



**PENGARUH GELATIN IKAN PATIN  
(*Pangasius djambal*) TERHADAP EKSPRESI  
*EPIDERMAL GROWTH FACTOR* PADA LUKA PASCA  
PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI  
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

**OLEH:  
VARELLIA AWANG WANGI KARDIKADEWI  
NIM. 155070407111019**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTER GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2019**



## HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

### **PENGARUH GELATIN IKAN PATIN (*Pangasius djambal*) TERHADAP EKSPRESI *EPIDERMAL GROWTH FACTOR* PADA LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Oleh:

**VARELLIA AWANG WANGI KARDIKADEWI**

**155070407111019**

Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal 7 Januari  
2019 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui,  
Pembimbing

**drg. Fredy Mardiyantoro Sp.BM**  
**NIK. 2012088303181001**

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

**drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG**  
**NIP. 198004092008122004**

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 27 Februari 2019

Yang menyatakan,

Varellia Awang Wangi K.

NIM. 155070407111019

## ABSTRAK

Varellia Awang Wangi Kardikadewi, NIM: 155070407111019, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang. 2019. **“PENGARUH GELATIN IKAN PATIN (*Pangasius djambal*) TERHADAP EKSPRESI EPIDERMAL GROWTH FACTOR PADA LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)”**. Pembimbing: drg. Fredy Mardiyantoro, Sp. BM.

Proses pencabutan gigi sering menimbulkan luka baik di jaringan lunak maupun jaringan keras. Saat terjadi luka, beberapa *growth factor* dilepaskan bersamaan dengan mediator inflamasi lainnya salah satunya adalah EGF Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) diketahui memiliki banyak kandungan asam amino glisin yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah ekspresi EGF pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok sampel, terdiri dari kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P) pada hari ketiga, kelima, dan ketujuh pasca dilakukannya ekstraksi gigi. Sampel dilakukan pewarnaan menggunakan metode imunohistokimia dan hasil pengamatan ekspresi EGF diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Setelah ditemukan jumlah rerata ekspresi EGF, kemudian dilakukan uji analisis menggunakan *one way ANOVA* dan didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah ekspresi EGF kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dimana nilai ekspresi EGF terendah yaitu pada kelompok kontrol hari ketiga dan nilai ekspresi EGF tertinggi yaitu pada kelompok perlakuan hari ketujuh. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

**Kata kunci** : EGF, gelatin ikan patin, glisin, pencabutan gigi.

## ABSTRACT

Varellia Awang Wangi Kardikadewi, NIM 155070407111019, Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang, 2019. **“The Effect of Patin Fish (*Pangasius djambal*) Gelatine to the Expression of *Epidermal Growth Factor* in Wound After White Rat’s (*Rattus norvegicus*) Tooth Extraction”**, Supervisor: drg.Fredy Mardiyantoro, Sp. BM.

A tooth extraction process often causes injury both in soft and hard tissue. When a wound occurs, several *growth factors* are released together with other inflammatory mediators, one of them is EGF to help the wound healing process. Gelatine is known to have a lot of amino acid *glycine* that plays an important role in wound healing process. The purpose of this study was to determine the effect of patin fish (*Pangasius djambal*) gelatin to the number of EGF expression in wound after white rat’s (*Rattus norvegicus*) tooth extraction. There were six samples groups in this study, consisting of the control groups (K) and the treatment groups (P) on third, fifth and seventh days after the tooth extraction. The samples were stained using *immunohistochemical* methods and continued with observing the EGF expressions using a light microscope with 400x magnification. After getting the average number of EGF expressions, the next step is doing an analysis using *one way ANOVA* method and can be found a significant difference between the number of EGF expression in control and treatment groups, there were the lowest EGF expression number was found in the third day of the control group while the highest EGF expression number was found in the seventh day of the treatment group. The conclusion of this study is the patin fish (*Pangasius djambal*) gelatin has an effect to increase the number of EGF expression in wound after white rat’s (*Rattus norvegicus*) tooth extraction.

**Keywords:** EGF, patin fish gelatine, glycine, tooth extraction



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT sang Maha Pencipta dan pengatur alam semesta, karena atas rahmat, karunia, serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal tugas skripsi yang berjudul “Pengaruh Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi *Epidermal Growth Factor* pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*)”. Proposal tugas skripsi ini diajukan untuk memenuhi tugas mata kuliah Metodologi Penelitian Ilmiah 2.

Dalam proses penyusunan proposal ini penulis menyadari bahwa banyak rintangan dan hambatan yang dialami penulis, namun berkat dorongan, bantuan, semangat serta bimbingan dari dosen pembimbing serta orang-orang terdekat sehingga penulis dapat menyelesaikannya. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG. selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3. drg. Fredy Mardiyantoro, Sp.BM. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal tugas akhir ini dapat terselesaikan
4. drg. Rudhanton, Sp.Perio. selaku dosen penguji I yang telah meluangkan meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada penulis sehingga proposal tugas akhir ini dapat terselesaikan
5. drg. Miftakhul Cahyati, Sp.PM. selaku dosen penguji II yang telah meluangkan meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada penulis sehingga proposal tugas akhir ini dapat terselesaikan
6. Seluruh Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis
7. Mama, papa, adek, kakek dan nenek serta semua keluarga yang selalu memberikan doa, semangat, serta dorongan setiap harinya kepada penulis



8. Teman-teman penulis (Brilian Tita Putri, Dara Ayu Puteri A, Aisyah Ardani Ramadhanti, Syifa Aziza, Michelle Agustin Indrawan, Intan Lisnawati dan Khonita Rhofiasni) yang selalu memberi semangat, masukan, dan doa bagi penulis
9. Teman-teman kelompok proposal departemen Bedah Mulut (Dwika Harisa Andriani, Savira Putri Dianti, Uswatun Hasanah, Virginia Cornela, dan Abde Paraton) yang memberikan semangat dan menjadi partner yang sangat saling membantu, serta teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya angkatan 2015
10. Kakak-kakak kelompok proposal departemen Bedah Mulut tahun 2014 (Kak Hani, Kak Dena, Kak Denni, Kak Vica, Kak Bicky dan Kak Ihsan) yang memberikan banyak masukan dan saran bagi penulis dan teman-teman departemen Bedah Mulut 2015
11. Semua pihak yang telah memberi dukungan pada penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan membalas semua amal kebaikan mereka semua. Penulis sadar bahwa penulisan proposal tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna, karena keterbatasan kemampuan dan pengalaman penulis.

Oleh karena itu, segala bentuk masukan seperti kritik dan saran sangat membantu dan akan penulis terima dengan sangat senang hati.

Malang 27 Februari 2019

Penulis

**DAFTAR ISI**

Halaman

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum.....	4
1.3.2 Tujuan khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ekstraksi Gigi.....	6
2.1.1 Indikasi Ekstraksi Gigi.....	6
2.1.2 Kontraindikasi Ekstraksi Gigi.....	7
2.1.3 Komplikasi Ekstraksi Gigi.....	7
2.2 Luka.....	8
2.2.1 Fase Inflamasi.....	9
2.2.2 Fase Proliferasi.....	11
2.2.3 Fase Remodelling dan Maturasi.....	12
2.3 Proses Penyembuhan Luka Pasca Ekstraksi Gigi.....	13
2.3.1 Tahapan.....	13
2.4 <i>Growth Factors</i> .....	14
2.4.1 <i>Epidermal Growth Factor (EGF)</i> .....	15
2.5 Pewarnaan Imunohistokimia.....	17
2.5.1 Definisi.....	17
2.5.2 Prinsip Pewarnaan Imunohistokimia.....	18



2.5.3	Metode Pewarnaan Imunohistokimia	18
2.6	Gelatin	19
2.6.1	Definisi	19
2.6.2	Gelatin Ikan Patin	20
2.6.3	Pembuatan Gelatin Ikan	22
2.7	Ikan Patin	23
2.7.1	Definisi	23
2.7.2	Klasifikasi	24
2.7.3	Komposisi	25
2.8	Tikus Putih	28
2.8.1	Taksonomi Tikus Putih	28
2.8.2	Anatomi Gigi Tikus Putih	29
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b>		
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	31
3.2	Hipotesis Penelitian	33
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>		
4.1	Rancangan Penelitian	34
4.2	Sampel Penelitian	35
4.2.1	Jenis dan Kriteria Sampel	35
4.2.2	Jumlah Sampel	36
4.3	Variabel Penelitian	37
4.3.1	Variabel Bebas	37
4.3.2	Variabel Terikat	37
4.3.3	Variabel Kontrol	37
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian	39
4.4.1	Tempat	38
4.4.2	Waktu	38
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	38
4.5.1	Alat dan Bahan Pembuatan Gelatin Ikan Patin	38
4.5.2	Alat dan Bahan Pencabutan Gigi	39
4.5.3	Alat dan Bahan Perlakuan Hewan Coba	39
4.5.4	Alat dan Bahan Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Preparat	39
4.5.5	Alat dan Bahan Pewarnaan Imunohistokimia Indirek	39
4.6	Definisi Operasional	40
4.6.1	Ekstraksi Gigi Tikus	40
4.6.2	Soket Gigi	40
4.6.3	Gelatin Ikan Patin	40
4.6.4	<i>Epidermal Growth Factor (EGF)</i>	41



4.7	Prosedur Penelitian .....	41
4.7.1	Persiapan dan Perawatan Hewan Coba .....	41
4.7.2	Pembuatan Gelatin Ikan Patin .....	42
4.7.3	Pencabutan Gigi Tikus Putih .....	43
4.7.4	Pemberian Obat Analgesik Tikus Putih .....	44
4.7.5	Pemberian Gelatin Ikan Patin .....	44
4.7.6	Perawatan Tikus Putih .....	44
4.7.7	Pengambilan Sampel Jaringan .....	45
4.7.8	Pembuatan Sediaan Histolgi .....	46
4.7.9	Pewarnaan Imunohistokimia .....	46
4.7.10	Pengambilan Data .....	48
4.8	Analisis Data .....	48
4.9	Skema Prosedur Penelitian .....	50
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
5.1	Hasil .....	51
5.1.1	Hasil Penelitian .....	51
5.1.2	Analisis Data .....	56
5.1.2.1	Uji Normalitas .....	57
5.1.2.2	Uji Homogenitas .....	58
5.1.2.3	Uji <i>One way</i> ANOVA .....	58
5.1.2.4	Uji <i>Post Hoc</i> Multiple Comparisons .....	59
5.2	Pembahasan .....	61
<b>BAB 6. PENUTUP</b>		
6.1	Kesimpulan .....	66
6.2	Saran .....	67
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>68</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>75</b>



## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tahapan Penyembuhan Luka Jaringan Mukosa .....	9
Gambar 2. Mekanisme <i>Signaling</i> EGF .....	17
Gambar 3. Gambaran Ekspresi EGF .....	19
Gambar 4. Struktur Kimia Gelatin .....	20
Gambar 5. Perbandingan Gelatin Ikan Air Tawar dan Gelatin Komersial .....	21
Gambar 6. Ikan Patin ( <i>Pangasius djambal</i> ) .....	25
Gambar 7. Perbandingan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Patin .....	26
Gambar 8. Perbandingan Kandungan Asam Amino Beberapa Jenis Ikan Patin .....	27
Gambar 9. Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	29
Gambar 10. Anatomi Gigi Tikus .....	30
Gambar 11. Skema Kerangka Konsep .....	31
Gambar 12. Desain Rancangan Penelitian .....	34
Gambar 13. Ekspresi EGF Kelompok Kontrol Hari ke-3 (K1) .....	52
Gambar 14. Ekspresi EGF Kelompok Perlakuan Hari ke-3 (P1) .....	52
Gambar 15. Ekspresi EGF Kelompok Kontrol Hari ke-5 (K2) .....	53
Gambar 16. Ekspresi EGF Kelompok Perlakuan Hari ke-5 (P2) .....	53
Gambar 17. Ekspresi EGF Kelompok Kontrol Hari ke-7 (K3) .....	54
Gambar 18. Ekspresi EGF Kelompok Perlakuan Hari ke-7 (P3) .....	54
Gambar 19. Grafik Jumlah Ekspresi EGF .....	55

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Hasil Perhitungan Rerata dan Standar Deviasi Ekspresi EGF	56
Tabel 2. Uji Normalitas Ekspresi EGF	57
Tabel 3. Uji Homogenitas Ekspresi EGF	58
Tabel 4. Uji <i>One way</i> ANOVA Ekspresi EGF	59
Tabel 5. Tabel Uji Komparasi Multiple <i>Post Hoc</i> Ekspresi EGF	60



## DAFTAR SINGKATAN

EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EGF-R	<i>Epidermal Growth Factor-Receptor</i>
VEGF	<i>Vacular Endothelial Growth Factor</i>
VEGF-A	<i>Vacular Endothelial Growth Factor-A</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGF-2	<i>Fibroblast Growth Factor-2</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
TGF- $\alpha$	<i>Transforming Growth Factor- alpha</i>
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor- beta</i>
ECM	<i>Extracellular Matriks</i>
HIF-1 $\alpha$	<i>Hypoxia-inducible factor 1-alpha</i>
IGF	<i>Insulinlike Growth Factor</i>
IGF-1	<i>Insulinlike Growth Factor-1</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-2	<i>Interleukin-2</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
KGF	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
MMPs	<i>Matrix Metalloproteinases</i>
IHK/ IHC	<i>Imunohistokimia/ Imunohistochemistry</i>
Cys	<i>Cysteine (Protein)</i>
Tyr	<i>Tyrosine (Protein)</i>
Arg	<i>Arginine (Protein)</i>
Leu	<i>Leucine (Protein)</i>
FITC	<i>Fluorescein Isothiocynate/ rodhamin</i>
PE	<i>Poly Ether</i>
PBS	<i>Phospate Buffer Saline</i>
DAB	<i>Diaminobenzinidine</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
PDAM	<i>Perusahaan Daerah Air Minum</i>



## ABSTRAK

Varellia Awang Wangi Kardikadewi, NIM: 155070407111019, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang. 2019. **“PENGARUH GELATIN IKAN PATIN (*Pangasius djambal*) TERHADAP EKSPRESI EPIDERMAL GROWTH FACTOR PADA LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)”**. Pembimbing: drg. Fredy Mardiyantoro, Sp. BM.

Proses pencabutan gigi sering menimbulkan luka baik di jaringan lunak maupun jaringan keras. Saat terjadi luka, beberapa *growth factor* dilepaskan bersamaan dengan mediator inflamasi lainnya salah satunya adalah EGF Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) diketahui memiliki banyak kandungan asam amino glisin yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah ekspresi EGF pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok sampel, terdiri dari kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P) pada hari ketiga, kelima, dan ketujuh pasca dilakukannya ekstraksi gigi. Sampel dilakukan pewarnaan menggunakan metode imunohistokimia dan hasil pengamatan ekspresi EGF diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Setelah ditemukan jumlah rerata ekspresi EGF, kemudian dilakukan uji analisis menggunakan *one way ANOVA* dan didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah ekspresi EGF kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dimana nilai ekspresi EGF terendah yaitu pada kelompok kontrol hari ketiga dan nilai ekspresi EGF tertinggi yaitu pada kelompok perlakuan hari ketujuh. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

**Kata kunci** : EGF, gelatin ikan patin, glisin, pencabutan gigi.



## ABSTRACT

Varellia Awang Wangi Kardikadewi, NIM 155070407111019, Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang, 2019. **“The Effect of Patin Fish (*Pangasius djambal*) Gelatine to the Expression of *Epidermal Growth Factor* in Wound After White Rat’s (*Rattus norvegicus*) Tooth Extraction”**, Supervisor: drg.Fredy Mardiyantoro, Sp. BM.

