

Pengaruh Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) terhadap Ekspresi RANKL pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Virginia Cornela Roring¹, Irwan Baga², Fredy Mardiantoro³, Nenny Prasetyaningrum⁴

¹ Mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

² Dosen Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

³ Dosen Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

⁴ Dosen Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Dalam proses remodeling tulang, RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*) yang diproduksi oleh osteoblas, merupakan agen yang sangat penting. RANK yang merupakan reseptor dari RANKL diproduksi oleh osteoklas yang pada saat RANKL berikatan dengan reseptornya RANK, maka akan terjadi diferensiasi dan proliferasi osteoklas yang mengakibatkan resorpsi tulang. Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) mengandung banyak asam amino esensial dan yang paling banyak adalah Glisin dan Arginin. Arginin memproduksi *Nitric Oxide* (NO) yang dapat menstimulasi *growth factor*, meningkatkan jumlah ekspresi OPG (*Osteoprotegerin*) dan menurunkan ekspresi RANKL. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi RANKL pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Randomized Post Test Only Group Design* di laboratorium secara *in-vivo*. Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi secara acak menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol yang tidak diberi gelatin ikan patin dan kelompok perlakuan yang diberi gelatin ikan patin dan kemudian didekaputasi pada hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7. Perhitungan ekspresi RANKL menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran kuat (1000x) pada 20 bidang lapang pandang pada perparat histologi dengan perwarnaan immunohistokimia. Jumlah ekspresi RANKL pada kelompok perlakuan mengalami penurunan secara bertahap dan menurun secara signifikan pada hari ke-7. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap penurunan ekspresi RANKL pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Kata kunci: RANKL, gelatin ikan patin, arginin, pencabutan gigi

ABSTRACT

RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*) that produced by osteoblasts is a very important agent in bone remodelling process. when RANKL binds to its receptors RANK which made by osteoclasts, osteoclast differentiation and proliferation will occur which induce bone resorption. Patin fish gelatine (*Pangasius djambal*) contains many essential amino acids which contains the most glycine and arginine. Arginine produces *Nitric Oxide* (NO) which can stimulate *growth factors*, increase the amount of OPG (*Osteoprotegerin*) expression and reduce RANKL expression, which will accelerate wound healing. The purpose of this study was to study the effect of patin fish gelatine (*Pangasius djambal*) on RANKL reactions in wounds after tooth extraction of white rats (*Rattus norvegicus*). This study used an experimental laboratory design that used the *Random Post Test Only Design Group Design* in the laboratory *in-vivo*. The samples were white mice (*Rattus norvegicus*) which were randomly divided into 6 control groups who were not given

patin fish gelatine and the group given patin fish gelatin and then decaputed on 3rd, 5th, and 7th day . The number of RANKL expression on histological preparations with immunohistochemistry (IHC) staining was calculated using a light microscope with strong magnification (1000x) in 20 fields of view. The One Way ANOVA test results in this study indicate the facts shown in the control group and the management group (p value < 0.05). The mean result showed that RANKL expression was gradually decreased in treatment group and significantly decreased at the 7th day treatment group. The conclusion of this study was the patin fish (*Pangasius djambal*) gelatine has effect to decrease the number of RANKL expression in wound after white rat's (*Rattus norvegicus*) tooth extraction.

Key words: RANKL, patin fish gelatin, arginine, tooth extraction

PENDAHULUAN

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan dalam perawatan gigi, yang dapat dilakukan dengan tang (*forceps*), elevator atau pendekatan transalveolar^[1] yaitu dengan mengambil gigi yang berada dalam soket atau dental alveolus yang berada di dalam tulang alveolar. Setelah prosedur pencabutan gigi dilakukan, maka akan terjadi luka dan pada jaringan lunak dan jaringan keras. Proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa fase yaitu fase hemostatis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling^[2]. Umumnya penyembuhan luka pada jaringan keras sama dengan penyembuhan luka pada jaringan lunak, tetapi osteoblas dan osteoklas ikut terlibat dalam penyembuhan jaringan keras^[3]. Tulang adalah jaringan ikat yang mengandung mineral yang menunjukkan empat jenis sel yaitu: osteoblas, osteoklas, osteosit dan *bone lining cells*. Osteoblas adalah sel yang memiliki fungsi osteogenik atau jaringan yang berkaitan dengan pembentukan tulang. Osteoklas adalah sel yang berperan untuk menghancurkan matriks tulang, sedangkan. Osteosit berperan sebagai mekanosensor dan mengawali dari proses remodeling tulang. Sedangkan *bone lining cells* merupakan osteoblas yang berbentuk datar yang melapisi permukaan tulang, fungsi *bone lining cells* masih belum diketahui secara jelas, tetapi telah dibuktikan bahwa sel-sel ini mencegah terjadinya interaksi langsung antara osteoklas dan matriks tulang bila resorpsi tulang tidak seharusnya terjadi, dan juga berpartisipasi dalam diferensiasi osteoklas, memproduksi osteoprotegerin (OPG) dan *Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand* (RANKL)^[4].

