



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

**SKRIPSI
SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK
MEMPEROLEH GELAR SARJANA KEDOKTERAN
GIGI**

Oleh :

USWATUN KHASANAH

155070401111002

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

2019

DAFTAR ISI

Halaman

Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Halaman Persetujuan.....	iii
Lembar Orisinalitas Skripsi.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak.....	vii
<i>Abstract</i>	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pencabutan Gigi.....	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Indikasi.....	6
2.1.3 Kontraindikasi.....	6
2.1.4 Komplikasi.....	7
2.2 Luka Pencabutan.....	9
2.2.1 Definisi.....	9
2.2.2 Proses Penyembuhan Luka.....	9
2.3 Penyembuhan pada Jaringan Keras.....	11
2.3.1 Proses Penyembuhan pada Jaringan Keras.....	11
2.4 Gelatin.....	15
2.4.1 Definisi.....	15
2.4.2 Fungsi.....	16
2.4.3 Pemanfaatan.....	16





2.4.4 Gelatin Ikan.....	17
2.5 Ikan Patin.....	17
2.5.1 Definisi.....	17
2.5.2 Klasifikasi.....	18
2.5.3 Kandungan.....	19
2.6 Tikus Putih.....	21
2.6.1 Definisi.....	21
2.6.2 Klasifikasi.....	21
2.6.3 Ciri Tikus Putih.....	21
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep.....	23
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian.....	24
3.3 Hipotesis Penelitian.....	25
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	26
4.2 Sampel Penelitian.....	27
4.2.1 Kriteria Sampel.....	27
4.2.2 Jumlah Sampel Penelitian.....	27
4.3 Variabel Penelitian.....	29
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian.....	30
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	30
4.6 Definisi Operasional.....	32
4.7 Prosedur Penelitian.....	33
4.7.1 Persiapan dan Perawatan Hewan Coba.....	33
4.7.2 Pembuatan Gelatin Ikan Patin.....	33
4.7.3 Pencabutan Gigi Tikus.....	34
4.7.4 Pemberian Obat Analgesik.....	34
4.7.5 Pemberian Gelatin Ikan Patin.....	34
4.7.6 Perawatan Tikus Pasca Pencabutan Gigi.....	35
4.7.7 Pengambilan Sampel Jaringan.....	35
4.7.8 Teknik Pemrosesan Preparat Jaringan.....	35
4.7.9 Teknik Pewarnaan Imunohistokimia.....	36
4.8 Penghitungan Ekspresi OPG.....	37
4.9 Analisis Data.....	38
4.10 Skema Prosedur Penelitian.....	39
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil Penelitian.....	40
5.2 Analisis Data.....	47

5.2.1 Uji Normalitas.....	48
5.2.2 Uji Homogenitas Ragam.....	49
5.2.3 Uji <i>One Way ANOVA</i>	49
5.2.4 Uji <i>Post Hoc LSD</i>	50
5.3 Pembahasan.....	51
BAB 6. PENUTUP	
6.1 Kesimpulan.....	55
6.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	65



ABSTRAK

Khasanah, Uswatun, 155070401111002, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 21 Januari 2019. **“Pengaruh Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) terhadap Ekspresi Osteoprotegerin pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”**. Pembimbing: drg.Joko Widyastomo, Sp. BM.

Penyembuhan jaringan keras melibatkan aktivitas dari sel osteoklas dan osteoblas. Sel osteoblas mengekspresikan OPG yang akan mengikat RANKL sehingga menghambat resorpsi tulang. Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) mengandung asam amino yang berperan dalam pembentukan kolagen yang membantu migrasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin terhadap peningkatan ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih. Metode penelitian menggunakan *Randomized Post Test Only Control Group Design* pada hewan coba tikus putih. Metode *random sampling* digunakan untuk membagi sampel menjadi 2 kelompok secara acak dengan 3 kontrol hari (hari ke-3, ke-5, dan ke-7). Kelompok kontrol tidak diberi gelatin ikan patin dan kelompok perlakuan diberi gelatin ikan patin sebanyak 1 cc dengan dekaputasi rahang pada 3 kontrol hari. Sediaan histologis diproses dengan pewarnaan imunohistokimia. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya OLYMPUS pada 20 lapang pandang dengan perbesaran 1000x. Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat peningkatan jumlah ekspresi OPG yang signifikan pada kelompok perlakuan $p < 0.05$, dengan puncak ekspresi OPG pada hari ke-7. Analisa lanjutan dengan *Post Hoc LSD* memiliki perbedaan bermakna dengan $p < 0.05$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih.

Kata Kunci: OPG, Gelatin Ikan Patin, Asam Amino, Pencabutan Gigi



ABSTRACT

Khasanah, Uswatun. 155070401111002. Dentistry Education Study Program. Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang. March 5, 2019. **“The Effect of Catfish Gelatine (*Pangasius djambal*) on Osteoprotegerin Expression in the Wound After Extraction of White Mouse Teeth (*Rattus norvegicus*)”**. Advisor: drg.Joko Widyastomo, Sp. BM.

Wound healing on the hard tissue involves activities from the osteoclast cell and osteoblast cell. Osteoblast expressing OPG which will bind RANKL and inhibiting bone resorption. Gelatine *Pangasius (*Pangasius djambal*)* contains amino acids that play a role in the formation of collagen which help osteoblast migration. The purpose of this research is to find out the effect of giving the gelatin of pangasius fish to the enhancement of OPG expression in the after tooth extraction wound of white rat. The research methodology used here is experimental study using Randomized Post Test Only Control Group Design which applied to white rat as the experimental animal. The random sampling methodology used to divide the sample into 2 groups randomly with 3 days control (3rd day, 5th day, and 7th day). The control group didn't get pangasius fish gelatin while the treatment group got 1 cc pangasius gelatin with 3 days control of jaw decapitation. Socket is taken and processed histologically with immunohistochemistry coloring. Observation of histological preparations carried out by using OLYMPUS light microscope at 20 visual fields with 1000x magnification. Result of the ANOVA test shows significant enhancement of OPG expression in the treatment group $p < 0.05$ with the peak of expression at the 7th day. Advanced analysis with Post Hoc LSD between the control group and treatment group resulting significant difference with $p < 0.05$. The conclusion of this research is the pangasius fish (*Pangasius djambal*) gelatin proved to effects the enhancement amount of OPG expression in the after tooth extraction wound of white rat.

Keywords : OPG, Pangasius Fish Gelatin, Amino Acid, Tooth Extraction



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan yang sering dilakukan dalam kedokteran gigi. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (2007) dan Agtini (2010), tindakan pencabutan gigi di Indonesia sangat tinggi yaitu mencapai 79,6%. Pencabutan gigi merupakan tindakan traumatik yang dapat menyebabkan kerusakan pada bagian jaringan pendukung gigi termasuk jaringan periodontal seperti gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar sehingga terbentuk luka atau trauma pada soket gigi (Topazian dkk, 2002). Pada pencabutan gigi akan terbentuk luka spesifik yang disebut sebagai luka pasca pencabutan pada jaringan lunak dan keras pada daerah bekas pencabutan gigi. Setelah pencabutan gigi maka akan terjadi proses penyembuhan luka yang secara umum terdiri dari proses inflamasi, proliferasi dan remodeling (Mansjoer dkk, 2000; Miloro dkk, 2004).

Setelah pencabutan gigi 3-5 hari akan terjadi proses inflamasi yang selalu ditandai dengan *cardinal sign* seperti rubor, tumor, calor, dolor dan functio laesa pada proses inflamasi. Pada proses inflamasi juga terjadi proses pelarutan, perusakan, dan penghancuran dari sel atau agen yang menyebabkan sel rusak. Kemudian pada 3 hari-3 minggu terjadi proses proliferasi, pada proses ini soket gigi akan terisi sel inflamasi, fibroblast, matriks kolagen dan asam hyaluronik yang berfungsi dalam pembentukan jaringan granulasi. Pada proses penyembuhan luka juga diikuti proses penyembuhan tulang pada soket gigi, yang berperan pada proses ini adalah sel osteoblas yang membentuk tulang pada saat proses remodeling. Proses remodeling tulang merupakan proses yang kompleks karena melibatkan resorpsi dan pembentukan tulang (Garant, 2003).

Proses remodeling merupakan proses yang melibatkan sel osteoblas dan sel osteoklas. Sel osteoblas dan sel osteoklas di regulasi oleh sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, TGF- β dan IGF-1 (Ginaldi, 2005; Sudoyo dkk, 2015).



Trauma yang disebabkan setelah pencabutan gigi dapat menyebabkan inflamasi sehingga menyebabkan osteoklastogenesis yaitu pertumbuhan sel osteoklas (Lorenzo, 2008). Osteoklas merupakan sel yang berperan dalam meresepsi tulang yang terbentuk dari *haemopoetic stemcell* (Kyung *et.al.*,2008). Pada saat osteoklastogenesis, M-CSF (*Macrophage Colony Stimulating Factor*) dan RANKL (*Receptor Activator of Nuclear factor κ B Ligan*) yang merupakan prekursor osteoklas yang mereplikasi dan menginduksi RANK (Lorenzo, 2008). Pada proses penyembuhan luka terdapat sitokin proinflamasi (IL-1 dan IL-6), prostaglandin E2 (PGE2) dan TNF α berperan dalam aktifasi dan diferensiasi sel osteoklas secara langsung melalui RANKL (*ReseptorActivator of Nuclear κ B Ligand*). Pada saat RANKL berikatan dengan RANK maka terjadi resorpsi tulang. Sedangkan, osteoblas merupakan sel yang berperan dalam pembentukan tulang yang dapat mensekresi dan membentuk kolagen maupun non-kolagen organik serta dapat mengatur proses mineralisasi dalam proses pembentukan tulang. Sel osteoblas berkembang dari osteoprogenitor yang berada pada periosteum dan sumsum tulang. Sel osteoblas dan sel stroma memproduksi OPG (*Osteoprotegerin*) yang akan mengikat RANKL. Ikatan OPG dan RANKL menghambat ikatan RANKL dengan RANK, sehingga menghambat aktivitas sel osteoklas (Aranaz dkk, 2009;Dai dkk, 2011; Pinto dkk, 2011).

Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari hidrolisis kolagen kulit, tulang atau ligamen hewan. Gelatin sering digunakan dalam bidang industri farmasi, makanan, kosmetik dan fotografi (Karim dan Bhat, 2008). Saat ini bahan baku gelatin berasal dari tulang dan kulit babi maupun sapi. Karena bahan baku tersebut banyak menimbulkan masalah antara lain adanya isu-isu tentang penyakit sapi gila (*Mad CowDisease*) atau BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) dan kehalalan gelatin khususnya pada penduduk dengan mayoritas muslim seperti Indonesia yang haram dalam mengkonsumsi babi (Agustin, 2013; Gumundsson, 2002) serta adanya penyakit mulut dan kuku (*Foot and Mouth Disease*) (Nurilmala, 2004).

Ikan patin merupakan ikan yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Ikan patin merupakan salah satu ikan yang banyak diminati tidak hanya di Indonesia namun juga di luar negeri (Thuy dkk, 2002). Ikan patin jambal mengandung asam amino yang tinggi seperti glisin, alanin, valin, lisin, asam glutamat dan lain sebagainya (Suryaningrum dkk, 2010). Asam amino yang berperan penting dalam meningkatkan kekebalan tubuh dan penyembuhan luka.

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

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi OPG (*Osteoprotegerin*) pada luka pasca ekstraksi gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

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

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini antara lain :

- Mengetahui jumlah ekspresi OPG pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigitikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada hari ke 3, 5 dan 7.
- Mengetahui jumlah ekspresi OPG pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigitikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada hari ke 3, 5 dan 7.
- Mengetahui perbedaan jumlah ekspresi OPG yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dan diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dalam proses

penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke 3, 5 dan 7.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah pengetahuan tentang pengaruh pemberian ekstrak gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi ilmiah dan alternatif pengobatan di bidang kedokteran gigi mengenai penggunaan bahan hemostatik dari ekstrak gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) guna mempercepat penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencabutan Gigi

2.1.1 Definisi

Menurut Sitanaya (2016), pencabutan gigi yang ideal merupakan tindakan pencabutan satu gigi secara utuh maupun akar gigi tanpa adanya rasa sakit yang dirasakan dan terjadi trauma yang minimal pada jaringan pendukung gigi, sehingga luka pencabutan dapat sembuh dengan sempurna secara normal dan tidak terjadi komplikasi. Trauma pada gigi pasca pencabutan dapat menyebabkan perubahan posisi gigi. Akar gigi atau mahkota gigi merupakan bagian yang paling sering terjadi perubahan posisi maupun fraktur, sehingga gigi yang rusak harus dicabut. Pencabutan gigi pada dasarnya memiliki dua cara yaitu:

1. Pencabutan Intra Alveolar

Pencabutan intra alveolar atau *forceps extraction* merupakan tindakan pencabutan gigi/akar gigi dengan menggunakan tang dan/atau elevator bein. Cara ini sering digunakan dalam tindakan pencabutan gigi.

2. Pencabutan Trans Alveolar

Pencabutan trans alveolar atau metode terbuka/*surgical* merupakan cara yang digunakan dalam beberapa kasus terutama pada kasus gigi impaksi. Berikut kasus-kasus yang dapat dilakukan dengan pencabutan trans alveolar:

- Tidak dapat dilakukan pencabutan dengan metode intra alveolar
- Gigi yang mengalami hipersementosis atau ankilosis
- Geminasi atau dilaserasi
- Sisa akar yang tidak dapat dikeluarkan menggunakan tang dan/atau elevator bein terutama sisa akar yang dekat dengan sinus maxillaris.

