cukup luas dilakukan namun mengalami beberapa tantangan baik dari sifat biologis maupun sifat mekanisnya. Penggunaan berbagai biomaterial yang cukup menjanjikan berasal dari bahan alam dan sintetik dengan sifat biokompatibilitas dan manfaatnya dalam proses fisiologis dan penyembuhan jaringan yang berbeda. (Garzon *et al.*, 2022)

Virgin Coconut Oil (VCO) dan minyak kelapa merupakan hasil yang diperoleh dari kopra yang mengandung komposisi trigliserida lebih dari 90% asam lemak jenuh rantai pendek-menengah dan sisanya merupakan lemak tak jenuh. VCO berbeda dengan minyak kelapa karena kandungan komponen biologis aktif yang lebih banyak seperti vitamin dan polifenol. (Hayatullina *et al.*, 2012). Kelapa merupakan salah satu komoditas bahan alam yang produksinya melimpah di Indonesia. Pemanfaatan kelapa menjadi VCO dapat menjadi alternatif biomaterial yang dapat digunakan dengan aman dan secara luas sebagai pengganti bahan kimia dalam penanganan periodontitis.

Virgin Coconut Oil mengandung asam lemak rantai menengah yang mudah dicerna dan dioksidasi oleh tubuh sehingga mencegah penumpukan di dalam tubuh. Selain itu kandungan antioksidan dalam VCO yang sangat tinggi seperti tokoferol dan betakaroten. Antioksidan yang berfungsi mencegah penuaan dini dan menjaga vitalitas tubuh. Komponen utama dari VCO mengandung sekitar 90% asam lemak jenuh dan sekitar 10% asam lemak tak jenuh. Asam lemak jenuh VCO didominasi oleh asam laurat. VCO mengandung  $\pm 53\%$  asam laurat dan sekitar 7% asam kaprilat. Keduanya merupakan lemak rantai sedang asam yang biasa disebut  $\Lambda$ cid (MCFA). (Harefa *et al.*, 2022)



latar belakang di atas, peneliti berniat untuk mengidentifikasi onut oil (VCO) terhadap ekspresi *Platelet Derived Growth* jai salah satu faktor pertumbuhan yang terlibat dalam proses an jaringan periodontal pada hewan coba Ratus Norvegicus.

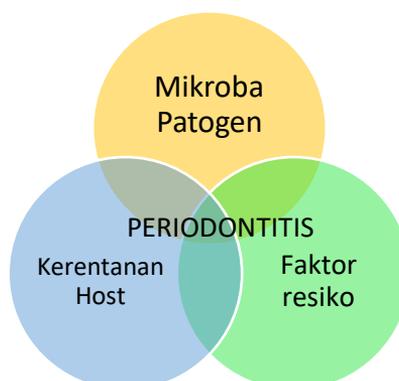
## 1.2 Teori

### 1.2.1. Definisi Periodontitis

Periodonsium normal memberikan dukungan yang diperlukan untuk menjaga fungsi gigi. Terdiri dari empat komponen: gingiva, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar. Masing-masing komponen periodontal ini berbeda berdasarkan lokasinya, arsitektur jaringan, komposisi biokimia, dan komposisi kimianya, tetapi semua komponen tersebut berfungsi secara bersama-sama sebagai satu kesatuan. Penelitian terbaru mengungkapkan bahwa komponen matriks ekstraseluler dari satu kompartemen periodontal dapat mempengaruhi aktivitas seluler struktur yang berdekatan. Oleh karena itu perubahan patologis yang terjadi pada salah satu komponen periodontal mungkin memiliki konsekuensi yang signifikan terhadap pemeliharaan, perbaikan, atau regenerasi komponen periodonsium lainnya. (Fiorellini *et al.*, 2020)

Penyakit periodontal yang meluas dan realitas bahwa jaringan yang hilang dapat diperbaiki, serta regenerasi telah menarik minat peneliti terhadap faktor dan sel yang mengatur pembentukan dan pemeliharaannya. Penting untuk dipahami bahwa masing-masing komponen periodontal memiliki struktur yang sangat spesial dan struktural ini memiliki karakteristik yang secara langsung mendefinisikan fungsi. Fungsi periodonsium dengan baik dicapai melalui integritas struktural dan interaksi antar komponennya. (Nanci and DD Bosshardt -, 2006)

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kronik multifaktorial yang terkait dengan akumulasi plak gigi dan dicirikan oleh kerusakan progresif pada jaringan pendukung gigi, termasuk ligamen periodontal dan tulang alveolar. Penyakit ini melibatkan interaksi dinamis yang kompleks antara bakteri patogen spesifik, kerentanan host dan faktor resiko (Gambar 1). (Kwon, Lamster and Levin, 2021b)



Gambar 2. Periodontitis bersifat multifaktorial dan akibat dari keberadaan bakteri patogen, respon inflamasi dan imunitas host, serta faktor risiko lingkungan dan sistemik lainnya yang teridentifikasi. (Kwon, Lamster and Levin, 2021b)

Periodontitis adalah penyakit infeksius rongga mulut yang dapat meluas ditandai dengan kerusakan permanen pada jaringan pendukung gigi, yang meliputi tulang alveolar, ligamen periodontal (PDL), dan sementum. Hal ini pada akhirnya menyebabkan kehilangan gigi dengan masalah fungsional dan estetika yang serius pada pasien. Sebuah survei epidemiologi menunjukkan bahwa >50% dari seluruh orang dewasa di dunia menderita penyakit periodontal. Selain itu, kejadian penyakit periodontal semakin meningkat seiring dengan bertambahnya usia, dalam periode waktu 10 tahun dari 2005 hingga 2015, angka prevalensi meningkat pesat dibandingkan dengan periode sebelumnya. Patogenesis penyakit periodontal melibatkan interaksi yang rumit antara respon imun host dengan koloni mikroba di poket periodontal, serta faktor lainnya termasuk merokok dan genetika. Periodontitis berhubungan dengan terjadinya dan berkembangnya sejumlah penyakit sistemik lainnya seperti penyakit kardiovaskular, kanker, rheumatoid arthritis, obesitas dan diabetes. Penegakan diagnosis kerusakan jaringan periodontal meliputi gejala klinis (perdarahan gingiva, resorpsi tulang, pembentukan poket periodontal, kehilangan perlekatan), X-ray dan Cone-Beam Computed Tomography, dan polimorfisme genetik. (Liu *et al.*, 2019)

Periodontitis telah terbukti berhubungan erat dengan penyakit sistemik, termasuk Penyakit Paru Obstruksi Kronis (PPOK). Periodontitis dan PPOK adalah penyakit kronis yang umum dan kedua penyakit tersebut dapat mempengaruhi kualitas hidup secara signifikan. Kedua kondisi ini dikaitkan dengan berbagai faktor risiko, termasuk merokok, infeksi mikroba, polusi lingkungan, diabetes, status sosial-ekonomi yang buruk, dan kebiasaan merawat gigi yang buruk. Dalam beberapa tahun terakhir, terdapat peningkatan potensi hubungan antara kedua kondisi ini, dan penelitian menunjukkan bahwa keduanya mungkin terkait erat. Namun, penelitian mengenai korelasi antara periodontitis dan PPOK terbatas studi kohort klinis dan meta-analisis dan telah mengkonfirmasi korelasi positif di antara keduanya. (Xiong *et al.*, 2023)

### 1.2.2 Etiologi Periodontitis

Selama beberapa tahun terakhir, kemajuan dalam pemahaman mengenai faktor penyebab terkait dengan terjadinya penyakit periodontal mengalami perkembangan yang cukup pesat dan telah ditetapkan dengan jelas bahwa pada dasarnya penyakit ini bersifat infeksius dan terjadi pada permukaan yang terdapat endapan plak bakteri supra dan subgingiva. Pada saat yang sama, sejumlah faktor lokal berkontribusi berkontribusi pada proses penyakit yang diprakarsai oleh plak, kalkulus serta lesi karies terutama yang terletak di supra gingiva, merokok, malposisi gigi, tambalan rusak, prostetik yang tidak tepat, dan sebagainya. Keberhasilan perawatan periodontal yakni mengetahui, menghilangkan faktor tersebut yang merupakan kunci untuk keberhasilan perawatan. (Mihaela *et al.*, 2019)



Penyakit periodontal dihasilkan dari interaksi yang kompleks antara biofilm subgingiva dan peristiwa imunoinflamasi inang yang berkembang di jaringan gingiva dan periodontal sebagai respons terhadap invasi bakteri. Kerusakan jaringan yang timbul dari respon imun-inflamasi dikenal secara klinis sebagai periodontitis. Gingivitis mendahului periodontitis, tetapi tidak semua kasus gingivitis berkembang menjadi periodontitis. Pada gingivitis, lesi inflamasi terbatas pada gingiva; namun, dengan periodontitis, proses inflamasi juga meluas mempengaruhi ligamen periodontal dan tulang alveolar. Salah satu perubahan inflamasi ini adalah kerusakan serat-serat ligamen periodontal, mengakibatkan hilangnya perlekatan secara klinis bersamaan dengan resorpsi tulang alveolar. (Newman *et al.*, 2019)

### 1. Etiologi Mikrobiologi

Etiologi mikroba penyakit gingiva dan periodontal perlu dipahami dengan dua alasan utama : Pertama, identifikasi agen etiologi penyakit periodontal akan membantu dalam penentuan strategi pengobatan yang sesuai. Kedua, memberikan pendekatan terapeutik yang berguna untuk mengendalikan dan mencegah penyakit periodontal, misalnya pembuatan vaksin terhadap berbagai patogen sebelum timbulnya penyakit. Infeksi periodontal adalah infeksi campuran, dan mikrobiota yang sangat kompleks sehingga sulit dibedakan antara penyebab sekunder dan patogen sejati. (Bathla and Damle, 2017)

The World Workshop in Periodontology (Laporan Konsensus 1996) mengidentifikasi tiga mikroba yang penting patogen periodontal yaitu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* dan *Tannerella forsythia*. (Bathla and Damle, 2017)

### ***Aggregatibacter Actinomycetemcomitans (Actinobacillus Actinomycetemcomitans)***

Pada tahun 1912, *A. actinomycetemcomitans* pertama kali diisolasi oleh ahli mikrobiologi Jerman Klinger dari lesi aktinomikosis serviksfasial. Mikroorganisme itu diisolasi bersama dengan *Actinomyces israeli*. Oleh karena itu, nama spesies *actinomycetemcomitans* artinya sama dengan *Actinomyces*. Nama genus *Actinobacillus*: Aktino mengacu pada morfologi internal berbentuk bintang koloni dan basil mengacu pada bentuk sel (berbentuk batang). (Bathla and Damle, 2017)

### ***Porphyromonas Gingivalis***



tahun 1970-an, Bacteroides berpigmen hitam ditemukan s yang sangat sakarolitik yaitu *Prevotella melaninogenica*, enengah fermentor, yaitu *P. intermedia* atau *asaccharolyticus*, s *gingivalis*. *P. gingivalis* bersifat anaerobik, Gram-negatif, entuk batang nonmotile bakteri, yang menghasilkan koloni (Bathla and Damle, 2017)