RANKL adalah protein yang di produksi oleh sel osteoblas, sel stroma tulang

dan oleh sel limfosit T yang teraktivasi dan dapat meningkatkan osteoresorpsi dengan menginduksi ekspresi gen cathepsin K. Pada proses resorpsi osteoklastik terjadi pada tulang matriks tulang melepaskan TGF- β dan IGF-1 yang berperan dalam aktivitas osteoblas seperti ekspresi RANKL dan migrasi sel^[5,6]. Osteoklas merupakan sel multinuklear yang dipengaruhi oleh *Macrophag colony-stimulating factors* (M-CSF), yang dihasilkan oleh sel mesenkim osteoprogenitor dan osteoblas, dan RANKL yang dihasilkan oleh osteoblas, dan termasuk osteosit dan sel-sel stromal lainnya^[7]. RANKL akan berikatan dengan reseptornya yaitu RANK lalu terjadilah resorpsi tulang. Sel osteoblas memproduksi Osteoprotegerin (OPG) yang perannya adalah mengikat RANKL dan menghambat diferensiasi sel progenitor menjadi osteoblas, serta menunjukkan efek hipokalsemik dan antiresorptif^[8]. Pada proses remodeling tulang, RANKL akan berinteraksi dengan reseptornya yaitu RANK (*Receptor Activator of Nuclear Kappa-B*) yang akan memicu terdiferensiasinya osteoklas.

Gelatin adalah senyawa turunan kolagen yang didapat dari kulit dan tulang hewan^[9]. Umumnya gelatin didapat dari tulang atau kulit babi yang menyebabkan kontroversi di Indonesia, sehingga digunakanlah ikan patin sebagai bahan alternatif dari gelatin. Ikatan molekul pada kolagen cepat dalam mengirimkan molekul terapeutik pada luka sehingga mempercepat penyembuhan luka dan regenerasi jaringan^[10]. Ikan patin mengandung kadar protein yang cukup tinggi dan mengandung semua asam amino esensial serta mengandung lisin dan arginin yang lebih tinggi dibandingkan dengan protein susu dan daging^[11]. Arginin merupakan asam dengan kandungan tertinggi pada ikan patin. Arginin menghasilkan *Nitric Oxide*

atau (NO) atau nitrogen monoksida. Pada beberapa penelitian yang dilakukan didapati bahwa arginin menstimulasi pelepasan *growth factor*, seperti IGF-1, yang dapat mempercepat penyembuhan luka^[12].

B. METODE PENELITIAN

Rancangan yang digunakan pada penelitian Pengaruh Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) terhadap Ekspresi RANKL pasca Pencabutan Gigi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) ini adalah rancangan eksperimental laboratoris, digunakan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Group Design* di laboratorium secara *in-vivo* untuk meneliti

Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih strain wistar yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hewan coba dikelompokkan menjadi 6 kelompok, yaitu 3 kelompok kontrol negatif (K1, K2, K3) dan 3 kelompok eksperimen (HP1, HP2, HP3). Kelompok K1, K2, dan K3 merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi gelatin ikan patin pasca pencabutan gigi selama hari ke-3, ke-5, dan ke-7. Sedangkan kelompok HP1, HP2, HP3 merupakan kelompok Hasil Penelitian yaitu kelompok yang diberikan gelatin ikan patin pasca pencabutan gigi setelah hari ke-3, ke-5 dan ke-7.