2.1.2 Indikasi

Menurut Dostálová, T & Seydlován M (2010), pencabutan gigi dilakukan karena bebe rapa sebab:

- a. Kerusakan gigi yang diakibatkan adanya proses peluruhan jaringan keras pada gigi akibat karies gigi sehingga tidak memungkinkan dipertahankan menggunakan metode prostetik.
- b. Pulpa gigi yang tidak dapat di rawat menggunakan perawatan endodontik karena saluran akar yang tidak menguntungkan atau tidak jelas.
- c. Periapikal gigi yang tidak dapat dilakukan perawatan endodontik
- d. Pada gigi dengan jaringan periodontal yang berubah dan tidak dapat diperbaiki.
- e. Gigi yang tumbuh lebih ke distal, gigi impaksi, gigi berlebih lebih baik di lakukan pencabutan terlebih dahulu sebelum perawatan orthodontik.
- f. Pencabutan gigi juga merupakan rencana perawatan prostetik.
- g. Gigi yang mengalami trauma sehingga jaringan keras gigi hilang dan tidak dapat diperbaiki.
- h. Gigi yang menyebabkan inflamasi pada rahang atau ostemyelitis.

2.1.3 Kontraindikasi

Menurut Sitanaya (2016), pencabutan gigi yang ideal merupakan tindakan pencabutan satu gigi secara utuh maupun akar gigi tanpa adanya rasa sakit yang dirasakan dan terjadi trauma yang minimal pada jaringan pendukung gigi, sehingga luka pencabutan dapat sembuh dengan sempurna secara normal dan tidak terjadi komplikasi. Trauma pada gigi pasca pencabutan dapat menyebabkan perubahan posisi gigi. Akar gigi atau mahkota gigi merupakan bagian yang paling sering terjadi perubahan posisi maupun fraktur, sehingga gigi yang rusak harus dicabut. Pencabutan gigi pada dasarnya memiliki dua cara yaitu:

3. Pencabutan Intra Alveolar

Pencabutan intra alveolar atau *forceps extraction* merupakan tindakan pencabutan gigi/akar gigi dengan menggunakan tang dan/atau elevator bein. Cara ini sering digunakan dalam tindakan pencabutan gigi.

4. Pencabutan Trans Alveolar

Pencabutan trans alveolar atau metode terbuka/*surgical* merupakan cara yang digunakan dalam beberapa kasus terutama pada kasus gigi impaksi. Berikut kasus-kasus yang dapat dilakukan dengan pencabutan trans alveolar:

- e. Tidak dapat dilakukan pencabutan dengan metode intra alveolar
- f. Gigi yang mengalami hipersementosis atau ankilosis
- g. Geminasi atau dilaserasi
- h. Sisa akar yang tidak dapat dikeluarkan menggunakan tang dan/atau elevator bein terutama sisa akar yang dekat dengan sinus maxillaris.

2.1.4 Komplikasi

Menurut Sitanaya (2016), komplikasi pasca pencabutan yang dialami pasien berbeda-beda baik penyebab maupun akibatnya. Berikut adalah jenis komplikasi yang terjadi pasca pencabutan gigi:

1. Kegagalan pada saat pencabutan gigi
 - a) Kegagalan pada saat pemberian tindakan anestesi.
 - b) Kegagalan penggunaan tang atau elevator pada saat mencabut gigi.
2. Fraktur
 - a) Terjadi fraktur pada mahkota gigi yang akan dicabut
 - b) Terjadi fraktur pada akar gigi yang akan di cabut
 - c) Terjadi fraktur pada tulang alveolar
 - d) Terjadi fraktur pada tuberositas maksilaris
 - e) Terjadi fraktur pada gigi sebelah atau antagonis gigi yang akan dicabut
 - f) Terjadi fraktur pada mandibula
3. Dislokasi
 - a) Dislokasi pada gigi sebelahnya
 - b) Dislokasi pada sendi temporo mandibula

4. Akar gigi berpindah tempat
 - a) Akar gigi masuk kedalam jaringan lunak
 - b) Masuk kedalam sinus maksilaris
5. Perdarahan berlebihan
 - a) Pada saat atau selama proses pencabutan gigi
 - b) Pasca pencabutan gigi
6. Terjadi kerusakan:
 - a) Kerusakan gusi
 - b) Bibir
 - c) Saraf lingualis
 - d) Saraf alveolaris inferior atau cabangnya
 - e) Lidah
 - f) Dasar mulut
7. Terjadi rasa sakit pasca pencabutan yang diakibatkan:
 - a) Kerusakan yang terjadi pada jaringan keras dan jaringan lunak
 - b) *Dry socket*
 - c) *Osteomyelitis* akut pada mandibula
 - d) Arthritis traumatik pada sendi temporo mandibula
8. Terjadi pembengkakan pasca operasi:
 - a) Hematoma
 - b) Infeksi
 - c) Edema
 - d) Trismus
 - e) Fistula oro antral
 - f) Sinkop
 - g) Resporasi berhenti
 - h) Jantung berhenti
 - i) Terjadi keadaan darurat akibat tindakan anastesi

Menurut Dostálová dan Seydlován (2010), komplikasi yang mungkin terjadi pasca pencabutan gigi

yaitu:

- a. Fraktur pada gigi
- b. Abrupsi pada dinding tulang alveolar
- c. Absrupsi pada tubermaksila
- d. Cedera/luka pada gigi sebelah (jaringan lunak gigi, subluksasi)

- e. Gigi yang dicabut salah.
- f. Cedera pada gigi di kontralateral rahang
- g. Luksasi pada *tooth bud*
- h. Fraktur pada rahang
- i. Akar pada sinus maksilaris
- j. Cedera pada saraf
- k. Alveolitis

2.2 Luka Pencabutan

2.2.1 Definisi

Pencabutan gigi merupakan tindakan traumatik yang dapat menyebabkan kerusakan pada bagian jaringan pendukung gigi termasuk jaringan periodontal seperti gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar sehingga terbentuk luka atau trauma pada soket gigi (Topazian dkk, 2002). Pada pencabutan gigi akan terbentuk luka spesifik yang disebut sebagai luka pasca pencabutan (Miloró, 2004).

2.2.2 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang bertahap, kompleks dan dinamis. Menurut Miloro (2004) dalam bukunya *Peterson's Principle of Oral and Maxillofacial Surgery 2nd Ed*, secara garis besar proses penyembuhan luka terbagi menjadi 3 tahap yaitu

1) Inflamasi

Merupakan tanda respon dari tubuh yang terjadi sangat cepat antara 3-5 hari setelah adanya luka yang terekspos. Faktor XII (faktor Hageman) akan aktif setelah diaktifkan oleh jaringan yang mengalami trauma dan pendarahan lokal sehingga terjadi proses penyembuhan. Platelet akan menyebar ke daerah luka kolagen subendotel vaskuler dan matriks fibrin akan membentuk trombosit utama untuk menutup luka yang terekspos. Bekuan darah terjadi dengan tujuannya adalah agar segera terjadi hemostasis dan terdapat matriks sementara sehingga sel-sel dapat bermigrasi saat proses perbaikan. Setelah proses hemostasis sudah tercapai maka vasodilatasi akan menggantikan

vasokonstriksi relatif dengan dimediasi oleh histamin, prostaglandin, kinin dan leukotrien sehingga akan terjadi cardinal sign. Sitokin akan mendorong neutrofil dan monosit ke daerah yang cedera saat sitokin dilepaskan ke luka. Pada 2 hari pertama fibrin dan leukosit memenuhi kavitas dari luka bersama protease dan sitokin. Tujuannya adalah membantu membersihkan luka dari bakteri kontaminan, jaringan yang terdevitalisasi dan komponen matriks yang terdegradasi. Monosit/makrofag muncul dan aktif pada 48-72 jam setelah luka sebagai mediator utama penyembuhan dan melepaskan sumber energi dari faktor pertumbuhan dan sitokin seperti TGF- α , TGF- β , PDGF, IGF-I, IGF-II, TNF- α , dan IL-1 pada lokasi luka. Makrofag akan mempengaruhi proses awal dari penyembuhan dan remodeling pada jaringan lokal dengan enzim proteolitik, merangsang matriks estrasel baru terbentuk, modulasi angiogenesis dan fibroplasia melalui produksi sitokin lokal. Selain itu sitokin pro-inflamatori muncul saat proses inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, PGE2, TGF- β dan IGF-1 yang terlibat dalam meregulasi osteoblas dan osteoklas (Ginaldi, 2005; Sudoyo dkk, 2015).

2) Proliferasi

Paling cepat dimulai pada hari ke 3 setelah luka dan berlangsung selama 3 minggu. Pada fase ini terdapat jaringan granulasi yang mengandung fibroblas, makrofag dan sel endotel yang akan membentuk pembuluh darah baru (angiogenesis) dari pembuluh darah yang rusak, mensintesis matriks ekstrasel baru (ECM). Jaringan granulasi muncul pada hari ke-4. Fibroblas mensintesis ECM dan kolagen yang belum matang (tipe III) sehingga menyediakan *scaffold* yang mendukung pembentukan pembuluh darah baru.

3) Remodelling

Merupakan fase terpanjang pada proses penyembuhan dan dapat berlangsung selama beberapa tahun. Pada fase ini fibroblas akan menghilang sedangkan kolagen

tipe III akan disimpan selama fase granulasi dan akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih tebal dan kuat. Setelah dilakukan pencabutan gigi maka akan terbentuk soket, soket tersebut akan terisi oleh darah dan akan terjadi fase pembekuan darah. Gumpalan darah dimulai pada 24-48 jam. Pada minggu pertama, *scaffold* terbentuk sedangkan sel inflamasi bermigrasi. *Scaffold* berasal dari bekuan darah untuk angiogenesis fibroplasia. Pada sepanjang tulang alveolar terdapat penumpukan osteoklas yang berperan dalam meresopsi tulang. Pada minggu kedua, fibroplasia pada gumpalan terus berlanjut sehingga fibrin dan debris darah menghilang kemudian jaringan granulasi mulai menggantikan bekuan pada minggu ketiga. Terjadi re-epitelisasi pada permukaan luka dan proses remodeling tulang terus berlanjut.

2.3 Penyembuhan pada Jaringan Keras

2.3.1 Proses Penyembuhan pada Jaringan Keras

Pada proses penyembuhan pada tulang alveolar pasca pencabutan gigi sama dan sesuai dengan fase penyembuhan jaringan keras pada umumnya. Penyembuhan luka pada jaringan keras berbeda dengan penyembuhan jaringan lunak karena pada proses penyembuhan jaringan keras melibatkan aktivitas sel osteoklas dan sel osteoblas (Hupp dkk, 2013).

A. Osteoklas

Setelah terjadi trauma pasca pencabutan gigi maka akan terjadi osteoklastogenesis yaitu pertumbuhan sel osteoklas. Osteoklas merupakan sel yang berperan dalam meresopsi tulang yang terbentuk dari *haemopoetic stemcell* yang terdapat di sumsum tulang dan limpa. Sel osteoklas pada proses penyembuhan jaringan keras berperan dalam proses resopsi tulang (Kyung dkk, 2008). PGE₂, IL-1, IL-6, dan TNF- α menstimulasi pembentukan sel osteoklas langsung melalui RANKL (*Receptor Activator of Nuklear K β Ligan*). Aktivasi sel osteoklas diawali dengan

pengeluaran M-CSF (*Macrophage-Colony Stimulating Factor*) oleh sel stromal M-CSF berikatan dengan c-Fms pada prekursor sel osteoklas sehingga terbentuk pre-osteoklas yang berasal dari adanya diferensiasi dan proliferasi progenitor hematopoetik. Pre-osteoklas kemudian mengekspresikan RANK (*Receptor Activator of Nuclear $\kappa\beta$*) yang berada di membran sel pre-osteoklas prekursor osteoklas akan berinteraksi dan berikatan dengan RANKL sehingga terjadi resorpsi tulang (Heineman dkk, 2010). Interaksi antara RANKL dengan RANK berperan penting dalam pembentukan dan aktivasi sel osteoklas.

B. Osteoblas

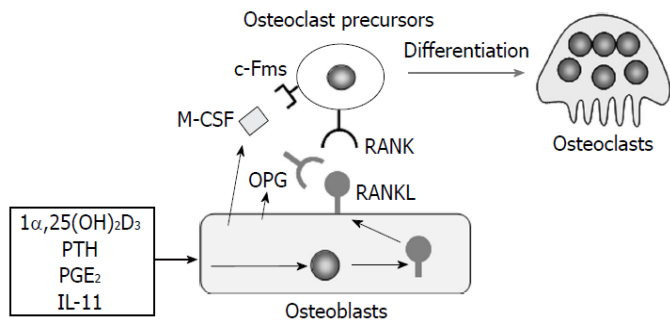
Sel osteoblas berkembang dari *osteoprogenitor* yang terdapat pada bagian dalam periosteum dan sumsum tulang (Orwoll, 2003). IGF-1 terlibat dalam regulasi sel osteoblas yang disintesis melalui tulang. IGF-1 mampu merangsang dan mensintesis kolagen dan matriks tulang serta merangsang replika sel-sel turunan osteoblas. Selain itu IGF-1 juga berperan dalam mempertahankan massa tulang. Sedangkan TGF- β berperan penting dalam menstimulasi replika preosteoblas, kolagen dan menghambat resorpsi tulang (Sudoyo dkk, 2015). Dengan munculnya dan bertambahnya IGF-1 dan TGF- β maka dapat meregulasi sel osteoblas. Sel osteoblas bersama sel stroma memproduksi OPG (*Osteoprotegerin*) yang dapat menghambat ikatan RANKL dengan RANK dengan cara berikatan dengan RANKL sehingga menghambat osteoklastogenesis karena peningkatan pada proses osteoklastogenesis dapat mengakibatkan peningkatan resorpsi tulang (Takayanagi, 2007).