Faktor virulensi *P. gingivalis* menghasilkan faktor virulensi seperti kolagenase, endotoksin, asam lemak, amonia (NH<sub>3</sub>), hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), indol, hemolisin, fibrinolisin, fosfolipase A dan faktor pemicu resorpsi tulang. Virulensi *P. gingivalis* difasilitasi dengan kemampuannya untuk menempel pada bakteri lain, sel epitel dan komponen jaringan ikat, fibronektin dan fibrinogen. Fimbriae memiliki peran penting dalam kolonisasi mikroba dan aktivasi produksi sitokin. *P.gingivalis* menyebabkan kelumpuhan kemokin dengan menghambat produksi interleukin-8 (IL-8) oleh sel epitel, yang merupakan kemotaksin untuk PMN. Sehingga menghambat migrasi PMN. (Bathla and Damle, 2017)

### ***Tannerella Forsythia (Bakteroides Forsythus)***

Pada pertengahan tahun 1970-an, *T. forsythia* pertama kali diisolasi di *Forsyth Institute* dari pasien dengan perkembangan periodontitis lanjut dan digambarkan sebagai *Fusiform Bacteroides* oleh *Tanner dkk*. Berbentuk batang anaerobik, Gram negatif, berbentuk gelendong, dan sangat pleomorfik. Spesies ini sulit untuk tumbuh sendiri dan untuk pertumbuhannya membutuhkan asam N-asetilmuramat. Faktor virulensi: Berbagai faktor virulensi yang dihasilkan oleh *T. forsythia* adalah asam lemak, endotoksin dan metilglioksal. (Bathla and Damle, 2017)

#### 2. Dental Plak

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 1978, "Plak gigi didefinisikan secara spesifik tetapi sangat bervariasi dengan entitas struktural yang dihasilkan dari kolonisasi berurutan dan pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan gigi dan restorasi yang terdiri dari mikroorganisme dari berbagai strain dan spesies tertanam dalam matriks ekstraseluler, terdiri dari produk dan zat metabolisme bakteri dari serum, air liur dan darah. (Bathla and Damle, 2017)

#### 3. Dental Kalkulus

Kalkulus berbahaya baik secara fisik maupun kimia ke gingiva yang berdekatan. Sifatnya permeabel sehingga dapat menyerap produk beracun. Kalkulus bertekstur kasar dan rapuh yang dapat memfasilitasi retensi plak gigi. Kalkulus juga selalu ditutupi oleh plak yang tidak termineralisasi yang bersifat retentif dan menimbulkan akumulasi plak baru. Hal ini menyebabkan kerusakan periodontal dengan cara membawa lapisan bakteri lebih dekat ke jaringan pendukung, mengganggu mekanisme oral hygiene, memberikan nidus untuk akumulasi plak terus menerus, membuat penghilangan plak menjadi lebih sulit. (Bathla and Damle, 2017)



#### **eriodontitis**

alam perkembangan periodontitis adalah peradangan gingiva adap virulensi bakteri. Perubahan yang terlibat dalam transisi normal dengan poket periodontal patologis berhubungan termasuk proporsi sel bakteri dalam plak gigi. Gingiva sehat

terkait dengan beberapa mikroorganisme, sebagian besar sel coccoid dan batang lurus. Gingiva yang meradang dikaitkan dengan peningkatan jumlah spirochetes dan batang motil. Pembentukan poket dimulai sebagai perubahan inflamasi pada dinding jaringan ikat sulkus gingiva. Eksudat inflamasi seluler dan cair menyebabkan degenerasi di sekitar jaringan ikat, termasuk serat gingiva (Newman *et al.*, 2019)

Konsep awal berasumsi bahwa setelah invasi bakteri awal, kerusakan jaringan periodontal terus dikaitkan dengan aksi bakteri. Respon host imunoinflamasi awal dan invasi bakteri yang persisten melepaskan mekanisme yang menyebabkan kerusakan kolagen dan tulang. Mekanisme ini terkait dengan berbagai hal seperti sitokin, beberapa di antaranya diproduksi secara normal oleh sel-sel di dalam jaringan yang tidak meradang dan lainnya oleh sel-sel yang terlibat dalam proses inflamasi, seperti leukosit polimorfonuklear (PMN), monosit, dan sel lain, sehingga menghasilkan kolagen dan kerusakan tulang. (Newman *et al.*, 2019)

Pengereposan tulang adalah konsekuensi utama dan terakhir dari penyakit periodontitis. Oleh karena itu tingkat tulang yang terisisa merupakan konsekuensi dari episode patologis masa lalu, sedangkan perubahan yang terjadi pada jaringan lunak dinding poket mencerminkan adanya kondisi peradangan. Demikian derajatnya keropos tulang tidak selalu berkorelasi dengan kedalaman poket periodontal, tingkat keparahan ulserasi pada dinding poket, atau ada tidaknya pus. (Newman *et al.*, 2019)

Saat peradangan terjadi, proses kekebalan dimulai (respon pertama terhadap antigen. Dalam inisiasi respon imun, sel-sel Langerhans di dalam epitel mengambil bahan antigenik yang diperoleh dari mikroba dan membawanya ke jaringan limfoid, di mana terjadi presentasi antigen ke limfosit. Presentasi antigen ini menghasilkan limfosit limfatik yang kembali ke tempat paparan mikroba di mana sel B berubah menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi, atau sel T terlibat dalam membantu respon humoral dan mengembangkan respon imun yang dimediasi sel terhadap antigen mikroba. Antibodi dapat diproduksi secara lokal atau sistemik dan bertindak dengan mikroorganisme yang berkumpul atau menggumpal, mencegah bakteri menempel pada epitel, bekerja dengan komplemen untuk melisis mikroba, dan bersama dengan PMN, memungkinkan fagositosis yang efisien (opsonisasi). Pemahaman kita saat ini adalah bahwa jumlah dan fungsi antibodi itu penting, individu yang dapat meningkatkan respon antibodi yang efektif mungkin lebih resisten terhadap periodontitis dibandingkan dengan respon antibodi u kualitas kurang. (Lindhe, Lang and Karring, 2003)



in aktivitas sel PMN di crevicular gingiva menghasilkan banyak efek merugikan pada bakteri dan juga pada jaringan host. Sel itu di gingiva membutuhkan ruang untuk memulai fungsinya. komponen struktural (fibroblas, kolagen, matriks) harus dihilangkan ruang untuk infiltrasi leukosit. Selanjutnya, ketika lapisan epitel

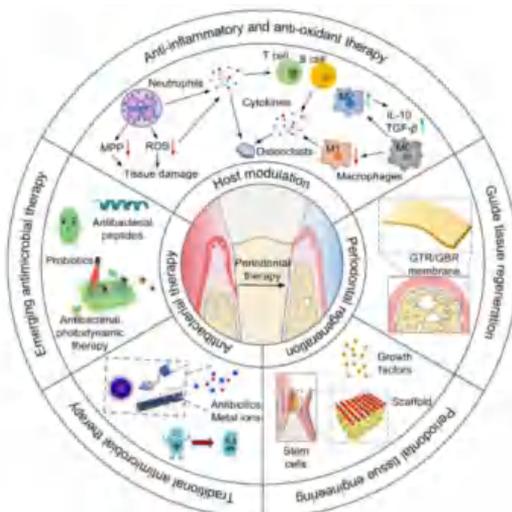
junctional dipecah dan bersentuhan dengan permukaan gigi telah hilang, terbentuk kantong. lingkungan yang diciptakan ini mengundang invasi mikroorganisme anaerobik dan fakultatif. Ketika filtrat meluas ke apikal, tulang diresorpsi memberi lebih banyak ruang untuk sel pertahanan. Terbentuk granulasi jaringan yang kaya akan struktur pembuluh darah dan penuh dengan sel plasma yang menghasilkan antibodi. Hal ini menghasilkan jaringan granulasi secara bertahap dan menempati lebih banyak ruang. Banyak sel di dalam sel inflamasi yang menginfiltrasi, menghasilkan enzim pendegradasi matriks dan sitokin yang secara langsung dan tidak langsung semakin memperburuk ikatan tersebut pada jaringan dan tulang. Pada akhirnya, jika dibiarkan, mikroba akan terus menghasilkan produk yang merugikan hostnya, host akan terus frustrasi menanggapi produk ini, poket akan semakin dalam, jaringan granulasi akan meluas, tulang dan ligamen akan terjadi pengikisan secara meluas dan akhirnya struktur pendukung gigi akan hilang sehingga gigi pun hilang. (Lindhe, Lang and Karring, 2003)

#### 1.2.4 Perawatan Periodontitis dan Regenerasi Jaringan

Biomaterial mempunyai pengaruh yang besar dan memberikan kontribusi yang signifikan terhadap ilmu kedokteran, tidak terkecuali bidang kedokteran periodontal. Dalam beberapa dekade terakhir, berbagai nanopartikel, hidrogel, film, dan serat telah dikembangkan untuk penghantaran obat periodontal, dan banyak bahan biokompatibel telah digunakan sebagai bahan pengisi atau perancah untuk regenerasi jaringan periodontal. Dalam beberapa tahun terakhir, biomaterial fungsional dengan komponen bioaktif atau responsif terhadap stimulus telah menarik perhatian para peneliti. Dengan meningkatkan pemanfaatan obat, meningkatkan kompatibilitas obat, memperpanjang waktu kerja, mencapai pelepasan obat yang responsif, dan memainkan peran terapeutik, biomaterial ini telah menunjukkan prospek penerapan yang sangat baik dalam pengobatan periodontitis. Selain itu, sifat kimia dan fisik biomaterial yang dapat diatur memungkinkan biomaterial untuk beradaptasi lebih baik terhadap lingkungan mikro poket periodontal yang kompleks, dan beragam aktivitas biologisnya juga memungkinkan biomaterial memenuhi persyaratan berbagai tahap terapi periodontitis. (Luan *et al.*, 2023)

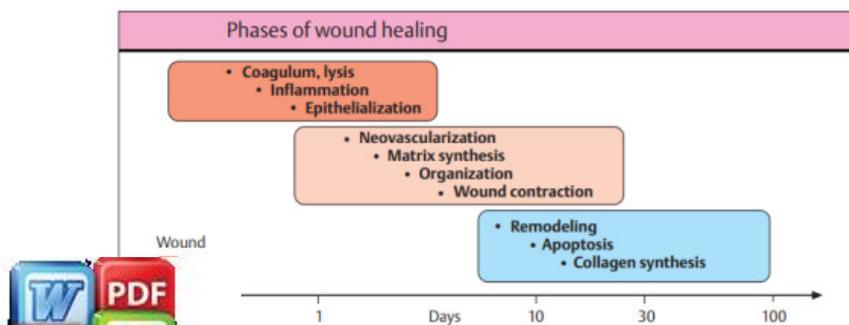
Peptida antimikroba adalah kelas peptida alami dan sintetis yang berkembang dengan spektrum antimikroba yang luas dan aktivitas antimikroba yang tinggi. Mereka terdapat secara luas pada hewan, tumbuhan, dan bakteri dan mempunyai potensi menjadi alternatif pengganti antibiotik untuk mengatasi masalah n terhadap obat, sehingga menjadi fokus banyak bidang kedokteran, nutrisi, dan makanan. (Luan *et al.*, 2023)