Tikus yang akan dicabut giginya diberi anestesi ketamin 1000 mg/10 ml sebanyak 0,2 ml dengan cara *intra peritoneal*. Kemudian dilakukan pencabutan secara perlahan agar menghindari fraktur gigi. Setelah itu gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) diaplikasikan dengan spuit sebanyak 1 cc yang sebelumnya soket sudah diirigasi terlebih dahulu. Setelah itu rahang didekapitasi pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 pada kelompok kontrol dan kelompok hasil penelitian. Setelah dilakukan proses preparat jaringan maka dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi RANKL. Metode pewarnaan Imunohistokimia yang digunakan adalah imunohistokimia *indirect* menggunakan antibodi primer untuk mengenali antigen yang mengidentifikasi jaringan sedangkan antibodi sekunder digunakan agar berikatan dengan antibodi primer dan menghasilkan warna coklat. Perhitungan ekspresi RANKL

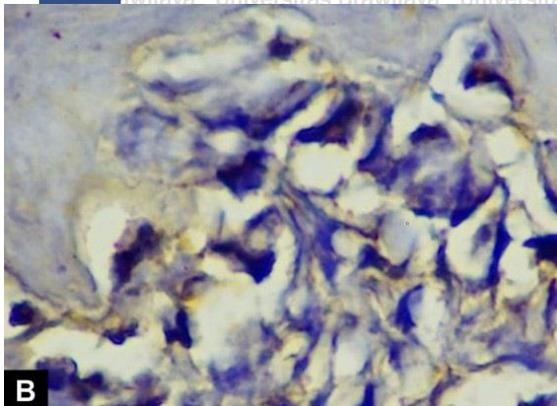
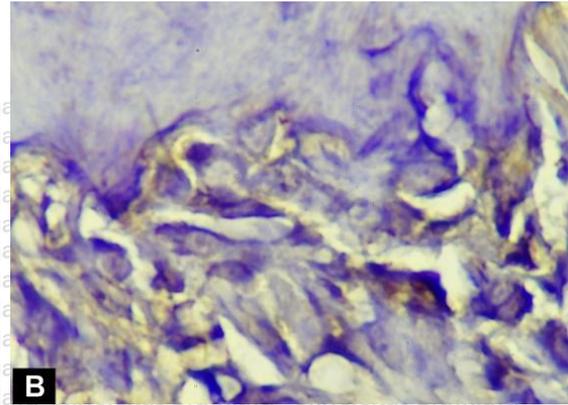
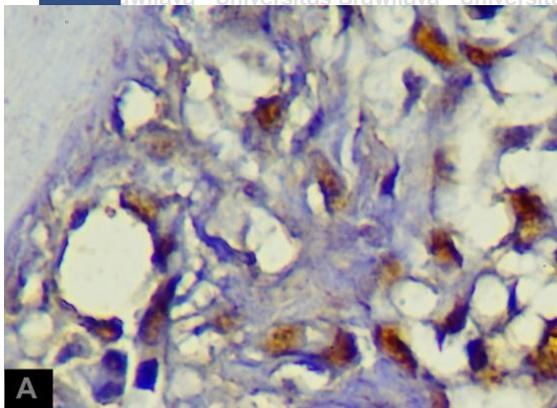
dapat dilakukan setelah preparat jaringan dilakukan pengecatan dengan teknik imunohistokimia menggunakan antibodi anti-RANKL. Perhitungan ekspresi RANKL menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran kuat (1000x) pada 20 bidang lapang pandang. Selanjutnya, dilakukan perhitungan secara manual untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Identifikasi ekspresi RANKL dapat dilihat dan ditentukan dari nukleus atau inti sel dan sitoplasma RANKL yang berwarna coklat^[13].