C. OPG

OPG bersama RANKL merupakan protein yang mengatur osteoklastogenesis. *Osteoprotegerin* memiliki arti melindungi tulang karena OPG berperan dalam

melindungi tulang dari resorpsi tulang dan membatasi resorpsi tulang secara berlebihan oleh sel osteoklas. Nama lain dari OPG yaitu OCIF (*Osteoklastogenesis Inhibitory Factor*) (Menezes dkk, 2006). Dalam beberapa studi, OPG merupakan sitokin dari 401 asam amino yang merupakan anggota dari superfamili reseptor TNF. OPG tidak memiliki transmembran dan sitoplasma yang domain. OPG dapat ditemukan pada beberapa jaringan lunak seperti pada paru-paru, jantung, ginjal, hati, kelenjar tiroid, lambung, usus, otak dan saraf tulang belakang, dan tulang. OPG di produksi oleh sel osteoblas yang merupakan reseptor dari RANKL. OPG berperan dalam menghalangi atau menghambat dari aktivitas dan diferensiasi sel osteoklas dengan cara berikatan dengan RANKL sehingga tidak terjadi resorpsi tulang sehingga menghambat osteoklastogenesis karena tidak terjadi proses pematangan osteoklas dari preosteoklas menyebabkan apoptosis atau kematian preosteoklas (Kumamoto dan Ooya, 2004).

Gambar 1. Pengaturan Diferensiasi Osteoklas oleh Osteoblas melalui Produksi M-CSF, RANKL dan OPG (Teruhito dkk, 2012)

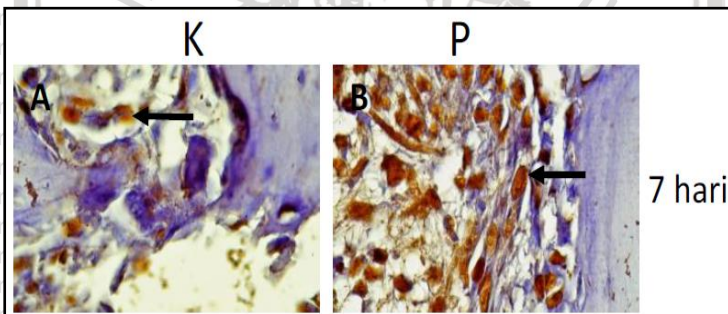


Dalam hal ini, OPG merupakan regulator yang penting selama proses remodeling. OPG sudah ada di dalam tulang meskipun tulang tidak mengalami trauma dengan level yang cukup tinggi sedangkan RANKL tidak (Hofbauer dkk, 2000). Pada saat

trauma, OPG dan RANKL muncul secara maksimal pada 24 jam pasca trauma. Kemudian pada hari ke 3, jumlah OPG menurun dengan cepat sedangkan RANKL tetap tinggi. Pada hari ke 7, jumlah OPG menjadi naik sangat tinggi sedangkan RANKL turun (Tamiyo dkk, 2001).

Penurunan regulasi osteoprotegerin atau penurunan induksi OPG dapat mempengaruhi peningkatan regulasi RANKL sehingga dapat mempengaruhi osteoklastogenesis. Keseimbangan RANKL/OPG merupakan penentu massa tulang, jika terdapat gangguan maka akan terjadi beberapa masalah pada tulang.

Gambar 2. Ekpresi OPG Pada Jaringan Keras (Indriana, 2016)



2.4 Gelatin

2.4.1 Definisi

Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari hidrolisis kolagen kulit, tulang atau ligamen hewan. Gelatin sering digunakan dalam bidang industri farmasi, makanan, kosmetik dan fotografi. Produksi gelatin semakin meningkat dan hampir mendekati angka 326.000 ton per tahunnya. Gelatin pada umumnya berasal dari kulit babi (46%), kulit sapi (29,4%), tulang sapi (23,1%) dan sumber lain (1,5%) (Karim dan Bhat, 2009).

Menurut Nurrachmawati (2015), gelatin yang memiliki nama ilmiah *Hydrolysed Collagen* (C76H124O29N24) merupakan zat kimia padat yang tembus cahaya, tidak berasa, rapuh (jika kering). Gelatin merupakan protein larut yang bersifat *gelling agent* (bahan pembuat gel) atau sebagai *non gelling agent*. Bahan baku utama yang digunakan dalam pembuatan gelatin berasal dari sapi, babi dan ikan. Gelatin dihasilkan dari serabut kolagen jaringan penghubung, kulit, tulang dan tulang rawan yang di hidrolisis menggunakan larutan asam atau basa. Komposisi dari gelatin terdiri dari asam amino glisin dan prolin. Asam amino memiliki fungsi dalam kekebalan tubuh yang optimal. Glisin adalah jenis dari asam amino yang berfungsi sebagai anti-inflamasi dan terbukti dapat membantu dalam proses penyembuhan luka.

2.4.2 Fungsi

Menurut Nurrachmawati (2015), gelatin memiliki manfaat dan fungsi sebagai berikut:

- a) Dapat membantu dalam pemulihan sendi, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, osteoporosis, memperkuat tulang, sendi, kuku, dan mempercepat pemulihan setelah cedera setelah olahraga. Gelatin mengandung kolagen sehingga dapat membantu dalam pembentukan tulang rawan dan tulang.
- b) Membantu pertumbuhan kulit, rambut dan kuku
- c) Mengencangkan kulit
- d) Meningkatkan pencernaan karena dapat mengikat air dan membantu pergerakan makanan.

2.4.3 Pemanfaatan

Menurut Karim dan Bhat (2008), gelatin dapat dimanfaatkan dalam bidang:

- a) **Industri**
Pada bidang industri, gelatin dimanfaatkan sebagai bahan penstabil, meningkatkan daya kembang, tekstur dan pengikat air.
- b) **Farmasi**

Pada bidang farmasi, gelatin digunakan sebagai bahan untuk membuat *bard capsule*.

c) Kosmetik

Pada bidang kosmetik, gelatin dimanfaatkan sebagai bahan pelembut dan pengemulsi. Gelatin digunakan dalam prosuk krim, *lotion*, *shampoo* dan *conditioner*.

d) Fotografi

Pada bidang fotografi, gelatin dimanfaatkan sebagai medium pengikat dan koloid pelindung dalam pembentuk *image*.

Sedangkan menurut Nurrachmawati (2015), gelatin memiliki beberapa kegunaan pada produk pangan maupun non pangan.

a) Produk pangan

Pada produk pangan, gelatin dapat dimanfaatkan sebagai penstabil (*stabilizer*), *gelling agent*, pengikat (*binder*), pengemulsi (*emulsifier*), perekat (*adhesive*), pengental (*thickener*).

b) Produk non pangan

Pada produk non pangan, gelatin dimanfaatkan pada bidang industri fotografi dan sebagai pelapis logam dalam industri *elektroplating*.

2.4.4 Gelatin Ikan

Gelatin ikan merupakan protein yang diperoleh dari hidrolisis kolagen yang diambil dari kulit dan tulang ikan. Gelatin ikan memiliki sifat yang rendah kalori, tinggi protein, dan bebas gula. Gelatin ikan juga dapat diaplikasikan pada industri pangan, farmasi dan fotografi (Agustin, 2013).

2.5 Ikan patin

2.5.1 Definisi

Menurut Mahyuddin, Kholis (2010), patin merupakan jenis kelompok lele-lelean (*catfish*) yang menjadi salah satu komoditas ikan air tawar yang mudah

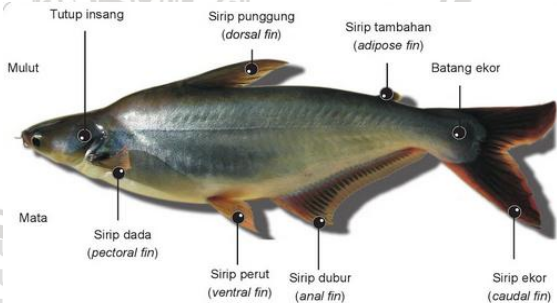
dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Budidaya ikan patin relatif mudah, dapat hidup dan tumbuh pada kolam yang airnya tergenang/ tidak mengalir serta rendah oksigen.

Dalam bahasa inggris, patin siam disebut *catfish*, *river catfish* atau *striped catfish*. Pada beberapa daerah dan negara, ikan patin memiliki nama yang berbeda-beda.

- Thailand : Pla sawai
- Vietnam : Ca tre yu
- Kamboja : Trey pra
- Malaysia : Ikan patin, ikan lawang, martinus, tikol
- Indonesia : Ikan patin, jambal, pangasius, lele bangkok (Jawa), patin kunyit (Riau), ikan juara (Sumatera dan Kalimantan).

Saat ini jenis patin yang sering dijumpai adalah patin lokal dan patin siam. Patin lokal merupakan ikan patin asli dari Indonesia yang berasal dari sungai-sungai besar di Sumatera, Jawa, dan Kalimantan. Sedangkan ikan patin siam merupakan ikan patin yang berasal dari Thailand.

Gambar 3. Ikan Patin (Mahyuddin, Kholis. Panduan Lengkap Agribisnis Patin. 2010)



2.5.2 Klasifikasi

Menurut Mahyuddin, Kholis (2010), klasifikasi dari ikan patin adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Animalia
- Filum : Chordata
- Kelas : Pisces



Sub Kelas : Teleostei
Ordo : Ostariophysa
Subordo : Siluroidea
Famili : Pangasidae
Genus : Pangasius

2.5.3 Kandungan

Ikan patin memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi yaitu mengandung 68,6% protein, 5,8% lemak, 3,5% abu dan 59,3 % air (Khairuman dan Khairul, 2010). Ikan patin juga mengandung sodium yang tinggi yaitu 2220594/100 g, kalium 30-340 mg/100g, magnesium 11,9-12,3 mg/100g, kalsium 5,50-10,10 mg/100g (Orban dkk, 2008). Kandungan lemak pada ikan patin tergolong rendah dibandingkan dengan daging sapi atau ayam. Pada lemak ikan patin mengandung asam lemak jenuh tinggi sekitar 50,28-64,42% dari total asam lemak, asam lemak tak jenuh sekitar 27,79-43,49% dan asam lemak tidak jenuh ganda rendah sekitar 6,93-13,07 dari total asam lemak. Ikan patin juga mengandung omega 3 sekitar 2,58-6,69% sedangkan omega 6 sekitar 5,00-12,50% (Suryaningrum, 2010).

Protein disusun oleh rangkaian dari gugus amino. Protein merupakan zat yang sangat berperan dalam proses penyembuhan luka (Sitompul, 2004). Terdapat 2 jenis amino yaitu asam amino esensial dan non esensial. Menurut Suryaningrum dkk, (2010), ikan patin jambal mengandung asam amino yang tinggi seperti glisin, alanin, valin, lisin, asam glutamat dan lain sebagainya. Menurut jurnal International Ratnasari dkk, (2013), gelatin ikan patin memiliki kandungan asam amino yang berperan penting dalam penyembuhan luka.

Tabel 1. Tabel perbandingan kandungan asam amino pada beberapa jenis ikan patin (Suryaningrum, *et.al.*, 2010)

Asam Amino	Patin Siam (%)	Patin Jambal (%)	Patin Pasupati (%)	Patin Nasutus (%)
Glisin	25,1	24,7	21,0	24,3
Alanin	3,8	3,3	2,8	3,1
Valin	3,2	2,2	3,3	2,3
Leysin	5,4	2,7	2,9	2,3
Isoleusin	3,4	2,4	2,9	2,4
Asam aspartat	0,3	6,5	6,5	6,8
Asam glutamat	5,1	9,9	10,0	10,9
Lisin	10,7	10,3	10,2	10,3
Arginin	15,0	16,3	15,6	15,9
Histidin	2,6	1	0,9	1,1
Serin	4,4	2,5	2,4	2,6
Treonin	7,2	2,8	2,9	3,3
Fenilalanin	2,6	4,0	4,2	4,3
Tirosin	2,3	1,6	2,0	2,2
Metionin	2,0	3,7	3,9	4,1
Prolin	3,3	2,3	2,2	2,8



2.6 Tikus Putih

2.6.1 Definisi

Menurut Wolfenshon dan Lloyd (2003), tikus putih (*Ratus norvegicus*) merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan coba untuk suatu penelitian. Tikus putih termasuk hewan nokturnal dan sosial. Tikus putih dapat hidup dengan baik pada 19° C-23° C dengan kelembapan 40-70%.

2.6.2 Klasifikasi

Menurut Akbar, B (2010), taksonomi tikus putih adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: Norvegicus

2.6.3 Ciri Tikus Putih


Menurut Wolfenshon dan Lloyd (2003), data fisiologis tikus putih (*Ratus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Tabel data fisiologis tikus putih (*Ratus novergicus*) (Wolfenshon dan Lloyd, 2003)


Nilai Fisiologis	Kadar
Berat tikus dewasa	Jantan 450-520 gram
Kebutuhan makan	Betina 250-300 gram
Kebutuhan minum	5-10 g/100 g berat badan
Jangka hidup	10 ml/100g berat badan
Temperatur rektar	3-4 tahun
Detak jantung	36 ^o C-40 ^o C
Tekanan darah	250-450 kali/menit
Sistol	84-134 mmHg
Diastole	60 mmHg
Laju Pernafasan	70-115 kali/menit
Serum Protein (g/dl)	3.6-7.6 g/dl
Albumin (g/dl)	3.8-4.8 g/dl
Globulin (g/dl)	1.8-3 g/dl
Glukosa (mg/dl)	50-135 mg/dl
Nitrogen urea darah (mg/dl)	15-21 mg/dl
Kreatinin (mg/dl)	0.2-0.8 mg/dl
Total bilirubin (mg/dl)	0.2-0.55 mg/dl
Kolesterol (mg/dl)	40-13 mg/dl

Keterangan:

 = Proses yang diteliti

 = Proses yang tidak di teliti

 = Tahapan proses

 = Stimulan

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep Penelitian

Pencabutan pada umumnya adalah mengeluarkan satu atau lebih gigi dan sisa akar dari tulang alveolus sehingga akan terbentuk luka yang biasa disebut dengan luka pasca pencabutan pada jaringan lunak dan jaringan keras pada daerah yang bekas pencabutan (Fragiskos, 2007; Mansjoer dkk, 2000). Luka tersebut akan mengalami fase penyembuhan yang melibatkan jaringan lunak dan jaringan keras, yang secara umum diawali dari fase inflamasi yang dimulai dari adanya luka, kemudian fase proliferasi, dan fase remodeling (Miloro dkk, 2004). Sejumlah sitokin pro-inflamatori muncul saat proses inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, PGE2 yang meregulasi sel osteoklas sedangkan TGF- β dan IGF-1 terlibat dalam meregulasi sel osteoklas (Ginaldi, 2005; Sudoyo dkk, 2015). Pada fase remodeling terjadi proses pembentukan tulang melibatkan aktivitas dari sel osteoblas dan osteoklas sehingga terjadi proses resorpsi dan pembentukan tulang baru (Hupp dkk, 2013).

