

Pengaruh Gelatin Patin (*Pangasius djambal*) terhadap Ekspresi *Runx-Related Transcription Factor 2* pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Abde Paraton Nariesetya* dan drg. Robinson Pasaribu, Sp.BM**

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

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

ABSTRAK

RUNX2 merupakan faktor transkripsi yang sangat penting dalam diferensiasi osteoblas pada proses penyembuhan luka jaringan keras. RUNX2 berfungsi untuk mengarahkan langkah awal dari proliferasi sel induk mesenkimal yang bertransisi ke sel osteoprogenitor dalam proses diferensiasi osteoblas. Gelatin ikan patin mengandung asam amino glisin yang berperan dalam proliferasi sel, sehingga dapat meningkatkan jumlah ekspresi RUNX2 dan mempercepat penyembuhan penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris menggunakan metode *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Metode *random sampling* membagi sampel menjadi 2 kelompok besar, yaitu kelompok kontrol (K) kelompok yang tidak diberi gelatin ikan patin dan kelompok perlakuan (P) kelompok yang diberi gelatin ikan patin kemudian didekaputasi pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7. Sampel jaringan yang telah diambil akan diproses dalam sediaan histologis dengan pewarnaan imunohistokimia. Pengamatan ekspresi RUNX2 dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x dalam 20 bidang lapang pandang. Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan nilai jumlah ekspresi RUNX2 pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan perlakuan (nilai $p < 0,05$). Hasil rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 menunjukkan kelompok perlakuan mengalami peningkatan hingga hari ke-7. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Kata kunci : RUNX2, gelatin ikan patin, glisin, penyembuhan luka

ABSTRACT

RUNX2 is a transcription factor that is very important in osteoblast differentiation in hard tissue wound healing processes. RUNX2 serves to direct the initial steps of the proliferation of mesenchymal stem cells that transition to osteoprogenitor cells in the process of osteoblast differentiation. The patin fish gelatine contains amino acid glycine which plays a role in cell proliferation, so that it can increase the amount of RUNX2 expression and accelerate healing of wound healing. The purpose of this study was to determine the effect of patin fish (*Pangasius djambal*) gelatine on RUNX2 expression in wounds after white rat's (*Rattus norvegicus*) tooth extraction. This research is a laboratory experimental study using the Randomized Test Only Control Group Design method. The random sampling method divided the sample into 2 large group, namely the control group (K) group that was not given patin fish gelatine and the

treatment group (P) the group given the patin fish gelatine then decapitated on the 3rd, 5th and 7th. Tissue sample that have been taken will be processed in histological preparations by immunohistochemical staining. Observation of RUNX2 expression was carried out using a light microscope with 1000x magnification in 20 fields of view. The ANOVA test results showed there were differences in the number of RUNX2 expressions in the control group with the treatment group (p value <0.05). The results of the average number of RUNX2 expressions showed that the treatment group had increased until the 7th day. The conclusion of this study was the patin fish (*Pangasius djambal*) gelatine has effect to increase the number of FGF-2 expression in wound after white rat's (*Rattus norvegicus*) tooth extraction.

Keywords: RUNX2, patin fish gelatine, glycine, wound healing.

A. PENDAHULUAN

Salah satu pelayanan kesehatan gigi yang sering dijumpai pada tempat praktek pribadi dokter gigi, klinik swasta, poliklinik puskesmas maupun rumah sakit adalah pencabutan gigi. Pencabutan gigi yang ideal adalah pencabutan sebuah gigi atau akar gigi yang utuh tanpa menimbulkan rasa sakit dengan trauma sekecil mungkin pada jaringan penyangga atau jaringan sekitarnya, sehingga luka bekas pencabutan gigi akan sembuh secara normal dan tidak menimbulkan masalah setelah dilakukan pencabutan gigi. Pencabutan dapat menyebabkan luka pada daerah di sekitar soket dan komplikasi yang sering terjadi adalah perdarahan pasca pencabutan. Tubuh memiliki kemampuan secara seluler dan biokimia untuk memperbaiki integritas jaringan dan kapasitas fungsional akibat adanya luka yang biasa disebut proses penyembuhan luka atau wound healing^[1]