A tooth extraction process often causes injury both in soft and hard tissue. When a wound occurs, several *growth factors* are released together with other inflammatory mediators, one of them is EGF to help the wound healing process. Gelatine is known to have a lot of amino acid *glycine* that plays an important role in wound healing process. The purpose of this study was to determine the effect of patin fish (*Pangasius djambal*) gelatin to the number of EGF expression in wound after white rat’s (*Rattus norvegicus*) tooth extraction. There were six samples groups in this study, consisting of the control groups (K) and the treatment groups (P) on third, fifth and seventh days after the tooth extraction. The samples were stained using *immunohistochemical* methods and continued with observing the EGF expressions using a light microscope with 400x magnification. After getting the average number of EGF expressions, the next step is doing an analysis using *one way ANOVA* method and can be found a significant difference between the number of EGF expression in control and treatment groups, there were the lowest EGF expression number was found in the third day of the control group while the highest EGF expression number was found in the seventh day of the treatment group. The conclusion of this study is the patin fish (*Pangasius djambal*) gelatin has an effect to increase the number of EGF expression in wound after white rat’s (*Rattus norvegicus*) tooth extraction.

**Keywords:** EGF, patin fish gelatine, glycine, tooth extraction



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Proses pencabutan gigi sering menimbulkan luka baik di jaringan lunak maupun jaringan keras. Luka akibat proses pencabutan biasanya disertai dengan reaksi inflamasi yang merupakan respon tubuh terhadap infeksi dan iritasi (Zahara, 2012). Menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 di bidang kesehatan gigi dan mulut, prevalensi nasional dari masalah gigi dan mulut adalah 74,1%.

Penyembuhan luka terdiri fase inflamasi, fase proliferasi, fase epitelisasi, dan fase maturasi (Keast dan Orsted, 2011). Beberapa hal yang ikut terlibat dalam proses penyembuhan luka adalah mediator inflamasi yang terdiri dari *eicosanoids (prostaglandins, prostacyclins, thromboxanes, leukotriens, lipoxins)*, *cytokins (chemokines, lymphokines, monokines, interleukins, colony-stimulating factors, interferons, tumor necrosis factor)*, *nitric oxide*, dan yang terakhir adalah *growth factors* (Theddeus, 2009).

Beberapa *growth factors* yang berhubungan dengan proses penyembuhan luka adalah *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Insulinlike Growth Factor* (IGF), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), *Transforming Growth Factor* (TGF) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (Carolina, *et al.* 2015).

*Growth factors* memiliki ekspresi reseptor yang berperan dalam proses penyembuhan luka seperti (IL-1 $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6 dan TNF- $\alpha$ ) yang



berperan dalam mengaktifkan proses peradangan, (FGF-2, IGF-1, TGF- $\beta$ ) berperan dalam stimulasi sintesis kolagen, (TGF- $\beta$ ) mengaktifkan transformasi fibroblas menjadi myofibroblas, (FGF-2, VEGF-A, HIF-1 $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) yang memulai proses angiogenesis (Reinke dan Sorg, 2012)., dan yang terakhir (EGF,FGF-2,IGF-1,TGF- $\alpha$ ) yang mebanu proses re-epitelisasi (Martin dan Nunan, 2015).

EGF adalah *growth factor* pertama yang muncul pada saat terjadinya luka dan merupakan mitogen kuat pada sel epitel, sel endotel dan fibroblas. Selain itu, EGF memiliki peran dalam proses penyembuhan luka dengan menstimulasi proses angiogenesis, fibroplasia, aktivasi kolagen, proses re-epitelisasi jaringan hingga luka tertutup (Qing, 2017) dan dapat menstimulasi sintesis DNA serta menghambat sekresi asam lambung (Venturi dan Venturi, 2009).

Penyembuhan luka dapat dibantu dengan pengaplikasian gelatin, bahkan sebuah penelitian yang dilakukan di Jepang oleh Kuniko dkk. (2012) telah dilakukan penelitian bahwa hidrogel biodegradable dari gelatin yang dicampur dengan EGF dapat diindikasi untuk penyembuhan luka pada kornea mata tikus.

Gelatin adalah salah satu jenis protein yang diperoleh dari ekstraksi kulit, tulang, maupun daging hewan. Tidak hanya dikonsumsi sebagai bahan baku pangan, gelatin pun banyak digunakan dalam industri perobatan termasuk kedokteran gigi.

Namun, hingga saat ini pembuatan gelatin pada umumnya berasal dari sapi dan babi, dimana gelatin babi bertolak belakang dengan prinsip kehalalan serta menurut penelitian sapi dan babi adalah hewan yang mudah terkena penyakit *Foot and Mouth Disease*. Oleh karena itu,



perlu ditemukan alternatif pilihan lain dengan karakter mirip namun dapat menggantikan bahan baku gelatin tersebut yaitu gelatin yang bersumber dari ikan di perairan tropis (Hekta dkk.,2015) dengan kandungan protein yang lebih tinggi pula apabila dibandingkan dengan ikan dari perairan beriklim dingin (Szipak, 2011).

Salah satu ikan yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin adalah ikat patin (*Pangasius djambal*). Jumlah produksi ikan patin di Indonesia pada tahun 2012 mencapai 651.000 ton, dan pemerintah menargetkan produksi ikan patin pada tahun 2013 mencapai 1.107.000 ton (Kemendag,2013).

Ikan Patin memiliki banyak kandungan protein salah satunya asam amino, dan dengan jumlah yang lebih banyak dibandingkan gelatin pada umumnya (Ratnasari dkk., 2013). Berdasarkan analisis konsentrasi asam amino yang diperoleh berdasarkan perlakuan suhu 45 °C didapatkan kandungan *Glycine* 23,79%, *Arginine* 13,36%, *Glutamic* 11,76% serta didapatkan pula kandungan *Aspartic*, *Serine*, *Threonine*, *Alanine*, *Tyrosine*, *Valine*, *Lysine* walau dengan konsentrasi rata-rata dibawah 10% (Hekta dkk.,2015).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin mengetahui pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.1 Rumusan Masalah

Apakah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*)?



### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini antara lain :

- a. Mengetahui jumlah ekspresi EGF di fase inflamasi dan proliferasi pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).
- b. Mengetahui jumlah ekspresi EGF di fase inflamasi dan proliferasi pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).
- c. Mengetahui perbedaan jumlah ekspresi EGF yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dan diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) di fase inflamasi dan proliferasi pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

Meningkatkan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).



### 1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi ilmiah dan alternatif mengenai penggunaan bahan hemostatik dari gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dalam mempercepat penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ekstraksi Gigi

Salah satu perawatan gigi dan mulut yang paling sering dilaksanakan adalah ekstraksi gigi atau yang biasa dikenal masyarakat dengan pencabutan gigi. Ekstraksi gigi merupakan proses pencabutan atau pengeluaran gigi dari tulang alveolus (Harty, 2013). Ekstraksi gigi merupakan suatu prosedur bedah yang dapat dilakukan dengan tang, elevator, atau pendekatan transalveolar dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat dikembalikan ke keadaan semula apabila sudah dilaksanakan (Pedlar dkk., 2007).

Sebelum dilakukan tindakan ekstraksi gigi pasien harus dipastikan dalam keadaan kesehatan umum yang baik dan apabila mempunyai penyakit sistemik harus terkontrol dengan baik (Peterson, 2004). Agar nantinya tidak menimbulkan komplikasi pasca dilaksanakannya ekstraksi gigi.

#### 2.1.1 Indikasi Ekstraksi Gigi

Ekstraksi gigi dapat dilakukan karena beberapa indikasi seperti gigi dengan kelainan jumlah, bentuk, dan pola akar gigi, serta karies besar yang mengakibatkan nekrosis pulpa hingga menimbulkan lesi periapikal. Menurut Fragiskos (2007) beberapa indikasi dilakukan ekstraksi gigi adalah sebagai berikut:

1. Gigi maksila atau mandibular dengan morfologi akar yang tidak biasa (dilaserasi, ankilosis)
2. Gigi dengan hipersementosis akar dan ujung akar



3. Gigi impaksi dan semi-impaksi
4. Gigi yang mengalami penyatuan dengan gigi yang berdekatan
5. Gigi posterior maksila, dengan keterlibatan akar pada sinus maksilaris
6. Gigi dengan akar yang terdapat lesi periapikal.

### 2.1.2 Kontraindikasi Ekstraksi Gigi

Sedangkan kontraindikasi dilakukannya tindakan ekstraksi gigi sederhana menurut Fragiskos (2007) adalah sebagai berikut :

1. Fraktur akar asimptomatik, dengan pulpa vital, dan letak berada di soket yang dalam. Pada pasien usia tua, tindakan pencabutan tidak disarankan karena akan menyebabkan beberapa komplikasi dan cedera pada saraf wajah
2. Tindakan untuk pengambilan daerah tulang alveolar dalam jumlah yang cukup besar
3. Pasien dengan kondisi sistemik yang tidak terkontrol, seperti diabetes melitus

Selain itu pasien dengan kondisi infeksi mulut akut seperti *Necrotizing Ulcerative Gingivitis (NUG)* atau *herpetic gingivostomatitis*, gigi yang pernah mengalami radiasi karena dapat menyebabkan *osteonecrosis* juga merupakan kontraindikasi tindakan ekstraksi gigi.

### 2.1.3 Komplikasi Pasca Ekstraksi

Tindakan ekstraksi gigi yang ideal adalah ekstraksi gigi utuh tanpa menimbulkan rasa sakit atau dengan rasa sakit yang minimal



sehingga luka yang ditimbulkan dapat sembuh secara normal, namun karena beberapa prosedur bedah yang dilakukan, tak jarang tindakan ekstraksi menimbulkan komplikasi (Pedlar dkk., 2007).

Komplikasi adalah suatu respon tertentu dari pasien yang dianggap sebagai kelanjutan normal dari pembedahan, berupa pendarahan, rasa sakit, dan edema (Peterson, 2004). Komplikasi yang ditimbulkan pun bermacam-macam dan yang terjadi antar pasien pun dapat berbeda pula, komplikasi kadang dapat menimbulkan masalah yang fatal, sehingga diperlukan perhatian khusus.

Komplikasi lokal pasca ekstraksi menurut Pedlar (2007) antara lain fraktur mahkota, akar, alveolus, tuberositas, mandibula, gigi disebelahnya, mukosa alveolar (*Immediate*), *Dry socket*, infeksi lokal, *delayed or secondary* haemorrhage (*Delayed*), dan atrofi alveolar (*Late*).

Komplikasi regional pasca ekstraksi menurut Pedlar (2007) antara lain cedera pada saraf inferior atau saraf lidah dan palatum (*Immediate*), Myofasial pain dysfunction, Injection track hematoma (*Delayed*), dan Osteomyelitis (*Late*).

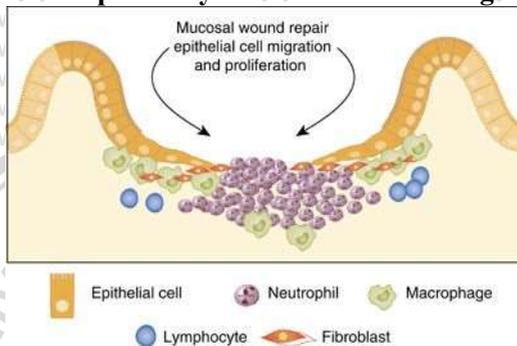
## 2.2 Luka

Proses ekstraksi gigi sering menimbulkan luka baik di jaringan lunak maupun jaringan keras (Zahara, 2012). Luka dapat didefinisikan sebagai hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Keadaan ini dapat disebabkan oleh trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan (Sjamsuhidayat dkk., 2004).



Penyembuhan luka adalah proses biologis kompleks yang terdiri dari dua komponen penting yaitu regenerasi dan perbaikan (Watson, 2016) dan terdiri dari proses penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, fase proliferasi, fase epitelisasi, dan fase remodeling (maturasi) (Keast dan Orsted, 2011).

**Gambar 1 Tahapan Penyembuhan Luka Jaringan Mukosa**



Sumber : Leoni *et al.* (2015)

### 2.2.1 Fase Inflamasi

Proses penyembuhan pada fase inflamasi dimulai sejak dini dengan melibatkan dua proses penting yaitu regenerasi dan perbaikan. Regenerasi adalah proses pergantian jaringan tertentu oleh proliferasi sel tertentu disekitarnya yang tidak rusak (mengalami jejas oleh sel parenkim) sedangkan perbaikan adalah proses pergantian jaringan yang hilang maupun rusak dengan jaringan granulasi yang matang untuk membentuk jaringan parut (Watson, 2016).

Fase inflamasi berlangsung sejak awal mula terjadi luka hingga hari keempat (Keast dan Orsted, 2011). Pembuluh darah yang terputus karena luka akan mengalami pendarahan dan tubuh akan

merespon dengan vasokonstriksi, retraksi, dan reaksi hemostatik (Watson, 2016).

Fase inflamasi ditandai dengan adanya eritema (warna kemerahan), pembengkakan, munculnya rasa hangat dan seringkali menimbulkan rasa sakit. Pembekuan menghemat homeostatis dan menghasilkan matriks sementara sel dapat bermigrasi selama proses perbaikan, sedangkan pembekuan bekerja sebagai sumber sitokin dan faktor pertumbuhan yang dilepaskan sebagai platelet teraktivasi. Sitokin akan dilepaskan ke daerah luka membentuk kemotaksis yang menarik neutrofil dan monosit pada daerah yang terluka (Keast dan Orsted, 2011).

Pada umumnya, neutrofil mulai berdatangan pada daerah luka beberapa saat setelah luka dan bermigrasi melalui penyediaan fibrin untuk pembekuan darah. Sitokin proinflamatori dibebaskan oleh neutrofil yang mati, termasuk *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin (IL-1 $\alpha$  , IL- $\beta$ ) dilanjut dengan menstimulasi respon inflamasi untuk fase selanjutnya (Keast dan Orsted, 2011).

Sedangkan penyebaran monosit pada daerah luka menandai level puncak dari neutrofil. Monosit akan teraktivasi menjadi makrofag dan berperan dalam fagositosis bakteri dan mikroorganisme, sekresi kolagenase dan elastase untuk memecah jaringan yang terluka dan fagositosis bakteri. Selain itu makrofag akan membebaskan *growth factor* (EGF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , PDGF) dan sitokin (TNF- $\alpha$  dan IL-1) pada daerah luka (Keast dan Orsted, 2011) serta berperan dalam membersihkan sisa apoptosis dari sel neutrofil



dan mengatur penutupan luka awal hingga terbentuk jaringan parut (Martin dan Nunan, 2015).

### 2.2.2 Fase Proliferasi

Fase proliferasi atau disebut juga fase fibroplasia berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai sekitar minggu ketiga (hari ke 4 – 21) (Keast dan Orsted, 2011). Bila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase proliferasi akan berlangsung cepat, namun membutuhkan waktu sedikit lebih lama untuk mencapai puncak reaktivasi yang biasanya berlangsung pada minggu ke 2-3 pasca terjadinya trauma (Watson, 2016).

Pada fase proliferasi ini luka dipenuhi sel radang, fibroblas, dan jaringan granulasi di dasar luka yang berasal dari jaringan kolagen yang membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan yang benjol halus (Keast dan Orsted, 2011).

Matriks pembentuk fibroblas bermigrasi ke luka sebagai respon terhadap sitokin dan *growth factors* yang dilepaskan oleh sel inflamasi dan jaringan yang terluka. Fibroblas mulai mensintesis matriks ekstraseluler baru dan kolagen yang tidak matang (tipe III), agar nantinya serat kolagen dapat mendukung pembuluh darah yang baru terbentuk untuk mensuplai luka. Fibroblas yang terstimulasi juga dapat mensekresi *growth factors* sehingga mendukung proses perbaikan. Proses fibroplasia berakhir ditandai dengan terbentuknya epitel baru yang menutup permukaan luka pada lapisan dermal (Keast dan Orsted, 2011).



### 2.2.3 Fase Remodeling dan Pematangan

Pada fase ini terjadi proses pematangan yang terdiri dari penyerapan kembali jaringan yang berlebih, pengerutan, dan pengembalian jaringan. Fase ini dinyatakan berakhir jika semua tanda keradangan sudah menghilang atau sekitar hari ketujuh sampai dengan dua tahun (Keast dan Orsted, 2011).