Osteoblas tidak hanya mengekspresikan RANKL (*Reseptor Activator of Nuklear K β Ligan*) yang akan berikatan berikatan dengan RANK (*Reseptor Activator of Nuklear K β*) dan menstimulasi terjadinya osteoklatogenesis, tetapi sel osteoblas juga memproduksi OPG (*Osteoprotegerin*). OPG berperan dalam melindungi tulang dari resorpsi tulang dan membatasi resorpsi tulang secara berlebihan oleh sel osteoklas. OPG berperan dalam pengaturan metabolisme tulang dengan cara menghambat diferensiasi dan aktivasi sel osteoklas serta meningkatkan apoptosis osteoklas sehingga tidak terjadi

resorpsi tulang secara berlebihan dengan cara mencampuri ikatan RANKL dengan RANK sehingga dapat menghambat osteoklastogenesis karena peningkatan pada proses osteoklastogenesis dapat mengakibatkan peningkatan resorpsi tulang (Takayanagi, 2007).

Penurunan produksi osteoprotegerin atau penurunan induksi OPG dapat mempengaruhi peningkatan dari jumlah RANKL sehingga dapat mempengaruhi osteoklastogenesis, sehingga dibutuhkan keseimbangan antara RANKL dan OPG dalam penentu massa tulang.

Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) merupakan hasil dari hidrolisis kolagen yang didapatkan dari tulang dan kulit (Kharim dan Bhat, 2009). Menurut Nurrachmawati (2015), gelatin juga membantu pemulihan pada pasien osteoporosis, memperkuat tulang dan mempercepat pemulihan setelah cedera olahraga. Gelatin mengandung kolagen sehingga dapat membantu dalam pembentukan tulang rawan dan tulang. Menurut Suryaningrum dkk, (2010), ikan patin jambal memilikikandungan asam amino yang tinggi seperti glisin, alanin, valin, lisin, asam glutamat dan lain sebagainya. Menurut jurnal International Ratnasari dkk, (2013), juga menyebutkan bahwa gelatin ikan patin memiliki kandungan asam amino yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Glisin adalah jenis dari asam amino yang paling banyak terkandung dalam ikan patin yang berfungsi sebagai anti-inflamasi dan terbukti dapat membantu dalam proses penyembuhan luka.

3.3 Hipotesis Penelitian

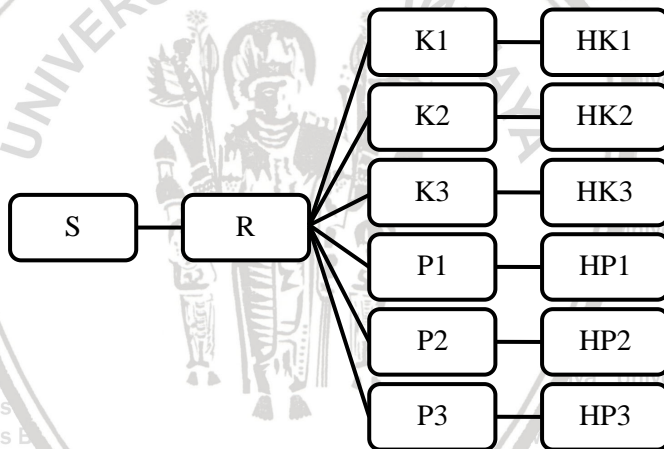
Hipotesis dari penelitian ini adalah gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dapat meningkatkan ekspresi *osteoprotegerin* pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Pendekatan yang digunakan untuk tujuan penelitian ini adalah dengan rancangan eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Group Design* dilaboratorium secara in-vivo untuk mengetahui pengaruh gelatin ikan patin terhadap ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG) pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Gambar 5. Desain Penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*



Keterangan :

S : Sampel

R : Sampel dipilih secara acak (random)

K1 : Kelompok kontrol satu tanpa diberi gelatin ikan patin selama tiga hari pasca pencabutan gigi.

K2 : Kelompok kontrol dua tanpa diberi gelatin ikan patin selama lima hari pasca pencabutan gigi.

K3 : Kelompok kontrol tiga tanpa diberi gelatin ikan patin selama tujuh hari pasca pencabutan gigi.

P1 :Kelompok perlakuan satu diberi gelatin ikan patin dengan konsentrasi 100% selama tiga hari pasca pencabutan gigi.

P2 :Kelompok perlakuan dua diberi gelatin ikan patin dengan konsentrasi 100% selama lima hari pasca pencabutan gigi.

P3 :Kelompok perlakuan tiga diberi gelatin ikan patin dengan konsentrasi 100% selama tujuh hari pasca pencabutan gigi.

HK1 :Hasil pengamatan kelompok kontrol satu tanpa diberi gelatin ikan patin selama tiga hari pasca pencabutan gigi.

HK2 :Hasil pengamatan kelompok kontrol dua tanpa diberi gelatin ikan patin selama lima hari pasca pencabutan gigi.

HK3 :Hasil pengamatan kelompok kontrol tiga tanpa diberi gelatin ikan patin selama tujuh hari pasca pencabutan gigi.

HP1 :Hasil pengamatan kelompok perlakuan satu diberi gelatin ikan patin dengan konsentrasi 100% selama tiga hari pasca pencabutan gigi.

HP2 :Hasil pengamatan kelompok perlakuan dua diberi gelatin ikan patin dengan konsentrasi 100% selama lima hari pasca pencabutan gigi.

HP3 :Hasil pengamatan kelompok perlakuan tiga diberi gelatin ikan patin dengan konsentrasi 100% selama tujuh hari pasca pencabutan gigi.

4.2 Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih strain wistar yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pemeliharaan dilakukan dalam kandang yang bersih. Hewan coba yang dipilih adalah tikus putih jantan karena jarang berkelahi, berkembang biak dengan cepat, tingkat reproduksi tinggi, murah, mudah beradaptasi, interval kelahiran pendek,

struktur tubuh dan karakteristik tikus yang mudah dipahami (Malole & Pramono, 1989; Setiawan, 2010).

4.2.1 Kriteria Sampel

Menurut Oroh dkk, (2015), sampel penelitian yang dipilih berdasarkan ketentuan:

Kriteria Inklusi :

- a. Jenis kelamin jantan.
- b. Usia 2-3 bulan.
- c. Berat badan 250-300 gram.
- d. Sehat, ditandai dengan gerakan yang aktif, mata yang jernih dan bulu tebal berwarna putih mengkilap

Kriteria Eksklusi :

- a. Gigi patah saat proses pencabutan
- b. 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, feses cair karena diare.
- c. Tikus mati selama proses penelitian berlangsung

4.2.2 Jumlah Sampel Penelitian

Pada penelitian ini, hewan coba dikelompokkan menjadi enam kelompok yaitu 3 kelompok kontrol negatif (K1, K2, K3) dan tiga kelompok eksperimen (P1, P2, P3). Rumus Federer digunakan dalam menghitung jumlah sampel yang diperlukan sebagai berikut.

Gambar 6. Rumus Federar

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

Keterangan:

t = Jumlah kelompok

n = Jumlah pengulangan penelitian

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

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

$$\begin{aligned}(n-1)(6-1) &\geq 15 \\ 5n &\geq 20 \\ n &\geq 4\end{aligned}$$

Pada penelitian ini digunakan minimal empat ekor tikus putih untuk tiap kelompok. Pada penelitian ini dibagi menjadi enam kelompok perlakuan, sehingga dibutuhkan 24 ekor tikus putih. Untuk mengurangi *lost of sample* akibat adanya tikus yang mati, maka jumlah sampel ditambah menjadi 30 ekor tikus putih.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG).

4.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali pada penelitian ini adalah usia, jenis kelamin, berat badan, kesehatan hewan coba, teknik luka merupakan cara perlukaan pada tubuh hewan coba seperti pencabutan gigi dengan menggunakan needle holder dan lecron, serta aplikasi gelatin ikan patin pada hewan coba.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama kurang lebih tiga bulan dengan rincian sebagai berikut:

1. Pembuatan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknologi Hasil Pangan Universitas Brawijaya.
2. Pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

3. Pembuatan preparat penelitian histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Pengecatan imunohistokimia *Osteoprotegerin* (OPG) dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Pengamatan sediaan dan analisis data dengan menghitung ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG) dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama kurang lebih tiga bulan.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Gelatin Ikan Patin

Kulit ikan patin (*Pangasius djambal*) sebanyak 100 gram dengan 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 1%, kertas lakmus, baskom, wadah tertutup, masker, sarung tangan, kantong plastik jenis PE (*poly ether*), dan *aquadest*.

4.5.2 Alat dan Bahan untuk Pencabutan Gigi Tikus Putih

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *wistar* berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan 250-300 gram, pisau *lecron* modifikasi, anastesi *ketamine* 1000 mg/10 mL, masker, sarung tangan, dan *needle holder* modifikasi.

4.5.3 Alat dan Bahan untuk Perlakuan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *wistar* berumur dua sampai tiga bulan dengan berat 250-300 gram, gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, pinset bedah, sonde gastrik, *cotton bud*, *scalpel* nomor 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 untuk 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%, *reagen kit* pewarnaan imunohistokimia, masker, dan sarung tangan.

4.5.5 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Imunohistokimia Indirek

Blok parafin yang sudah tersedia di Laboratorium Biokimia FKUB, *xylene*, etanol, *peroxidase blocking solution*, *prediluted blocking serum*, antibodi monoklonal (anti rat- OPG), *phosphate buffer saline*, antibodi sekunder (*conjugated to horse radish peroxidase*), peroksidase, kromogen DAB (*Diaminobenzinidine*), *hematoxylin eosin*, air, *mounting media*, *coverslip*.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Gelatin Ikan Patin

Gelatin diperoleh dari kulit ikan patin yang dibuat menggunakan teknik komersial tanpa proses pengeringan. Konsentrasi gelatin ikan yang akan di buat pada penelitian ini sebesar 100%.

4.6.2 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) akan dilakukan pada gigi insisivus satu kiri rahang bawah menggunakan needle holder dan lecron dalam proses pencabutannya.

4.6.3 Soket Gigi

Pada penelitian ini, yang di maksud soket gigi adalah kavitas pada tulang alveolar rahang bawah tempat melekatnya gigi insisivus satu rahang bawah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipotong pada bagian mesial secara vertikal untuk dijadikan preparat histologi penelitian.

4.6.4 Osteoprotegerin (OPG)

Osteoprotegerin (OPG) yang dihitung adalah yang diekspresikan oleh osteoblas dengan pewarnaan imunohistokimia. Perbesaran yang digunakan adalah 1000x dengan 20 mata pandang.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan dan Perawatan Hewan Coba

1. Pemilihan hewan coba berdasarkan kriteria sampel. Kemudian hewan coba yang telah dipilih dikelompokkan menjadi 6 kelompok, setiap kelompok terdiri dari empat ekor tikus putih.
2. Kemudian, tikus dipelihara dalam kandang berupa kotak plastik dengan penutup berupa kawat berjaring, dalam satu kandang berisi dua ekor tikus putih.
3. Setelah itu, tikus diadaptasikan selama satu minggu dalam Laboratorium Farmakologi FKUB pada suhu ruangan 20-26°C dengan kelembapan udara antara 40-70%. Hewan coba diberi makan berupa pelet komersial yang diletakkan pada tempat makan dan diberi air minum (PDAM) yang diletakkan pada tempat air minum.

4.7.2 Pembuatan Gelatin Ikan Patin

Kulit ikan patin dipisahkan daridaging dan lemak yang masih menempel pada kulit ikan patin, kemudian kulit ikan patin disimpan pada suhu -20°C. Selanjutnya, kulit ikan patin dicairkan dalam suhu ruangan dan dipotong dengan ukuran sekitar 1 cm². Kulit ikan patin dibilas menggunakan air lemon untuk menghilangkan material selain kulit ikan. Kemudian, 100 gram sampel ikan patin

didibilas dan direndam dalam larutan asam klorida 1% selama 2 jam untuk mencairkan serabut kolagen menjadi serat-serat/ fibril sehingga mudah diekstraksi. Setelah di rendam, sampel dilakukan pencucian beberapa kali hingga mencapai pH netral (6-7). Kulit patin diekstraksi menggunakan *shakerwater bath* dengan air suling pada suhu 45⁰C selama 12 jam. Selanjutnya, menggunakan kain saring *Wathman* no.1 untuk memisahkan larutan gelatin dengan sisa kulit ikan patin. Kemudian larutan gelatin didinginkan pada suhu ruang hingga terbentuk gel gelatin ikan patin (Ratnasari dkk, 2013; Saputra dkk, 2015).