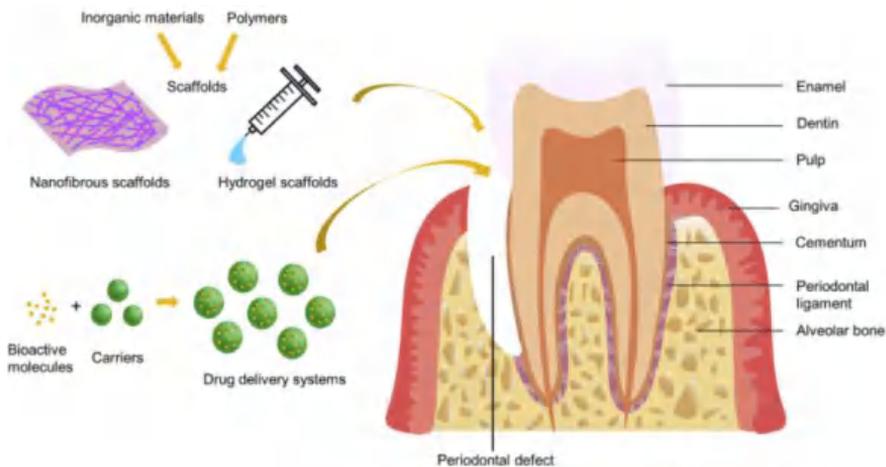
Gambar 3. Biomaterial fungsional untuk pengobatan periodontitis yang komprehensif. (Luan *et al.*, 2023)

Saat ini, perawatan klinis untuk periodontitis berfokus pada penghilangan plak dan pengendalian peradangan lokal, seperti scaling dan root planing serta perawatan bedah. Terapi tersebut berupaya meminimalkan gejala dan mencegah perkembangan penyakit, namun tidak dapat mengembalikan perlekatan jaringan periodontal ke gigi dan jaringan periodontal aslinya. Oleh karena itu, fungsi gigi dan gigi tetap terganggu setelah perawatan. Beberapa pendekatan regeneratif, seperti regenerasi jaringan terbimbing (GTR) dan cangkok tulang, dikembangkan untuk mencapai pembentukan jaringan periodontal. Namun, hasil klinis dari pendekatan tersebut bervariasi dan tidak dapat diprediksi. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengembangkan strategi regeneratif alternatif untuk mengembalikan struktur dan fungsi jaringan periodontal pada pasien periodontitis. (Liang, Luan and Liu, 2020)



ahapan utama penyembuhan luka. Penyembuhan luka terdiri saling terpaat.





Gambar 5. Ilustrasi skema anatomi jaringan periodontal, defek periodontal, pendekatan scaffold rekayasa jaringan dan sistem penghantaran obat.

Pencegahan dan terapi periodontitis memerlukan diagnosis yang akurat, eliminasi faktor penyebab, dan pengurangan faktor risiko yang dapat dimodifikasi. Pendekatan baru dalam terapi periodontitis telah menunjukkan kemanjuran dan keamanan sebagai produk tambahan, dengan perbaikan signifikan dalam PoB dan tingkat keterikatan klinis yang disebabkan oleh sifat anti-inflamasinya. (Radu *et al.*, 2024)

Bentuk paling mendasar untuk keberhasilan perawatan periodontal adalah permukaan akar yang bersih, bebas biofilm, dan dekontaminasi. Dalam kebanyakan kasus, hal ini mengarah pada perbaikan jaringan ikat, *junctional epitel* yang panjang dan poket residual. Terapi regeneratif sebaiknya menjadi sebuah metode pengobatan yang dapat menjamin hasil penyembuhan yang optimal. (Wolf *et al.*, 2004)

Integrasi beberapa metode bahan seperti minyak esensial, scaffold, laser, terapi fotodinamik, sel induk, agen anabolik, imunomodulator, nanopartikel perak koloid, atau pra-dan probiotik sebagai terapi tambahan pada periodontitis dapat memberikan manfaat tambahan, melengkapi pendekatan konvensional dan berpotensi mengurangi ketergantungan antibiotik atau lainnya. intervensi farmasi. Minyak kelapa yang merupakan komoditas utama pertanian Indonesia dan menjadi sumber penghasil terapeutik baru dalam penanganan masalah periodontal. (Radu



t periodontal yang lebih parah, terapi antimikroba digunakan sebagai tambahan selain scaling serta root planning untuk membantu perawatan sepenuhnya. Untuk hasil terapi yang optimal, antibiotik dapat diberikan secara topikal maupun sistemik. Pemberian terapi antimikroba

secara sistemik, dalam pengelolaan pasien yang mengalami periodontitis, telah menunjukkan efek samping yang lebih sering terjadi. (Cangara and Thahir, 2024)

Metronidazole merupakan antimikroba dan telah banyak digunakan sebagai antibakteri dan antiprotozoa untuk perawatan. Metronidazole merupakan antimikroba yang telah digunakan sebagai perawatan tambahan untuk menghilangkan plak secara mekanis yaitu dengan scaling dan root planning. Metronidazole merupakan turunan komposit sintetis dari golongan antibiotik nitroimidazole. yang menghambat sintesis DNA bakteri sehingga menyebabkan kematian sel. Hal ini membuktikan bahwa metronidazole merupakan obat yang dapat digunakan dalam mengelola mikroorganisme anaerob dan diresepkan untuk mendukung terapi periodontal konvensional dalam pemberian sistemik atau lokal. Jenis metronidazole lokal hadir sebagai bentuk gel. Selain itu, waktu paruh metronidazole adalah sekitar 8 jam. (Cangara and Thahir, 2024)

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Pavia dkk, menunjukkan efektivitas penggunaan metronidazol lokal sebagai tambahan untuk scaling dan root planning menyimpulkan bahwa penggunaan gel metronidazol secara signifikan mengurangi jumlah total bakteri dalam cairan sulkus gingiva. (Mahmood *et al.*, 2021)

Regenerasi Jaringan dan penyembuhan luka merupakan sebuah proses dinamis yang menjadi tantangan dalam dunia klinis setelah dilakukan perawatan. Banyak upaya telah difokuskan pada manajemen luka dengan pengembangan berbagai teknik penyembuhan dan pendekatan pengobatan baru. Pada dasarnya, proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase yang berbeda namun saling tumpang tindih: 1. hemostasis dan koagulasi, 2. peradangan, 3. proliferasi sel, dan 4. remodeling dan maturasi luka. (Cho *et al.*, 2021)

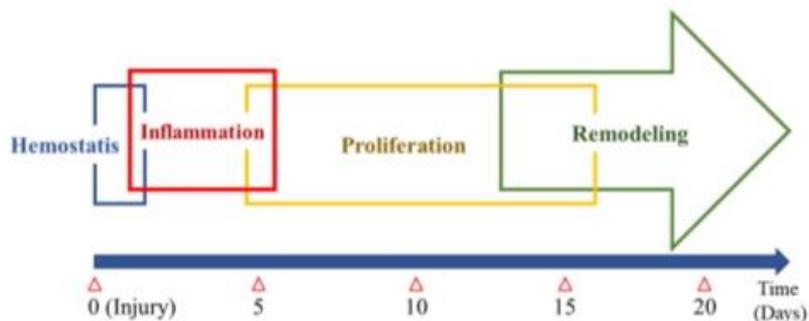
Prinsip umum regenerasi jaringan ini juga berlaku untuk penyembuhan luka periodontal. Prosedur penyembuhan luka melibatkan beberapa jenis sel, matriks ekstraseluler, sitokin, dan faktor pertumbuhan. Pengertian penyembuhan luka berkenaan dengan berbagai aspek sel, molekul, fisiologi, dan biokimia penting untuk meregenerasi jaringan yang ada secara fungsional dan struktural tidak dapat dibedakan dari jaringan aslinya. Jika terjadi cedera yang merusak pembuluh darah, maka perdarahanlah yang menjadi proses pertama yang dimulai di lokasi luka. Dalam kondisi normal, mesin molekuler melakukan pembentukan bekuan pada daerah luka, melindungi lokasi cedera dan menyediakan matriks sementara untuk migrasi sel. Pembentukan bekuan darah berlanjut ke tahap awal peradangan, di mana sel-sel inflamasi, termasuk neutrofil polimorfonuklear dan monosit diaktifkan.

akan luka dari jaringan nekrotik dan bakteri dan mengeluarkan k debridemen luka. Respon inflamasi ini bergeser memasuki akrofasia bergerak ke area luka dan mengeluarkan sitokin atau sel yang terlibat dalam proses penyembuhan luka. Setelah pembentukan jaringan granulasi diawali dengan akumulasi faktor pertumbuhan oleh makrofag menginduksi migrasi dan



proliferasi fibroblas dan sel endotel ke lokasi luka. Jaringan granulasi yang kaya sel, mengaktifkan fase pembentukan dan pematangan matriks. Fibroblas menggantikan matriks ekstraseluler yang sementara dengan memproduksi matriks baru yang kaya kolagen, dan sel endotel yang terlibat dalam angiogenesis untuk vaskularisasi. Selanjutnya terjadi epitelisasi luka dilakukan oleh sel epitel dari lapisan basal. Pematangan jaringan granulasi mengarah untuk regenerasi atau perbaikan jaringan, yang ditentukan oleh dua faktor utama: sel yang tersedia dan sinyal perekrutan sel. Kulit dan gingiva, jaringan penutup tubuh yang khas, dianggap sebagai jaringan homogen secara struktural dan fungsional yang menunjukkan pola penyembuhan serupa, sebagai respons terhadap cedera. Keduanya ditandai dengan adanya epitel berkeratin dengan jaringan ikat di bawahnya, yang bertindak sebagai penghalang terhadap mikroorganisme dan lainnya. (Cho *et al.*, 2021)

Penyembuhan luka terbagi menjadi tiga fase: peradangan, fibroplasia, dan pematangan. Setiap fase-fase ini dikendalikan dan diatur oleh zat aktif biologis yang disebut faktor pertumbuhan. Faktor pertumbuhan adalah polipeptida yang aktif secara biologis mempengaruhi proliferasi, kemotaksis dan diferensiasi sel dari epitel, tulang dan jaringan ikat. Mereka mengekspresikan tindakan dengan mengikat pada reseptor permukaan sel tertentu yang ada di dalamnya dengan berbagai sel target seperti osteoblas, sementoblas dan fibroblas ligamen periodontal. Regenerasi dari struktur periodontal yang hilang selama penyakit periodontal merupakan proses biologis kompleks yang diatur antara lain melalui interaksi antar sel dan faktor pertumbuhan. (Sehar *et al.*, 2020)