Penyembuhan luka merupakan sebuah proses transisi yang merupakan salah satu proses paling kompleks dalam fisiologi manusia yang melibatkan serangkaian reaksi dan interaksi kompleks antara sel dan mediator. Proses penyembuhan luka dapat dibagi menjadi 3 tahapan, yaitu: inflamasi proliferasi atau re-epitelisasi, serta maturasi dan remodeling. Tahap-tahap ini akan terjadi sejak luka terbentuk hingga tercapainya penyembuhan luka. Semua luka harus melewati proses seluler dan biokimia yang berkelanjutan ini, agar tercapai pengembalian integritas jaringan yang sempurna^[2]. Tindakan pencabutan gigi tidak hanya menyebabkan luka pada jaringan lunak, melainkan juga pada jaringan keras di daerah bekas pencabutan. Proses penyembuhan luka pada jaringan keras pasca pencabutan gigi mengikuti fase penyembuhan luka pada

umumnya tetapi yang membedakan adalah adanya keterlibatan osteoblas dan osteoklas. Penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi biasanya melibatkan pembekuan darah, interaksi koagulum darah dengan jaringan proliferasi fibrosa, pembentukan kalus dan pematangan tulang melalui remodelling. Jaringan fibrosa yang mengatur koagulum darah dan memiliki peran dalam osteogenesis dalam soket. terdiri dari sel fibroblas, sel endotel dan sel putativ batang mesenkimal. Diferensiasi jalur untuk sel-sel induk mesenkimal diatur oleh faktor transkripsi spesifik jaringan^[3].

Faktor transkripsi adalah sekelompok protein di dalam inti sel yang berperan serta dalam proses transkripsi kode genetik menjadi mRNA. RUNX2 adalah anggota domain kecil dari faktor transkripsi dan sangat penting dalam diferensiasi dan proliferasi sel induk mesenkimal dalam transisi mereka ke sel osteoprogenitor pada diferensiasi osteoblas sebagai sel pembentuk tulang^[3].

Beberapa tahun terakhir aplikasi spongostan digunakan untuk mengatasi perdarahan. Dan untuk membantu dalam mempercepat penyembuhan luka dibutuhkan suatu agen. Hidrogel gelatin merupakan agen yang dapat mempercepat penyembuhan luka jaringan keras pasca pencabutan karena bersifat sebagai penstimulator untuk meningkatkan ekspresi RUNX2 sebagai faktor transkripsi yang berkaitan dengan diferensiasi osteoblas sehingga mempercepat proses penyembuhan tulang alveolar. Gelatin merupakan suatu jenis protein yang diekstraksi dari jaringan kolagen hewan. Pada hewan kolagen terdapat pada tulang, tulang rawan, kulit dan jaringan ikat. Selama ini sumber utama gelatin yang banyak diteliti dan dimanfaatkan adalah berasal dari kulit dan tulang sapi serta babi. Namun penggunaan

kulit babi tidak menguntungkan bila diterapkan pada produk-produk pangan di negara-negara yang mayoritas penduduknya Islam, seperti Indonesia^[4]. Oleh karena itu, diperlukan bahan baku alternatif untuk membuat gelatin di Indonesia, seperti ikan.

Salah satu contoh ikan di perairan tropis yaitu ikan patin. Ikan patin (*Pangasius djambal*) merupakan ikan istimewa, dagingnya rendah sodium sehingga sangat cocok bagi orang yang diet garam, mudah dicerna oleh usus serta mengandung kalsium, zat besi dan mineral yang sangat baik untuk kesehatan^[5]. Kandungan gizi dari ikan patin adalah 68,6% protein, 5,8% lemak, 3,5% abu dan 51,3% air^[6]. Kekuatan gelatin kulit ikan patin dapat mencapai 200 bloom. Oleh karena potensi tersebut, maka kulit ikan patin dapat dijadikan sumber alternatif bahan baku pembuatan gelatin^[7].