4.7.3 Pencabutan Gigi Tikus

Prosedur yang dilakukan pertama kali sebelum melakukan pencabutan gigi adalah mengulasi daerah yang akan di anastesi menggunakan antiseptik yaitu larutan *povidone iodine* 10% atau alkohol 70% pada bagian labial dan palatal dari gingiva gigi yang akan di cabut. Kemudian melakukan anastesi untuk menghilangkan rasa sakit pada saat pencabutan gigi pada tikus putih menggunakan larutan anastesi ketamin 1000 mg/10 ml sebanyak 0,2 ml dengan cara intra peritoneal. Larutan anastesi ketamin memiliki *onset of action* ±3 menit sedangkan *duration of action* ±60 menit. Selanjutnya melakukan pemisahan akar gigi dari gingiva dengan menggunakan lecron dan mengambil gigi insisivus satu kiri rahang bawah menggunakan needle holder. Pada pencabutan gigi insisivus satu kiri rahang bawah harus dilakukan secara hari-hati dan dengan kekuatan yang sama agar tidak terjadi fraktur. Kemudian, melakukan irigasi pada socket menggunakan aquades yang steril dan yang terakhir adalah kontrol pendarahan menggunakan tampon atau kasa steril (Widyastomo dkk, 2013).

4.7.4 Pemberian Analgesik

Pemberian analgesik pasca pencabutan pada tikus putih untuk meredakan rasa nyeri pasca pencabutan gigi insisivus satu kiri rahang bawah. Prosedur pemberian

analgetik yaitu diberikan Novalgin 500mg/ml dengan dosis 0,3 ml secara intra peritoneal sebanyak 1 kali pasca pencabutan (Widyastomo dkk., 2013).

4.7.5 Pemberian Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*)

Pemberian Gelatin Ikan Patin dilakukan dengan menggunakan spuit sebanyak 1cc pada soket sebanyak satu kali setelah pencabutan dan setelah berhentinya perdarahan. Sedangkan kelompok kontrol tidak diberi perlakuan (Rahmastuti, 2018).

4.7.6 Perawatan Hewan Coba Pasca Pencabutan Gigi

Asupan gizi pada tikus putih pasca pencabutan harus diperhatikan dan tercukupi dengan memberikan makanan yang lunak yaitu mengencerkan makanan tikus putih (pelet komersial). Pemberian makan pada tikus dilakukan dengan teknik sondasi menggunakan sonde gastrik sehingga makanan langsung masuk ke lambung agar tidak mengganggu proses penyembuhan soket gigi. Pemberian makanan dilakukan dua kali sehari yaitu pagi dan sore hari serta diberi minum air PDAM secukupnya.

4.7.7 Pengambilan Sampel Jaringan

Tikus pada hari ketiga, kelima dan ketujuh dimatikan terlebih dahulu (euthanasia secara kimiawi) sebelum dilakukan pengambilan sampel jaringan dengan cara menginjeksikan anastesi *ketamine* dengan dosis letal (tiga kali dosis anastesi pada umumnya) sebanyak 0,9 ml. Setelah melakukan injeksi, dapat dilakukan pengecekan dan memastikan bahwa tikus telah mati dengan cara melihat aspirasi, detak jantung, dan kedipan mata tikus putih. Kemudian, melakukan dekaputasi rahang mandibular dengan menggunakan *scalpel* nomor 11 dimana terdapat gigi yang sudah dilakukan pencabutan. Rahang tikus putih kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan formalin 10% selama 18-24 jam untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Kemudian, jasad tikus dikuburkan dengan layak (Widyastomo dkk, 2013).

4.7.8 Teknik Pemrosesan Preparat Jaringan



Sampel jaringan yang telah dilakukan kemudian dilakukan pencucian pada air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya, melakukan dekalsifikasi dengan menggunakan EDTA 14% selama 3-4 minggu kemudian dilakukan pencucian kembali menggunakan air mengalir selama 15 menit. Kemudian, dilakukan dehidrasi menggunakan *acetone* sebanyak 4 kali dalam 1 jam. Selanjutnya, dilakukan *clearing* dengan menggunakan *xylol* sebanyak 4 kali dalam 30 menit dan setelah itu dilakukan impregnasi menggunakan parafin cair pada suhu 55°C-80°C sebanyak 4 kali dalam 1 jam. Selanjutnya, penanaman jaringan ke dalam blok parafin (*embedding*) dan didinginkan selama 24 jam. Kemudian, sediaan dilakukan penyayatan dengan menggunakan *microtome rotary* dengan ketebalan antara 3-5 mikron lalu sayatan diletakkan pada *water bath* pada suhu 30°C. Setelah itu, sayatan diletakkan pada gelas objek dan didiamkan selama 24 jam kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan teknik imunohistokimia indirek.

4.7.9 Teknik Indirek Pewarnaan Imunohistokimia

Metode pewarnaan pada penelitian ini menggunakan metode Imunohistokimia *indirect* yang menggunakan antibodi primer untuk mengenali antigen yang mengidentifikasi jaringan sedangkan antibodi sekunder digunakan agar berikatan dengan antibodi primer dan menghasilkan warna coklat.

Menurut Protap Pengecatan Imunohistokimia Fakultas Farmasi UGM, prosedur pewarnaan Imunohistokimia dapat dimodifikasi sebagai berikut:

1. Melakukan deparafinasi preparat (blok parafin) yang sudah tersedia di Laboratorium Biokimia FKUB dengan menggunakan *xylene* sebanyak 3 kali masing-masing 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. Melakukan perendaman dalam *peroxidase blocking solution* pada suhu kamar selama 10 menit.
4. Inkubasi preparat dalam *prediluted blocking serum* 25^oC selama 10 menit.
5. Merendam preparat dalam antibodi monoklonal anti-OPG selama 10 menit.
6. Mencuci preparat dengan menggunakan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) selama 5 menit.
7. Inkubasi preparat dengan antibodi sekunder (*peroxidase*) selama 10 menit.
8. Pencucian preparat dengan PBS selama 5 menit.
9. Inkubasi preparat dengan peroksidase lagi selama 10 menit.
10. Mencuci preparat dengan PBS selama 5 menit.
11. Inkubasi preparat dengan kromogen DAB (*Diaminobenzimidine*) selama 10 menit.
12. Inkubasi preparasi dengan *Hematoxylin* selama 3 menit.
13. Mencuci preparat dengan menggunakan air mengalir.
14. Preparat dibersihkan dan ditetesi *mounting media*.
15. Preparat ditutup dengan *coverslip*.
16. Mengamati ekspresi OPG (warna coklat) pada sel menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x.
17. Dokumentasi hasil pengamatan
18. Perhitungan jumlah OPG

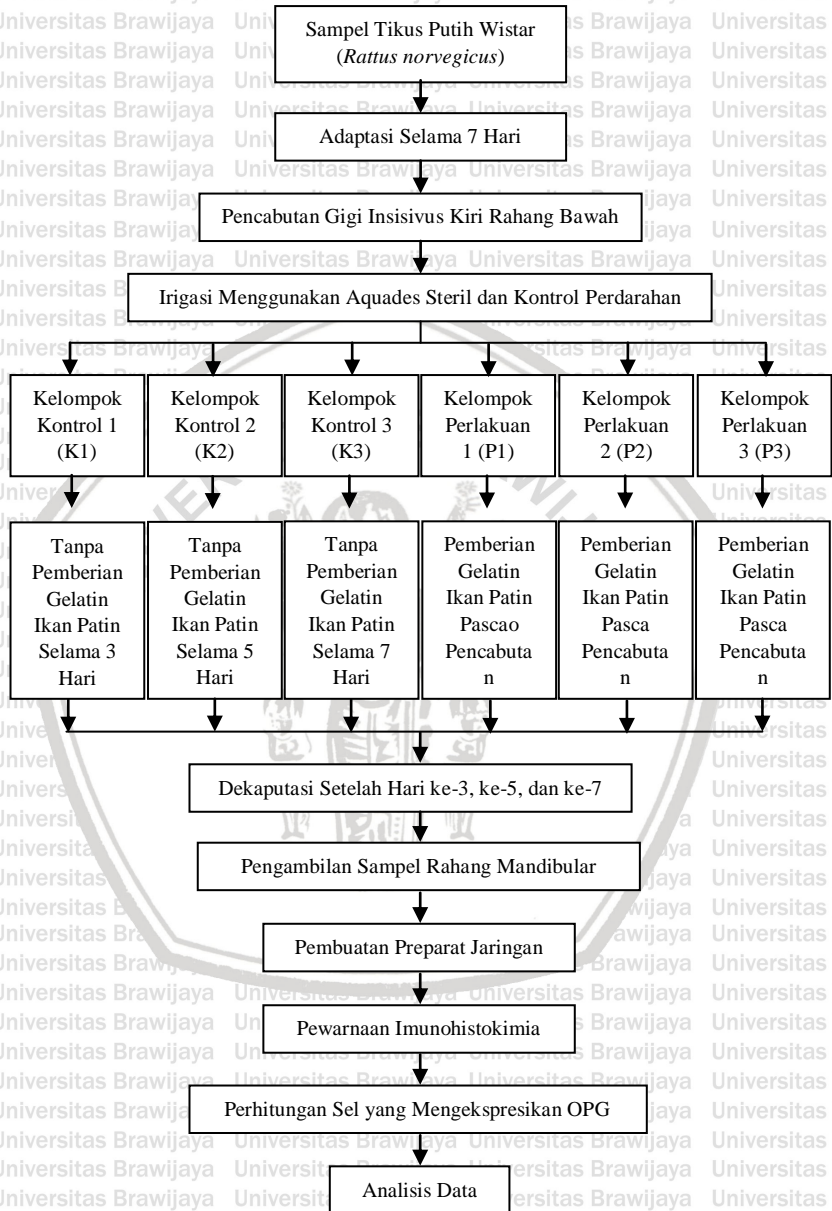
4.8 Perhitungan Ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG)

Perhitungan ekspresi OPG dapat dilakukan setelah preparat jaringan dilakukan pengecatan dengan teknik imunohistokimia menggunakan antibodi anti-OPG. Perhitungan ekspresi OPG menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran kuat (1000x) pada 20 bidang lapang pandang. Selanjutnya, dilakukan perhitungan secara manual untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Indikator ekspresi OPG menggunakan kromogen DAB akan terlihat bewarna coklat (Nonaka dkk, 2011).

4.9 Analisis Data

Untuk mendapatkan data perhitungan jumlah ekspresi OPG (*Osteoprotegerin*) 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. Langkah yang kedua adalah melakukan uji homogenitas ragam dengan tujuan untuk mengetahui sebaran data masing-masing kelompok homogen atau tidak homogen dengan menggunakan *Levene's test*. Langkah ketiga, 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 OPG antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan pada saat proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*). Langkah keempat yaitu melakukan *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 OPG antar kelompok.

4.10 Skema Prosedur Penelitian



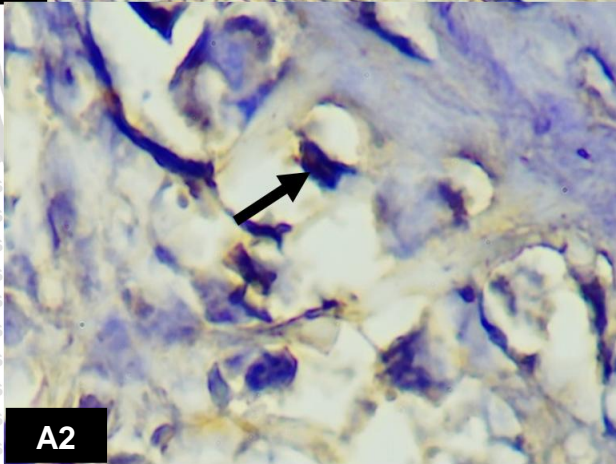
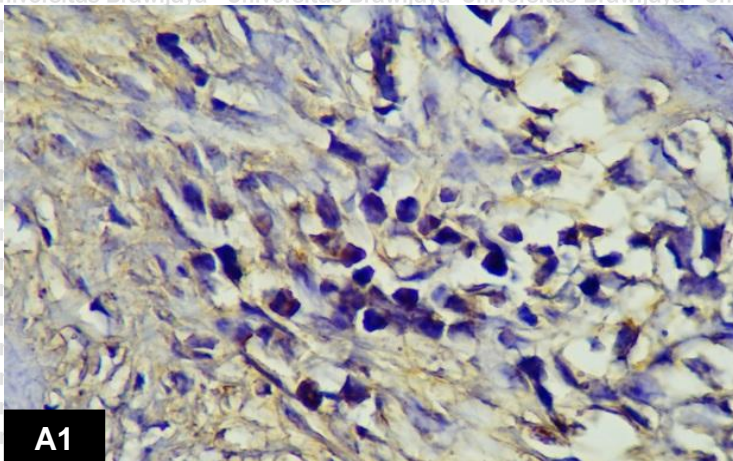
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

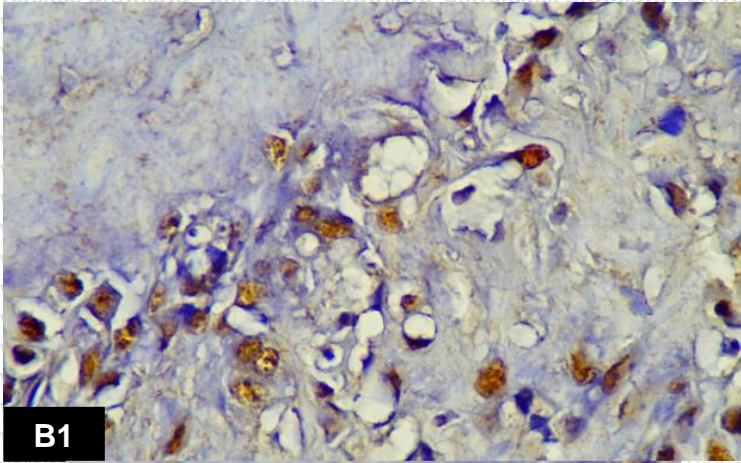
5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini memiliki 6 kelompok penelitian yang terbagi atas 3 kelompok kontrol yaitu K1, K2, K3, dan 3 kelompok perlakuan yaitu P1, P2, P3. Pada kelompok kontrol 1 (K1) yang tidak diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi Insisivus 1 RB kemudian didekaputasi pada hari ke-3, hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata ekspresi OPG setiap lapang pandang berjumlah 5,96. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi Insisivus 1 RB kemudian didekaputasi pada hari ke-3 memiliki rata-rata jumlah ekspresi OPG 13,93. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah rata-rata ekspresi OPG pada kelompok P1 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K1. Hasil foto preparat histologi menggunakan pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x pada kelompok K1 dan P1 tampak pada Gambar 7.