Untuk mendapatkan data perhitungan jumlah ekspresi RANKL diperoleh dari analisis statistika menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 16.0 untuk *Windows* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p=0,05$) dan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Langkah pertama pada analisis statistik yaitu uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel besar ≥ 50 dengan tujuan menilai sebaran data berdistribusi normal atau tidak normal. Kemudian melakukan uji homogenitas ragam dengan tujuan untuk mengetahui sebaran data masing-masing kelompok homogen atau tidak homogen dengan menggunakan *Levene's test*. Setelah itu jika terdapat data berdistribusi normal ($\alpha > 0,05$) dan data bersifat homogen ($p > 0,05$) dapat dilakukan uji *t* tidak berpasangan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi RANKL antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan pada saat proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*). Kemudian lakukan uji *Post Hoc Turkey* dengan menggunakan *Least Significance Differences* (LSD) untuk mengetahui perbandingan rata-rata antar kelompok. langkah kelima yaitu apabila data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dapat dilakukan uji non parametrik dengan menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan peningkatan jumlah ekspresi RANKL antar kelompok.

C. HASIL PENELITIAN

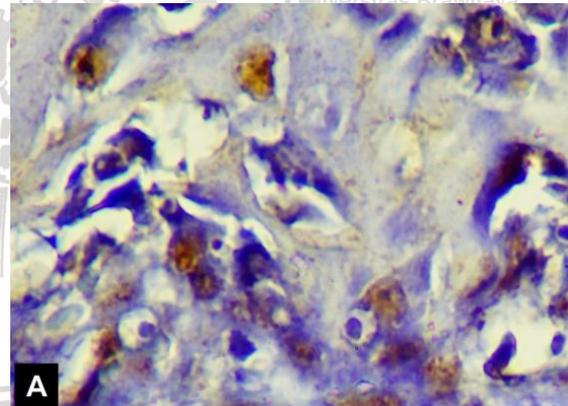
Rata-rata ekspresi RANKL pada kelompok kontrol 1 (K1) berjumlah 15. Rata-rata ekspresi RANKL pada kelompok perlakuan 1 (P1) berjumlah 10. Ekspresi RANKL tampak berwarna coklat keunguan **gambar 1A** dan **gambar 1B**.

Gambar 1. A. Ekspresi RANKL pada Kelompok kontrol hari ke-3 (K1), B. Ekspresi RANKL pada Kelompok Perlakuan hari ke-3 (HP1)



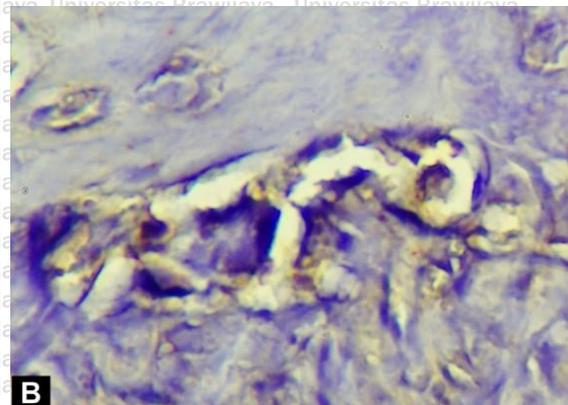
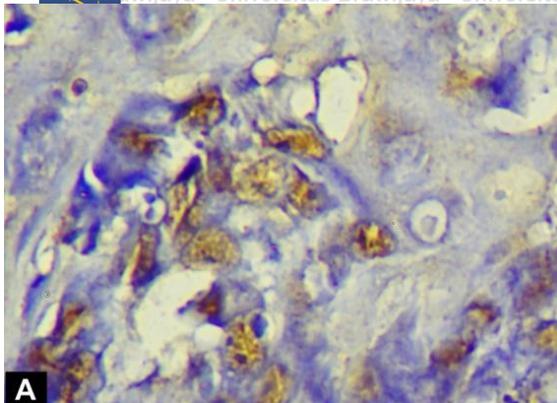
Rata-rata jumlah ekspresi RANKL pada kelompok kontrol hari ke-7 (K3), berjumlah 21. Rata-rata jumlah ekspresi RANKL pada kelompok perlakuan 3 (P3), yaitu berjumlah 4,86. Ekspresi RANKL tampak berwarna coklat keunguan gambar 3A dan gambar 3B.

Gambar 3. A. Ekspresi RANKL pada Kelompok kontrol hari ke-7 (K3), B. Ekspresi RANKL pada Kelompok Perlakuan hari ke-7 (HP3)



Rata-rata ekspresi RANKL pada kelompok kontrol 2 (K2), setelah 5 hari pasca pencabutan gigi, berjumlah 20,57. Rata-rata ekspresi RANKL pada kelompok perlakuan 2 (HP2), berjumlah 8,14. Ekspresi RANKL tampak berwarna coklat keunguan gambar 2A dan gambar 2B.