B. METODE PENELITIAN

- 1. Rancangan Penelitian** Rancangan penelitian ini menggunakan eksperimental laboratoris. Desain penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design* di laboratorium secara *in-vivo* untuk mengetahui pengaruh gelatin patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).
- 2. Sampel Penelitian** Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih strain *wistar* yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- 3. Variabel Penelitian** Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gelatin patin (*Pangasius djambal*) dengan konsentrasi 100%. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah ekspresi RUNX2 pada preparat histologi.
- 4. Prosedur Penelitian**
 - a. Persiapan dan Pencabutan Gigi Tikus Putih**

Persiapan hewan coba meliputi persiapan alat dan bahan penelitian seperti kandang, tempat makan, botol minum, pakan tikus, alkohol 70%, hewan coba tikus putih. Penyeleksian tikus putih berdasarkan sampel antara lain tikus putih berusia 2-3 minggu, berjenis kelamin jantan, berwarna putih

sehat, berat badan 250-300 mg, aktif, berperilaku normal, tidak ditemukan kelainan anatomis, nafsu makan yang baik, serta kondisi kesehatan yang stabil selama penelitian. Tikus putih lalu dibagi menjadi 6 kelompok masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus putih yang dipelihara dan diadaptasikan selama 7 hari dengan suhu ruang (22-24°) di Laboratorium Biokimia FKUB. Selanjutnya, dilakukan penimbangan berat badan dan pemberian anestesi injeksi ketamin 0,2 ml secara intraperitoneal sebelum dilakukan pencabutan gigi insisivus kiri rahang bawah (RB) tikus putih.

b. Pembuatan Gelatin Patin

Kulit dipisahkan dan dibersihkan dari daging dan lemak. Setelah itu kulit disimpan dalam lemari bersuhu -20°C. Kulit patin kemudian dipotong kecil-kecil berukuran sekitar 1cm². Kulit patin selanjutnya dibilas dengan air lemon dan dibilas dengan air yang selanjutnya direndam dalam larutan asam sitrat selama 12 jam. Kulit lalu dinetralkan dengan mencuci beberapa kali dengan air netral hingga mencapai pH netral (6-7). Kulit lalu diekstraksi dengan *shaker water bath* dan air suling dalam suhu 60°C selama 6 jam. Larutan gelatin dan kulit sisa dipisahkan dengan kain saring *Wathman* nomor 1. Larutan gelatin kemudian didinginkan pada suhu ruang hingga terbentuk gel gelatin.

c. Pemberian Gelatin Patin

Gelatin patin diberikan pada soket gigi tikus insisivus 1 kiri rahang bawah (RB) sebanyak 1cc dengan pipet hingga menyentuh dasar soket. Pada kelompok perlakuan pemberian gelatin patin dilakukan pada hari ke-3, 5, dan 7, sedangkan pada kelompok kontrol tidak diberi gelatin patin.

d. Pengambilan Sampel Jaringan

Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-3, 5, dan 7 baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Anestesi tikus putih menggunakan inhalasi eter (ketamine) dosis letal yaitu tiga kali dosis anestesi. Setelah itu memastikan tikus telah mati dengan

mengecek apakah jantung sudah benar-benar berhenti berdetak dan tidak ada respon kedip pada bola mata tikus putih. Selanjutnya dekaputasi dan pengambilan tulang rahang bawah dapat dilakukan pada soket bekas pencabutan gigi insisivus 1 kiri rahang bawah (RB). Hasil dekaputasi dimasukkan ke dalam tabung formalin 10% sebagai fiksasi jaringan dan diberi label. Jasad tikus putih lalu dikuburkan secara layak.

e. Pemrosesan Preparat Jaringan dan Pewarnaan Imunohistokimia Teknik Indirek

Sampel jaringan kemudian diproses menjadi preparat jaringan di Laboratorim Patologi Anatomi FKUB kemudian dilakukan pewarnaan Imunihistokimia Indirek dengan menggunakan 2 macam antibodi yaitu antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Pelabelan antibodi sekunder menggunakan substrat berupa kromogen *Diaminobenzinidine* (DAB). Preparat jaringan yang sudah dilakukan pewarnaan Imunihistokimia akan berwarna kecokelatan yang dinilai melalui intensitas warnanya.

f. Prosedur Pengambilan Data

Pengamatan dan perhitungan ekspresi RUNX2 pada preparat jaringan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus CX-21* dengan perbesaran 1000x pada 20 bidang lapang pandang. Ekspresi RUNX2 dikatakan positif apabila sel menunjukkan tampilan berwarna cokelat, sedangkan ekspresi RUNX2 dikatakan negatif jika sel tidak menunjukkan tampilan berwarna cokelat. Sel-sel berwarna cokelat yang mengekspresikan RUNX2 kemudian dihitung dan didata secara manual untuk memperoleh data yang akurat.