Tahapan penyembuhan jaringan. Setelah terjadi cedera, dimulai dengan proses berikut: 1. hemostasis dan koagulasi, 2. si sel, dan 4. remodeling luka dan maturasi. (Cho *et al.*, 2021)

Tabel 1. Faktor pertumbuhan dan karakteristiknya pada penyembuhan jaringan periodontal. (Sehar *et al.*, 2020)

Fase Penyembuhan Jaringan	Faktor Pertumbuhan	Disekresikan Dari	Fungsi
Fase Inflamasi	PDGF	Trombosit	Meningkatkan kemotaksis neutrofil dan makrofag
		Trombosit Leukosit Fibroblas	Meningkatkan kemotaksis permeabilitas vaskular neutrofil dan monosit.
	VEGF	Trombosit Leukosit Fibroblas	Ekspresi autokrin, pembentukan sitokin tambahan (TGF-alfa, IL-1 $\beta$ , PDGF, kemokrin)
Fase Proliferatif	TGF- $\alpha$	Trombosit Leukosit Fibroblas	Ekspresi autokrin, pembentukan sitokin tambahan (TGF-alfa, IL-1 $\beta$ , PDGF, kemokrin)
	PGF	Tromobosit Sel mesenkim	Merangsang proliferasi & migrasi epitel
		KGF (FGF-7)	Makrofag
	FGF-2	Keratinosit Fibroblas	Merangsang proliferasi fibroblast & sintesis ECM, meningkatkan kemotaksis , proliferasi & diferensiasi sel endotel.
		PDGF VEGF	Makrofag Sel endotel
	TGF- $\beta$		Merangsang proliferasi dan migrasi epitel, merangsang proliferasi fibroblas & ECM, menghambat protease, meningkatkan produksi inhibitor.
	BMP-2-4 BMP-7	Makrofag Sel Endotel	Merangsang proliferasi dan migrasi epitel, merangsang proliferasi fibroblas & ECM, menghambat protease, meningkatkan produksi inhibitor.
		FGF-2	Makrofag
		Leukosit Makrofag Fibroblas	Merangsang migrasi sel progenitor mesenkimal.
		Osteoblast	Merangsang migrasi sel progenitor mesenkimal.
	Makrofag Sel endotel	Merangsang migrasi sel progenitor mesenkimal.	



<b>Fase Remodelling Tulang dan Sintesis Matrix</b>	IGF-2	Makrofag Fibroblas	Merangsang proliferasi osteoblas & sintesis matriks tulang. Merangsang diferensiasi fibroblast menjadi myofibroblast, merangsang proliferasi sel progenitor mesenchymal
	PDGF TGF- $\beta$ VEGF	Makrofag	Menginduksi apoptosis
		Fibroblas Osteoblas	sel endotel & fibroblast, menginduksi diferensiasi fibroblast menjadi myofibroblast, dan menstimulasi kemotaksis & kelangsungan hidup osteoblast
		Makrofag	Kemotaksis sel punca mesenkimal. Efek antiapoptosis pada sel pembentuk tulang. Promosi angiogenesis.

Fase proliferaatif mencakup empat proses simultan, yaitu fibroplasia (rekrutmen dan masuknya fibroblas dan produksinya berupa matriks ekstraseluler), angiogenesis (generasi dan penetrasi pembuluh darah baru ke dalam area luka), re-epitelisasi (restorasi epitel barrier) dan kontraksi regenerasi jaringan untuk mengurangi area luka. (Weinreb and Nemcovsky, 2015)

Pada hari ketiga hingga keempat penyembuhan jaringan, fibroblas mulai terlihat pada area luka dan jumlahnya akan mencapai puncaknya antara hari ketujuh hingga hari ke-14. Fibroblas tersebut berperan dalam mensintesis kolagen yang diinduksi oleh PDGF, bFGF, TGF- $\beta$ , IL-1 dan TNF. Pada fase ini juga terjadi pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) pada bagian bawah soket gigi yang distimulasi oleh VEGF. Hal ini dikarenakan pada bagian bawah soket gigi mempunyai pembuluh darah yang besar. Epitelisasi dimulai dengan migrasinya sel epitel yang tidak rusak dari tepi luka dan 23 berlanjut hingga selsel yang bermigrasi dari sisi luka berentuhan satu sama lain sehingga membentuk membran basal



epitelisasi distimulasi oleh Epidermal Growth Factor (EGF) dan diinduksi oleh trombosit dan makrofag. (Ather and Harding, 2009)

fibroblas, sel endotel dan keratinosit, dan pada luka periodontal, fibroblas yang berasal dari ligamen periodontal dan jaringan periodontal akan mengarahkan sekresi faktor pertumbuhan, penyembuhan luka periodontal melalui proliferasi sel dan pembentukan/perbaikan matriks. Matriks

sementara yang kaya akan fibrin, fibronectin, tenasin, dan vitronektin secara perlahan dibersihkan dari protein yang rusak oleh sebagian besar matriks. Metalloproteinase dan neutrofil elastase dan kemudian digantikan dengan proteoglikan, elastin dan kolagen, ketika fibroblas/osteoblas sudah mengisi matriks baru ini pada hari ke 3. Tuntutan metabolik dalam hal ini tahap proliferasi dipenuhi oleh peningkatan vaskularisasi yang distimulasi oleh faktor pertumbuhan endotel vaskular dan faktor pertumbuhan lainnya. Sel-sel endotel yang menembus matriks ekstraseluler baru berproliferasi dan memanjang, membentuk pembuluh awal, yang, ketika berinteraksi dengan perisit dan rekonstitusi membran basal, memperoleh stabilitas dan kemudian berfungsi. (Susin *et al.*, 2015)

Beberapa faktor pertumbuhan menjadi pemain kunci dalam mengatur proliferasi keratinosit dalam penyembuhan luka. Di antara faktor pertumbuhan utama adalah faktor pertumbuhan epidermal, faktor pertumbuhan transformasi, faktor pertumbuhan epidermal pengikat heparin, dan faktor pertumbuhan keratinosit. Daftar faktor pertumbuhan yang aktif dalam penyembuhan luka, kemungkinan sumbernya dan efek biologisnya disajikan pada Tabel 1. (Aukhil, 2000)

Tabel 2. Beberapa faktor pertumbuhan yang terlibat dalam penyembuhan luka. (Aukhil, 2000)

Faktor Pertumbuhan	Sumber	Efek
Fibroblast growth factor 1,2, dan 4	Makrofag, Sel Endotelial	Proliferasi fibroblast dan angiogenesis
Transforming growth factor- $\alpha$	Makrofag, keratinosis	Re-epithelisasi
Transforming growth factors $\beta$ 1 and $\beta$ 2	Platelet, makrofag	Fibroblast and kemotaksis makrofag, sintesis matriks ekstraseluler, dan sekresi protease inhibitor.
Epidermal growth factor	Platelet	Re-epithelisasi
Platelet-derived growth factor (isoforms AA, AB and BB)	Platelet, makrofag, keratinosis	Fibroblast and kemotaksis makrofag, proliferasi fibroblast, dan sintesis matrix.
Keratinocyte growth factor	Dermal fibroblasts	Proliferasi Keratinosit
Insulin-like growth factor	Plasma, platelet	Proliferasi Endothelial dan fibroblast
growth	Keratinosit, makrofag	Angiogenesis
	Neutrofil	Aktifasi ekspresi growth factor pada makrofag, keratinosit, dan fibroblast.
r- $\alpha$	Neutrofil	Aktifasi ekspresi growth factor pada makrofag, keratinosit, dan fibroblast.



### 1.2.5 PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*)

Modalitas perawatan periodontal saat ini berusaha untuk menyediakan satu atau lebih hal berikut untuk meningkatkan regenerasi periodontal: matriks yang sesuai, mediator biologis, dan/atau sel prekursor. Faktor pertumbuhan polipeptida adalah kelas mediator biologis alami yang mengatur peristiwa seluler penting dalam perbaikan jaringan. Faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF) adalah faktor pertumbuhan yang paling banyak dipelajari dalam bidang periodontik. Sejak akhir tahun 1980an, ketika pertama kali ditemukan bahwa PDGF mendorong regenerasi tulang, sementum, dan ligamen periodontal (PDL) oleh Lynch dkk. (1989), hampir 100 penelitian telah dipublikasikan mengenai pengaruhnya terhadap PDL dan sel tulang alveolar serta regenerasi periodonsium pada hewan dan manusia. (Thakare *et al.*, 2013)

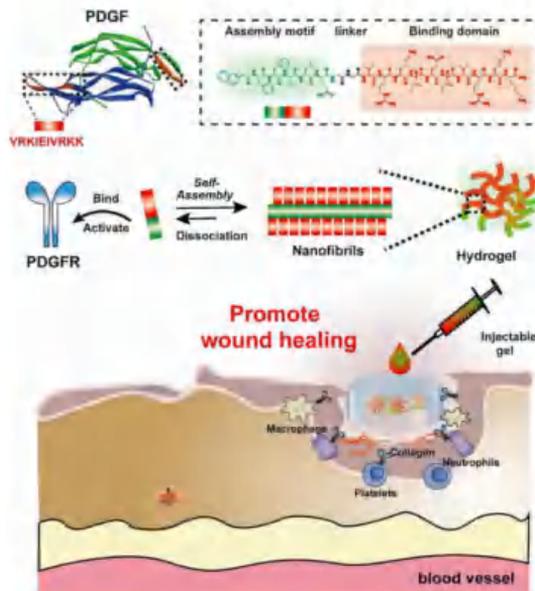
Studi-studi ini dengan jelas menunjukkan mekanismenya aksi PDGF, menunjukkan adanya reseptor permukaan sel untuk PDGF pada PDL dan sel tulang alveolar dan menjelaskan efek stimulasi PDGF pada proliferasi dan kemotaksis osteoblas, fibroblas PDL, dan sementoblas. Kehadiran scaffold yang ideal memainkan peran dasar dalam regenerasi periodontal. Mengisi ruang regeneratif dengan bahan biokompatibel dapat memfasilitasi atau mempercepat proses regenerasi periodontal dengan menambahkan lebih banyak permukaan padat dimana sel dapat memulai regenerasi. (Thakare *et al.*, 2013)

PDGF adalah protein alami yang banyak ditemukan dalam matriks tulang. Ia hadir sebagai dimer rantai polipeptida A, B dan C yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Empat bentuk isomer PDGF, yaitu PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB dan PDGF-CC telah diidentifikasi; namun, baru-baru ini isomer tambahan, PDGF-DD juga telah diverifikasi. PDGF berikatan dengan dua tipe reseptor yang terkait secara struktural namun berbeda: reseptor alfa PDGF (atau reseptor tipe A) mengikat ketiga isoform dengan afinitas tinggi; namun, reseptor beta (atau reseptor tipe B) mengikat PDGF-BB dengan afinitas tinggi dan PDGF-AB dengan afinitas yang relatif lebih rendah, namun tidak mengikat PDGF-AA dengan afinitas yang cukup besar. Sinyal reseptor PDGF dilaporkan berperan penting dalam regulasi proliferasi dan migrasi sel termasuk osteoblas dan fibroblas.