Matriks kolagen terus didegradasi, disintesis, direorganisasi, dan distabilisasi oleh molekul pada luka dibawah kendali *growth factors* dan sitokin. Fibroblas mulai menghilang dan kolagen tidak matang (tipe III) dideposit selama fase granulasi dan digantikan oleh kolagen tipe I. Secara tidak langsung kekuatan perengangan dari jaringan *scar* meningkat dan dapat mencapai 80%. Homeostatis dari kolagen bekas luka dan *Extracellular Matrix* (ECM) diatur oleh sejumlah protease serin dan *Matriks Metalloproteinase* (MMPs) di bawah kendali sitokin. Penghambatan jaringan MMPs menghasilkan timbal balik yang alami pada MMPs dan control aktivasi proteolitik pada luka. Beberapa hal yang mengganggu keseimbangan ini dapat menyebabkan jumlah degradasi matriks tidak seimbang atau keduanya dapat menghasilkan bekas luka yang cukup banyak (Keast dan Orsted, 2011).

Selama proses remodeling dan pematangan akan dihasilkan jaringan parut dengan ciri khas pucat, lemas dan mudah digerakkan dari dasar. Serta terjadi pengerutan maksimal pada luka, yang tercapai sekitar tiga hingga enam bulan setelah terjadi penyembuhan dan bisa berlangsung hingga dua tahun (Keast dan Orsted, 2011).



## 2.3 Proses Penyembuhan Luka Pasca Ekstraksi Gigi

Pasca ekstraksi gigi akan dihasilkan suatu perlukaan atau lubang yang disebut soket, respon dasar terhadap adanya kerusakan atau luka pasca ekstraksi gigi adalah peradangan, yang akan berlanjut ke proses perbaikan jaringan yaitu penggantian sel mati oleh sel hidup atau jaringan fibrosa dan proses tersebut terjadi secara alami walaupun proses penyembuhan luka merupakan proses yang terjadi secara alamiah oleh makhluk hidup, diperlukan kondisi tertentu yang mendukung keberlangsungan proses penyembuhan luka. Faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka antara lain, usia, hormonal, stres, nutrisi, obesitas dan penyakit sistemik, konsumsi obat-obatan, alkohol, dan merokok (Christal dkk., 2015).

### 2.3.1 Tahapan

#### a. Tahap pertama

Setelah dilakukan ekstraksi, bekuan darah yang terdiri dari sel darah merah dan sel darah putih akan terbentuk dalam jumlah yang sama di dalam sirkulasi darah disertai dengan pengendapan benang-benang fibrin yang akan menutup pembuluh darah yang rusak dan mengecilkan ukuran luka pencabutan. Leukosit akan bermigrasi dan terjadi pembentukan lapisan fibrin sehingga proses inflamasi terjadi.

#### b. Tahap kedua

Pada hari kedua sampai keempat, aktivitas dimulai dari tepi bekuan darah, fibroblas, dan endotel masuk ke bagian tengah dan soket gigi dan diikuti oleh oleh monosit yang mulai



bermigrasi dari mikrosirkulasi ke arah luka dan berubah menjadi makrofag. Makrofag akan melanjutkan fagositosis seperti neutrofil namun neutrofil jumlahnya akan menurun ketika proses inflamasi kronis terjadi. Proses ini kurang lebih sama seperti proses pada fase inflamasi luka secara umum.

c. Tahap ketiga

Jaringan ikat secara bertahap menggantikan jaringan granulasi pada hari ke-14 sampai 16.

d. Tahap keempat

Mulai terjadi pembentukan tulang pada hari ke-7 dengan terbentuknya fibrillar, poorly calcified osteoid pada dasar dan tepian soket. Pada hari ke-10 sampai ke-15, tepian soket mulai terbentuk osteoid dan immature bone. Pada tahap ini dimulai jaringan tulang primer dari dasar soket menuju ke permukaan koronal luka dan dari tepian soket menuju ke tengah soket.

e. Pada tahap kelima

Epitel mulai tumbuh atau ber-regenerasi pada hari ke-4 dan akan menutupi soket secara sempurna setelah hari ke 24-35 (Peterson,2004).

## 2.4 Growth Factors

*Growth factors* merupakan salah satu mediator inflamasi yang berhubungan dengan penyembuhan luka. *Growth factors* terdiri dari *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Insulinlike Growth Factor* (IGF), *Platelet-Derived Growth*



*Factor (PDGF), Transforming Growth Factor (TGF) dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)* (Carolina, et al. 2015).

*Growth factors* memiliki ekspresi reseptor yang berperan dalam proses penyembuhan luka seperti (IL-1 $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) yang berperan dalam mengaktifkan proses peradangan, (FGF-2, IGF-1, TGF- $\beta$ ) berperan dalam stimulasi sintesis kolagen, (TGF- $\beta$ ) mengaktifkan transformasi fibroblas menjadi myofibroblas, (FGF-2, VEGF-A, HIF-1 $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) yang memulai proses angiogenesis, dan yang terakhir (EGF,FGF-2,IGF-1,TGF-  $\alpha$ ) yang mendukung proses re-epitelisasi (Reinke dan Sorg, 2012).

#### **2.4.1 Epidermal Growth Factor (EGF)**

EGF adalah hormone polipeptida mitogenik yang merupakan suatu protein GkDa dengan gugusan rantai tunggal yang terdiri dari 1207 asam amino (Afshari, *et al.* 2005) dan memiliki panjang 53 AA dan bersifat mitogenik karena tiga gugus disulfide yang menghubungkan Cys6-Cys20, Cys14-Cys31, dan Cys33-Cys42, serta gugus asam amino ke 13 (Tyr), 41 (Arg), dan 47 (Leu) (Montelione, 1992).

EGF dapat ditemukan di lapisan luar sel kulit, platelet, pembuluh darah (endotel), fibroblas dan kelenjar usus 12 jari. EGF berperan dalam pembentukan sel epitel dan proses penyembuhan luka (Jiang, *et al.* 2017) dengan cara mengaktifasi sel mesenkim dan sel epitel agar dapat membantu proses proliferasi sel, angiogenesis, sintesis matriks ekstraseluler dan stimulasi lapisan epidermal pasca terjadinya luka (Rozman dan Bolta, 2007).

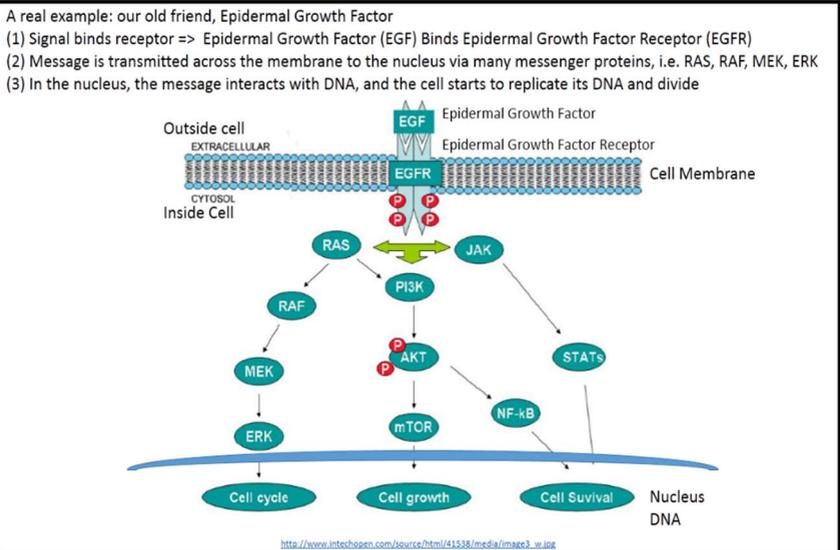


Kandungan EGF pertama kali ditemukan dalam produksi kelenjar submaksilaris (submandibula) oleh Cohen pada tahun 1962, berdasarkan beberapa penelitian hingga kini kandungan EGF juga bisa ditemukan di urin, susu dan plasma dan produksi EGF dapat distimulasi oleh testosterone (Kumar, *et al.* 2005).

Pemberian EGF terhadap luka dapat digunakan secara topikal (Yang S, Geng Z, 2016) dan berdasarkan hasil percobaan yang sudah ada membuktikan bahwa pemberian EGF pasca bedah dapat meningkatkan proses penyembuhan luka (Carvajal, *et al.* 2015). Pemberian EGF pada dasar luka dapat mendorong efektifitas farmakodinamik dan meningkatkan proliferasi dan migrasi sel yang nantinya akan merangsang granulasi jaringan dan penutupan luka. Hal tersebut terjadi (Berlangga, *et al.* 2013). Hal tersebut terjadi karena pada hari kelima setelah timbulnya luka EGF dapat mengikat Heparin dan TGF- $\alpha$  bersamaan dengan proliferasi keratinosit, dan memberikan efek mitogenik pada sel-sel otot polos sehingga dapat merangsang proses angiogenesis (Anna, dkk.2003). Peningkatan stimulasi perbaikan sel-ektodermal (epitel) dan endodermal dipengaruhi oleh dosis pada ketebalan jaringan granulasi dan epitelisasi dengan EGF (Tsang, *et al.*2003)



## Gambar 2. Mekanisme Signaling EGF



Sumber : Rossella dkk. (2012)

## 2.5 Pewarnaan Imunohistokimia

### 2.5.1 Definisi

*Immunohistochemistry* (IHC) atau Imunohistokimia (IHK) adalah proses untuk menentukan lokasi dan jenis protein (antigen) tersebut di dalam sel-sel jaringan (Neni dan Humairah, 2011).

Sedangkan berdasar Yani dan Elza (2004) Teknik imunohistokimia berguna untuk mendeteksi dan mengidentifikasi sel-sel spesifik berdasarkan komponen antigenik atau produk selulernya dengan reaksi kompleks antara antigen-antibodi. Imunohistokimia juga dapat digunakan sebagai dasar penegakan diagnosis dan mengidentifikasi tipe sel detail sitomorfologi yang sering pada kasus-kasus tumor dan keganasan.

## 2.5.2 Prinsip Pewarnaan Imunohistokimia

Bahan kimia spesifik dari spesies lain yang masuk ke dalam sistem imun akan membentuk antibodi. Sistem imun mempunyai kemampuan untuk mengenali setiap asam amino, karbohidrat, atau lipid dan dapat bereaksi terhadap bahan-bahan kimia ini melalui molekul reseptor spesifik yang dipengaruhi oleh besarnya bahan kimia untuk memulai pengenalan oleh reseptor dan timbulnya respon imun.

Beberapa protein cukup besar untuk menimbulkan respon imun, sehingga protein dapat bersifat antigen, sedangkan beberapa molekul lain seperti protein kecil atau yang biasa disebut *haptens* harus terlebih dahulu dilekatkan pada molekul yang lebih besar, baru kemudian dapat dikenal oleh sistem imun (Neni dan Humairah, 2011).

## 2.5.3 Metode Pewarnaan Imunohistokimia

Berdasarkan *Cancer Chemoprevention Research* Fakultas Farmasi UGM (2010) Terdapat dua metode dasar imunohistokimia :

### a. Metode langsung (*direct method*)

Metode ini adalah metode pengecatan satu langkah dan hanya melibatkan satu jenis antibodi terlabel. Contoh dari metode ini adalah antiserum terkonjugasi *fluorescein isothiocyanate* (FITC) atau rodhamin.

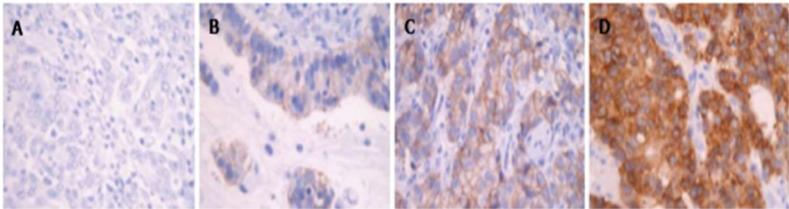
### b. Metode tidak langsung (*indirect method*)

Metode ini menggunakan dua macam antibodi, yaitu antibodi tidak berlabel (*primer*) dan antibodi berlabel (*sekunder*). Antibodi primer akan mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan (*first layer*), sedangkan



antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer (*second layer*). Antibodi kedua adalah anti-antibodi primer. Antibodi sekunder yang terlabel akan ditambahkan substrat kromogen, yaitu suatu gugus fungsi yang akan membentuk senyawa berwarna saat bereaksi dengan senyawa tertentu. Terdiri atas 2 metode, yakni metode *immunofluorescence* (menggunakan kromogen *fluorescent dye* seperti FITC, rodhamin, dan *Texas-red*) serta metode *immunoenzyme* (menggunakan enzim peroksidase, alkali fosfatase, atau glukosa oksidase).

**Gambar 3. Immunohistochemical analysis of human Epidermal Growth Factor receptor 2 protein expression ( $\times 200$ ). A: Immunohistochemical (IHC) 0: No staining on tumor cell membrane; B: IHC1+: Faintly perceptible staining on  $> 10\%$  tumor cell membrane; C: IHC2+: Moderate staining on  $> 10\%$  tumor cell membrane; IHC3+: Strong staining on  $> 10\%$  tumor cell membrane**



Sumber Chao *et al.* (2012)

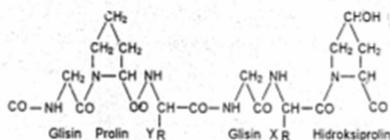
## 2.6 Gelatin

### 2.6.1 Definisi

Gelatin adalah salah satu jenis protein yang diperoleh dari ekstraksi kulit, tulang, maupun daging hewan. Berdasarkan susunan asam amino, pada gelatin glisin merupakan asam amino utama dengan

jumlah sebesar 2/3 dari total seluruh asam amino penyusunnya, sedangkan 1/3 sisanya merupakan prolin dan hidroksiprolin. Glisin memiliki peran dalam proses penyembuhan luka dengan cara membantu proses pembentukan fibroblast dan mengatur serat-serat kolagen agar luka cepat menutup (Widodo dan Rakhma, 2016).

**Gambar 4. Struktur kimia gelatin**



Sumber : Grobber *et al.*(2000)

Berdasarkan proses pengolahannya gelatin terbagi menjadi dua tipe, yaitu gelatin tipe A yang bahan bakunya diberi perlakuan perendaman dalam larutan asam (proses asam) dan tipe B yang bahan bakunya diberi perlakuan perendaman dalam larutan basa (proses alkali) (Junianto, dkk.2006).

Bahan baku yang biasanya digunakan pada proses asam adalah tulang dan kulit babi, sedangkan bahan baku yang biasa digunakan pada proses basa adalah tulang dan kulit sapi. Proses pembuatan gelatin ikan termasuk dalam kategori gelatin tipe A (Junianto, dkk.2006).

### 2.6.2 Gelatin Ikan

Sebagai sumber alternatif penggunaan gelatin berbahan dasar sapi dan babi, maka ditemukan gelatin ikan yang dapat mengatasi kelemahan tersebut. Berkaitan dengan ikan sebagai sumber bahan



baku gelatin, ikan-ikan yang berasal dari perairan tropis memiliki karakteristik yang lebih mirip dengan gelatin yang bersumber dari sapi (*Bovine gelatine*) dibandingkan dengan ikan-ikan yang berasal dari daerah beriklim dingin (Hekta dkk., 2015). Sebagai sumber alternatif penggunaan gelatin berbahan dasar sapi dan babi, maka ditemukan gelatin ikan yang dapat mengatasi kelemahan tersebut. Berkaitan dengan ikan sebagai sumber bahan baku gelatin, ikan-ikan yang berasal dari perairan tropis memiliki karakteristik yang lebih mirip dengan gelatin yang bersumber dari sapi (*Bovine gelatine*) dibandingkan dengan ikan-ikan yang berasal dari daerah beriklim dingin (Hekta dkk., 2015).