g. Analisa Data

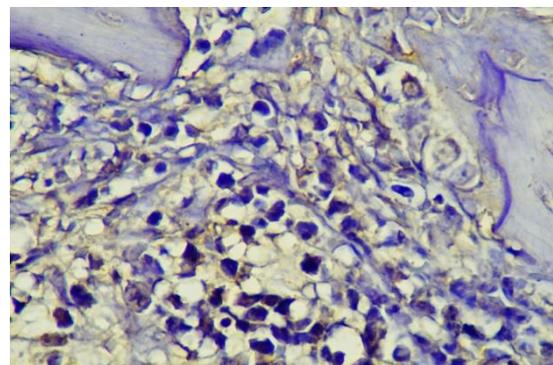
Data perhitungan jumlah ekspresi RUNX2 dapat diperoleh dengan analisa statistika menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 16.0 untuk *Windows* dengan dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p=0,05$) dan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Langkah analisis statistik

pertama adalah uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel ≤ 50 . Uji normalitas bertujuan untuk menilai sebaran data berdistribusi normal atau tidak normal. Langkah analisis statistik kedua adalah uji homogenitas ragam menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui sebaran data homogen atau tidak homogen. Selanjutnya ketika data berdistribusi normal ($\alpha>0,05$) dan bersifat homogen ($p>0,05$), langkah analisis statistik ketiga adalah melakukan uji beda *one way ANOVA* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah ekspresi VEGF pada kelompok kontrol dan perlakuan. Uji *one way ANOVA* terpenuhi apabila nilai signifikansi (p) < 0.05 . Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian dilakukan uji *Pos Hoc LSD*.

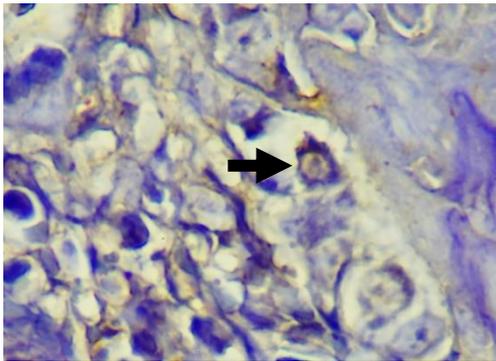
C. HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok penelitian yang terbagi atas 3 kelompok kontrol yaitu K1, K2, K3 dan 3 kelompok perlakuan yaitu P1, P2 dan P3. Hasil pengamatan dan perhitungan ekspresi RUNX2 pada preparat jaringan setiap kelompok penelitian yang diamati menggunakan mikroskop cahaya *Olympus CX-21* dengan perbesaran 1000x pada 20 bidang lapang pandang tampak pada gambar sebagai berikut.

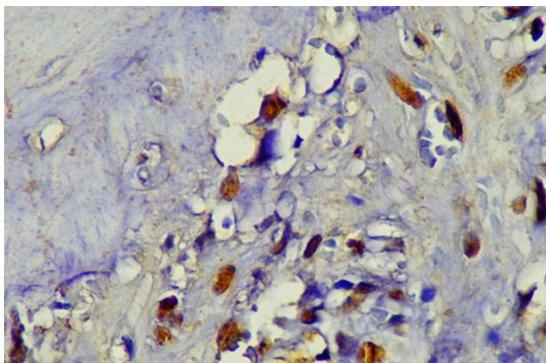
Gambar 1. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok K1 pewarnaan IHK dengan perbesaran 400x



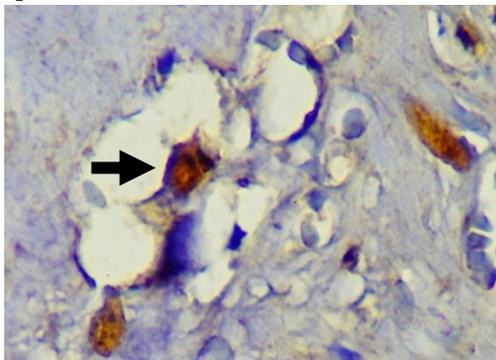
Gambar 2. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok K1 pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x