Hasil dari Nister dkk. menunjukkan bahwa PDGF-AA tidak memiliki aktivitas kemotaksis atau kemampuan untuk menginduksi reorganisasi pada fibroblast manusia, namun telah dilaporkan PDGF-BB menstimulasi proliferasi osteoblas dan fibroblas. (Jian *et al.*, 2011)



Gambar 15 menunjukkan hidrogelator peptida yang memiliki motif, linker, dan domain pengikat PDGFR. Domain pengikat peptida 153-162 yang ditampilkan dalam warna oranye, yang mengaktifkan Reseptor PDGF. Peptida yang dirancang dapat digunakan untuk membentuk nanofibril/hidrogel, yang menunjukkan sifat mekanik penyembuhan luka. (Jian *et al.*, 2022)



Gambar 7 . Ilustrasi konseptual hidrogel peptida yang meniru PDGF mendorong penyembuhan luka. (Jian *et al.*, 2022)

### 1.2.6 Virgin Coconut Oil

Kelapa menjadi bagian penting dalam kehidupan masyarakat Indonesia. semua bagian tanaman kelapa mulai dari akar, batang daun dan buah dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan ekonomi, sosial dan budaya. Disamping itu, arti penting kelapa bagi masyarakat tercermin dari luas area perkebunan rakyat yang mencapai 98% dari total luas areal kelapa dengan melibatkan lebih dari 3 juta rumah tangga petani. Pengusaha kelapa juga membuka kesempatan kerja dari kegiatan pengolahan produk turunan dan hasil samping yang sangat beragam. (Rindawati, Perasulmi and Wibowo Kurniawan, 2020)

Tanaman kelapa merupakan salah satu hasil alam yang hampir seluruh bagiannya dapat dimanfaatkan, baik untuk pangan maupun bahan minuman, maupun yang diolah menjadi *Virgin Coconut Oil* (VCO). Minyak VCO bisa diperoleh dari daging kelapa atau dari kopra yang masih segar. (Thahir *et al.*, 2022)

#### Definisi VCO



akan minyak kelapa murni yang diolah melalui proses ig kelapa tua segar tanpa penambahan bahan kimia sintetik. nucifera) sebagai bahan baku VCO tersedia melimpah di a merupakan negara penghasil kelapa utama di dunia and Agriculture Organization (FAO) 2014-2018, dengan ebesar 29,69% terhadap total produksi kelapa dunia kelapa n. (Thahir *et al.*, 2023)

Virgin coconut oil (VCO) merupakan hasil olahan dari daging buah kelapa segar (Non kopra), dalam pengolahannya tidak melalui proses kimiawi dan tidak menggunakan pemanasan tinggi hingga minyak yang dihasilkan berwarna bening (jernih) dan beraroma khas kelapa. Komposisi asam lemak tertinggi dalam minyak kelapa murni adalah asam laurat yang berfungsi dapat memberi gizi serta melindungi tubuh dari penyakit menular dan penyakit degenerative. (Rindawati, Perasulmi and Wibowo Kurniawan, 2020)

### Kandungan VCO

Minyak kelapa merupakan minyak yang paling jenuh dengan komposisi asam lemak rantai sedang, termasuk kaprat (7%), laurat (49%), miristat (18%), palmitat (9%), stearat (2%), dan persentase kecil dari asam lemak rantai sedang. asam lemak tak jenuh yang termasuk oleat (6%) dan asam linoleat (2%). VCO diisolasi dari buah kelapa matang dan diproses pada suhu rendah tanpa pemurnian kimia, pemutihan atau penghilangan bau, dan tidak menyebabkan terjadinya konversi sifat minyak. VCO lebih banyak mengandung unsur aktif biologis seperti tokoferol, sterol, polifenol, dan squalene. VCO mengandung asam laurat yang mempunyai sifat antimikroba, antiviral, antijamur dan antibakteri. Hidrolisis parsial VCO (HVCO) menggunakan lipase dari *Rhizomucor miehei* yang aktif pada posisi sn-1,3 dalam molekul trigliserida menghasilkan asam lemak bebas dan 2-monogliserida terutama campuran asam laurat dan monolaurin antibakteri yang lebih aktif. VCO dan HVCO telah diuji dengan metode *in vivo* dan terbukti aktif dalam penyembuhan luka dan lebih aktif dibandingkan dengan bioplacenton sebagai obat standar penyembuhan luka bakar. (Meliala *et al.*, 2019)

Minyak kelapa (*Cocos nucifera*) masih merupakan produk yang kurang dikenal, diperoleh melalui perasan dingin kopra kelapa kering. Ia memiliki sifat antibakteri, antivirus, antimikotik dan banyak lainnya. Ini mengandung 92% asam jenuh, 49% di antaranya adalah asam laurat, asam lemak jenuh rantai sedang. Jenuh rantai menengah dan produk turunannya (misalnya monogliserida) efektif dalam menghancurkan berbagai macam bakteri (bakteri berlapis lipid) yang menghancurkan membran lipidnya. Obat ini efektif, misalnya, melawan bakteri penyebab tukak lambung, sinusitis, keracunan makanan, infeksi saluran kemih, dan karies. (Ripari *et al.*, 2020a)

Saat ini VCO mempunyai berbagai efek dan manfaat positif bagi kesehatan manusia sehingga sering dikonsumsi dan dikenal luas sebagai pangan fungsional



yang memiliki VCO mengandung asam laurat (45 hingga 52%). Oleh lipase dalam VCO dapat mengalami pemecahan menjadi asam laurat, 1-monolaurin. Komponen-komponen ini mempunyai gugus urat dan monolaurin dapat digunakan sebagai antibakteri, rus dengan penghambatan spektrum luas. Asam laurat dan kemampuan yang kuat untuk menghancurkan bakteri gram

positif, terutama *S. aureus*, jamur seperti *C. Albicans*, dan virus termasuk vesicular stomatitis virus (VSV), herpes simplex virus (HSV), dan visna virus (VV). Asam laurat dan monolaurin berinteraksi dengan gugus fungsi tertentu yang terletak pada membran sel dan dapat menyebabkan kerusakan pada sel. Secara umum potensi VCO sebagai pangan sehat disumbangkan oleh asam laurat dan monolaurin yang bersifat antimikroba. (Nitbani *et al.*, 2022)

Minyak kelapa murni (VCO) sebagian besar terdiri dari trigliserida rantai menengah, yang tahan terhadap peroksidasi. Asam lemak dalam minyak kelapa murni berbeda dengan lemak hewani yang sebagian besar mengandung asam lemak jenuh rantai panjang. Minyak kelapa murni tidak berwarna, bebas sedimen dengan aroma kelapa segar alami. Minyak ini bebas dari bau atau rasa tengik sedangkan minyak kelapa olahan dimurnikan melalui netralisasi dengan alkali, diputihkan dengan bahan pemutih atau karbon aktif atau keduanya dan dihilangkan baunya dengan uap; tidak ada bahan kimia lain yang digunakan. Salah satu perbedaan paling mencolok antara minyak kelapa murni dan minyak kelapa biasa adalah rasa dan aromanya. Meskipun Minyak Kelapa Murni memiliki aroma dan rasa kelapa tropis yang lezat, Minyak Kelapa yang dimasak secara Reguler memiliki aroma dan rasa kelapa yang ringan. (Peedikayil *et al.*, 2021)

Polifenol adalah mikronutrien makanan berlimpah yang melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif. Beberapa fenol telah diidentifikasi dalam minyak kelapa seperti asam protocatechuic, vanillic, caffeic, ferulic, dan asam p-coumaric (Dimzon *et al.*, 2011). Marina dkk. dalam Williamson (2017) menemukan kandungan fenolik 7% lebih tinggi pada minyak kelapa murni dibandingkan minyak kelapa olahan. Jumlah polifenol tertinggi pada minyak kelapa murni hasil fermentasi dan terendah pada minyak kelapa olahan. (Peedikayil *et al.*, 2021)

Penelitian terkini menunjukkan bahwa VCO memiliki kemampuan untuk melembabkan luka, mempercepat metabolisme sel, serta memiliki sifat anti inflamasi dan anti infeksi pada luka bakar kimia. Minyak kelapa murni terbukti mempercepat waktu penyembuhan luka dan memiliki persentase efek penyembuhan tertinggi pada luka bakar kimia pada *Rattus Novergicus*. Penelitian yang dilakukan pada 18 ekor Sprague-Dawley dengan luka eksisi, membuktikan bahwa VCO mampu meningkatkan proliferasi fibroblas sehingga kepadatan serat kolagen meningkat, serta membantu mempercepat proses regenerasi jaringan. Periodontitis dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan lunak dan keras di rongga mulut. VCO dipercaya memberikan banyak manfaat bagi kehidupan sehari-hari yang kesehatan. Asam laurat yang banyak terdapat pada VCO aringan lunak yang rusak akibat peradangan. (Thahir *et al.*,



minyak kelapa murni dengan cara tradisional yang biasa rebus santan terus menerus hingga didapatkan minyak kelapa

namun cara ini dianggap tidak baik karena dapat menyebabkan minyak cepat berbau tengik dan warna pada minyak berubah coklat akibat proses oksidasi pada saat perebusan. Sistem enzimatik dan sistem pancingan dinilai berbeda dengan sistem tradisional karena keduanya dilakukan tanpa menggunakan pemanasan. Enzim merupakan senyawa protein yang dapat mengkatalisis reaksi-reaksi kimia dengan maksud mempercepat reaksi pada reaktan melalui penurunan energi aktivasi. Virgin Coconut Oil (VCO) dihasilkan melalui reaksi enzimatik menggunakan papain yang merupakan salah satu enzim proteolitik dalam getah pepaya. Papain mengkatalisis suatu substrat melalui reaksi hidrolisis dengan pertolongan molekul air. Pembuatan minyak kelapa murni dengan cara pancingan dilakukan dengan memancing minyak dalam santan dengan minyak kelapa murni yang sudah jadi. Teknologi ini memanfaatkan reaksi kimia sederhana, dimana santan adalah campuran air dan minyak. Kedua senyawa ini bisa bersatu karena adanya molekul protein yang mengelilingi molekul-molekul minyak. Dengan teknik pancingan, molekul minyak dalam santan ditarik oleh minyak VCO sampai akhirnya bersatu. Tarikan itu membuat minyak terlepas dari air dan protein. Minyak yang dihasilkan adalah minyak kelapa dengan kualitas tinggi yang disebut Virgin Coconut Oil (VCO). (Rindawati, Perasulmi and Wibowo Kurniawan, 2020)