**Gambar 5. Kandungan gelatin ikan air tawar dibandingkan dengan gelatin komersial**

Proximate composition (%)	<i>Pangas catfish</i>	<i>Asian reductail catfish</i>	<i>Nile tilapia</i>	<i>Striped snakehead</i>	Commercial gelatin
Moisture	2.840 <sup>a</sup> ±0.003	3.514 <sup>d</sup> ±0.12	2.580 <sup>b</sup> ±0.01	2.723 <sup>c</sup> ±0.05	4.543 <sup>e</sup> ±0.07
Protein content	87.10 <sup>d</sup> ±0.99	85.59 <sup>d</sup> ±0.09	82.53 <sup>b</sup> ±0.53	87.27 <sup>b</sup> ±0.78	78.79 <sup>a</sup> ±0.85
Ash content	0.055 <sup>a</sup> ±0.02	0.208 <sup>b</sup> ±0.02	0.166 <sup>b</sup> ±0.03	0.189 <sup>b</sup> ±0.1	0.377 <sup>c</sup> ±0.12
Fat content	0.002 <sup>ns</sup> ±0.03	0.033 <sup>ns</sup> ±0.03	0.000 <sup>ns</sup> ±0.00	0.000 <sup>ns</sup> ±0.00	0.000 <sup>ns</sup> ±0.00

\*Results are means ± standard deviation (n = 3). Means within the same column followed by same superscript are not significantly different (P < 0.05).

\*ns = not significantly.

Sumber : Ratnasari dkk. (2013)

Berdasarkan table tersebut dapat disimpulkan bahwa kandungan protein pada gelatin ikan air tawar lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan protein pada gelatin komersial.

Kandungan protein pada gelatin ikan *Striped snakehead* (87.27±0.78), *Pangas catfish* atau ikan patin (87.10±0.99), *Asian reductail catfish*



85.59±0.09, dan *Nile tilapia* (82.53±0.53) sedangkan kandungan protein terendah adalah gelatin komersial (78.79±0.85).

Gelatin ikan patin memiliki fungsi yang sama dengan *absorbable gelatin sponge* (spongostan) pada penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi, yaitu berfungsi untuk menghentikan perdarahan agar dapat terbentuknya *blood cloathing*. Ketika trombosit dalam darah diaktifkan, trombosit tersebut akan terjebak dalam gelatin dan melepas fibrinogen kemudian akan terkonvensi menjadi fibrin. Gelatin dapat menghentikan perdarahan dalam waktu 10-20 menit dan dapat terserap sepenuhnya oleh jaringan selama empat hingga enam minggu (Wijaya, 2015).

### 2.6.3 Pembuatan Gelatin Ikan

Kulit ikan yang diperoleh dibersihkan dari darah dan sisa-sisa daging yang masih melekat. selanjutnya direndam dalam larutan sodium hidroksi (0,2%) dengan suhu (40-45)°C selama 40 menit, untuk setiap perendaman dan dilakukan perendaman sebanyak tiga kali. Perbandingan kulit dengan larutan 1:10 (w/v). Kulit dicuci dengan air hingga pH mencapai netral (7) kemudian direndam dalam larutan asam sulfur 0,2% selama 2 jam. Kulit dicuci kembali dengan air, hingga pH mencapai netral (7). Kulit ikan patin direndam pada setiap larutan asam perlakuan (asetat, sitrat dan klorida) dengan konsentrasi 1% selama 2 jam. Kulit dicuci dengan air hingga pH mencapai netral (7). Kulit di ekstrak dalam larutan aquadest hangat dengan suhu perlakuan (45 °C dan 55 °C) slama 12 jam. Hasilnya di keringkan dalam oven dengan suhu 50 °C selama 48 jam hingga



terbentuk lembaran gelatin. Gelatin yang telah diperoleh dilakukan analisa terhadap karakteristik fisik dan kimianya (Hekta dkk.,2015).

## 2.7 Ikan patin

### 2.7.1 Definisi

Indonesia merupakan negara dengan potensi menjadi produsen dan eksportir ikan patin, budidaya ikan patin (*Pangasius djambal*) di Jambi pada tahun 2007 menembus angka produksi sebesar 29 ton (Purnomo, 2007). Hingga saat ini seiring bertambahnya waktu budidaya ikan patin menjadi sangat populer karena budidanya mudah, pertumbuhannya cepat, dan mudah beradaptasi dengan lingkungan.

Ikan patin merupakan salah satu jenis ikan yang sering dikonsumsi masyarakat di Indonesia. Daging ikan patin dapat diolah menjadi bermacam-macam makanan misalnya fillet, *fish ball*, siomay, nugget, empek-empek dan berbagai macam *frozen food* berbahan ikan lainnya, sedangkan tulang ikan patin dapat dimanfaatkan untuk pembuatan nugget tulang ikan dan kulit ikan patin dapat dimanfaatkan untuk pembuatan kerupuk rambak kulit ikan.

Pada umumnya bagian ikan yang tidak dapat dimakan dapat mencapai 35%, bagian yang tidak dapat di makan ini adalah bagian kepala sekitar 10%, tulang sekitar 11,2%, sirip sekitar 3,4%, kulit 4,0%, duri 2,0%, dan bagian isi perut 4,4% (gelembung renang dengan jeroan dan gonad). Bagian yang tidak dapat dikonsumsi tersebut dapat dimanfaatkan menjadi produk yang memiliki nilai jual tinggi yaitu gelatin (Hekta dkk., 2015).



Ikan patin adalah salah satu jenis pangan yang mudah rusak, untuk mempertahankan mutu dan kesegaran ikan patin maka perlu dilakukan proses penyimpanan yang benar, salah satu cara yang paling tepat yaitu dengan penyimpanan suhu rendah. Pada suhu 0 °C ikan patin dapat bertahan hingga 16 hari, pada suhu 10 °C ikan patin dapat bertahan hingga enam hari dan pada suhu 20 °C ikan patin dapat bertahan hingga dua hari (Sriwahyuning, 2011).

### 2.7.2 Klasifikasi

Ikan patin banyak dijumpai di perairan air tawar di Indonesia dan tersebar di sungai besar di Indonesia seperti Sumatra (Way Rarem, Musi, Batang Hari dan Sungai Indragiri), Jawa Timur (Brantas dan Bengawan Solo), dan Kalimantan (Kayan, Berau, Mahakam, Barito, Kahayan serta Sungai Kapuas) (Slembrouck, *et al.* 2003).

Keanekaragaman spesies ikan patin tersebar secara tidak merata di setiap sungai utama dengan tingkat keanekaragaman spesies yang besar di Sumatera (*Pangasius djambal*, *Pteropangasius micronemus*, *Pangasius nasutus*, *Pangasius polyuranodon*, *Pangasius kunyit*, *Helicophagus waandersii*, *Helicophagus typus*) dan beberapa spesies endemik tersebar di sungai besar Kalimantan seperti di Sungai Kapuas di Kalimantan Barat ( *Pangasius lithostoma* dan *Pangasius humeralis* ), serta Sungai Mahakam ( *Pangasius nieuwenhuisii* dan *Pangasius mahakamensis* ), Sungai Kayan dan Sungai Berau ( *Pangasius rheophilus* ) yang terletak di Kalimantan Timur (Gustiano, dkk. 2003).



Ikan patin (*Pangasius sp*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Saenin,1984) :

Filum : Chordata

Sub Filum : Vertebrata

Kelas : Pisces

Sub Kelas : Teleostei

Ordo : Ostriophysis

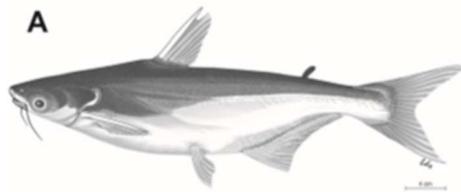
Sub Ordo : Siluroidea

Family : Pangasidae

Genus : *Pangasius*

Spesies : *Pangasius djambal*

**Gambar 6. *Pangasius djambal***



Sumber : Slembrouck J. *et al.* (2003)

### 2.7.3 Komposisi

Daging ikan patin memiliki komposisi kimia berupa air 9,09% - 10,74%, protein 82,06% - 87,55%, lemak 0,17% - 1,14% dan abu 0,52% - 1,24%. Nilai-nilai tersebut masih berada dalam kisaran yang diperkenankan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 3735 tahun 1995 untuk produksi gelatin yaitu kadar air maksimum 16%,



kadar abu maksimum 3,23% (Hekta dkk.,2015). Sedangkan untuk kandungan lemak sangat rendah dibandingkan dengan gelatin kulit ikan marlin sebesar 4,07% (Hekta dkk.,2015).

Jumlah protein yang sangat tinggi pada gelatin ikan patin berhubungan pula dengan besarnya jumlah kandungan asam amino di dalamnya, apabila dibandingkan dengan beberapa jenis ikan patin lainnya, kandungan gizi ikan patin (*Pangasius djambal*) dapat dilihat pada tabel gambar berikut,

**Gambar 7. Perbandingan nilai kandungan gizi beberapa jenis ikan patin (%)**

Jenis Patin/ <i>Species of Catfish</i>	Kadar Air/ <i>Water Content</i>	Kadar Abu/ <i>Ash Content</i>	Kadar Protein/ <i>Protein Content</i>	Kadar Lemak/ <i>Fat Content</i>
Siam	79.42 ± 0.49 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	14.87 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.0 <sup>a</sup>
Jambal	75.53 ± 0.50 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>a</sup>	13.13 ± 0.62 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.6 <sup>a</sup>
Pasupati	78.29 ± 1.42 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	12.94 ± 0.61 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.28 <sup>a</sup>
Nasutus	78.52 ± 1.68 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>a</sup>	15.07 ± 0.61 <sup>a</sup>	1.23 ± 0.14 <sup>a</sup>
Hibrid Nasutus	75.75 ± 1.73 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.04 <sup>b</sup>	17.52 ± 0.52 <sup>b</sup>	1.01 ± 0.19 <sup>b</sup>

Sumber : Suryaningrum (2010)

Pada tabel tersebut dapat disimpulkan bahwa ikan patin (*Pangasius djambal*) memiliki kadar protein tertinggi keempat (13,13%) setelah ikan patin jenis Hibrid Nasutus (17,52%), Nasutus (15,07%), dan Siam (14,87%), kemudian jenis ikan patin yang memiliki kadar protein yang lebih rendah yaitu Pasupati (12,94%).



**Gambar 8. Perbandingan nilai kandungan asam amino beberapa ikan patin (%)**

Asam Amino/Amino Acid	Siam (%)	Jambal (%)	Pasupati (%)	Nasutus (%)	H. Nasutus (%)
Glisin/Glycine	25.12	24.70	21.00	24.30	21.30
Alanin/Alanine	3.80	3.30	2.80	3.10	3.10
Valin/Valine	3.20	2.20	3.30	2.30	3.30
Leusin/Leusine	5.40	2.70	2.90	2.30	3.00
Isoleusin/Isoleusine	3.40	2.40	2.90	2.40	2.50
Asam Aspartat/Aspartic Acid	0.30	6.50	6.50	6.80	7.30
Asam Glutamat/Glutamic Acid	5.10	9.90	10.00	10.60	10.90
Lisin/Lysine	10.70	10.30	10.20	10.30	10.30
Arginin/Arginine	15.00	16.30	15.60	15.90	15.50
Histidine/Histidine	2.63	1.00	0.90	1.10	0.90
Serin/Serine	4.40	2.50	2.40	2.60	2.50
Treonin/Threonine	7.20	2.80	2.90	3.30	3.20
Penilalanin/Phenylalanine	2.60	4.00	4.20	4.30	4.50
Tirosin/Tyrosine	2.30	1.65	2.00	2.20	1.90
Sistin/Cystein	-	-	-	-	-
Metionin/Methionine	2.00	3.70	3.90	4.10	4.10
Prolin/Proline	3.30	2.30	2.20	2.80	2.10
Asam Amino Esensial/Essencial Amino Acid	52.13	45.44	46.80	45.97	47.26
Asam Amino non Esensial/Non Essencial Amino Acid	43.32	50.85	44.70	52.40	49.10

Sumber : Suryaningrum (2010)

Sedangkan pada tabel tersebut dapat disimpulkan bahwa kandungan asam amino terbesar ikan patin (*Pangasius djambal*) adalah Glisin sebesar 24,70%, diikuti oleh Arginin sebesar 16,30%, Lisin 10,30%, Asam Glutamat 9,90%, dan Asam Aspartat 6,50%. Apabila dibandingkan dengan beberapa jenis ikan patin lainnya, kandungan Glisin ikan patin (*Pangasius djambal*) merupakan yang tertinggi kedua setelah jenis Siam (25,12%), kemudian diikuti oleh beberapa jenis lainnya yang memiliki kandungan Glisin lebih rendah yaitu Nasutus: (24,30%), Hibrid Nasutus (21,30%), dan Pasupati (21,00%).



## 2.8 Tikus Putih

Salah satu hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih banyak digunakan pada penelitian-penelitian toksikologi, metabolisme lemak, obat-obatan maupun mekanisme penyakit infeksius. Tikus putih baik digunakan dalam penelitian karena mudah dipelihara, mudah berkembang biak sehingga cepat mendapatkan hewan coba yang seragam dan mudah dikelola di laboratorium (Ketut dkk., 2010).

Tikus putih sering digunakan sebagai hewan percobaan karena relatif resisten terhadap infeksi. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti mencit dan kecenderungannya untuk berkumpul bersama tidak begitu besar, serta aktifitasnya tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya. Kelebihan tikus putih dibandingkan hewan percobaan lainnya adalah tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tikus tidak memiliki kantung empedu.

### 2.8.1 Taksonomi Tikus Putih

Kingdom : Animalia

Divisi : Chordata

Subdivisi : Vertebrata (Craniata)

Kelas : Mamalia

Subkelas : Theria

Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha



Famili : Muridae  
Subfamili : Murinae  
Genus : Rattus  
Spesies : *Rattus norvegicus*

**Gambar 9. Tikus Putih (*rattus norvegicus*)**



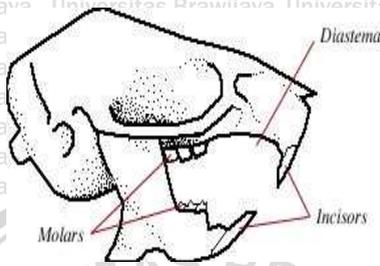
Sumber : Kusumawati (2004)

### 2.8.2 Anatomi Gigi Tikus

Tikus memiliki dua jenis gigi yaitu insisivus dan molar. Pada tikus terdapat 4 buah gigi insisivus, dua di rahang atas dan dua di rahang bawah. Insisivus tikus tidak memiliki fungsi untuk menggigit, dan akan selalu tumbuh selama tikus ini hidup (Hanson, 2014). Sedangkan gigi molar tikus berjumlah 12 buah, enam di rahang atas dan enam di rahang bawah (masing-masing berjumlah tiga untuk disetiap rahang) digunakan untuk menghancurkan atau menghaluskan makanan sebelum ditelan. Pada tikus tidak terdapat gigi caninus dan

premolars dan biasanya terdapat ruang kosong pada daerah tersebut yang disebut dengan diastema (Vineran *et al.*,2017).