Gambar 3. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok P1 pewarnaan IHK dengan perbesaran 400x

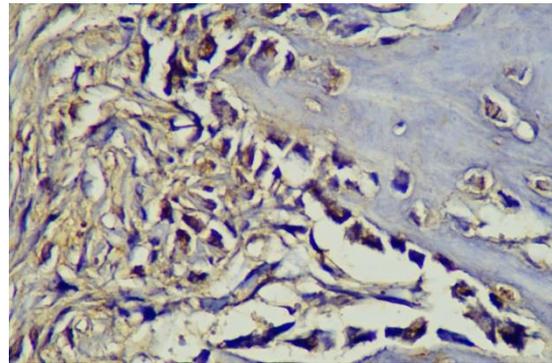


Gambar 4. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok P1 pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x

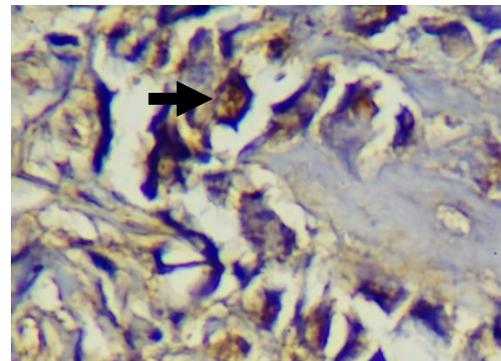


Kelompok kontrol 1 (K1) merupakan hewan coba yang tidak diberi perlakuan selama 3 hari pasca pencabutan gigi, hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata ekspresi RUNX2 dari 20 lapang pandang berjumlah 5. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) merupakan hewan coba yang diberikan perlakuan selama 3 hari pasca pencabutan rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 13. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki rata-rata ekspresi RUNX2 yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K1.

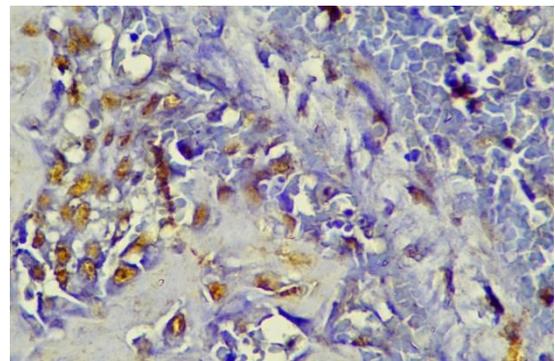
Gambar 5. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok K2 pewarnaan IHK dengan perbesaran 400x



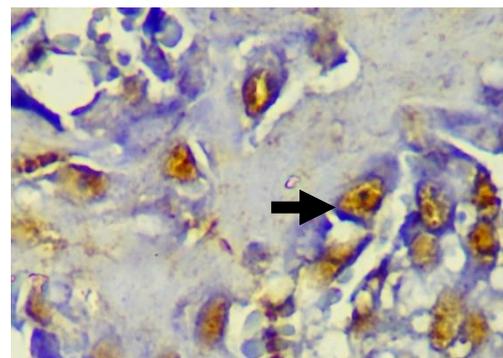
Gambar 6. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok K2 pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x



Gambar 7. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok P2 pewarnaan IHK dengan perbesaran 400x

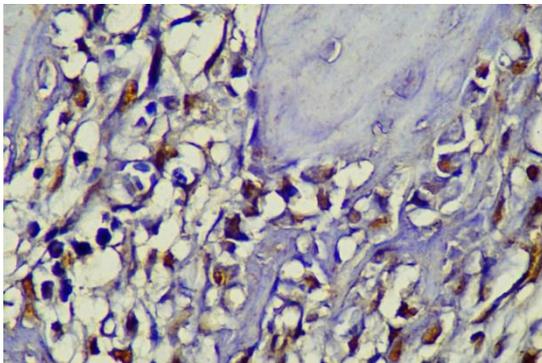


Gambar 8. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok P2 pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x