Proses pembuatan VCO dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu VCO dari daging buah kelapa yang masih segar dikenal dengan proses basah karena di dalam prosesnya, ditambahkan air untuk mengekstrak minyak, sedangkan pembuatan VCO dengan kopra mentah dikenal dengan proses kering. Proses pemanasan pada pembuatan VCO menghasilkan senyawa yang mengandung asam laurat, sehingga mempunyai sifat antibakteri. (Thahir *et al.*, 2022)

Perbedaan utama antara kedua proses tersebut ada pada minyak yang dihasilkan. Pada pengelolaan cara kering, bahan baku yang digunakan belum siap konsumsi sehingga minyak yang dihasilkan masih dalam bentuk minyak kelapa kasar (Crude Coconut Oil, CCO). Minyak kelapa kasar memiliki kandungan asam lemak bebas yang relatif tinggi dan untuk mengubahnya menjadi layak konsumsi, minyak kelapa kasar harus melalui tahapan proses pemurnian seperti refining, bleaching, dan deodorizing. Maka produk akhir yang dihasilkan berupa minyak kelapa dengan karakteristik berwarna kekuningan, tak berasa dan tidak berbau, sedangkan pengelolaan cara basah menghasilkan minyak kelapa siap konsumsi tanpa mengalami proses pemurnian. (Kusuma and Putri, 2020)



### 1.2.7 Sintesa Penelitian

Tabel 3. Tabel Sintesa Penelitian

No	Penulis	Tahun	Judul	Kesimpulan
1	Francesa Ripari et al (Ripari <i>et al.</i> , 2020b)	2020	The Role of Coconut Oil in Treating Patients Affected by Plaque-Induced Gingivitis: A Pilot Study	Bahan dan Metode Sampel 20 pasien dibagi menjadi dua kelompok: kelompok studi dan kelompok kontrol. Dalam kelompok studi, minyak kelapa, dalam bentuk obat kumur, diberikan kepada sampel pasien yang terkena radang gusi, berusia antara 18 dan 35. Protokol menetapkan aplikasi harian produk selama 30 hari, dimana parameter klinis untuk pembentukan plak dan gingivitis, dilihat dari indeks plak (PI), indeks perdarahan (BI). Kelompok kontrol tidak mengasosiasikan coadjuvan dengan prosedur kesehatan mulut harian normal dan parameter klinis yang sama dievaluasi pada t0 dan setelah 30 hari (t1). Berdasarkan data yang dikumpulkan menunjukkan perbaikan yang signifikan dalam mengurangi pembentukan plak dan gingivitis
2	Sandeep R. Varma et al (Varma <i>et al.</i> , 2018)	2017	In vitro anti-inflammatory and skin protective properties of Virgin coconut oil	Garis sel dan pemeliharaannya, Bahan kimia, Kromatografi gas-analisis FID, viabilitas sel, ELISA untuk pengukuran sitokin, ELISA untuk involucrin dan fibgrin, Semi-kuantitatif RT-PCR, Uji iritasi kulit dan fototoksitas, studi penghambatan UV dengan uji spesies oksigen reaktif. Studi menunjukkan aktivitas anti inflamasi VCO dengan menekan penanda peradangan dan melindungi kulit dengan meningkatkan fungsi pelindung kulit.



3	Putri Dafriani et al (Dafriani et al., 2020)	2020	Virgin Coconut Oil (VCO) Accelerated Wound Healing Process in Diabetes mellitus (DM) Patients With Diabetic Ulcer in dr. Rasidin Hospital, Padang, Indonesia	<p>Penelitian ini dilaksanakan di Instalasi Rawat Inap RS Dr Rasidin Padang Sumatera Barat, Indonesia, merupakan penelitian eksperimen semu. Partisipan penelitian adalah penderita DM ulkus yang terbagi menjadi 2 kelompok, 8 penderita pada kelompok kontrol, dan 8 penderita pada kelompok intervensi. Kelompok kontrol diberikan perawatan luka dengan menggunakan NaCl 0,9% dan kelompok intervensi dilakukan perawatan luka dengan NaCl 0,9% ditambah VCO.</p> <p>Adanya perbedaan yang bermakna pada luka permukaan antara kelompok kontrol dan kelompok intervensi. VCO membantu penyembuhan luka dengan mengurangi luas permukaan luka.</p>
4	Jansen Silalahi et al (Silalahi et al., 2019)	2019	The Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil to Increase Proliferation and Cyclooxygenase-2 Expression towards on NIH 3T3 Cell Line in Wound Healing Process	<p>Sampel yang digunakan adalah VCO (VCO). VCO dihidrolisis sebagian menggunakan lipase dari <i>Rhizomucor miehei</i> untuk menghasilkan VCO terhidrolisis (HVCO) yang terdiri dari asam lemak bebas, 2-monogliserida. Kemudian nilai asam ditentukan. Pengaruh HVCO terhadap proliferasi dievaluasi menggunakan metode MTT. Uji penyembuhan luka dilakukan dengan metode migrasi sel, dan ekspresi COX-2 ditentukan menggunakan RT-PCR.</p> <p>HVCO terbukti efektif untuk meningkatkan proliferasi sel dan proses penyembuhan luka. Aktivitas Hydrolyzed VCO untuk Meningkatkan Proliferasi</p>



dan Ekspresi Cyclooxygenase-2 terhadap Garis Sel NIH 3T3 dalam Proses Penyembuhan Luka

5	Hasanuddin Thahir et al (Thahir et al., 2022)	2022	Virgin Coconut Oil as a New Concept for Periodontal Tissue Regeneration via Expressions of TNF- $\alpha$ and TGF- $\beta$ 1	VCO dibuat dari buah kelapa segar yang diparut dan didiamkan hingga 24 jam, sehingga didapatkan minyak kelapa murni yang tidak berwarna dan tidak berbau, yang kemudian dicampurkan dengan NaCMC untuk mendapatkan viskositas berbentuk gel. Tikus wistar kemudian dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok perlakuan kombinasi SRP dan gel VCO, kelompok kontrol positif dilakukan SRP dan pemberian gel metronidazole, dan kelompok kontrol negatif hanya dilakukan SRP saja. Dan pada hari ke-7 dan ke-14 dilakukan sacrificed dan pengambilan sampel rahang untuk melihat jumlah ekspresi TNF-a dan TGF-B1 pada proses regeneratif jaringan periodontal. Gel VCO dapat mempengaruhi ekspresi TNF-a dan TGF-b1 pada proses regenerasi jaringan periodontal tikus wistar yang diinduksi periodontitis dinyatakan dengan jumlah TNF-a dan TGF-b1 meningkat secara signifikan pada kelompok perlakuan, namun tidak setinggi peningkatan pada kelompok kontrol positif dan kontrol negatif
	et al	2012	Virgin Coconut Oil Supplementation Prevents Bone Loss in Osteoporosis	VCO didapat dari hasil fermentasi 48 jam santan yang diperas dengan air kelapa, menghasilkan tiga lapisan, dimana lapisan kedua adalah VCO, lalu disaring untuk menghilangkan ampas kelapa,



Rat Model	<p>terakhir minyak dipisahkan dari lapisan bawah. Tikus betina dikelompokkan secara acak dibagi atas dua kelompok. Kelompok pertama diinduksi ovariektomi (OVX) tanpa perlakuan dan kelompok kedua diinduksi OVX dan diberi VCO 8% pada makanannya selama 6 minggu. Histomorfometri tulang femur kanan dilakukan di akhir penelitian.</p> <p>Tikus yang diberi VCO memiliki volume tulang dan jumlah trabekular yang lebih besar secara signifikan. Kesimpulannya, VCO efektif dalam mempertahankan struktur tulang dan mencegah pengeroposan tulang pada model tikus yang kekurangan estrogen</p>
-----------	--

### 1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Apakah VCO efektif terhadap penyembuhan jaringan pada periodontitis yang diinduksi *P. gingivalis* pada Ratus Norvegicus melalui analisis ekspresi PDGF ?

### 1.4 Hipotesa

Penambahan Gel VCO pada perawatan periodontitis pada Ratus Norvegicus yang diinduksi bakteri *P. gingivalis* memberikan pengaruh terhadap peningkatan ekspresi PDGF dan regenerasi jaringan periodontal.

### 1.5 Tujuan Penulisan

#### 1.5.1 Tujuan umum

Penelitian ini dilakukan untuk melihat efektivitas aplikasi gel VCO terhadap regenerasi jaringan periodontal.



Penelitian ini untuk melihat analisis ekspresi PDGF setelah pemberian konvensional (SRP), gel VCO, dan Metronidazole pada Ratus Norvegicus yang diinduksi bakteri *P. gingivalis* pada hari ke-7 dan hari ke-21.

2. Penelitian ini untuk melihat peningkatan ekspresi PDGF setelah pemberian perlakuan terapi konvensional (SRP), gel VCO, dan Metronidazole pada Ratus Norvegicus setelah induksi bakteri *P. gingivalis* pada hari ke-7 dan hari ke-21.

3. Penelitian ini untuk melihat perbandingan efektifitas antara Gel Metronidazole dan Gel VCO terhadap periodontitis yang diinduksi bakteri *P.gingivalis* pada Ratus Norvegicus

## **1.6 Manfaat Penelitian**

### **1.6.1 Manfaat Pengembangan Ilmu**

Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi aplikasi gel VCO pada perawatan regeneratif penyakit periodontal.