Gambar 2. A. Ekspresi RANKL pada Kelompok kontrol hari ke-5 (K2), B. Ekspresi RANKL pada Kelompok Perlakuan hari ke-5 (HP2)

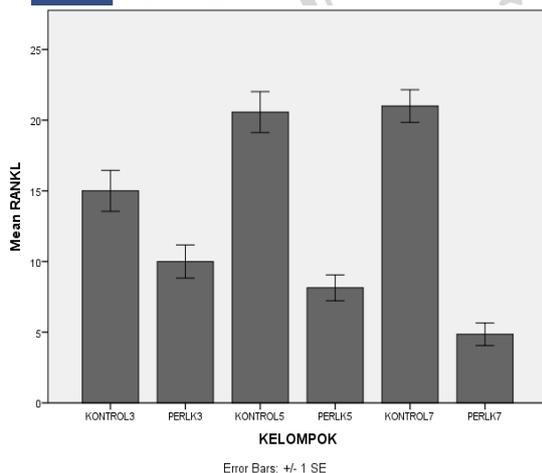


Tabel 1. Hasil Perhitungan Rata-rata dan Standar Deviasi

Kelompok		Mean	Standar Deviasi
K1	Kontrol hari ke-3	15.00	3.83
K2	Kontrol hari ke-5	20.57	3.82
K3	Kontrol hari ke-7	21.00	3.05
HP1	Perlakuan hari ke-3	10.00	3.1
HP2	Perlakuan hari ke-5	8.14	2.41
HP3	Perlakuan hari ke-7	4.86	2.11

Berdasarkan data pada tabel di atas, dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata ekspresi RANKL tertinggi, yaitu kelompok K3, sedangkan jumlah rata-rata ekspresi RANKL terendah, yaitu P3. Kemudian dapat dilihat juga pada grafik dibawah terlihat bahwa pada kelompok kontrol terlihat jumlah ekspresi RANKL meningkat dari hari ke-3, ke-5 dan ke-7 walaupun pada hari ke-5 dan ke-7 jumlahnya tidak meningkat secara signifikan. Sedangkan pada kelompok Hasil Penelitian terlihat penurunan dari hari ke-3 sampai hari ke-7 dan terlihat penurunan yang signifikan dari hari ke-5 dan ke-7.

Gambar 1. Grafik rata-rata jumlah ekspresi RANKL



Lalu untuk menguji perbedaan jumlah ekspresi RANKL pada kelompok kontrol dan hasil penelitian maka dilakukan Uji one way ANOVA Uji one way ANOVA terpenuhi bila nilai signifikansi hasil penghitungan adalah $p < 0,05$ sehingga H_0 ditolak. Dari hasil uji one way ANOVA, diperoleh nilai

signifikansi sebesar 0,000. Nilai yang didapatkan lebih kecil dari 0,05 sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Kesimpulan dari hasil uji one way ANOVA pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan antara jumlah ekspresi RANKL yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dan diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) di fase inflamasi, fase awal proliferasi, dan fase puncak proliferasi pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

ANOVA					
RANKL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1566.690	5	313.338	32.098	.000
Within Groups	351.429	36	9.762		
Total	1918.119	41			

Kemudian dilakukan juga Uji *Post Hoc* LSD untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi RANKL antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara lebih detail. Bila nilai signifikansi $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95% maka Uji *Post Hoc* LSD terpenuhi.

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc* LSD

Kelompok	Kelompok Pembeding	P
P1	K1	0.052
	K2	0.000
	K3	0.000
P2	K1	0.003
	K2	0.000
	K3	0.000
P3	K1	0.000
	K2	0.000
	K3	0.000

Secara keseluruhan hasil uji *Post Hoc* terdapat perbedaan rata-rata jumlah ekspresi RANKL yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada hari yang sama dalam satu fase penyembuhan luka.

D. PEMBAHASAN

Pada kelompok kontrol hari ke 3 yang tidak diberi perlakuan (K1), jumlah ekspresi RANKL sebanyak 15 kemudian meningkat pada hari ke-5 (K2) dengan jumlah 20,57 sel.