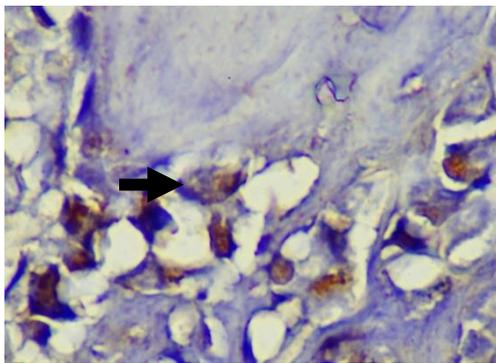


Kelompok kontrol 2 (K2) merupakan hewan coba yang tidak diberikan perlakuan selama 5 hari pasca pencabutan gigi, hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata ekspresi RUNX2 setiap lapang pandang berjumlah 7. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan perlakuan selama 5 hari pasca pencabutan gigi memiliki rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 berjumlah 14. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah rata-rata ekspresi RUNX2 pada kelompok P2 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K2

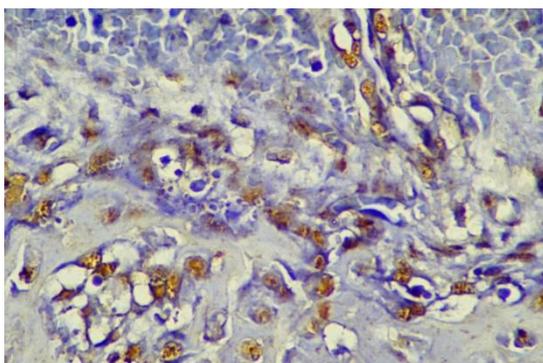
Gambar 9. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok K3 pewarnaan IHK dengan perbesaran 400x



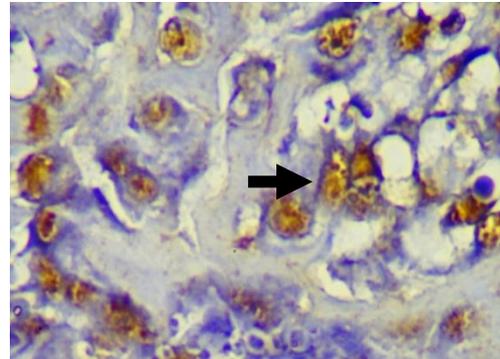
Gambar 10. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok K3 pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x



Gambar 11. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok P3 pewarnaan IHK dengan perbesaran 400x



Gambar 12. Gambaran Histologi ekspresi RUNX2 pada kelompok P3 pewarnaan IHK dengan perbesaran 1000x



Pada kelompok kontrol 3 (K3) yang tidak diberikan perlakuan selama 7 hari pasca pencabutan gigi, hasil pengamatan dan perhitungan rata-rata ekspresi RUNX2 setiap lapang pandang berjumlah 8. Pada kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberikan perlakuan selama 7 hari pasca pencabutan gigi memiliki rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 berjumlah 15. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah rata-rata ekspresi RUNX2 pada kelompok P3 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok K3.

Data hasil penelitian ini berupa jumlah ekspresi RUNX2 yang dianalisa secara statistik dengan program komputer SPSS dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena memiliki nilai signifikansi sebesar 0.506 dan 0.791 > 0.05. Kemudian uji homogenitas ragam menggunakan uji *Levene* menunjukkan bahwa data penelitian homogen karena memiliki nilai signifikansi 0.920 > 0.05 ($p>0.05$).

Tests of Normality

KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
RUNX2 KONTROL3	.149	7	.200 [*]	.960	7	.821
PERLK3	.176	7	.200 [*]	.940	7	.641
KONTROL5	.261	7	.163	.899	7	.324
PERLK5	.177	7	.200 [*]	.955	7	.774
KONTROL7	.221	7	.200 [*]	.907	7	.374
PERLK7	.170	7	.200 [*]	.980	7	.958

^{*}. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

RUNX2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.281	5	36	.920

Selanjutnya ketika data sudah dinyatakan berdistribusi normal dan homogen, uji beda *one way* ANOVA dapat digunakan untuk mengetahui perbedaan nilai jumlah ekspresi RUNX2 antar kelompok penelitian secara keseluruhan. Perhitungan menggunakan uji *one way* ANOVA antar kelompok kontrol (K1, K2, K3) serta kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) memiliki nilai signifikansi (p) sebesar 0.000 atau (p) < 0.05 atau Ho ditolak dan H1 diterima sehingga kesimpulan yang didapat adalah terdapat perbedaan jumlah ekspresi RUNX2 yang tidak diberi gelatin patin (*Pangasius djambal*) dan diberi gelatin patin (*Pangasius djambal*) pada fase inflamasi, fase awal proliferasi pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