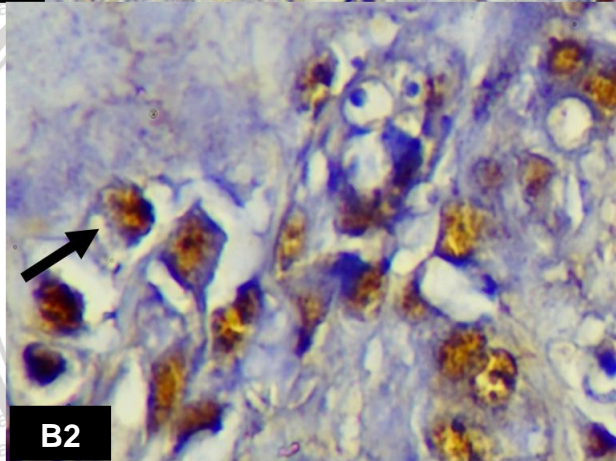


Gambar 7. Perbandingan Gambaran Histologi pada Hari Ke-3
 Pewarnaan IHK, perbesaran 400x dan 1000x, panah hitam
 menunjukkan ekspresi OPG, (A1) Kelompok K1(400x), (A2)
 Kelompok K1 (1000x), (B1) Kelompok P1(400x), dan (B2)
 Kelompok P1 (1000x)





B1

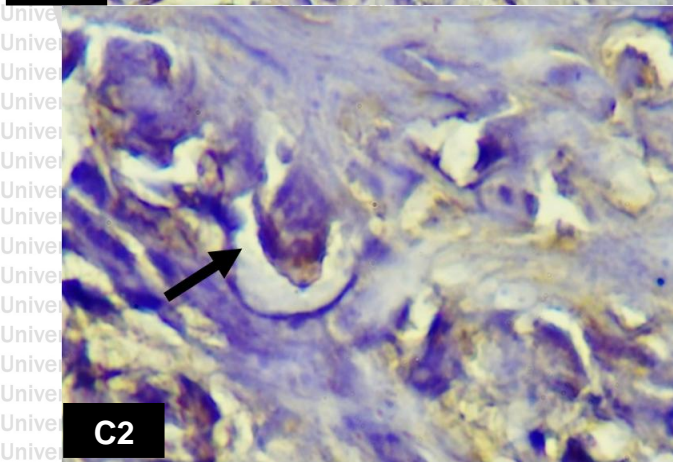
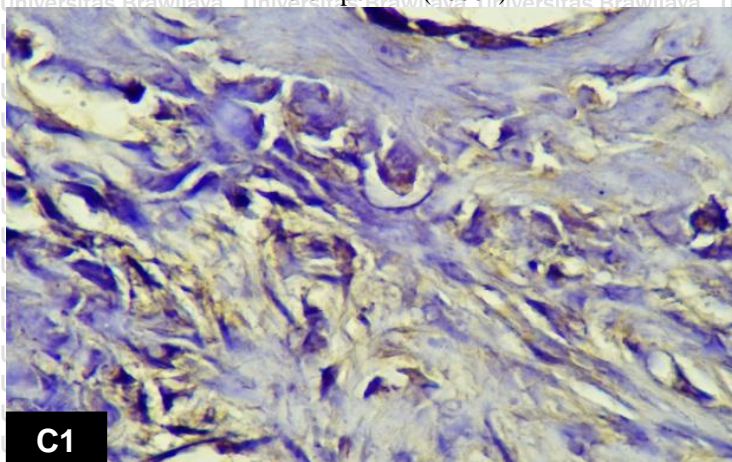


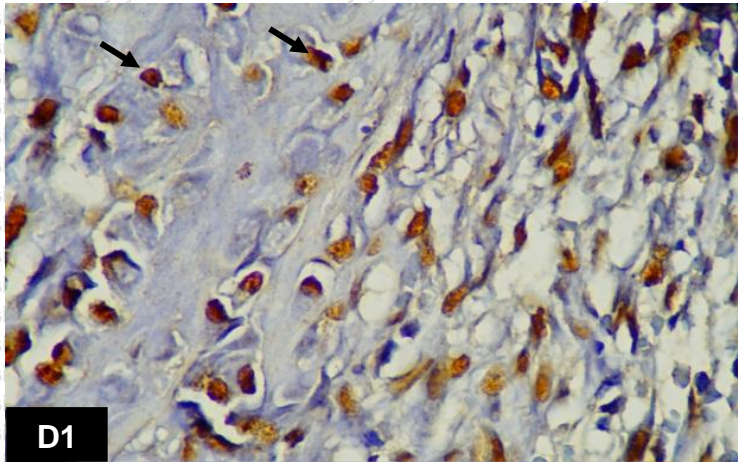
B2

Pada kelompok kontrol 2 (K2) yang tidak diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi Insisivus 1 RB kemudian didekaputasi pada hari ke-5, hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata ekspresi OPG setiap lapang pandang berjumlah 7,32. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi Insisivus 1 RB kemudian didekaputasi pada hari ke-5 memiliki rata-rata jumlah ekspresi OPG 17,02. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah rata-rata ekspresi OPG pada kelompok P2 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K2. Hasil foto preparat histologi menggunakan pewarnaan IHK dengan

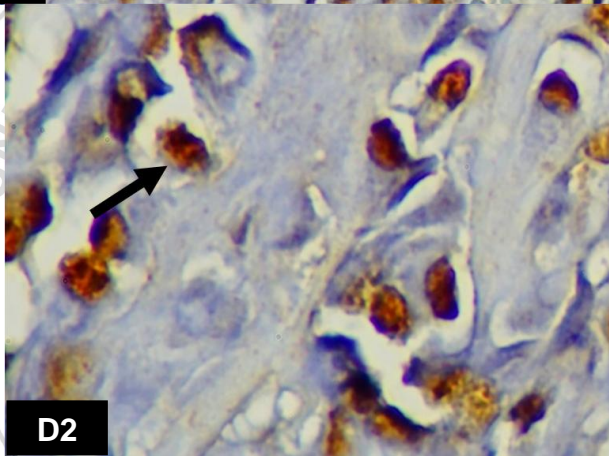
perbesaran 1000x pada kelompok K2 dan P2 tampak pada Gambar 8.

Gambar 8. Perbandingan Gambaran Histologi pada Hari Ke-5 Pewarnaan IHK, perbesaran 400x dan 1000x, panah hitam menunjukkan ekspresi OPG, (C1) Kelompok K2(400x), (C2) Kelompok K2 (1000x), (D1) Kelompok P2(400x), dan (D2) Kelompok P2 (1000x)





D1

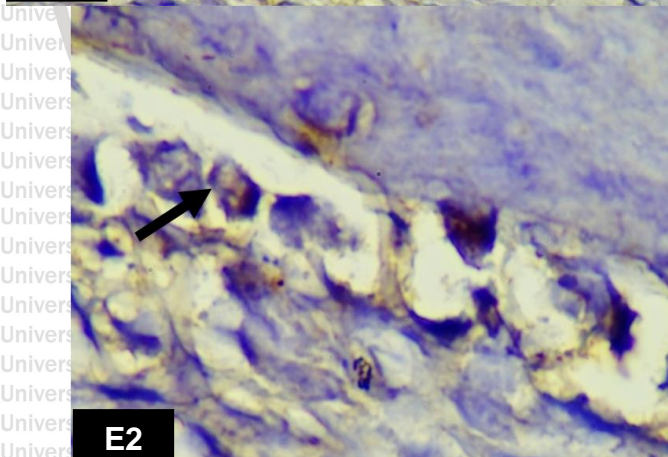
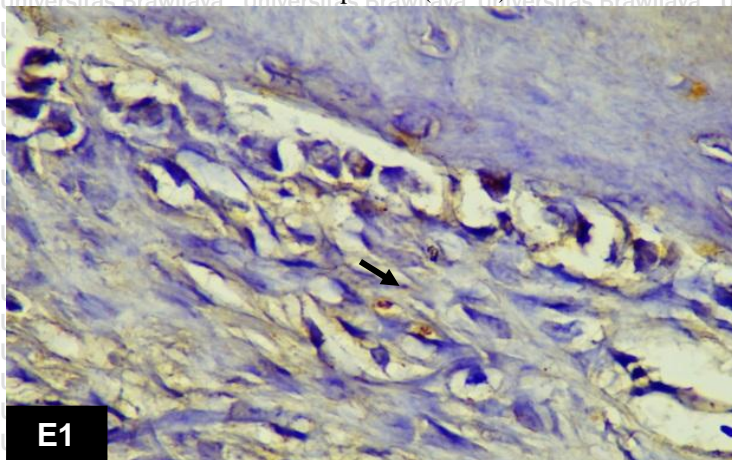


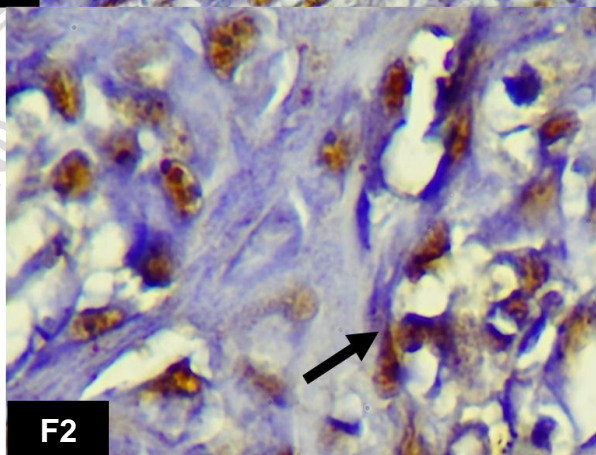
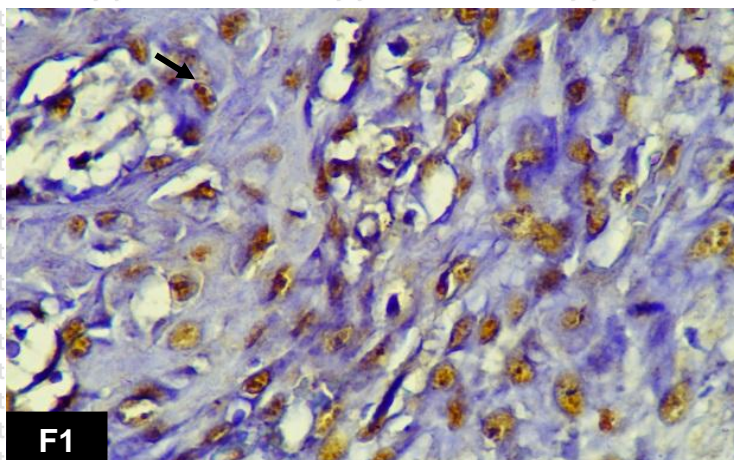
D2

Kemudian, pada kelompok kontrol 3 (K3) yang tidak diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi Insisivus 1 RB kemudian didekaputasi pada hari ke-7, hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata ekspresi OPG setiap lapang pandang berjumlah 7,54. Pada kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi Insisivus 1 RB kemudian didekaputasi pada hari ke-7 memiliki rata-rata jumlah ekspresi OPG 18,18. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah rata-rata ekspresi OPG pada kelompok P3 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K3. Hasil foto preparat histologi menggunakan

pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x pada kelompok K3 dan P3 tampak pada Gambar 9.

Gambar 9. Perbandingan Gambaran Histologi pada Hari Ke-7
 Pewarnaan IHK, perbesaran 400x dan 1000x, panah hitam menunjukkan ekspresi OPG, (E1) Kelompok K3 (400x), (E2) Kelompok K3 (1000x), (F1) Kelompok P3 (400x), dan (F2) Kelompok P3 (1000x)





Data perhitungan rata-rata jumlah ekspresi OPG dan standar deviasi setiap kelompok disajikan dalam tabel 5.1 berikut. Kemudian grafik rata-rata jumlah ekspresi OPG dibuat berdasarkan data rata-rata dan standar deviasi ekspresi OPG tabel 3.

Tabel 3. Data Rata-Rata dan Standar Deviasi Ekspresi OPG

Kelompok		Mean	Standar Deviasi
K1	Kontrol hari ke-3	6.0000	2.58199
K2	Kontrol hari ke-5	7.5714	2.14920
K3	Kontrol hari ke-7	7.7143	3.25137
P1	Perlakuan hari ke-3	14.0000	2.00000
P2	Perlakuan hari ke-5	17.1429	2.26779
P3	Perlakuan hari ke-7	18.2857	2.28869

Pada tabel 3 menyajikan rata-rata jumlah ekspresi OPG pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jumlah ekspresi OPG terendah pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pada hari ke-3. Pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-5 mengalami peningkatan jumlah ekspresi OPG dibanding pada hari ke-3. Sedangkan, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-7 terjadi peningkatan jumlah ekspresi OPG dibandingkan dengan hari ke-5. Hasil pengamatan ini sesuai dengan penelitian Tamiyo dkk (2001) yang menyatakan bahwa OPG pertama kali terdeteksi dalam keadaan tanpa diberi perlakuan pada hari ke-3 dan memiliki puncak ekspresi OPG pada hari ke-7. Oleh karena itu, pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) yang diberikan pada soket pasca pencabutan gigi tikus putih menunjukkan peningkatan jumlah ekspresi OPG pada kelompok perlakuan sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka pada jaringan keras.