Jumlah ekspresi RANKL meningkat sedikit pada hari ke-7 (K3) dengan jumlah 21 sel. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Kon, dkk (2001) bahwa jumlah ekspresi RANKL akan terus meningkat dari hari ke-3 sampai hari ke-14^[13]. Pada kelompok perlakuan terjadi penurunan dari hari ke-3 sampai hari ke-7. Jumlah ekspresi RANKL pada hari ke-3 (P1) yaitu 10, pada hari ke-5 (P2) jumlah ekspresi RANKL adalah 8,14 sel dan jumlah ekspresi RANKL menurun secara signifikan pada hari ke-7 (P3) menjadi 4,81 sel. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Wang, dkk^[14] yang didapatkan bahwa ekspresi RANKL sangat tinggi pada saat awal terjadinya fraktur tulang dan kemudian jumlah ekspresi RANKL menurun hingga sampai minggu ke-12 yang telah diberikan serum yang mengandung enzim imunosorben. Rasio RANKL / OPG lebih rendah pada kelompok fraktur *intertrochanteric* dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan. Rasio RANKL terlihat lebih rendah secara signifikan segera setelah dan 4 minggu setelah cedera, sementara tidak ada perbedaan yang signifikan antara 2 kelompok pada minggu ke-8 dan minggu ke-12 setelah fraktur. Keseimbangan RANKL/OPG sangat penting untuk remodeling tulang dan massa tulang^[15].

Keseimbangan RANKL-OPG dapat mempengaruhi aktivitas osteoklas, RANKL diekspresikan oleh sel osteoblas dan sel-sel stroma dalam tulang^[16]. Sedangkan reseptornya RANK dihasilkan oleh osteoklas. Interaksi antara RANKL dan RANK merangsang pembentukan, aktivasi, diferensiasi dan kelangsungan hidup dari osteoklas sehingga osteoklastogenesis terjadi dan kemudian terjadilah resorpsi tulang^[17].

Penurunan ekspresi RANKL pada soket luka pasca pencabutan gigi dapat mempengaruhi penyembuhan jaringan keras. Jika RANKL jumlah RANKL menurun maka aktivasi osteoklas juga menurun dan dapat mengganggu proses resorpsi tulang pada masa penyembuhan jaringan tulang keras. Fungsi dari osteoklas adalah membuat batas antara jaringan keras yang nekrotik dan jaringan keras yang sehat lalu kemudian membersihkan jaringan yang nekrotik. Setelah jaringan nekrotik dibersihkan,

osteoklas mengisolasi daerah jaringan sehat^[18]. Apabila fungsi osteoklas menurun maka pembersihan jaringan nekrotik pada jaringan keras akan tidak maksimal sehingga dapat mengganggu penyembuhan tulang. Jadi, apabila ekspresi RANKL menurun dan aktivasi osteoklas pun menurun, maka proses penyembuhan jaringan keras tidak akan maksimal.

Ikan patin (*Pangasius djambal*) memiliki kandungan yaitu kadar air 75,75-79,42%; kadar protein 12,94-7,59%; kadar lemak 1,81-6,57% serta kadar abu 0,16-0,23%. Ikan patin mengandung kadar protein yang cukup tinggi dan mengandung semua asam amino esensial serta mengandung lisin dan arginin yang lebih tinggi dibandingkan dengan protein susu dan daging^[10]. Arginin dan glutamin merupakan dua asam amino yang memiliki peran dalam proses penyembuhan luka. Arginin merupakan asam amino semi esensial yang bertindak sebagai substrat untuk sintesis protein, desposisi kolagen, dan pertumbuhan seluler. Arginin meningkatkan produksi *nitric oxide* (NO) atau nitrogen monoksida, meningkatkan fungsi imun, dan dapat mempercepat penyembuhan luka^[19]. Asam amino arginin juga memiliki peran sebagai salah satu komponen penyusun hormon insulin dan glikogen. Semakin tinggi asupan protein, maka sekresi hormon ini akan mengalami peningkatan. Peningkatan hormon ini menyebabkan kadar glukosa dalam darah akan berkurang karena sebagian diubah menjadi energi yang juga membantu mempercepat proses metabolisme tulang^[20].