**Gambar 10. Anatomi Gigi Tikus**

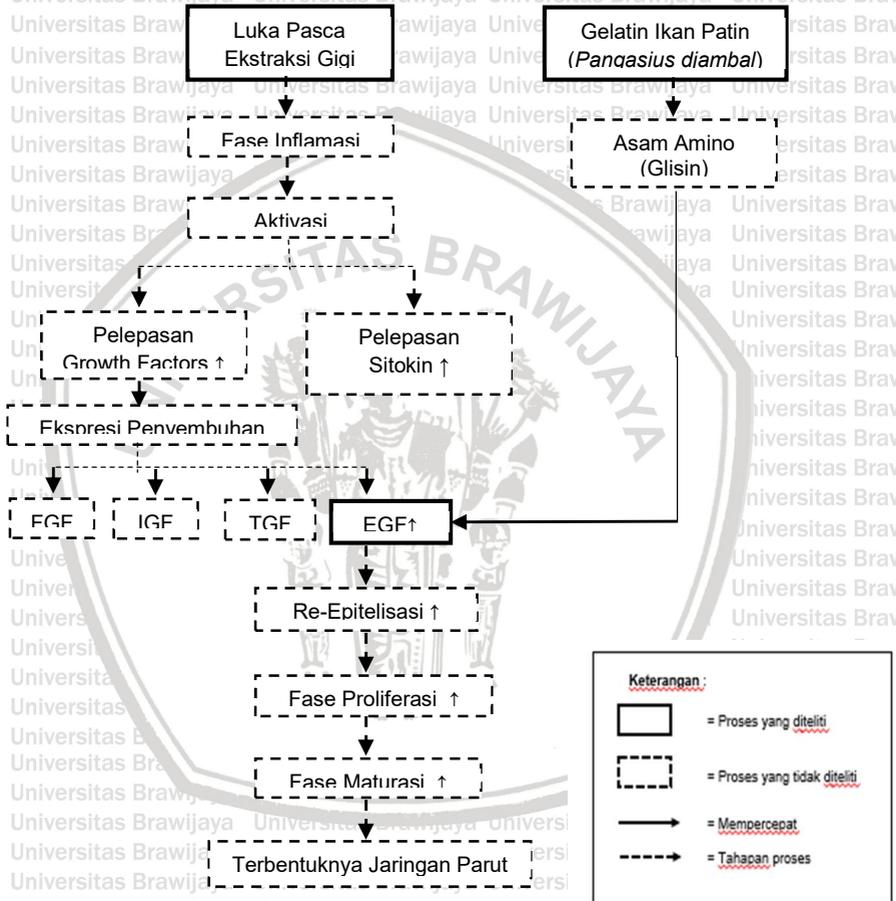


Sumber:<http://rathbehavior.org/teeth.htm> (diakses:28-11-2017 12;24 WIB)



### BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 11. Skema Kerangka Konsep

Ekstraksi gigi merupakan proses pencabutan atau pengeluaran gigi dari tulang alveolus (Harty, 2013). Ekstraksi gigi merupakan suatu prosedur bedah yang dapat dilakukan dengan tang, elevator, atau pendekatan transalveolar dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat dikembalikan ke keadaan semula apabila sudah dilaksanakan (Pedlar, 2007).

Pada fase inflamasi yang berlangsung pada hari pertama hingga kelima, pembuluh darah terputus karena luka dan tubuh akan merespon dengan vasokonstriksi, retraksi, dan reaksi hemostatis yang akan menyebabkan penyebaran monosit dan nantinya akan mengaktifasi makrofag.

Peningkatan aktivasi makrofag bertugas melepaskan *Growth Factors* (FGF-2, IGF-1, TGF- $\alpha$ , dan EGF) dan Sitokin yang nantinya akan mengekspresi penyembuhan luka pada proses peradangan, stimulasi sintesis kolagen, transformasi fibroblas, angiogenesis dan re-epitelisasi. Pada tahapan terakhir beberapa *Growth Factors* diantaranya (FGF-2, IGF-1, TGF- $\alpha$ , dan EGF) membantu proses re-epitelisasi agar berjalan lebih cepat.

Gelatin ikan patin memiliki banyak kandungan protein salah satunya asam amino, bahkan dengan jumlah yang lebih banyak dibandingkan gelatin pada umumnya (Ratnasari dkk., 2013).

Berdasarkan analisis konsentrasi asam amino yang diperoleh kandungan Glisin sebesar 24,70%, diikuti oleh Arginin sebesar 16,30%, Lisin 10,30%, Asam Glutamat 9,90%, Asam Aspartat 6,50% serta didapatkan pula kandungan Penilalanin, Metionin Alanin,



Treonin, Leusin, Serin, Isoleusin, Prolin, Valin, dan Tirosin walau dengan konsentrasi rata-rata dibawah 5% (Suryaningrum, 2010).

Salah satu kandungan asam amino didapatkan Glisin sebesar 24,70% yang berperan sebagai efek anti-inflamasi dalam proses penyembuhan luka (Maria, 2018) karena meningkatkan jumlah kolagen serta ekspresi EGF (Sa *et al.*, 2013) terhadap pembentukan epitel sehingga membantu peningkatan sel fibroblas pada fase proliferasi dan degradasi matriks kolagen pada fase remodelling dan maturasi sehingga mempercepat pembentukan jaringan parut, dan terjadilah proses penyembuhan luka.

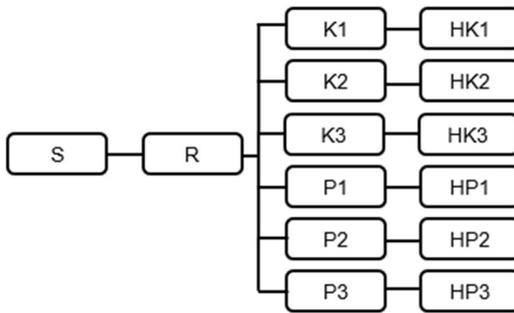
### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dapat meningkatkan ekspresi EGF pada luka pasca ekstraksi gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

## BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini, digunakan pendekatan dengan rancangan eksperimental laboratoris secara *in-vivo* berupa *Randomized Post Test Only Control Group Design*, dimana terbagi dalam dua kelompok yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap peningkatan ekspresi *Epidermal Growth Factor* (EGF) pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).



**Gambar 12. Desain Rancangan Penelitian Eksperimen Menggunakan *Randomized Post Test Only Control Group Design***

Keterangan :

S = Sampel

R = Sampel dipilih secara random (acak)

K1 = Kelompok kontrol 1 tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) selama 3 hari pasca pencabutan gigi

K2 = Kelompok kontrol 2 tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) selama 5 hari pasca pencabutan gigi



- K3 = Kelompok kontrol 3 tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) selama 7 hari pasca pencabutan gigi
- P1 = Kelompok perlakuan 1 diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% selama 3 hari pasca pencabutan gigi
- P2 = Kelompok perlakuan 2 diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% selama 5 hari pasca pencabutan gigi
- P3 = Kelompok perlakuan 3 diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% selama 7 hari pasca pencabutan gigi
- HK1 = Hasil pengamatan kelompok kontrol 1 tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) selama 3 hari pasca pencabutan gigi
- HK2 = Hasil pengamatan kelompok kontrol 2 tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) selama 5 hari pasca pencabutan gigi
- HK3 = Hasil pengamatan kelompok kontrol 3 tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) selama 7 hari pasca pencabutan gigi
- HP1 = Hasil pengamatan kelompok perlakuan 1 diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% selama 3 hari pasca pencabutan gigi
- HP2 = Hasil pengamatan kelompok perlakuan 2 diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% selama 5 hari pasca pencabutan gigi
- HP3 = Hasil pengamatan kelompok perlakuan 3 diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% selama 7 hari pasca pencabutan gigi

## 4.2 Sampel Penelitian

### 4.2.1 Jenis dan Kriteria Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus noervegicus*) yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tikus putih jantan digunakan sebagai hewan coba karena tidak mudah terkena infeksi, tidak mudah terganggu dengan kehadiran manusia, jarang berkelahi dengan sesamanya dan berdasarkan kriteria inklusi dan eklusi (Christal dkk.,2015) sebagai berikut:

#### 1. Kriteria inklusi

- Berumur 2-3 bulan
- Mempunyai berat badan 200-250 gram



- c. Sehat ditandai dengan bola mata jernih dan tidak kemerahan
- d. Tikus putih galur Wistar berkelamin jantan

## 2. Kriteria eksklusi

- a. Tikus mengalami infeksi selama proses penelitian berlangsung
- b. Tikus dengan pencabutan gigi tidak sempurna
- c. Konsistensi feses cair akibat diare selama proses penelitian berlangsung
- d. Tikus dalam kondisi yang tidak sehat ditandai dengan aktivitas gerak tikus yang berkurang, bola mata kemerahan, hidung dan mulut berlendir, air liur terus menerus keluar selama proses penelitian berlangsung
- e. Tikus mati selama proses penelitian berlangsung

### 4.2.2 Jumlah Sampel

Dalam penelitian ini hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu 3 kelompok control (K1, K2, K3) dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3). Jumlah sampel yang diperlukan dapat dihitung menggunakan rumus Federer sebagai berikut :

$$(n-1)(t-1) \geq 15 \quad (\text{Federer, 1963})$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah pengulangan penelitian



Pada penelitian ini nilai  $t = 6$  sehingga jumlah pengulangan penelitian sebagai berikut :

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

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

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan rumus Frederer tersebut dapat disimpulkan bahwa jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah minimal 4 ekor tikus putih untuk tiap kelompok. Penelitian ini dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, sehingga dibutuhkan 24 tikus putih. Untuk mencegah kehilangan sampel (*lost of sample*) akibat tikus yang mati, maka jumlah sampel ditambah menjadi 30 ekor tikus putih.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*)

#### 4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah jumlah ekspresi EGF

#### 4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel terkontrol penelitian ini adalah:

1. Jenis kelamin, berat badan, usia hewan coba
2. Pemberian pakan dan kebersihan kandang hewan coba
3. Teknik pembuatan luka pada hewan coba



## 4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

### 4.4.1 Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat berikut :

1. Laboratorium Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Hasil Pangan Universitas Brawijaya untuk pembuatan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).
2. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada hewan coba
3. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengambilan jaringan luka dan pembuatan preparat
4. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengecatan imunohistokimia dan pengambilan data jumlah ekspresi EGF.

### 4.4.2 Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan selama kurang lebih 3 bulan.

## 4.5 Alat dan Bahan Penelitian

### 4.5.1 Alat dan Bahan Pembuatan Gelatin Ikan Patin

Kulit ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, timbangan analitik (neraca Ohaus), glass beaker, glass erlenmeyer, gelas ukur, talenan, loyang, pisau/ gunting, termometer, shaker water bath, air suling, kain saring Whatman no. 1, kulkas, air lemon, larutan asam sitrat (HCl) 1%, kertas lakmus, baskom, wadah tertutup, masker, sarung tangan, kantong plastik jenis PE (poly ether), dan aquadest.



#### 4.5.2 Alat dan Bahan Pencabutan Gigi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar umur 4 bulan dengan berat badan 180-200 gram, pisau *lecron* modifikasi, anastesi *ketamine* 1000 mg/10 ml, kain kasa, masker, sarung tangan, dan *needle holder* modifikasi.

#### 4.5.3 Alat dan Bahan Perlakuan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar umur 4 bulan dengan berat badan 180-200 gram, gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, pipet, pinset bedah, sonde gastrik, *cotton bud*, *scalpel* no. 11, toples kaca yang sudah diberi label untuk fiksasi, jarum jahit, benang jahit, gunting bedah, masker, dan sarung tangan.

#### 4.5.4 Alat dan Bahan Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Preparat

Eter, *scalpel*, *microtom*, kaca obyek dan penutup, blok parafin, *water bath*, tempat pewarnaan dan cucian, kertas saring, *timer*, formalin 10%, *acetone*, *xylol*, kuas kecil, gelatin, alkohol 96%, masker, dan sarung tangan.

#### 4.5.5 Alat dan Bahan Pewarnaan Imunohistokimia Indirek

Blok parafin, *xylene*, etanol, *peroxidase blocking solution*, *prediluted blocking serum*, antibodi monoklonal (anti-EGF), *Phosphate Buffer Saline* (PBS), antibodisekunder (*conjugated to horse radish peroxidase*), peroksidase, kromogen DAB (*Diaminobenzinidine*), *Hematoxylin*, air, *mounting media*, *coverslip*, mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan 5 lapang pandang.



## 4.6 Definisi Operasional

### 4.6.1 Ekstraksi Gigi Tikus

Pencabutan gigi merupakan suatu prosedur bedah yang dapat dilakukan dengan tang, elevator, atau pendekatan transalveolar dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat dikembalikan ke keadaan semula apabila sudah dilaksanakan (Pedlar dkk., 2007). Tahapan pencabutan gigi insisivus satu kiri rahang bawah pada hewan coba (*Rattus novergicus*) menurut Widyastomo dkk. (2013) adalah sebagai berikut :

1. Melakukan injeksi anastesi dengan *ketamine* 1000 mg/10 mL sebanyak 0,18-0,2 ml (berat badan tikus berkisar antara 180-200 gram) melalui intra peritoneal
2. Melakukan pencabutan menggunakan lecron dan *needle holder* pada gigi insisivus rahang bawah
3. Melakukan irigasi pada soket menggunakan aquadest steril

### 4.6.2 Soket Gigi

Soket gigi adalah kavitas dalam tulang alveolar pada setiap rahang yang memberikan tempat untuk akar gigi (Harty, 2013). Bagian tengah soket mandibular dipotong secara vertikal untuk digunakan dalam pembuatan preparat histologi (Widyastomo dkk.,2013).

### 4.6.3 Gelatin Ikan Patin

Pada penelitian ini gelatin ikan patin didapatkan dari kulit ikan patin (*Pangasius djambal*) yang dibuat dengan teknik pembuatan modifikasi Ratnasari, dkk. (2013) tanpa proses pengeringan. Penelitian ini didapatkan hasil berupa gel yang



mengandung konsentrasi ikan patin (*Pangasius djambal*) dengan jumlah konsentrasi sebanyak 100%.

#### 4.6.4 Epidermal Growth Factor (EGF)

*Epidermal Growth Factor* (EGF) adalah hormon polipeptida mitogenik yang berguna mengaktivasi sel mesenkim dan sel epitelial agar dapat membantu proses proliferasi sel, angiogenesis, sintesis matriks ekstraseluler dan stimulasi lapisan epidermal pasca terjadinya luka. Ekspresi EGF dapat diamati dengan pewarnaan imunohistokimia dan EGF tampak berwarna kecoklatan gelap di sekitar fibroblas, endotel dan calon epitel dengan bentuk menyesuaikan bentuk sel tersebut (Foster, *et al.* 2009).

### 4.7 Prosedur Penelitian

#### 4.7.1 Persiapan dan Perawatan Hewan Coba

Persiapan dan perawatan hewan coba adalah :

1. Hewan coba diseleksi berdasarkan kriteria sampel. Kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus putih
2. Tikus putih putih dipelihara dalam kandang berupa *box plastic* berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm yang beratapkan kawat berjaring
3. Lakukan aklimatisasi hewan coba tikus putih putih untuk membuat tikus putih putih beradaptasi pada tempat pemeliharaan (Laboratorium Farmakologi FK UB) selama 7 hari pada suhu ruangan (20-26°C) dengan kelembaban udara berkisar 40-70%



4. Lakukan desinfeksi menggunakan larutan *lysol* 3-5% untuk menjaga kebersihan kandang
5. Beri makan tikus putih dengan pelet komersial yang disediakan di tempat pakan dan ditaburkan (*bedding*) di lantai kandang untuk menambah nafsu makan. Selain itu, tikus putih juga harus diberi minum seperti air segar PDAM.

#### 4.7.2 Pembuatan Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*)

Prosedur pembuatan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) menurut Ratnasari dkk. (2013) adalah :

1. Kulit ikan patin (*Pangasius djambal*) diambil dan dipisahkan dari daging dan lemak (*degreasing*) yang menempel pada kulit
2. Kemudian, kulit ikan patin disimpan dalam suhu  $-20^{\circ}\text{C}$
3. Ikan patin yang telah disimpan dicairkan dalam suhu ruangan dan dipotong dengan ukuran sekitar  $1\text{ cm}^2$
4. Selanjutnya, kulit ikan patin dibilas dengan air lemon untuk menghilangkan material selain kulit ikan
5. Lalu, sampel ikan patin 100 gram dibilas dan direndam dalam larutan asam sitrat (HCl) selama 12 jam untuk mencairkan serabut kolagen menjadi serat-serat/ fibril sehingga mudah diekstraksi
6. Sampel dinetralkan dengan cara pencucian beberapa kali hingga air cucian berada pada pH netral (6-7)
7. Kulit patin diekstraksi menggunakan *shaker water bath* dengan air suling air suling dalam suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 6 jam



8. Larutan gelatin dipisahkan dari kulit sisa dengan menggunakan kain saring *Wathman* no.1
9. Larutan gelatin didinginkan pada suhu ruang hingga terbentuk gel gelatin

#### 4.7.3 Pencabutan Gigi Tikus Putih

Prosedur pencabutan gigi tikus putih menurut Widyastomo dkk. (2013) :

1. Tikus yang digunakan sebagai hewan coba akan diadaptasikan terlebih dahulu kurang lebih selama 7 hari
2. Sebelum dilakukan ekstraksi, tikus diberikan injeksi anestesi secara intra peritoneal menggunakan ketamine 1000 mg/10 ml sebanyak 0,18-0,2 ml (mengikuti berat badan tikus)
3. Ulesi alkohol 70% terlebih dahulu pada bagian tikus yang akan dilakukan anestesi
4. Lakukan injeksi dengan cara intra peritoneal dilakukan dengan cara menyuntikan 2/3 posterior dari bagian perut atau paha
5. Setelah bagian jarum dimasukkan lalu lakukan aspirasi
6. Jika jarum sudah ditempatkan dengan benar maka obat anestesi dapat diinjeksikan
7. *Onset of action* dari ketamine adalah  $\pm 3$  menit setelah injeksi dan mempunyai *duration of action*  $\pm 60$  menit
8. Setelah tikus tertidur, lakukan pemisahan akar gigi dari gingsiva dengan menggunakan alat lecron yang telah dimodifikasi



9. Lakukan ekstraksi pada insisivus rahang bawah dengan needle holder yang telah dimodifikasi. Pencabutan gigi dilakukan secara hati-hati searah dengan soket gigi. Kekuatan pencabutan harus sama untuk meminimalisir patahnya gigi
10. Irigasi soket dengan menggunakan aquades steril untuk membersihkan sisa-sisa fragmen gigi
11. Kontrol perdarahan dengan menggunakan kasa steril

#### 4.7.4 Pemberian Obat Analgesik Tikus putih

Untuk meredakan komplikasi rasa nyeri pasca pencabutan, tikus diberikan obat analgesik Novalgin 500mg/ml sebanyak 1 kali dengan dosis 0,18-0,2 ml secara intra peritoneal (Widyastomo dkk., 2013).