### **1.6.2 Manfaat Praktis**

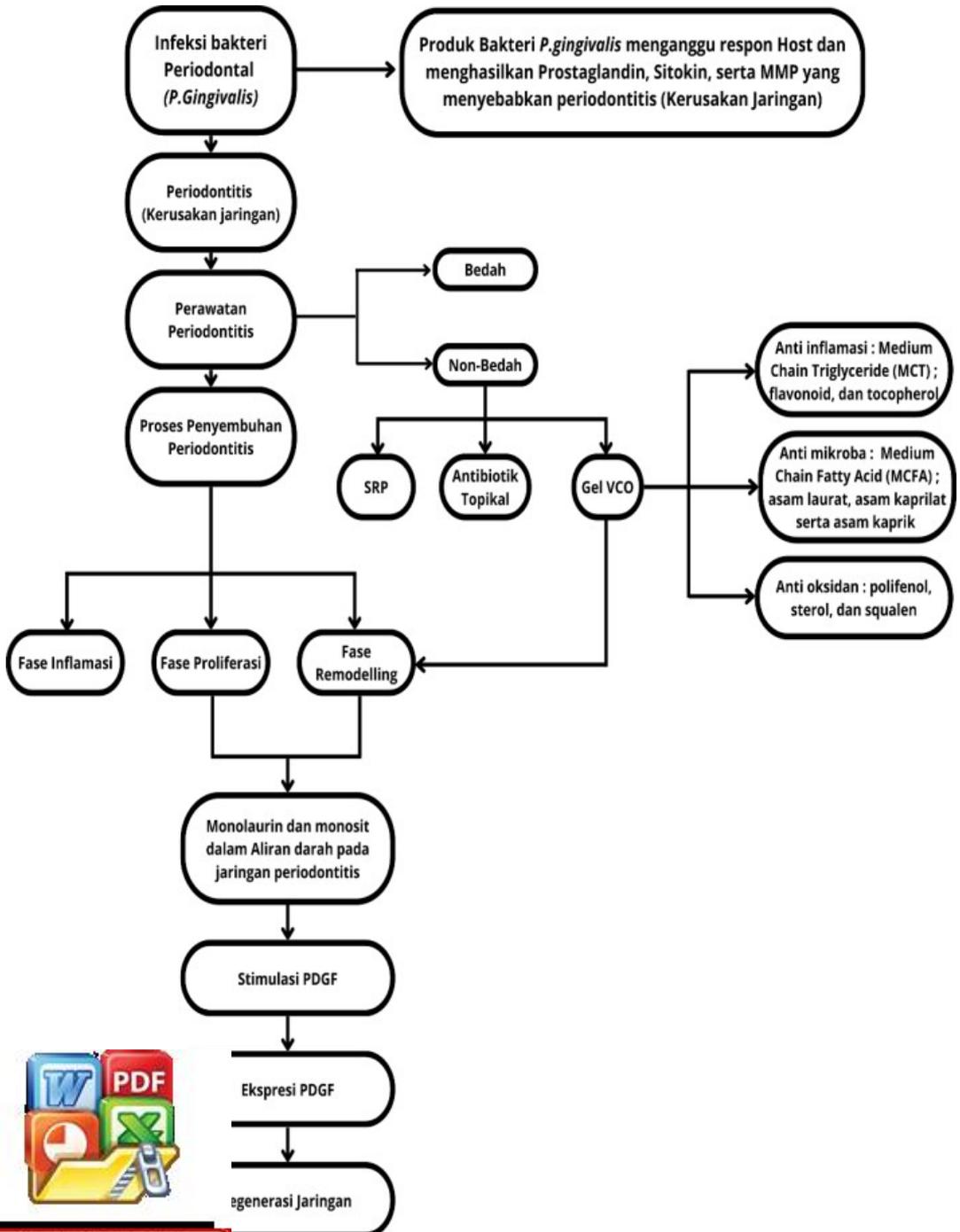
a. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi secara ilmiah mengenai pengaruh aplikasi gel VCO pada perawatan periodontitis dalam meningkatkan regenerasi jaringan lunak.

b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan alternatif pengobatan pada proses regenerasi jaringan periodontal pada penyakit periodontitis.

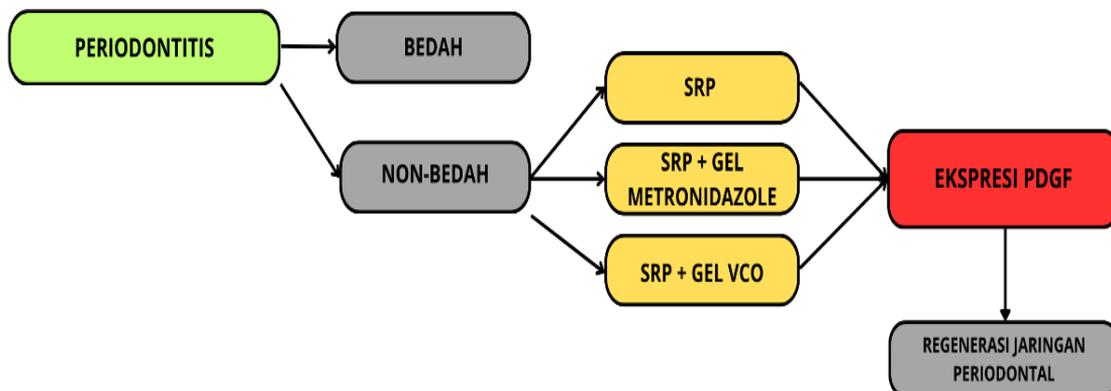


## 1.7 Teori Konseptual

### 1.7.1 Kerangka Teori



### 1.7.2 KERANGKA KONSEP



 : VARIABEL KENDALI

 : VARIABEL BEBAS

 : VARIABEL TERIKAT

### 1.7.3 Deskripsi Teori Konseptual

Penelitian ini didasarkan pada hipotesa yaitu penambahan Gel VCO sebagai alternatif perawatan periodontitis kronis memberikan efek terhadap peningkatan ekspresi PDGF dan mempercepat regenerasi jaringan periodontal. Perawatan periodontitis dibagi dalam dua garis besar yakni perawatan bedah dan non-bedah. Pada penelitian ini berfokus pada perawatan non-bedah untuk melihat ada periodontitis yang diinduksikan pada *Ratus Norvegicus*.



*Ratus Norvegicus* sebelumnya diinduksi dengan bakteri membentuk periodontitis.

Salah satu utama VCO yakni Asam Laurat menurut beberapa teori mampu sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan. Asam laurat ini akan teroksidasi berubah bentuk menjadi Monolaurin dan Monosit dalam

darah yang menstimulasi beberapa faktor pertumbuhan salah satunya *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF). PDGF ini nantinya menginduksi kolagen untuk menghasilkan fibroblast yang penting untuk regenerasi jaringan.

Platelet Derived Growth Factor (PDGF) ini menstimulasi proliferasi dan kemotaksis osteoblast, fibroblast, dan sementoblas untuk menginisiasi terjadinya regenerasi periodontal. Terdapat tiga kelompok penelitian dengan perlakuan yang berbeda, kelompok kontrol negative merupakan kelompok sampel yang hanya diberikan perlakuan scaling dan root planning saja, kelompok kontrol positif adalah kelompok sampel yang diberi tindakan SRP serta aplikasi gel metronidazole. Kelompok ketiga adalah kelompok perlakuan diaman kelompok sampel ini diberi tindakan SRP serta pengaplikasian Gel VCO.

Aplikasi gel VCO sebagai alternatif perawatan pada periodontitis dibandingkan dengan gel antimikroba (gel metronidazole) untuk melihat kemampuan dalam regenerasi periodontal melalui ekspresi growt factor dalam hal ini PDGF.



## BAB II

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

##### 2.1.1 Tempat Penelitian

- Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar tempat pembuatan gel Virgin Coconut Oil (VCO).
- Laboratorium Politeknik Kimia Universitas Hasanuddin tempat pengujian dan analisis kandungan gel VCO.
- Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin tempat pengambilan bakteri *P.Gingivalis* ATCC 33277.
- Klinik Hewan Docpet Makassar tempat pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba penelitian.
- Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin tempat pembuatan preparat jaringan hewan coba penelitian.
- Laboratorium Biokimia – Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya tempat pewarnaan dan penghitungan jumlah makrofag secara histologis.

##### 2.1.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Maret 2024- Juli 2024.

#### 2.2 Bahan dan Alat Penelitian

##### 2.2.1 Alat dan Bahan Pembuatan Gel VCO

**Alat pembuatan gel VCO:**

1. Saringan
2. Mikser
3. Selang
4. Wadah untuk santan



mekanik

er

ngaduk

10. Blender

11. Cawan

### **Bahan pembuatan gel VCO**

1. Kelapa yang diparut

2. NaCMC

3. Aquadest

4. Carbopol

5. Gliserin

6. PGA

## **2.2.2 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba**

### **Alat Pemeliharaan Hewan Coba**

1. Spoit 1 cc

2. Spoit 3 cc

3. Blade 11 dan 15

4. Kasa dan kapas steril

5. Kandang hewan

6. Handscoen

7. Masker

8. Nierbeken

9. Pinset anatomis

10. Pinset jaringan

11. Probe periodontal

12. Kuret Gracey



aca penyimpanan specimen

n hewan coba

stesi ketamin 20 mg/kg BB tikus wistar

2. Gel metronidazole
3. Formalin 10% buffer
4. Eter
5. Larutan NaCl
6. Betadine
7. Alkohol 70%

### 2.2.3 Alat dan Bahan Perlakuan Hewan Coba

#### Induksi periodontitis pada tikus wistar

- Alat induksi periodontitis hewan coba

1. Spoit 1 cc
2. Gunting
3. Pinset anatomi
4. Pinset jaringan
5. Handscoen
6. Masker

- Bahan induksi periodontitis hewan coba

1. Bakteri P.Gingivalis
2. Bahan anestesi ketamin
3. Silk ligature
4. Betadine

### 2.3 Metode Penelitian

#### 2.3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian the posttest only control group design yang menggunakan tikus wistar.



#### Number Data (Penentuan Besar Sampel)

akan 3 kelompok perlakuan, yaitu:

kuan (pemberian SRP + gel VCO)

2. Kelompok 2 : kelompok kontrol positif (pemberian SRP + gel metronidazole)
3. Kelompok 3 : kelompok kontrol negatif (pemberian SRP)

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

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

$$(n - 1) \times (6-1) \geq 15$$

$$(n - 1) \geq 15/5$$

$$n \geq 3 + 1$$

$$n \geq 4 = 5 \text{ ekor}$$

keterangan:

n = jumlah pengulangan perkelompok

t = jumlah kelompok penelitian

Dari hasil perhitungan dibutuhkan 4 tikus wistar pada setiap kelompok. Untuk mencegah terjadinya loss control terhadap sampel maka besar sampel ditambahkan menjadi 5 ekor setiap kelompok sehingga jumlah total sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus wistar Jantan.

### Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah Rattus Norvegicus dengan persyaratan sebagai berikut:

#### - Kriteria Inklusi

1. Tikus wistar berjenis kelamin Jantan
2. Berat 200-250 gram
3. Usia 6-8 bulan
4. Tikus dalam keadaan sehat secara klinis dan sebelumnya tidak pernah terpapar dengan zat beracun penelitian



berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi selama 7

### 2.3.3 Definisi Operasional

- a. Gel VCO dibuat dari daging buah kelapa yang menjadi bahan dasar pembuatan minyak kelapa murni yang kemudian dijadikan bentuk gel untuk memudahkan aplikasi pada sulkus gingiva.
- b. Bakteri *porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri yang didapat dan disubkultur kemudian menjadi suspensi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- c. Ekspresi PDGF diamati pada sediaan histologis dari ketiga kelompok tikus dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia mikroskop binokuler dengan pembesaran 1000x dengan menggunakan antibodi primer yang ditetaskan di atas sediaan kemudian dihitung ekspresi PDGF. Jumlah makrofag dihitung pada seluruh lapang pandang pada tiga preparat, kemudian dihitung rata – ratanya.
- d. Periodontitis adalah penyakit periodontal pada *Rattus Norvegicus* yang diinduksi bakteri *Porphyromonas Gingivalis* dan ligature silk pada gigi anterior bawah *Rattus Norvegicus*, yang ditandai dengan perubahan warna pada gingiva dan bertambahnya kedalam poket periodontal.