RUNX2					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	524.976	5	104.995	11.414	.000
Within Groups	331.143	36	9.198		
Total	856.119	41			

Uji terakhir adalah uji *post hoc*. Hasil uji *post hoc* LSD secara keseluruhan terdapat perbedaan rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 yang bermakna antar kelompok kontrol yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan pada hari yang sama apabila nilai signifikansi (p) < 0.05.

Post Hoc Tests

(i) KELOMPOK	(j) KELOMPOK	Mean Difference (i-j)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KONTROL3	PERLK3	-7.28571 [*]	1.62115	.001	-12.1631	-2.4084
	KONTROL5	-1.71429	1.62115	.895	-6.5916	3.1631
	PERLK5	-8.14286 [*]	1.62115	.000	-13.0202	-3.2655
	KONTROL7	-2.57143	1.62115	.613	-7.4488	2.3059
PERLK3	PERLK7	-9.28571 [*]	1.62115	.000	-14.1631	-4.4084
	KONTROL3	7.28571 [*]	1.62115	.001	2.4084	12.1631
	KONTROL5	5.57143 [*]	1.62115	.017	.6941	10.4488
	PERLK5	-.85714	1.62115	.995	-5.7345	4.0202
KONTROL5	KONTROL7	4.71429	1.62115	.083	-.1631	9.5916
	PERLK7	-2.00000	1.62115	.817	-6.8773	2.8773
	KONTROL3	1.71429	1.62115	.895	-3.1631	6.5916
	PERLK3	-5.57143 [*]	1.62115	.017	-10.4488	-.8941
PERLK5	PERLK5	-6.42857 [*]	1.62115	.004	-11.3059	-1.5512
	KONTROL7	-.85714	1.62115	.995	-5.7345	4.0202
	PERLK7	-7.57143 [*]	1.62115	.001	-12.4488	-2.6941
	KONTROL3	8.14286 [*]	1.62115	.000	3.2655	13.0202
KONTROL7	PERLK3	.85714	1.62115	.995	-4.0202	5.7345
	KONTROL5	6.42857 [*]	1.62115	.004	1.5512	11.3059
	KONTROL7	5.57143 [*]	1.62115	.017	.6941	10.4488
	PERLK7	-1.14286	1.62115	.980	-6.0202	3.7345
PERLK7	KONTROL3	2.57143	1.62115	.613	-2.3059	7.4488
	PERLK3	-4.71429	1.62115	.083	-9.5916	-.1631
	KONTROL5	.85714	1.62115	.995	-4.0202	5.7345
	PERLK5	-5.57143 [*]	1.62115	.017	-10.4488	-.8941
KONTROL3	PERLK7	-8.71429 [*]	1.62115	.003	-11.5916	-1.8369
	KONTROL5	9.28571 [*]	1.62115	.000	4.4084	14.1631
	PERLK3	2.00000	1.62115	.817	-2.8773	6.8773
	KONTROL5	7.57143 [*]	1.62115	.001	2.6941	12.4488
PERLK5	PERLK5	1.14286	1.62115	.980	-3.7345	6.0202
	KONTROL7	6.71429 [*]	1.62115	.003	1.8369	11.5916

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

D. PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati ekspresi RUNX2 pada soket pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian gelatin patin (*Pangasius djambal*). Rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 terendah pada kelompok kontrol hari ke-3 (K1). Rata-rata jumlah ekspresi RUNX2 tertinggi pada kelompok perlakuan hari ke-7 (P3).