Nitrogen monoksida memiliki banyak fungsi dan pengaruh, terutama dalam sistem kardiovaskular^[21] di mana ia berfungsi sebagai molekul yang menjadi sinyal dalam vasodilatasi dan angiogenesis^[22]. Melalui mekanisme yang sama, nitrogen monoksida terlibat dalam penyembuhan luka karena memberikan oksigen dan nutrisi yang cukup area luka, yang merangsang fibroblas untuk mensintesis kolagen dan keratinosit agar berkembang. Oleh karena itu nitrogen monoksida juga memiliki peran penting dalam penyembuhan luka pada jaringan lunak.

Dalam penelitian Choi dkk., (2018) didapatkan bahwa ekspresi RANKL menurun pada tikus yang keropos tulang

pada ovariektomi dengan perlakuan menggunakan metilasi protein arginin yang terbentuk dari *Posttranslational Modification Mediated by Protein Arginine Methyltransferase* (PRMTs)^[23]. Penelitian yang telah dilakukan oleh Xian, dkk. (2004) menunjukkan bahwa nitrogen monoksida berpotensi menekan ekspresi RANKL. Nitrogen monoksida meningkatkan ekspresi OPG bersamaan dengan menurunkan ekspresi RANKL^[6]. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nitrogen monoksida dapat mempengaruhi remodeling tulang^[6].

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hipotesis penelitian dapat diterima karena pemberian gelatin ikan patin terbukti berpengaruh terhadap penurunan rata-rata ekspresi RANKL pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

E. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi RANKL pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Terdapat pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap penurunan ekspresi RANKL pada lukapasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*)
2. Jumlah perhitungan ekspresi RANKL pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebesar 15 pada hari ke-3 (fase inflamasi), 20 pada hari ke-5 (fase awal proliferasi), dan 21 pada hari ke-7 (fase puncak proliferasi). Sedangkan, jumlah perhitungan jumlah perhitungan ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebesar 10 pada hari ke-3, 8 pada hari ke-5, dan 5 pada hari ke-7.
3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara ekspresi RANKL pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattusnorvegicus*) yang tidak diberi

gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dengan ekspresi RANKL pada luka pascapencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dibuktikan dengan jumlah ekspresi RANKL pada kelompok perlakuan (P) lebih sedikit dibandingkan pada kelompok kontrol (K) gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dibuktikan dengan jumlah ekspresi RANKL pada kelompok perlakuan (P) lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol (K).

F. SARAN

Saran yang diberikan berdasarkan penelitian ini untuk penelitian lebih lanjut adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut setelah minggu 1 hingga minggu ke 4 untuk mengetahui lanjutan ekspresi RANKL hingga pada penyembuhan tulang pasca pencabutan gigi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas, dosis maksimum dan dosis minimum yang efektif dalam pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai bahan untuk penyembuhan luka pada soket pasca pencabutan gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pedlar. *Oral and Maxillofacial Surgery: An Objective-based Textbook*. 2001
2. Syam IA, Hatta R, & Ruslin M. 2015. *Potensi dari Ceker Ayam Kampung (Gallus domesticus) untuk Mempercepat Penyembuhan Soket Pasca Ekstraksi Gigi*. Makasar Dental Journal, 4(2):50-55.
3. Hupp, James. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery 6th edition*. 2013. St Louis, United States
4. Andersen TL, Sondergaard TE, Skorzynska KE, Dagnaes-Hansen F, Plesner TL, Hauge EM, Plesner T, Delaisse JM. *A physical*