## 2.4 Pelaksanaan Penelitian

### 2.4.1 Persiapan penelitian

#### - Pembuatan Gel VCO

Buah kelapa yang matang di pohon diambil dagingnya kemudian diparut. Untuk membuat 500 ml VCO dibutuhkan kurang lebih 10 biji buah kelapa. Kelapa kemudian diparut, dan diambil santannya, kemudian ditambahkan air sebanyak  $\pm$  10 liter air, diperas lalu disaring. Hasil perasan buah kelapa tadi kemudian dimasukkan ke dalam toples besar setelah itu didiamkan selama 1,5 jam, sampai air perasan terpisah menjadi dua bagian, yaitu bagian krim dan skim. Lapisan krim kemudian di mikser dengan putaran sedang selama 15 menit. Lalu krim dimasukkan ke dalam toples kecil dan dibiarkan (diperam) selama 24-48 jam serta ditutup dengan tutup toples agar krim tidak terkena debu atau serangga. Setelah 48 jam, terlihat bahwa krim tersebut sudah terbagi menjadi 3 lapisan yaitu VCO, gelendo (protein) dan air. Minyak dipisahkan dari gelendo dengan kertas saring, yang kemudian didapatkan VCO yang jernih, tidak berbau, dan berkualitas baik.



Untuk pembuatan gel VCO, Bahan A yang mengandung VCO ditambahkan dengan bahan B yang mengandung NaCMC dengan konsentrasi 0,5 ml Aquades kemudian ditambahkan Carbopol 1% ditambahkan 5% ditambah Gliserin 5% hingga mencapai 500 ml. Setelah itu Bahan B dicampur dan dihomogenkan dengan homogenizer, lalu dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup rapat dan tidak terpapar matahari.

## **Pemeliharaan pada *Rattus Norvegicus* (Tikus Wistar Jantan)**

### **- Pemeliharaan hewan coba tikus wistar**

Tikus wistar jantan yang berjumlah 30 ekor dengan berat 200- 250 gram dipelihara dan diadaptasikan dalam kandang hewan coba sebelum dilakukan perlakuan. Tikus tidak boleh stress dengan menempatkannya pada tempat yang tenang dan bersih dengan intensitas cahaya dan sirkulasi udara yang baik. Kandang ditempatkan pada ruangan dengan ventilasi baik, cukup cahaya, tenang, tidak bising, suhu diatur pada suhu kamar 20° C dengan kelembaban berkisar 50%. Kandang dibersihkan 3 hari sekali. Bedding pada hewan coba dengan menggunakan sekam, dilakukan penggantian setiap tiga hari sekali. Tikus-tikus diberi makanan sesuai standart ADH pellets dan minum adalah libitum (tak terbatas). Monitoring kesehatan lingkungan dan hewan coba dilakukan setiap hari.

### **- Mempersiapkan koloni bakteri periodontitis**

Mempersiapkan koloni bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Hasanuddin. Koloni bakteri yang akan diinduksi ke tikus wistar adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Dibuat media biakan perliter: 5g yeast extract, 5g pepton, 200ml darah kambing fill up menjadi 1 liter. Selanjutnya di autoclave selama 15 menit. Setelah media dingin diinokulasi 1 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan inkubasi pada suhu 35o C, dengan kerapatan populasi sebesar 2 x 10<sup>8</sup> CFU/ml.

## **2.4.2 Jalannya Penelitian**

### **- Induksi Periodontitis**

Sebelum induksi periodontitis, tikus dianestesi menggunakan ketamine HCl secara intramuscular pada otot paha belakang dengan dosis 0,2 ml/200 gr berat badan. Selanjutnya dilakukan pemasangan silk ligature pada gigi anterior bawah. Silk ligature diikatkan kuat-kuat di daerah servikal gigi dengan melilitkan pada gigi anterior supaya tidak mudah lepas. Infeksi pada jaringan periodontal tikus dilakukan dengan induksi LPS *P.gingivalis* pada sulkus gingiva gigi insisivus sentral rahang bawah sebanyak 0,5 µg satu kali sehari selama delapan hari. Dalam delapan hari diharapkan akan terjadi periodontitis yang ditandai dengan kemerahan dan pembengkakan pada gingiva, kehilangan perlekatan gingiva terhadap tulang alveolar dan poket yang dalam.



yakit periodontal pada tikus tentu jarang terjadi sehingga perlu periodontitis. Periodontitis diinduksi pada tikus dengan cara ari bahan sutra atau katun yang mengakibatkan retensi plak ingiva di sekitar gigi molar. Model induksi pada tikus dilakukan an memasang ligatur pada gigi anterior mandibula. Setelah 14 atur, hasil histopatologi menunjukkan tanda-tanda inflamasi eutrofil dan osteolisis alveolar. Akumulasi bakteri plak

menghasilkan toksin yang akan mengiritasi gingiva, toksin tersebut merangsang respons inflamasi kronis di mana tubuh akan bereaksi dengan sendirinya kemudian jaringan dan tulang yang menyokong gigi akan rusak. Gingiva akan terpisah dari gigi, membentuk kantong yang terinfeksi (ruang antara gigi dan gingiva).. (Dharmawati *et al.*, 2019)

#### - Perlakuan Hewan Coba

a) Penentuan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol Jumlah sampel 30 ekor tikus wistar, dibagi dalam 3 kelompok, yaitu kelompok perlakuan 10 ekor, kelompok kontrol positif 10 ekor, dan kontrol negatif 10 ekor.

b) Dilakukan anestesi umum menggunakan ketamin pada tikus wistar, kemudian dilakukan desinfeksi pada daerah labial rahang bawah menggunakan betadine, selanjutnya silk ligature dilepaskan. Lalu dilakukan skaling, root planing dikombinasikan dengan kuretase menggunakan kuret gracey.

c) Setelah dilakukan skaling root planing pada setiap hewan coba. Kelompok perlakuan kemudian diaplikasi gel VCO sebanyak 1 ml kedalam poket periodontal dengan menggunakan spoit 1 ml dan jarum insulin tanpa bevel secara perlahan selama 30 detik, kelompok kontrol positif diaplikasikan gel metronidazole sebanyak 1ml kedalam soket periodontal menggunakan spoit 1 ml dan jarum insulin tanpa bevel secara perlahan selama 30 detik dan kelompok kontrol negative tidak diaplikasikan apapun. Aplikasi dilakukan 1x sehari selama 3 hari.

d) Tikus disacrificed pada hari ke 7 dan 21 hari setelah aplikasi gel VCO. Sebanyak 5 ekor dari masing-masing kelompok. Setiap dikorbankan, jaringan dipotong, dicuci dalam aquades. Setiap specimen dibungkus menggunakan kemas saring supaya tidak terlipat, direndam dalam botol berisi buffer formalin 10%.

#### 2.4.3 Parameter Pengamatan

##### - Tahapan Pembuatan Preparat

Jaringan yang diambil saat sacrificed jaringan pada hari ke 7 dan hari ke 21 kemudian dibuat preparat untuk pemeriksaan imunohistokimia.

Preparat berukuran kecil, tipis dan transparan sehingga dapat ditembus oleh cahaya. Untuk memperoleh preparat tersebut dapat dibuat dengan beberapa macam metode, salah satu metode membuat preparat adalah metode paraffin.

Metode paraffin merupakan cara pembuatan preparat permanen dengan in sebagai media embedding dan diris dengan ketebalan cron. Pembuatan preparat metode paraffin melalui beberapa tu: fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi, deparafinisasi, atau penutupan. (Faluti, Mardawati and Fatmawilda, 2022)



## - Tahapan Pemeriksaan Imunohistokimia

Pengamatan pada sediaan histologis dari kedua kelompok tikus tersebut menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dengan menggunakan antibody primer PDGF ditetaskan diatas sediaan kemudian dihitung jumlah ekspresi pada seluruh lapang pandang pada tiga preparat untuk tiap sampelnya, kemudian dihitung rata-ratanya.

Imunohistokimia (immunohistochemistry / IHC) merupakan teknik pewarnaan histologi yang memungkinkan pendeteksian antigen jaringan (marker) pada berbagai spesimen dengan menggunakan prinsip interaksi antigen-antibodi yang spesifik. Antibodi digunakan untuk memvisualisasikan bagian tertentu dari jaringan. Imunohistokimia diambil dari nama “immune” yang menunjukkan prinsip dasar dalam proses ini ialah respon imun yaitu reaksi antara antigen dan antibodi, serta “histo” yang menunjukkan jaringan secara mikroskopis. (Pertiwi, 2015)

Setelah preparat jaringan yang sudah direkatkan pada kaca obyek siap, langkah awal tahap pengecatan imunohistokimia (IHC) adalah deparafinisasi dan rehidrasi. Deparafinisasi merupakan proses untuk menghilangkan parafin yang terdapat pada jaringan menggunakan xylene (xylol) dan kemudian rehidrasi dengan pengenceran etanol bertingkat untuk menghilangkan parafin yang ada dalam jaringan. Langkah selanjutnya adalah memblokir aktivitas endogen peroksidase dengan larutan hidrogen peroksidase (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (3% dalam buffer) untuk meminimalkan munculnya pewarnaan background yang akan mengganggu pengamatan. Setelah ini, dilakukan antigen retrieval yaitu upaya memunculkan epitop antigen untuk meningkatkan intensitas warna antibodi yang mungkin melemah karena proses fiksasi dan parafinisasi. Metode antigen retrieval yang umum digunakan adalah induksi panas (dinamakan juga heat induced epitope retrieval / HIER) atau dengan enzim proteolitik. HIER dilakukan dengan perendaman dalam buffer sitrat atau Tris-EDTA sebelum dipanaskan dengan mesin HIER, microwave, boiling, steamer, waterbath atau inkubator. Setelah antigen retrieval, tahap berikutnya adalah protein blocking untuk memblokir protein tidak spesifik yang ada pada jaringan yang berpotensi mengganggu ikatan antigen-antibodi. Protein blocking dapat dilakukan menggunakan normal serum, atau larutan blocking seperti bovine serum albumin (BSA), gelatin dan tryptone casein peptone. Tibalah langkah yang krusial yaitu tahap antibodi primer dimana bisa menggunakan antibodi monoklonal atau poliklonal. Inkubasi antibodi primer bervariasi durasi maupun suhu lingkungannya. Antibodi sekunder lalu berikatan dengan antibodi primer tersebut (yang sudah teridentifikasi pada jaringan). Pada tahap akhir kromogen memvisualisasikan kompleks antigen-antibodi tersebut. Jika tambahkan pewarnaan latar belakang tambahan (counterstain) an hematoksilin. Kaca preparat kemudian ditutup dengan dibawah mikroskop cahaya. .(Pertiwi, 2015)



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) .(Pertwi, 2015)

#### **2.4.4 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 t-test independent dan penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik



### 2.4.5 Alur Penelitian