#### 4.7.5 Pemberian Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*)

Prosedur pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) adalah :

1. Pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dilakukan dengan menggunakan *pipet*
2. Gelatin diteteskan sebanyak 0,1 ml pada soket sebanyak 1 kali setelah dilakukan prosedur pencabutan
3. Lakukan pemberian gelatin pada tikus kelompok perlakuan sedangkan tikuskelompok kontrol tidak diberi gelatin
4. Isolasi gelatin pada soket tikus dalam waktu 10-20 menit dan tunggu hingga meresap

#### 4.7.6 Perawatan Tikus Putih Pasca Pencabutan Gigi

Perawatan pada tikus putih pasca pencabutan adalah :



1. Memberikan pakan jenis pelet dalam sediaan yang dihancurkan agar proses pemberian makan lebih mudah
2. Pemberian makanan dilakukan dengan sondasi, yaitu tindakan memasukkan sonde gastrik langsung menuju lambung tanpa melalui mulut untuk mencegah gangguan penyembuhan pada soket gigi
3. Pemberian minum yang bersumber dari PDAM dilakukan dengan dimasukkan ke dalam botol
4. Pemberian makan tikus putih dilakukan sehari sekali di pagi atau siang hari, sedangkan air minum selalu diisi ulang ketika air dalam botol akan habis

#### 4.7.7 Pengambil Sampel Jaringan

Sebelum pengambilan sampel jaringan dilakukan beberapa tahapan berikut :

1. Tikus pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 dimatikan terlebih dahulu dengan cara dislokasi leher. Tikus tidak perlu dimatikan menggunakan anastesi *ketamine* dosis letal (tiga kali dosis anastesi pada umumnya) sebesar 0,9 ml karena hanya dilakukan tindakan pencabutan gigi saja tanpa diambil sampel darah
2. Pastikan tikus telah mati dengan melakukan pengecekan aspirasi, detak jantung, dan kedipan mata
3. Lakukan dekaputasi rahang bawah (mandibula) dengan menggunakan *scalpel* no.11 dimana terdapat gigi yang sudah dicabut



4. Rahang tersebut dimasukkan ke dalam tabung berisi formalin 10% selama 18-24 jam untuk fiksasi jaringan dan diberi label sebagai penanda
5. Jasad tikus kemudian dikuburkan secara layak

#### 4.7.8 Pembuatan Sediaan Histologi

Setelah dilakukan dekaputasi rahang bawah (mandibula) dan fiksasi jaringan telah selesai, langkah selanjutnya adalah pembuatan sediaan histologi beupa preparat :

1. Sampel jaringan tikus yang telah difiksasi menggunakan formalin kemudian dicuci menggunakan air mengalir selama 15 menit
2. Lakukan dekalsifikasi rahang bawah (mandibula) menggunakan EDTA 14% selama 3-4 minggu
3. Setelah selesai dilakukan dekalsifikasi rahang bawah (mandibula)

#### 4.7.9 Pewarnaan Imunohistokimia

Metode pewarnaan imunohistokimia yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu metode *indirect* (tidak langsung). Metode ini merupakan pewarnaan imunohistokimia yang menggunakan antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer berfungsi untuk mengenali antigen yang mengidentifikasi jaringan. Antibodi sekunder berfungsi untuk berikatan dengan antibodi primer dan memberikan warna coklat untuk ekspresi EGF karena berikatan dengan senyawa pemberi warna (kromogen).



Prosedur pewarnaan imunohistokimia indirek menurut

Protap Pengecatan Imunohistokimia Fakultas Farmasi UGM dengan modifikasi sebagai berikut :

1. Melakukan deparafinasi preparat (blok parafin) dengan *xylene* sebanyak 3 kali masing-masing selama 3 menit
2. Rehidrasi masing-masing preparat dengan menggunakan *etanol* 100%, selama 2 menit, *etanol* 95% selama 2 menit, *etanol* 70% selama 1 menit, dan air selama 1 menit
3. Merendam dalam *peroxidase blocking solution* (PBS) pada suhu kamar selama 10 menit
4. Menginkubasi preparat dalam *prediluted blocking serum* 25°C selama 10 menit
5. Merendam preparat di dalam antibodi monoklonal anti-EGF selama 10 menit
6. Mencuci preparat dengan *Phospate Buffer Saline* (PBS) selama 5 menit
7. Menginkubasi preparat dengan antibodi sekunder (*peroxidase*) selama 10 menit
8. Mencuci preparat dengan PBS selama 5 menit
9. Menginkubasi preparat dengan *peroksidase* selama 10 menit
10. Mencuci preparat dengan PBS selama 5 menit
11. Menginkubasi preparat dengan kromogen DAB (*Diaminobenzinidine*) selama 10 menit
12. Menginkubasi preparat dengan *hematoxylin* selama 3 menit
13. Mencuci preparat dengan air mengalir
14. Membersihkan preparat dan tetesi dengan *mounting media*



15. Menutup preparat dengan *coverslip*
16. Mengamati ekspresi EGF (warna coklat gelap) pada sekitar fibroblas, endotel dan calon epitel dengan bentuk menyesuaikan bentuk sel tersebut menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x
17. Mendokumentasikan hasil setiap pengamatan
18. Melakukan perhitungan jumlah ekspresikan EGF pada makrofag dan calon epitel

#### 4.7.10 Pengambilan Data

Preparat jaringan luka pasca pencabutan gigi yang telah dilakukan pengecatan imunohistokimia akan diamati dan dilakukan penghitungan sel yang mengekspresikan EGF menggunakan mikroskop cahaya *Olympus CX-21* dengan perbesaran 400x pada 5 bidang lapang pandang yang berbeda di sepanjang luka pasca pencabutan gigi. Kemudian, sel dihitung secara manual untuk memperoleh data yang akurat. Indikator ekspresi EGF dalam pewarnaan imunohistokimia dengan menggunakan kromogen *diaminobenzidine* (DAB) akan terlihat sebagai warna coklat gelap di sekitar fibroblas, endotel dan calon epitel dengan bentuk menyesuaikan bentuk sel tersebut fibroblas, endotel dan calon epitel dengan bentuk menyesuaikan bentuk sel tersebut.

#### 4.8 Analisa Data

Untuk memperoleh data perhitungan jumlah ekspresi EGF, maka dilakukan analisis statistika menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 22.0 untuk *Windows* dengan

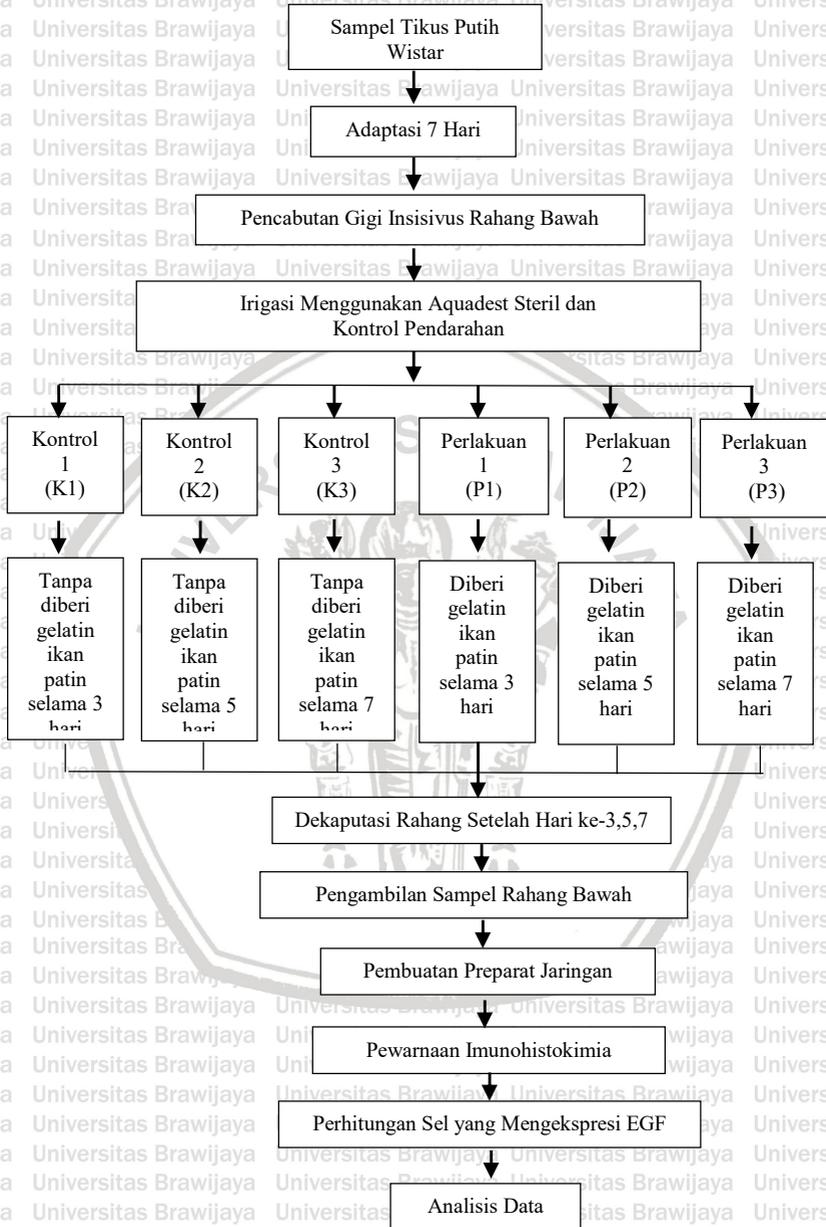


tingkat signifikansi 0,05 ( $p=0,05$ ) dan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ) dengan langkah analisis statistik sebagai berikut :

1. Pertama yaitu melakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wiik* karena besar sampel  $\leq 50$  dan bertujuan untuk menilai sebaran data tersebut berdistribusi normal atau tidak normal
2. Kedua yaitu melakukan uji homogenitas ragam untuk mengetahui sebaran data masing-masing kelompok tersebut homogen atau tidak dengan menggunakan *Levene's test*
3. Ketiga, bila data berdistribusi normal ( $p>0,05$ ) dan data bersifat homogen ( $p>0,05$ ), dilakukan *one way ANOVA* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi EGF pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*).

Keempat yaitu melakukan *Post Hoc Turkey* menggunakan *Least Significance Differences* (LSD) untuk mengetahui perbandingan rata-rata antar kelompok. Kelima, bila data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan peningkatan jumlah ekspresi EGF antar kelompok.

## 4.9 Skema Prosedur Penelitian



## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil

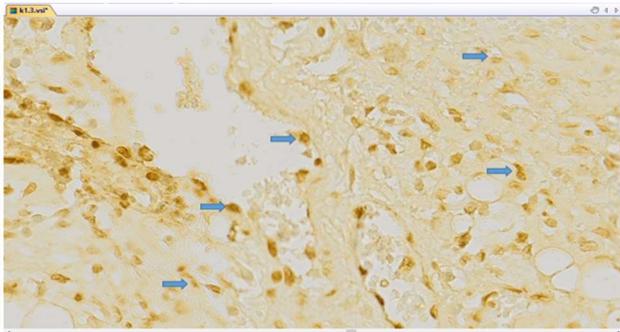
##### 5.1.1 Hasil Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah ekspresi EGF pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus Norvegicus*). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan dua kelompok hewan coba, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dibagi menjadi 2 *time series*. Kelompok kontrol pada hari ketiga (K1), kelompok kontrol pada hari kelima (K2), dan kelompok kontrol hari kelima (K3) serta kelompok perlakuan pada hari ketiga (P1), kelompok perlakuan pada hari kelima (P2), dan kelompok perlakuan pada hari ketujuh (P3). Kelompok kontrol yang dimaksud pada penelitian ini adalah tikus dengan perlakuan pencabutan gigi tanpa diberi aplikasi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, sedangkan kelompok perlakuan yang dimaksud adalah tikus dengan perlakuan pencabutan gigi yang diberi aplikasi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%.

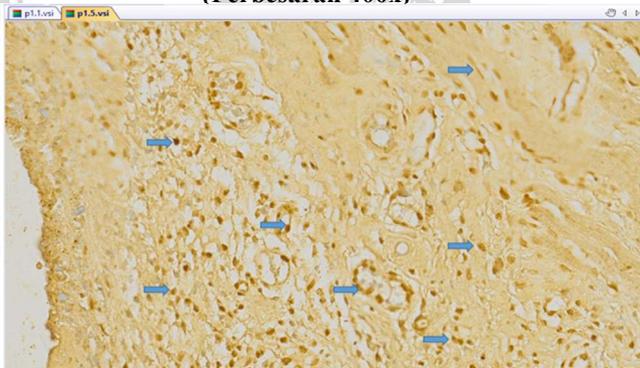
Pengambilan sampel jaringan luka didapatkan dengan mengambil soket rahang tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ketiga, kelima, dan ketujuh pasca dilakukannya pencabutan gigi, kemudian dilakukan pembuatan preparat histologi dan dilakukan pengecatan imunohistokimia dan dilakukan penghitungan sel untuk mengetahui jumlah ekspresi EGF menggunakan mikroskop cahaya

*Olympus CX-21* dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang yang berbeda di sepanjang luka pada soket pasca dilakukannya pencabutan gigi.

**Gambar 13. Gambaran Ekspresi EGF pada kelompok kontrol hari ke-3 (K1) dengan pewarnaan Imunohistokimia kromogen DAB (Perbesaran 400x)**



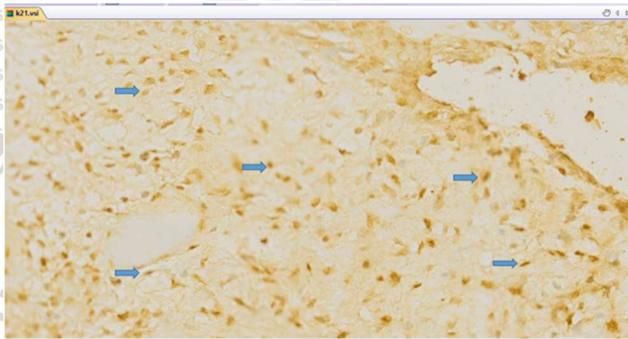
**Gambar 14. Gambaran Ekspresi EGF pada kelompok perlakuan hari ke-3 (P1) dengan pewarnaan Imunohistokimia kromogen DAB (Perbesaran 400x)**



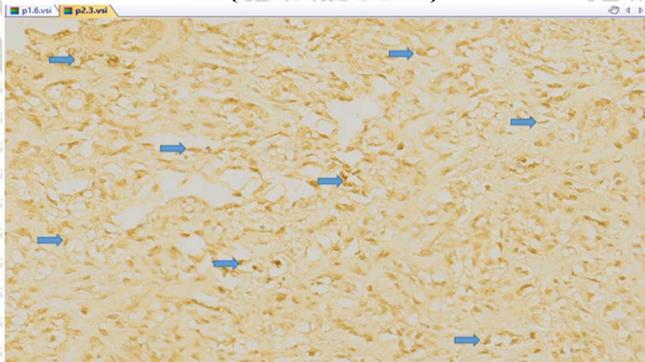
Pada Gambar 13 dan Gambar 14 tampak ekspresi EGF berwarna coklat tua pada sel yang ditunjukkan dengan panah berwarna biru. K1 merupakan kelompok kontrol hari ketiga dengan rerata jumlah ekspresi EGF sebesar 214,5 sedangkan P1 merupakan

kelompok perlakuan hari ketiga dengan rerata jumlah ekspresi EGF sebesar 310,35. Dari kedua perbandingan jumlah tersebut dapat disimpulkan bahwa jumlah ekspresi EGF pada kelompok perlakuan hari ketiga (P1) lebih tinggi dibandingkan jumlah ekspresi EGF pada kelompok kontrol hari ketiga (K1).