5.2 Analisa Data

Hasil penelitian ini berupa jumlah ekspresi OPG yang dianalisis secara statistik dengan program komputer SPSS dengan nilai signifikansi 0.05 ($p= 0.05$) dan nilai kepercayaan 95% ($\alpha= 0.05$) menggunakan metode *one way* ANOVA. Uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dengan jumlah sampel <50 untuk mengetahui penyebaran data penelitian normal atau tidak dan uji homogenitas ragam menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui ragam data yang ada homogen atau tidak. Jika data yang diperoleh berdistribusi

normal dan data penelitian homogen maka uji statistika dapat dilanjutkan menggunakan uji *one way ANOVA*.

Hipotesa penelitian ditentukan sesuai dengan rumusan masalah penelitian, yaitu H_0 diterima apabila nilai signifikansi (sig.) > 0.05 . H_0 dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) tidak berpengaruh terhadap jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*), sedangkan H_1 dari penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian dilakukan uji *Post Hoc LSD*.

5.2.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* yang berguna untuk mengetahui data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Data pada uji *Shapiro-Wilk* adalah < 50 dengan nilai signifikansi (p) > 0.05 agar uji normalitas terpenuhi.

Tabel 4. Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

KELOMPOK		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
OPG	KONTROL3	.222	7	.200*	.846	7	.114
	PERLAKUAN 3	.263	7	.155	.885	7	.252
	KONTROL5	.196	7	.200*	.928	7	.533
	PERLAKUAN 5	.222	7	.200*	.833	7	.086
	KONTROL7	.130	7	.200*	.971	7	.908
	PERLAKUAN 7	.264	7	.150	.830	7	.081
*. This is a lower bound of the true significance.							
a. Lilliefors Significance Correction							

Berdasarkan uji *Shapiro-Wilk* diatas, maka didapatkan nilai signifikansi pengujian normalitas data



sebesar > 0.05 sehingga kesimpulan yang didapat adalah data berdistribusi normal.

5.2.2 Uji Homogenitas Ragam

Uji homogenitas ragam dilakukan menggunakan uji *Levene* yang berguna untuk mengelompokkan data menjadi data parametrik atau non parametrik. Data penelitian dikatakan homogen apabila nilai signifikansi hasil perhitungan $(p) > 0.05$.

Tabel 5. Uji Homogenitas Ragam *Levene*

Test of Homogeneity of Variances			
Uji Homogenitas OPG			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.816	5	36	.546

Berdasarkan uji *Levene* ini didapatkan nilai signifikansi pengujian homogenitas data sebesar 0.546 sehingga kesimpulan yang didapat adalah data homogen dan parametrik.

Setelah data penelitian berdistribusi normal, homogen, dan data parametrik, langkah selanjutnya baru dapat dilakukan uji *one way ANOVA*.

5.2.3 Uji *One Way Anova*

Uji *one way ANOVA* bertujuan untuk mengetahui perbedaan nilai jumlah ekspresi OPG antar kelompok penelitian secara keseluruhan. Uji *one way ANOVA* terpenuhi apabila nilai signifikansi $(p) < 0.05$ atau H_0 ditolak.



Tabel 6. Uji Anova *One way*

ANOVA					
Ekspresi OPG					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1005.643	5	201.129	33.301	.000
Within Groups	217.429	36	6.040		
Total	1223.071	41			

Perhitungan menggunakan uji *one way* ANOVA antara kelompok kontrol (K1, K2, dan K3) serta kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) memiliki nilai signifikansi (p) sebesar 0.000 atau (p) < 0.05 atau H_0 ditolak dan H_1 diterima sehingga kesimpulan yang didapat adalah terdapat perbedaan jumlah ekspresi OPG yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dan diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

5.2.4 Uji *Post Hoc* LSD

Uji *post hoc* dilakukan untuk mengetahui perbedaan bermakna antar kelompok penelitian (K1, K2, K3, P1, P2, P3). Pada uji *post hoc* LSD data penelitian dikatan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi (p) < 0.05 pada interval nilai kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$).

Tabel 7. Hasil Uji *Post Hoc* LSD

Kelompok	Kelompok Pembeding	p
P1	K1	0.000*
	K2	0.000*
	K3	0.000*
P2	K1	0.000*
	K3	0.000*
P3	K1	0.000*
	K2	0.000*
	K3	0.000*



Keterangan : * = signifikan

Hasil uji *post hoc* LSD secara keseluruhan terdapat perbedaan rata-rata jumlah ekspresi OPG yang bermakna antar kelompok kontrol yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan pada hari yang sama. Didapatkan hasil uji *post hoc* LSD sebagai berikut.

- a. Kelompok hari ke-3
Kelompok perlakuan dan kontrol hari ke-3 (P1 dan K1) terdapat perbedaan rata-rata jumlah ekspresi OPG yang bermakna karena nilai signifikansi (p) = $0.000 < 0.05$
- b. Kelompok hari ke-5
Kelompok perlakuan dan kontrol hari ke-5 (P2 dan K2) terdapat perbedaan rata-rata jumlah ekspresi OPG yang bermakna karena nilai signifikansi (p) = $0.000 < 0.05$
- c. Kelompok hari ke-7
Kelompok perlakuan dan kontrol hari ke-7 (P3 dan K3) terdapat perbedaan rata-rata jumlah ekspresi OPG yang bermakna karena nilai signifikansi (p) = $0.000 < 0.05$

5.3 Pembahasan

Penelitian dengan Surat Kelaikan Etik No. 198/EC/KEPK-s1-FKG/08/2018 ini mengamati ekspresi OPG pada soket pasca pencabutan gigi tikus putih setelah dilakukan pemberian gelatin ikan patin. Hasil dari pengamatan dan perhitungan menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan (P) secara keseluruhan memiliki rata-rata ekspresi OPG yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (K). Rata-rata jumlah ekspresi OPG terendah pada kelompok kontrol hari ke-3 (K1) yaitu 5,96 sedangkan untuk rata-rata jumlah ekspresi OPG tertinggi pada kelompok perlakuan hari ke-7 (P3) yaitu 18,18. Penjelasan perbandingan rata-rata ekspresi OPG antar kelompok hari sebagai berikut.

Kelompok P1 (hari ke-3) memiliki rata-rata ekspresi OPG lebih tinggi yakni 13,93 dibandingkan kelompok K1

(hari ke-3) yaitu 5,96. Kelompok P2 (hari ke-5) juga memiliki rata-rata ekspresi OPG lebih tinggi yakni 17,04 dibandingkan kelompok K2 (hari ke-5) yaitu 7,32. Selanjutnya, pada kelompok P3 (hari ke-7) menunjukkan rata-rata ekspresi OPG lebih tinggi yaitu 18,18 dibandingkan kelompok K3 (hari ke-7) yaitu 7,54. Pada penelitian Tetsuo dkk (2004) yang melakukan pengamatan terhadap ekspresi OPG dengan menginduksikan *titanium* dan *polyethylene particles* yang membuktikan bahwa pada hari ke-7 menunjukkan ekspresi OPG yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, pada penelitian Han dkk (2008) melakukan penelitian terhadap efek pemberian gelatin ikan kod terhadap metabolisme dan mikroarsitektur tulang pasca ovariektomi pada tikus menunjukkan setelah pemberian gelatin ikan kod dapat meningkatkan ekspresi OPG signifikan sehingga dapat menurunkan regulasi dari RANKL dan menghambat ikatan dengan RANK. Dengan meningkatnya ekspresi OPG maka dapat mempengaruhi aktivitas dan deferensiasi osteoklas.

Peningkatan jumlah ekspresi OPG pada soket pasca luka dapat mempengaruhi penyembuhan pada jaringan keras tulang. Proses penyembuhan pada jaringan keras berbeda dengan proses penyembuhan pada jaringan lunak karena pada proses penyembuhan jaringan keras melibatkan aktivitas dari sel osteoklas dan osteoblas. OPG merupakan regulator penting dalam proses remodeling tulang yang di ekspresikan oleh sel osteoblas yang berperan aktif dalam proses penyembuhan pada jaringan keras. Dalam penelitian Tamiyo (2001), dalam penelitian tersebut menggunakan tikus putih tanpa diberi perlakuan menunjukkan bahwa OPG dan RANKL muncul secara maksimal pada 24 jam pasca trauma. Kemudian pada hari ke-3, jumlah OPG menurun dengan cepat sedangkan RANKL tetap tinggi. Pada hari ke-7, jumlah OPG menjadi naik sangat tinggi sedangkan RANKL turun. OPG akan terus naik meskipun proses resorpsi tulang sudah mencapai target. Peningkatan jumlah ekspresi OPG pada daerah soket yang terluka berbanding lurus dengan pembentukan tulang baru dalam mempercepat proses penyembuhan pada jaringan keras.

Menurut Sudoyo dkk (2015) TGF- β dan IGF-1 terlibat dalam regulasi sel osteoblas mampu merangsang replika sel-sel turunan osteoblas. Dengan munculnya adanya TGF- β dan

IGF-1 maka dapat meregulasi sel osteoblas. Sel osteoblas bersama sel stroma memproduksi OPG yang akan mengikat RANKL. Hasil penelitian Kumamoto dan Ooya (2004) menjelaskan bahwa OPG berperan dalam osteoklastogenesis dengan berikatan dengan RANKL sehingga tidak terjadi resorpsi tulang. Dengan meningkatnya OPG maka dapat mempercepat proses pembentukan tulang.

Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) mengandung banyak kandungan asam amino, termasuk asam amino glisin yang mencapai 27,7%. Dalam penelitian Syam (2015) menyatakan bahwa asam amino berperan dalam membentuk sel-sel baru dan antibodi, memperbaiki jaringan sedangkan omega-3 dan kolagen yang cukup tinggi terbukti berkhasiat untuk penyembuhan luka serta mengandung hidroksiapatit. Ikan patin juga mengandung omega 3 sekitar 2,58-6,69% sedangkan omega 6 sekitar 5,00-12,50% (Suryaningrum, 2010). Glisin merupakan asam amino utama yang menyusun gelatin dengan struktur yang mirip kolagen (Chaplin, 2005). Glisin dalam protein memiliki peran sebagai bahan pembentuk sel darah dan kolagen (Reksoprojo, 2010 dalam Pujud dkk, 2016). Kolagen mengandung glisin sebanyak 35% dan alanin 11% (Katili, 2009). Menurut Cho (2015), menjelaskan kolagen merupakan komponen matriks alami dalam migrasi osteoblas, dan telah dimanfaatkan dalam penyembuhan jaringan lunak maupun rekonstruksi jaringan keras. Maka dari itu sesuai dengan penelitian ini, bahwa pada kelompok perlakuan hari ke-7 (kelompok yang diberi gelatin ikan patin pada soket pasca pencabutan dan didekaputasi pada hari ke-7) memiliki jumlah ekspresi OPG yang sangat tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke-7 (kelompok yang tidak diberi gelatin ikan patin pada soket pasca pencabutan dan didekaputasi pada hari ke-7).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hipotesis penelitian dapat diterima karena pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terbukti berpengaruh terhadap peningkatan jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

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

1. Terdapat pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap peningkatan jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Jumlah ekspresi OPG tertinggi terlihat pada hari ke-7 pada kelompok perlakuan(P3) yaitu sebesar 18,18.
3. Jumlah ekspresi OPG terendah terlihat pada hari ke-3 pada kelompok kontrol(K1) yaitu sebesar 5,96.
4. Terdapat peningkatan yang signifikan pada kelompok perlakuan yang diberi gelatin ikan patin terhadap ekspresi OPG pada hari ke-3 sampai hari ke-7
5. Terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dengan jumlah ekspresi OPG pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dibuktikan dengan jumlah ekspresi OPG pada kelompok perlakuan (P) lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol (K).

6.2 Saran

Sebagai saran dari penelitian yang sudah dilakukan ini agar dapat lebih dikembangkan lagi penelitian ini secara lebih menyeluruh di masa yang akan datang maka dapat diajukan beberapa saran sebagai berikut.

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan pada minggu ke-2 dan minggu ke-3 untuk mengetahui ekspresi OPG pasca minggu ke-1 agar dapat dilakukan pengamatan menyeluruh

mengenai titik puncak dan titik terendah ekspresi OPG pada penyembuhan luka.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek toksik dan dosis maksimum serta minimum yang lebih jelas dalam pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai bahan visioner untuk penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.



DAFTAR PUSTAKA

- Agtini, M.D. 2010. Presentase Penggunaan Protesa di Indonesia. *Media Litbang Kesehatan*. Vol.20, No.2 :50-58.
- Agustin, A.T. 2013. Gelatin Ikan: Sumber, Komposisi Kimia dan Potensi Pemanfaatannya. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Vol.1, No.2: 44-46.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Andersson dkk. 2010. *Oral and Maxillofacial Surgery*. Edisi Pertama. USA: Wiley-Blacwell.
- Aranaz, I., dkk. 2009. Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*. Vol.3: 203-230.
- Arifah, M. 2012. *Potensi Asupan Susu Kambing Peranakan Ettawa dan Susu Sapi terhadap Jumlah Osteoblas Pacsa Pencabutan Gigi Tikus Wistar*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember: Jember.
- Chaplin, M. 2005. *Gelatin*. (Online) (<http://www1.lsbu.ac.uk/water/gelatin.html>, diakses 01 Januari 2019).
- Cherng, SC., dkk. 2007. Anti Inflammatory Cctivity of C-Phycocyanin in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages. *Life Sci*. Vol.81, No.19-20: 1431-1435.
- Cho, H., dkk. 2015. Complication Rates in Patients Using Absorbable Collagen Sponges in Third Molar Extraction Sockets: A Retrospective Study. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. Vol. 41:26-9.
- Chou, Tz-Chong. Fu, Earl dan Shen, E-Chin. 2003. *Chitosan Inhibits Prostaglandin E₂ Formation and Cyclooxygenase-2 Induction in Lipopolysaccharide-Treated RAW 264.7 Macrophages*. (Online) (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X03014074/>, diakses 17 Januari 2018).
- Dai, T., dkk. 2001. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert Review of Anti Infective Therapy* Vol.9, No.7: 857-879.
- Dostálová, T dan Seydlován M. 2010. *Dentistry and Oral Disease for Medical Student*. Praha: Grada Pub.