- mechanism for coupling bone resorption and formation in adult human bone.* Am J Pathol. 2009; 174: 239–247
5. Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, Zhao L, Nagy TR, Peng X, Hu J, et al. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. Nat Med. 2009; 15: 757–65.
 6. Xian Fan, Eileen Roy, Liping Zhu, Tamara C. Murphy, Cheryl Ackert-Bicknell, C. Michael Hart, Clifford Rosen, Mark S. Nanes, Janet Rubin; *Nitric Oxide Regulates Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand and Osteoprotegerin Expression in Bone Marrow Stromal Cells.* Endocrinology, Volume 145, Issue 2, 1 February 2004, Pages 751–759
 7. Florencio-Silva et al, *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells.* Department of Morphology and Genetics, Laboratory of Histology and Structural Biology, Federal University of São Paulo, Brazil. 2015.
 8. Tazwir, M. Amiruldin dan R. Kusumawati. 2009. *Pengaruh Perendaman Tulang Ikan Tuna (Thunnus albacores) dalam Larutan NaOH Terhadap Kualitas Gelatin Hasil Olahannya.* Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 4(1):29-36.
 9. Sayani, Chattopadhyay, Ronald T. Raines. 2014. *Collagen-Based Biomaterials for Wound Healing*. Biopolymer. © 2014 Wiley Periodicals, Inc.
 10. Suryaningrum, Theresia Dwi., Muljanah, Ijah., Tahapari Evi. *Profil Sensori dan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Patin dan Hibrid Nasutus.* Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol.5, 2010.
 11. Alexander JW, Supp DM. Role of Arginine and Omega-3 Fatty Acids in Wound Healing and Infection. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2014; 3(11): 682–690.
 12. Barreiros D, Pucinelli CM, Oliveira KMH, et al. *Immunohistochemical and mRNA expression of RANK, RANKL, OPG, TLR2 and MyD88 during apical periodontitis progression in mice.* J Appl Oral Sci. 2018; 26: e20170512. Published 2018 Jun 25. doi:10.1590/1678-7757-2017-0512
 13. Kon Tamiyo, et al. *Expression of Osteoprotegerin, Receptor Activator of NF- κ B Ligand (Osteoprotegerin Ligand) and Related Proinflammatory Cytokines During Fracture Healing.* 2001. Boston University Medical Center, Boston, Massachusetts, USA.
 14. Wang Huisin, Zhong Xiaohan. *Insulin effect on RANKL and OPG expression in human osteoblast-like MG63 cells.* Turk J Med Sci (2013) 43: 631–636
 15. Galli C, Passeri G, Macaluso GM. *FoxOs, Wnts and oxidative stress-induced bone loss: new players in the periodontitis arena.* J Periodontal Res. 2011; 46(4): 397–406.
 16. Takahashi N., Udagawa N., Suda T. *A new member of tumor necrosis factor ligand family, ODF/ OPGL/ TRANCE/ RANKL, regulates osteoclast differentiation and function.* Biochem Biophys Res Commun. 1999 Mar 24; 256 (3) : 449–455. doi: 10.1006/bbrc.1999.0252
 17. Blair, H. C., Schlesinger, P. H., Huang, C. L., and Zaidi, M. (2007). *Calcium signalling and calcium transport in bone disease.* Subcell Biochem 45, 539–562.
 18. Feng Xu., Steven L. Teitelbaum. *Osteoclasts: New Insights.* Department of Pathology, The University of Alabama at Birmingham. Bone Research (2013) : 11–26. Doi : 10.4248/BR201301003
 19. Stechmiller, J. K. 2010. Understanding the Role of Nutrition and Wound Healing. *Nutr Clin Pract*: 25(1):61–68.
 20. Diani AR, Sawada G, Wyse B, Murray FT, Khan M. *Pioglitazone*

preserves pancreatic islet structure and insulin secretory function in three murine models of type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286: E116–E122.

21. Hirata Y, Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, Suzuki J, Nagai R. *Diagnosis and treatment of endothelial dysfunction in cardiovascular disease.* *Int Heart J* 2010;51:1-6.
22. Lee PC, Salyapongse AN, Bragdon GA, Shears LL 2nd, Watkins SC, Edington HD, Billiar TR. *Impaired wound healing and angiogenesis in eNOS-deficient mice.* *Am J Physiol* 1999;277:H1600-8.
23. Choi, Joo-Hee & Jang, Ah-Ra & Kim, Dong-il & Park, Minjung & Lim, Seul-Ki & Kim, Myung-Sun & Park, Jong-Hwan. (2018). *PRMT1 mediates RANKL-induced osteoclastogenesis and contributes to bone loss in ovariectomized mice.* *Experimental & Molecular Medicine.* 50. 11. 10.1038/s12276-018-0134-x.