**Gambar 15. Gambaran Ekspresi EGF pada kelompok kontrol hari ke-5 (K2) dengan pewarnaan Imunohistokimia kromogen DAB (Perbesaran 400x)**



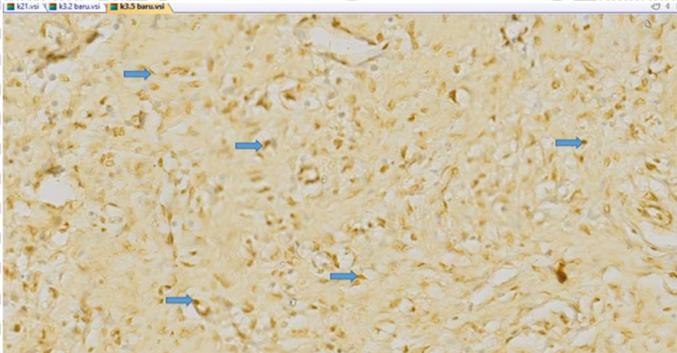
**Gambar 16. Gambaran Ekspresi EGF pada kelompok perlakuan hari ke-5 (P2) dengan pewarnaan Imunohistokimia kromogen DAB (Perbesaran 400x)**



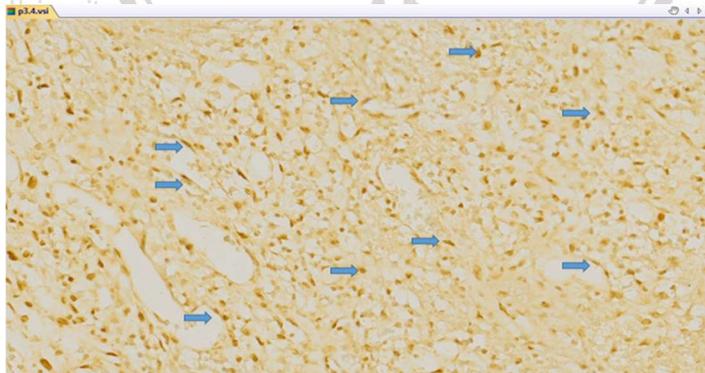
Pada Gambar 15 dan Gambar 16 tampak ekspresi EGF berwarna cokelat keemasan pada sel yang ditunjukkan dengan panah

berwarna biru. K2 merupakan kelompok kontrol hari kelima dengan rerata jumlah ekspresi EGF sebesar 283,25 sedangkan P2 merupakan kelompok perlakuan hari kelima dengan rerata jumlah ekspresi EGF sebesar 457,7. Dari kedua perbandingan jumlah tersebut dapat disimpulkan bahwa jumlah ekspresi EGF pada kelompok perlakuan hari kelima (P2) lebih tinggi dibandingkan jumlah ekspresi EGF pada kelompok kontrol hari kelima (K2).

**Gambar 17. Gambaran Ekspresi EGF pada kelompok kontrol hari ke-7 (K3) dengan pewarnaan Imunohistokimia kromogen DAB (Perbesaran 400x)**

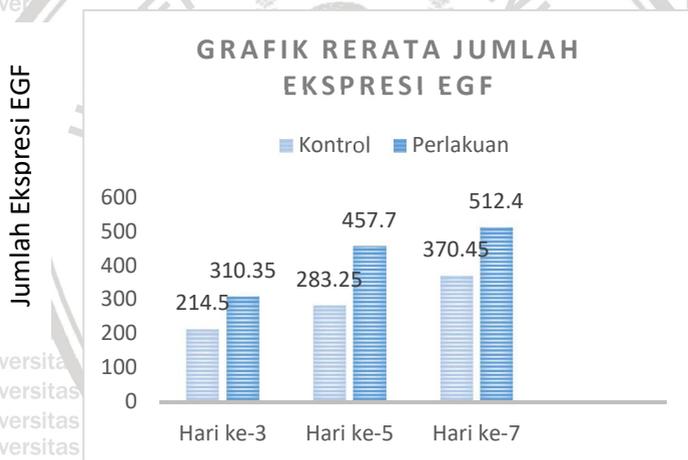


**Gambar 18. Gambaran Ekspresi EGF pada kelompok perlakuan hari ke-7 (P3) dengan pewarnaan Imunohistokimia kromogen DAB (Perbesaran 400x)**



Pada **Gambar 17** dan **Gambar 18** tampak ekspresi EGF berwarna coklat tua keemasan pada sel yang ditunjukkan dengan panah berwarna biru. K3 merupakan kelompok kontrol hari ketujuh dengan rerata jumlah ekspresi EGF sebesar 370,45 sedangkan P3 merupakan kelompok perlakuan hari ketujuh dengan rerata jumlah ekspresi EGF sebesar 512,4. Dari kedua perbandingan jumlah tersebut dapat disimpulkan bahawa jumlah ekspresi EGF pada kelompok perlakuan hari ketujuh (P3) lebih tinggi dibandingkan jumlah ekspresi EGF pada kelompok kontrol hari ketujuh (K3).

**Gambar 19. Grafik Rerata Jumlah Ekspresi EGF pada dengan pewarnaan Imunohistokimia (Perbesaran 400x)**



Berdasarkan hasil grafik pada **Gambar 5.7** dapat disimpulkan bahwa rerata jumlah dari ekspresi EGF dengan nilai terendah yaitu kelompok kontrol pada hari ketiga (K1) sebesar 214.5 sedangkan nilai tertinggi yaitu kelompok perlakuan pada hari ketujuh (P3) sebesar 512.4. Berdasarkan hasil grafik secara keseluruhan pula menunjukkan

bahwa rerata jumlah ekspresi EGF terjadi peningkatan mulai dari hari ketiga, hari kelima, hingga hari ketujuh dan pada jumlah rerata kelompok perlakuan selalu bernilai lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah rerata kelompok kontrol di hari yang sama.

Dari hasil perhitungan ekspresi EGF, selain rerata didapatkan pula nilai dari standar deviasi untuk setiap kelompok yang tertera pada **Tabel 1** berikut,

**Tabel 1. Hasil Perhitungan Standar Deviasi (STDEV/SD) Jumlah Ekspresi EGF pada Soket Gigi Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Kelompok	Mean	STDEV/SD
Kontrol hari ke-3 (K1)	214.5	31.473
Kontrol hari ke-5 (K2)	310.35	30.096
Kontrol hari ke-7 (K3)	283.25	52.155
Perlakuan hari ke-3 (P1)	457.7	61.832
Perlakuan hari ke-5 (P2)	370.45	100.391
Perlakuan hari ke-7 (P3)	512.4	35.435

### 5.1.2 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisa secara statistika menggunakan program IBM *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 22.0 untuk *Windows* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Langkah pertama adalah dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* kemudian dilanjutkan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test*.

Hipotesis ditentukan menggunakan uji *One way ANOVA* yaitu apabila nilai signifikansi hasil uji  $p < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak,  $H_0$



dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) tidak berpengaruh terhadap jumlah ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*), sedangkan H<sub>1</sub> dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap jumlah ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Selanjutnya, dilakukan uji lanjutan dari uji *One way ANOVA* menggunakan *Post Hoc Multiple Comparisons* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok.

### 5.1.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas data dilakukan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena data yang digunakan berjumlah <50, uji ini bertujuan untuk mengetahui sebaran data berdistribusi normal atau tidak normal. Uji normalitas terpenuhi bila bila hasil perhitungan  $p > 0,05$ . Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan hasil pengujian normalitas sebagai berikut,

**Tabel 2. Uji Normalitas Ekspresi EGF**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
EGF	.139	24	.200*	.934	24	.118

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil tabel di atas, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,118, maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 (  $p > 0,05$  ). Sehingga didapatkan hasil uji normalitas terpenuhi dan data berdistribusi normal.



### 5.1.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas data dilakukan menggunakan *Levene's Test*, uji ini bertujuan untuk mengetahui data penelitian mempunyai variasi yang sama (homogen). Uji homogenitas dikatakan terpenuhi jika nilai signifikansi hasil penghitungan  $p > 0,05$ . Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan hasil pengujian homogenitas sebagai berikut,

**Tabel 3. Uji Homogenitas Ekspresi EGF**

**Test of Homogeneity of Variances**

EGF			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.960	5	18	.468

Berdasarkan hasil tabel di atas, didapatkan hasil koefisien *Levene statistic* sebesar 0,960 dengan nilai signifikansi sebesar 0,468, maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Sehingga didapatkan hasil uji homogenitas terpenuhi dan data memiliki variasi yang sama (homogen).

Berdasarkan hasil perhitungan kedua uji tersebut, karena data yang dihasilkan berdistribusi secara normal dan data memiliki variasi yang sama (homogen), maka analisa dara selanjutnya dapat dilanjutkan menggunakan uji *One way ANOVA*.

### 5.1.2.3 Uji *One way ANOVA*

Uji *One way ANOVA* digunakan untuk menguji perbedaan jumlah ekspresi EGF secara keseluruhan pada kelompok kontrol



dengan kelompok. Uji *One way* ANOVA dikatakan terpenuhi jika nilai signifikansi hasil penghitungan  $p < 0,05$  sehingga  $H_0$  ditolak. Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan hasil pengujian sebagai berikut.

**Tabel 4. Uji *One way* ANOVA Ekspresi EGF**

EGF	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	249538.9	5	49907.774	15.144	.000
Within Groups	59320.810	18	3295.601		
Total	308859.7	23			

Berdasarkan hasil tabel tersebut, didapatkan hasil uji *One way* ANOVA dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Sehingga  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima dan dapat disimpulkan pada penelitian ini terdapat perbedaan antara jumlah ekspresi EGF yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dengan yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus novvergicus*).

#### 5.1.2.4 Uji *Post Hoc* Multiple Comparisons

Setelah hasil uji *One way* ANOVA terpenuhi, maka langkah selanjutnya adalah dilakukan uji *Post Hoc* Multiple Comparisons yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi EGF antara kelompok kontrol (K1,K2,K3) dan kelompok perlakuan (P1,P2,P3) secara lebih spesifik. Uji *Post Hoc* Multiple Comparisons dikatakan terpenuhi dan terdapat perbedaan yang bermakna jika nilai



signifikansi hasil penghitungan  $p < 0,05$ . Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan hasil pengujian sebagai berikut,

**Tabel 5. Tabel Uji Komparasi Multiple *Post Hoc* Ekspresi EGF**

Kelompok	Kelompok Pemanding	p	Keterangan
K1	P1	0.221	Tidak Signifikan
	K2	0.553	Tidak Signifikan
	P2	0.000	Signifikan
	K3	0.013	Signifikan
	P3	0.000	Signifikan
P1	K2	0.983	Tidak Signifikan
	P2	0.020	Signifikan
	K3	0.680	Tidak Signifikan
	P3	0.001	Signifikan
K2	P2	0.005	Signifikan
	K3	0.308	Tidak Signifikan
	P3	0.000	Signifikan
P2	K3	0.307	Tidak Signifikan
	P3	0.756	Tidak Signifikan
K3	P3	0.026	Signifikan

Berdasarkan hasil tabel tersebut didapatkan hasil kelompok kontrol hari ketiga (K1) mempunyai nilai perbedaan yang tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari ketiga (P1) karena nilai signifikasi sebesar 0,221 ( $p < 0.05$  tidak berlaku).



Sedangkan pada kelompok kontrol hari kelima (K2) mempunyai nilai perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari kelima (P2) karena nilai signifikansi sebesar 0,005 ( $p < 0,05$  berlaku) dan kelompok kontrol hari ketujuh (K3) juga mempunyai nilai perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari ketujuh (P3) karena nilai signifikansi sebesar 0,026 ( $p < 0,05$  berlaku).

## 5.2 Pembahasan

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah ekspresi *Epidermal Growth Factor* (EGF) pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus novvergicus*). Pada penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi kelompok kontrol (K) yaitu kelompok hewan coba yang tidak diberikan perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% pada hari ketiga (K1), kelima (K2), dan ketujuh (K3), dan kelompok perlakuan (P) yaitu kelompok hewan coba yang diberikan perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% pada hari ketiga (P1), kelima (P2), dan ketujuh (P3).

Sampel penelitian ini didapatkan dari tikus putih (*Rattus novvergicus*) yang telah dilakukan pencabutan pada gigi insisivus kiri mandibula pada hari pertama, kemudian dilakukan dekaputasi rahang pada hari ketiga, kelima, dan ketujuh. Proses pembuatan sampel dilanjutkan dengan pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan Imunohistokimia dan dilakukan pengamatan ekspresi EGF menggunakan mikroskop cahaya *Olympus CX-21* dengan perbesaran



400x pada 5 lapang pandang yang berbeda di sepanjang luka pada soket pasca dilakukannya pencabutan gigi, kemudian dilakukan penghitungan jumlah ekspresi EGF pada setiap lapang pandang tersebut.

Berdasarkan penelitian ini didapatkan hasil dari jumlah ekspresi EGF pada kelompok kontrol tikus putih (*Rattus novergicus*) sangat berbeda dengan kelompok perlakuan tikus putih (*Rattus novergicus*) atau terjadi peningkatan jumlah ekspresi EGF pada kedua kelompok tersebut. Pada kelompok kontrol hari ketiga (K1) didapatkan jumlah rerata ekspresi EGF sebesar 214,5 sedangkan pada kelompok perlakuan hari ketiga (P1) didapatkan jumlah rerata ekspresi EGF sebesar 310,35. Pada kelompok kontrol hari kelima (K2) didapatkan jumlah rerata ekspresi EGF sebesar 283,25 sedangkan pada kelompok perlakuan hari kelima (P2) didapatkan jumlah rerata ekspresi EGF sebesar 457,7, dan pada kelompok kontrol hari ketujuh (K3) didapatkan jumlah rerata ekspresi EGF sebesar 370,45 sedangkan pada kelompok perlakuan hari ketiga (P3) didapatkan jumlah rerata ekspresi EGF sebesar 512,4.

Pada penelitian ini peningkatan jumlah ekspresi EGF disebabkan oleh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada kelompok perlakuan hari ketiga (P1), kelima (P2), dan ketujuh (P3). Gelatin ikan banyak memiliki kandungan protein, salah satunya adalah asam amino dengan kandungan dengan jumlah terbanyak didapatkan pada glisin sebesar 24,70% yang berperan pada proses penyembuhan luka karena meningkatkan ekspresi EGF terhadap pembentukan epitel (Sa, *et al.* 2013). Berdasarkan penelitian yang



dilakukan Maria dkk. (2018), glisin memiliki efek anti-inflamasi dan imunomodulator terhadap ekspresi *growth factors*, kolagen, platelet, dan lapisan epidermal pada hamster yang terkena mukositis. Pada penelitian tersebut dilakukan pemberian glisin konsentrasi 5% dan diinjeksikan setiap hari sekali selama tujuh hari dan didapatkan hasil berkurangnya peradangan, manifestasi klinis dan ulserasi pada hamster yang terkena mukositis tersebut.

Pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi EGF juga dikuatkan oleh penelitian lain yang dilakukan Schaumann, *et al.* (2013) pada penelitian tersebut telah terbukti bahwa pemberian glisin pada mukositis memberikan efek *signaling* sel dan proliferasi sel. Kandungan glisin pada EGF berperan dalam regenerasi jaringan dan proses penyembuhan luka dengan cara berinteraksi dengan permukaan reseptor sel sehingga meningkatkan transkripsi gen dan sintesis protein. Protein yang disintesis kemudian memicu proliferasi dan diferensiasi seluler sehingga merangsang profuksi matriks ekstraseluler dan angiogenesis (Muthukumar, *et al.* 2014) dan stimulasi sintesis kolagen sehingga mendukung proses perbaikan jaringan (Ramanathan, *et al.* 2017).

Pada penelitian ini dilakukan uji *Post Hoc* Multiple Comparisons, setelah sebelumnya dilakukan uji normalitas, homogenitas, dan *one way* ANOVA. Pada hasil uji *Post Hoc I* Multiple Comparisons didapatkan hasil kelompok kontrol hari ketiga (K1) mempunyai nilai perbedaan yang tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari ketiga (P1), karena nilai signifikansi sebesar 0,221 ( $p < 0,05$ ). Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena



pada hari ketiga, proses inflamasi sedang beralih menjadi proses proliferasi, dimana stimulasi *growth factor* baru saja dimulai. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Hsu, *et al.* (2016) dimana pada penelitian tersebut diamati ekspresi EGF berada pada puncak terendah pada 12-24 jam pertama terjadi luka atau pada fase inflamasi. Pada kelompok kontrol hari kelima (K2) mempunyai nilai perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari kelima (P2) karena nilai signifikansi sebesar 0,005 ( $p < 0,05$ ). Peningkatan yang bermakna ini disebabkan karena pada hari kelima EGF. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian ekspresi EGF yang dilakukan pada *Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation* (TENS) dan didapatkan hasil ekspresi EGF yang tinggi pada hari kelima (Kutlu, *et al.* 2013). Pada kelompok kontrol hari ketujuh (K3) juga mempunyai nilai perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari ketujuh (P3) karena nilai signifikansi sebesar 0,026 ( $p < 0,05$ ). Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Maria *et al.* (2018) pada sekelompok tikus putih yang mengalami mukositis dan setelah diberikan asam amino glisin secara topikal dapat diamati hasil ekspresi EGF tertinggi pada hari ketujuh. Penelitian terdahulu yang dilakukan Sa *et al.* (2013) dapat disimpulkan bahwa pemberian glisin pada hewan coba yang mengalami mukositis menunjukkan adanya efek anti-inflamasi dan adanya penambahan kolagen dan *growth factor* (EGF dan PDF).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dan setelah dibandingkan dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis penelitian dapat diterima



karena pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap jumlah ekspresi *Epidermal Growth Factor* (EGF) pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus novergicus*). Peningkatan jumlah ekspresi EGF mengindikasikan adanya peningkatan proses penyembuhan luka pasca pencabutan.



## BAB VI PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan hasil pembahasan mengenai pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi

*Epidermal Growth Factor* (EGF) pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*), dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap peningkatan jumlah ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*)

2. Jumlah rerata ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol (K) yaitu yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% sebesar 214,5 pada hari ketiga (K1), 283,25 pada hari kelima (K2), dan 370,45 pada hari ketujuh (K3).

Sedangkan Jumlah rerata ekspresi EGF pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok perlakuan (P) yaitu yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100% sebesar 310,35 pada hari ketiga (P1), 457,7 pada hari kelima (P2), dan 512,4 pada hari ketujuh (P3).

3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah ekspresi EGF kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara keseluruhan, hal ini dibuktikan dengan jumlah ekspresi EGF tertinggi yaitu pada kelompok P3 sebesar 512,4 sedangkan



jumlah ekspresi EGF terendah yaitu pada kelompok K1 sebesar 214,5.

## 6.2 Saran

Saran yang dapat dikembangkan untuk penelitian selanjutnya, adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimal pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) serta pengaruh pemberian terhadap saliva
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut setelah hari ketujuh, untuk mengetahui pengaruh EGF terhadap proses penyembuhan jaringan keras (bone healing) pada luka pasca pencabutan gigi
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai agen hemostatic pada luka pasca pencabutan gigi
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping, toksisitas, *blood clotting time* pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai terapi penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait perlakuan terhadap ikan patin yang dapat meningkatkan jumlah kandungan glisin pada ikan patin tersebut



## DAFTAR PUSTAKA

Afshari, Mojgan., *et al.* 2005. *Efficacy of Topical Epidermal Growth Factor in Healing Diabetic Foot Ulcers*. Therapy Journal Vol.2, No.5.Pp:759-765

Anna T, *et al.* 2003. *Wound Healing : The Role of Growth Factors*.

Berlangga, J., *et al.* 2013. *Heberprot-P : A Novel Product for Treating Advanced Diabetic Foot Ulcer*. MEDICC Review Vol.15, No.1. Pp:11-5

Carolina, Elen., *et al.* 2015. *The Influence of Growth Factor on Skin Wound Healing in Rats*. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology Vol.82,No.5,Pp:512-521

Carvajal, Marti. *et al.* 2015. *Growth Factors for Treating Diabetic Foot Ulcers (Review)*. The Cochrane Library Collaboration : Venezuela

Chao, He., *et al.* 2013. *Correlation of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Expression with Clinicopathological Characteristics and Prognosis in Gastric Cancer*. World Journal of Gastroentology 2013 April 14: 19(14): 2171-2178.

Christal, G.Oroh, Pangemanan, H.C Damajanty., Mintjelungan, Christy. 2015. *Efektivitas Lendir Bekicot (Achatina fulica) Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus*. Jurnal e-Gigi (eG) Vol.3, No.2, Edisi Juli-Desember 2015.

Fragiskos, D. 2007. *Oral Surgery*. School of Dentistry: Univeristy of Athens, Greece. Springer, 108-115.

Foster, TE., *et al.* 2009. *Platelet-rich Plasma : From Basic Science to Clinical Applications*. The American Journal of Sports Medicine Vol.37. No.11:2259-72



Grobben, H., et.al. 2000. *Inactivation of The Bovine-Spongiform-Encephalopathy (BSE) Agent by The Acid and Alkaline Processes Used in The Manufacture of Bone Gelatine.*

Gustiano, R., Sudarto., Pouyau, L. 2003. *Bagaimana Mengenal Pangasius Djambal?.* Hal.5.

Hanson, Thomas Arn. 2014. *Vancomycin gene selection in the microbiome of urban Rattus norvegicus from hospital environment.* Evolution medicine, and public health. 1 (1):219-226.

Harty, F.J dan Ogston, R. 2013. *Kamus Kedokteran Gigi (terj.).* Jakarta Universitas: EGC

Hekta, Reza.,dkk. 2015. *Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin Kulit Ikan Patin (Pangasius pangasius) dengan Kombinasi Berbagai Asam dan Suhu.* Fishtech: Jurnal Teknologi Hasil Perikanan.

Hsu, Ya-Ting., et al. 2016. *EpCAM-Regulated Transcription Exerts Influences on Nanomechanical Properties of Endometrial Cancer Cells that Promote Epithelial-to-Mesenchymal Transition.* American Association for Cancer Research

Jiang, Liejun., et al. 2017. *Evaluation of EGF, EGFR, and E-Cadherin as Potential Biomarkers for Gastrointestinal Cancers.* Frontiers in Laboratory Medicine Journal Vol.1. Pp:135-140

Junianto., Haetami, Kiki. Maulina, Ike. 2006. *Produksi Gelatin dari Tulang Ikan dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul.* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjajaram, Bandung.

Keast, David., Orsted, Heather. 2011. *The Basic Principles of Wound Healing*



[Kemendag] Kementerian Perdagangan. 2013. *Ikan Patin Hasil Alam Bernilai Ekonomi dan Berpotensi Ekspor Tinggi*. Warta Ekspor Edisi Desember, 2013.

Ketut, Berata. dkk. 2010. *Studi Patologi Kejadian Cysticercosis pada Tikus Putih*. Jurnal:Vol 11 No,4 : 232-237.

Kumar, Vinay., Abbas, Abul K., Fausto, Nelson. 2005. *Robbins and Cotran : Pathologic Basis of Disease 7<sup>th</sup> Edition*. St. Louis, Mo : Elsevier Saunders

Kuniko, Hori., et al. 2012. *Controlled -Release of Epidermal Growth Factor From Cationized Gelatin Hydrogel Enhances Corneal Epithelial Wound Healing*. Elsevier:Journal Volume 118.

Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Edisi pertama, Yogyakarta : Universitas Gajah Mada, h : 88-91

Kutlu, AK., et al. 2013. *A Comparison Study of Growth Factor Expression Following Treatment With Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, Saline Solution, Povidone-Iodine, and Lavender Oil in Wound Healing*. Evid Based Complement : Altern Med 2013 Pp.1-9

Leoni, G., et al. 2015. *Wound repair : Role of Immune-Epithelial Interactions*. Mucosal Immunology Vol.8 No.5.

Maria, Odara. et al. 2018. *Effects of Glycine on Collagen, PDGF, and EGF Expression in Model of Oral Mucositis*. Brazil:MDPI Nutrients Journal 2018. Vol 10, No.1485

Martin, P., Nunan, R. 2015. *Cellular and Molecular Mechanism of Repair in Acute and Chronic Wound Healing*. British Journal of Dermatology. Vol 173. Pp:370-378

Massagus, Hardadi., Maryono, Jimmy., Mariati, Ni Wayan. 2013. *Gambaran Tindakan Pencabutan Gigi Tetap di Puskesmas Tinumbala Kecamatan Aertembaga Kota Bitung Tahun 2013, Manado*.



Montelione, G.T., et al. 1992. *Solution Structure of Murine Epidermal Growth Factor Determined by NMR Spectroscopy and Refined by Energy Minimization with Restraints Biochemistry* 31:236

Muthukumar, T. et al. 2014. *Effect of Growth Factors And Pro-Inflammatory Cytokines by The Collagen Biocomposite Dressing Material Containing Macrotylomauniflorum Plant Extract-In Vivo Wound Healing*. Colloids Surf. B Biointerfaces Vol. 121, Pp:178–188

Neni, Wahyu Hastuti dan Humairah, Medina L.Lubis. 2011. *Manfaat Pemeriksaan Imunohisto(sito)kimia*. CDK 186, Vol.38, No.5, Edisi Juli-Agustus 2011.

Pedlar, J dan Jhon, W. Frame. 2007. *Oral and Maxillofacial Surgery: An Objective-based Textbook 2nd Edition*. London: Churchill Livingstone Elsevier

Peterson, Larry. 2004. *Principles of Oral and Maxillofacial Surgery Second Edition*. BC Decker Inc. Hamilton.London

Purnomo, A. 2007. *Menembus Pasar Ekspor Produk Perikanan Indonesia*. Food Review. II (7) : Hal 12-15.

Qing, Chun. 2017. *The Molecular Biology in Wound Healing and Non-Healing Wound*. Chinese Journal of Traumatology. Vol 20. Pp:189-193

Ramanathan, G., Muthukumar, T., TirichurapalliSivagnanam, U. 2017. *In Vivo Efficiency of The Collagen Coated Nanofibrous Scaffold and Their Effect on Growth Factor Receptor (EGFR) and Pro-Inflammatory Cytokines in Wound Healing*. Pharmacol Journal. Vol.814. Pp:45-55

Ratnasari et al. 2013. *Extraction And Characterization Of Gelatin From Different Fresh Water Fishes As Alternative Sources Of Gelatin*. International Food Research Journal



Reinke, J.M dan Sorg, H. 2012. *Wound Repair and Regeneration. European Surgical Research 2012.*

[RISKESDAS] Riset Kesehatan Dasar. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia. Jakarta.

Rosella, Galati. 2012. *The Role of Cyclooxygenase-2, Epidermal Growth Factor Receptor and Aromatase in Malignanti Mesothelioma. Regina Elena Cance Institute. Rome, Italy.* INTECH : Chapter 4

Rozman, P., Bolta, Z. 2007. *Use of Platelet Growth Factors in Treating Wounds and Soft-Tissue Injuries.* Acta Dermatovenereologica Alpina, Panonica, et Adriatica Vol.16. No.4: 156-65

Sa, O.S., et al. 2013. *Glycine Supplementation Reduces The Severity of Chemotherapy-induced Oral Mucositis in Hamster.* Nat. Sci. Vol.5.Pp:972-978

Saanin, 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan 1. Jakarta: Bina Cipta

Schaumann, T. et al. 2013. *Potential Immune Modularly Role of Glycine in Oral Gingival Inflammation.* Clin. Dev. Immunol 808367

Sjamsuhidayat, R dan Jong, Wim De. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah.* Jakarta:EGC

Siswahyuningsih, Sri. 2011. *Ketahanan Ikan Patin.* Dalam <https://www.scribd.com/doc/304322056/ikan-patin-pdf> (Diakses pada 27 Agustus 2018 Pukul 17.30 WIB) Hal.14.

Slembrouck, Jacques., Komarudin Oman, Maskur, Legendre, Marc. 2003. *Technical Manual for Artificial Propagation of The Indonesian Catfish, Pangasius djambal.* IRD-DKP 2003



Smith, John B. 1987. *The Care, Breeding and Management of Experimental Animals for Research in the Tropics*. International Development Program of Australian Universities and Colleges Limited, Canberra, Australia

Suryaningrum, Theresia Dwi., Muljanah, Ijah. Tahapari, Evi. 2010. *Profil Sensori dan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Patin dan Hibrid Nasutus*. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 5 No. 2. 2010.

Szpak, Paul. 2011. *Fish Bone Chemistry and Ultrastructure : Implications for Taphonomy and Stable Isotope Analysis*. Journal of Archaeological Science

Theddeus, O.H. Prasetyono. 2009. *General Concept Of Wound Healing Revisited*. Med J Indonesia. 2009., 18(3).p 208-212.

Tsang, Man Wo, et.al. 2003. *Human Epidermal Growth Factor Enhances Healing of Diabetic Foot Ulcers*.

Venturi, S., Venturi, M. 2009. *Iodine in Evolution of Salivary Glands and in Oral Health*. Journal of Nutrition and Health. Vol.20. No.2. Pp:119-134

Vineran H V. *Rats-Biology and Husbandry*. Florida International University

[Http:Research.fiu.edu/documents/facilities/acf/documents/rats-biology-husbandry.pdf](http://Research.fiu.edu/documents/facilities/acf/documents/rats-biology-husbandry.pdf) Accessed on 27 Januari 2018

Watson, Tim. 2016. *Soft Tissue Repair Healing Review* (Dalam : [www.electrotherapy.org](http://www.electrotherapy.org)). Diakses pada 13 Januari 2019 pukul 20:49 WIB

Widodo, Pujud., Rakhma, Luluk Ria. 2016. *Hubungan Antara Pengetahuan Tentang Gizi, Asupan Lemak dan Protein Dengan Proses Penyembuhan Luka Pada Pasien Post Caesrean Section di Instalasi Rawat Jalan RS PKU Muhammadiyah Surakarta*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta



Widyastomo., Kartika Andari Wulan., dan Indah Permatasari. 2013. *Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (Averrhoa CarambolaLinn) Terhadap Peningkata Jumlah Fibroblas Pada soket Gigi Tikus Strain Wistar Pasca Estraksi Gigi*. Jurnal Prodentol, 1(2), p62-70.

Wijaya, Anton. 2015. *Fungsi dan Cara Kerja Spongostan* (Dalam: <https://dokumen.tips/documents/fungsi-dan-cara-kerja-spongostan-dalam-mengatasi-perdarahan.html>). Diakses pada 13 September 2018 Pukul 20.10 WIB.

Yani, C. Rahayu dan Elza, I. Auerkari. 2004. *Teknik Imunohistokimia Sebagai Pendeteksi Antigen Spesifik Penyakit Infeksi*. Indonesian Journal of Dentistry 2004; 11(2): 76-82

Zahara Meilawaty. 2012. *Pemberian Ekstrak Metanolik Getah Biduri (Calotropis gigantea) Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva Tikus Wistar*. Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Vol 9 No.2 Halaman 73-76.