- Fragiskos D. 2007. *Oral Surgery*. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Fakhirah, ND. 2018. *Ekspresi Osteoprotegerin (OPG) pada Daerah Tarikan Tulang Alveolar Gigi Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Gaya Mekanik Ortodonti dengan Aplikasi Natrium Fluorida (NaF)*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Garant, Philius R. 2003. *Oral Cells and Tissue*. United States: Quintessence Books Co Inc.
- Ginaldi, L., Benedetto, M. dan Martinis, M. 2005. Osteoporosis, Inflammation and Ageing. *Immunity and Ageing*. Vol. 2: 14
- Gomez-guillen, M.C., dkk. 2002. Structural and Physical Properties of Gelatin Extracted from Different Marine Species: A Comparative Study. *Food Hydrocolloids*. Vol.16:25-34.
- Gudmundsson, M. 2002. Rheological Properties of Fish Gelatin. *Journal of Food Science*. Vol.67:2172-2176.
- Han, XiaoLong., dkk. 2008. Effect of Cod Gelatin on Bone Metabolism and Bone Microarchitecture in Ovariectomized Rats. *Elsevier Inc*. Vol.44, No.2009: 942-947.
- Hardyanti, Khadijah ST. 2014. *Isolasi Kolagen dari Kulit Ikan Patin (Pangasius sp)*. Skripsi. Bogor:Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Harty, F.J. dan Ogston, R. 1995. *Kamus Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC.
- Heinemann, C., dkk. 2010. In Vitro Osteoclastogenesis on Textile Chitosan Scaffolds. *Europ Cell Mater J*. Vol.19: 96-106
- Hofbauer, LC., dkk. 2000. The Role of Osteoprotegerin Ligan in the Paracrine Regulation of Bone Resorption. *J Bone Miner Res*. Vol.15: 2-11.
- Howe GL. 1999. *Pencabutan Gigi Geligi*, Edisi 2. Alih bahasa: Budiman J. Jakarta:EGC.
- Hupp, J.R., Ellis, E., dan Tucker, M.R. 2013. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*, Edisi 6. Missouri: Mosby Elsevier.
- Indriana, T. 2016. *Pemberian Asupan Ikan Teri (stolephorus sp) terhadap Proses Osteogenesis Melalui Ekspresi Osteoprotegerin dan Kolagen Tipe I pada Daerah Tarikan Pergerakan Gigi Orthodonti*. Disertasi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- Karim, A.A. dan Bhat, R. 2009. Fish Gelatin: Properties, Challenges, and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatins. *Food Hydrocolloids*. Vol.23: 563- 576
- Katili, A.S. 2009. Struktur dan Fungsi Protein Kolagen. *Jurnal Pelangi Ilmu*. Vol. 2, No.5
- Keong, L.C dan Halim, A.S. 2009. In Vitro Models in Biocompatibility Assessment for Biomedical-Grade Chitosan (Derivates in Wound Management). *J Molecular Science*. Vol.10, No.3: 1300-1313.
- Khairuman, dan Amri, K. 2010. *Petunjuk Praktis Budi Daya Patin di Kolam Terpal*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Koraag, J.R., Leman, M.A., dan Siagian, K.V. 2015. Efektivitas Perasan Daun Pepaya terhadap Jumlah Osteoblas Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol.4 No.4: 41-45.
- Kresnoadi, U., Rahayu, R.P. dan Djulaeha, E. 2014. Aktivitas Expressi Kolagen II dan Osteocalcin Tulang Alveol Akibat Preservasi Soket Pencabutan Gigi dengan Campuran Aloe Vera dan Graft 0,5%. *Dentika Dental Journal*. Vol.18 No.1: 80-86.
- Ku, CS., dkk. 2013. Edible Bluegreen Algae Reduce the Production of Pro-Inflammatory Cytokines by Inhibiting NFkB Pathway in Macrophages and Splenocytes. *Biochim Biophys Acta*. Vol.1830, No.4: 2981-1988.
- Kumamoto, H dan Ooya, K. 2004. Expression of Parathyroid Hormonerelated Protein (PTHrP), Osteoclast Differentiation Factor (ODF)/ Receptor Activator of Nuclear Factor-KappaB Ligand (RANKL) dan Osteoclatogenesis Inhibitory Factor (OCIF)/ Osteoprotegerin (OPG) in Ameloblastoma. *J Oral Pathol Med*. Vol.33:46-54.
- Kyung, TW., dkk. 2008. Rutin Inhibits Osteoclast Formation by Decreasing Reactive Oxygen Species and TNF- α by Inhibiting Activation Of NF-kB. *Experimental and Molecular Medicine*. Vol.4 : 52-58.
- Larasati. 2010. *Prosedur Tetap Pengobatan Imunohistokimia p53. Cancer Chemoprevention Research Center*. Yogyakarta:Fakultas Farmasi UGM.
- Lieberman J.R. dan Friedlaender G.E. 2005. *Bone Regeneration and Repair*. Edisi 1. Totowa-New Jersey : Humana Press.

Lorenzo, J. 2008. Osteoimmunology: Interaction of the Bone and Immune System. *Endocrine Reviews*. Vol.29, No.4: 403-440.

Mahyuddin, Kholis. 2010. *Panduan Lengkap Agribisnis Patin*. Edisi 1. Jakarta: Penebar Swadaya.

Malole, M.B.M. dan Pramono C.S. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor: Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Mansjoer, A., dkk. 2000. *Kapita Selekta Kedokteran*, Edisi 1. Jakarta: Media Aesculapius.

Menezes, R., dkk. 2006. Receptor Activator Nf KappaB Ligand and Osteoprotegerin Protein Expression in Human Periapical Cyst and Granuloma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. Vol. 102:404-409

Miloro, Michael. 2004. *Peterson's Principle of Oral Surgery*, Edisi 2. London: BC Decker Inc.

Nehriasari, I. 2014. *Perbedaan Pengaruh Povidone-Iodine 10% dan Chlorhexidine 0,2% terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblas dan Kepadatan Kolagen Pasca Pencabutan Gigi*. Yogyakarta: Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

Nonaka, C.F., dkk. 2011. Immunohistochemical Analysis Of Bone Resorption Regulators(RANKL And OPG), Angiogenic Index, And Myofibroblasts In Syndrome And Non-Syndrome Odontogenic Keratocysts. *Archives of Oral Biology*. Vol. 57: 230-237.

Nurilmala, M. 2004. *Kajian Potensi Limbah Tulang Ikan Keras (Teleosteri) sebagai Sumber Gelatin dan Analisa Karakteristiknya*. Thesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Nurrachmawati, F. 2015. *Mengenal Gelatin, Kegunaan, dan Pembuatannya*. (Online) (<http://kesmavet.ditjenpkh.pertanian.go.id/index.php/berita/tulis-ilmiah-populer/139-mengenal-gelatin-kegunaan-dan-pembuatannya/>, diakses 20 Januari 2018).

Orban, E., dkk. 2008. New Trend in the Seafood Market. Sutchi Catfish (*Pangasiushypophthalmus*) Filet from Vietnam.

- Nutritional Quality and Safety Aspect. *Food Chem.* Vol.110, No.2: 383–89.
- Oroh Christal G., Damajanty H.C.P., dan Christy N.M. 2015. Efektivitas Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar. *Jurnal e-GiGi (eG)*, Juli-Desember 2015, Vol 3, No 2.
- Orwoll, E.S. 2003. Toward an Expanded Understanding of the Role of the Periosteum in Skeletal Health. *J Bone Miner.* Vol.18: 949-954.
- Pinto AR., Reis RL. dan Neves NM. 2011.Scaffold Based Bone Tissue Engineering: the Role of Chitosan. *Tissue Eng Part B Rev.* Vol.17, No.5: 331-347.
- Pujud, Widodo. 2016. *Hubungan Antara Pengetahuan Tentang Gizi, Asupan Lemak dan Protein dengan Proses Penyembuhan Luka pada Pasien Post Caesarean Section Di Instalasi Rawat Jalan Rumah Sakit Pku Muhammadiyah Surakarta.* Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rafiah, S dkk. 2014. Low Density Lipoprotein sebagai Faktor Prediktor terhadap Penurunan Densitas Mineral Tulang pada Osteoporosis. *Makassar Dental Journal.* Vol.3, No.2: 1-6.
- Rahmastuti, HT. 2018. *Pengaruh Gelatin Ikan Patin (Pangasius Djambal) terhadap Pembentukan Kolagen pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (Rattus Norvegicus).* Skripsi. Malang: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
- Ratnasari, I., dkk. 2013. Extraction and Characterization of Gelatin from Different Fresh Water Fishes as Alternative Sources of Gelatin.*Serdang: International Food Research Journal.* Vol.20, No.6 : 3085-3091.
- Rostiny., dkk. 2014. Spirulina Chitosan Gel Induction on Healing Process of Cavia Cobaya Post Extraction Socket. *Dental Journal.* Vol.47, No.1: 19-24.
- Saputra, R.H., Widiastuti, I. dan Supriadi, Agus. 2015. Karakteristik Fisik dan Kimia Gelatin Kulit Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) dengan Kombinasi Berbagai Asam dan Suhu. *Jurnal Teknologi Perikanan.* Vol.4, No.1: 29-36.
- Sari, S.A. 2012. *Efektivitas Pemberian Vitamin C terhadap Aktivitas Osteoblas Pasca Pecabutan pada Tikus Wistar Jantan.* Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Setiawan, Rudi. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang diinduksi Aloksan*. Skripsi. Diterbitkan 2010. Solo: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

Sitanaya, R.I. 2016. *Exodontia: Dasar-Dasar Ilmu Pencabutan Gigi*. Yogyakarta: Deepublish.

Sitompul, S. 2004. Analisis Asam Amino Tepung Ikan dan Bungkil Kedelai. *Buletin Teknik Pertanian*. Vol.9, No.1: 3-37.

Soontormchaiboon, W., Joo, S.S dan Kim, SM. 2012. Anti-Inflammatory Effects of Violaxanthin Isolated from Microalgae in RAW 264.7 Macrophages. *Bio Pharm Bill*. Vol.35, No.7: 1137-1144.

Sularsih dan Soeprijanto. 2012. Perbandingan Jumlah Sel Osteoblas pada Penyembuhan Luka antara Penggunaan Kitosan Gel 1% dan 2%. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*. Vol.1, No.2: 145-152.

Sudoyo, Aru W., dkk. 2015. *Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 5. Jakarta: Interna Publish

Suryaningrum, T.D., Suryanti dan Muljanah, I. 2012. *Membuat Fillet Ikan Patin*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Suryaningrum, T.D., dkk. 2010. Profil Sensori dan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Patin dan Hibrid Nasutus. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol.5, No.2.

Syam, I.A., Hatta, R. dan RuslimM. 2015. Potensi dari Ceker Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) untuk Mempercepat Penyembuhan Soket Pasca Ekstraksi Gigi. *Makasar Dental J*. Vol.4, No. 2:50-55

Takayanagi, H. 2007. Osteoimmunology: Shared Mechanism and Crosstalk Between The Immune and Bone Systems. *Tokyo: Nature Publishing Group*. Vol. 7: 292–302.

Tamiyo, K., dkk. 2001. Expression of Osteoprotegerin, Receptor Activator of Nf-kB Ligand (Osteoprotegerin Ligand) and Related Proinflammatory Cytokines During Fracture Healing. *Journal of Bone and Mineral Research*. Vol.16: 6.

- Taqwim, Ali. 2011. *Peran Sitokin Proinflamatori dan PGE2 pada Resorpsi Tulang*. (Online) (<https://dentosca.wordpress.com/2011/04/06/peran-sitokin-proinflamatori-dan-pge2-pada-resorpsi-tulang/>), diakses 17 Januari 2018).
- Tetsuo, M., dkk. 2004. Expression of Inflammatory Cytokines, RANKL and OPG Induced by Titanium, Cobalts-Chromium and Polyethylene Particles. *J Biomaterial*. Vol.26, No.2005: 1695-1702.
- Thomas, G.P., dkk. 2001. Changing RANKL/OPG mRNA Expression in Differentiating Murine Primary Osteoblasts. *Journal of Endocrinology*. Vol. 170: 451-460.
- Thomas SDC. 2012. Bone Turnover Markers. *Aust Prescr*. Vol. 35, No. 5: 156-158
- Thuy, N.T., dkk. 2002. *Survey of the Production, Processing and Nutritive Value of Catfish by-Product Meals in the Mekong Delta of Vietnam*. Louisiana Agriculture.
- Topazian, R.G., Goldberg, M.H dan Hupp, J.R. 2002. *Oral and Maxillofacial Infection*. Edisi 4. USA: Elsevier Saunders.
- Trihapsari, E. 2009. *Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Densitas Mineral Tulang*. Skripsi. Depok: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
- Widyastomo., Wulan, K.A., dan Sari, I.P. 2013. *Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola Linn.) terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas pada Soket Tikus Strain Wistar Pasca Ekstraksi Gigi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Wolfensohn, S. dan Lloyd, Maggie. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. Ames: Blackwell Publishing.
- Yamashita, T., Takahashi, N., dan Udagawa, N. 2012. New Roles of Osteoblasts Involved in Osteoclast Differentiation. *World Journal of Orthopedics*. Vol. 3, No. 11: 175-181.
- Yulvie, W. 2012. *Evaluasi Ekspresi RANKL dan OPG pada Ameloblastoma Tipe Folikular, Tipe Pleksiform, dan Tipe Campuran*. Thesis. Depok: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.