Ekspresi RUNX2 akan segera terdeteksi segera setelah pencabutan gigi pada sel monositik di koagulum dan sisa-sisa ligamen periodontal^[3]. Pada proses penyembuhan luka jaringan keras terdapat sel yang berperan penting, yaitu osteoblas. Osteoblas berasal dari *Mesenchymal stem cell* (MSC). Komitmen MSC menuju osteoprogenitor membutuhkan ekspresi gen spesifik dan sintesis *bone morphogenetic proteins* (BMPs) dan anggota jalur *Wingless* (Wnt). Gen spesifik yang dibutuhkan meliputi *Distal-less homeobox* (Dlx5), *osterix* (Osx) dan *Runt-related transcription factors 2* (RUNX2). Gen-gen spesifik ini sangat krusial untuk diferensiasi osteoblas. RUNX2 akan mengatur gen yang terkait dengan osteoblas seperti *alkaline phosphatase* (ALP), *bone sialoprotein* (BSP), *bone gamma-carboxyglutamate protein* (BGLAP) dan *osteocalcin* (OCN)^[8].

Pada fase proliferasi, osteoblas progenitor mengekspresikan RUNX2 dalam proses diferensiasi osteoblas. Pada fase ini juga osteoblas progenitor menunjukkan aktifitas ALP dan akan berubah menjadi pra osteoblas. Transisi dari pra osteoblas ke osteoblas matang bisa diketahui dengan meningkatnya ekspresi *Osx*, *OCN*, *BSP* dan akhirnya akan menjadi sel yang besar dan berbentuk kubus. Pada hari ke 3 ekspresi RUNX2 terdeteksi dalam inti beberapa sel ligamen periodontal dan pada inti sel fibroblastik yang sedang berproliferasi dikoagulum. Pada hari ke 5 matriks tulang dengan sel polimorfik akan tampak pada koagulum dan ekspresi RUNX2 terdeteksi dalam inti beberapa sel ligamen periodontal, matriks tulang, dan pada sel-sel fibroblastik diantara matriks tulang. Pada hari ke 7 trabekula tulang bersatu di fundus hingga ke sisi soket dan sisa periodontal akan menghilang seiring degenrasi hialin. Ekspresi RUNX2 terdeteksi di osteoblas pada permukaan tulang alveolar dan permukaan bagian dalam dari sumsum tulang pada soket. Pada hari ke 3 hingga hari ke 5 ketika memasuki fase proliferasi ekspresi RUNX2 akan meningkat seiring dengan pergerakan osteogenik progenitor menjadi pra osteoblas. Dan pada hari ke 7 RUNX2 mulai ditemukan pada osteoblas yang ada dipermukaan tulang alveolar^[3].

Pada penelitian ini, jumlah ekspresi RUNX2 mengalami peningkatan dari hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-7 pasca luka pencabutan dan terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok K1, K2, K3, P1, P2, dan P3 terhadap jumlah ekspresi RUNX2. Penelitian ini ditunjang oleh penelitian Alida dkk. (2016), pemakaian *niti closed coil spring* diantara gigi insisif dan molar pertama rahang atas pada kelompok perlakuan di hari ke 1, 3, 6 dan 9 menunjukkan peningkatan ekspresi RUNX2 yang bermakna terhadap kelompok kontrol^[9]. Dalam penelitian Mario Agung dkk. (2015) bahwa ekspresi RUNX2 meningkat pada hari ke 5, 7 dan 9 setelah aplikasi topikal simvastatin pada proses penyembuhan tulang tikus model diabetes melitus^[10]

Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) mengandung banyak asam amino yang berperan penting dalam penyembuhan luka seperti glisin, arginin, asam aspartat, serin,

tirosin, valin, asam glutamat dan masih banyak lagi. Asam amino yang berpengaruh terhadap aktivitas RUNX2 adalah asam amino glisin. Glisin merupakan asam amino tertinggi yang terkandung dalam ikan patin, yaitu mencapai 24,7 %^[11] Dalam penelitian Widjaningsih (2013) bahwa glutamin digunakan sebagai sumber energi oleh sel-sel inflamasi dalam proses tersebut. Glutamin merupakan sel fibroblas pada fase proliferasi yang berperan dalam menghasilkan mukopolisakarid serat kolagen yang terdiri dari asam amino glisin, prolin dan hidroksipolin. Fungsi mukopolisakarid yaitu mengatur deposisi serat-serat kolagen yang mempertahankan luka. Luka yang telah menyatu akan mengalami fase selanjutnya yaitu fase remodelling^[12].

Menurut penelitian Adrian Rustam dkk (2017) yang meneliti kombinasi perancah silk-fibroin dari kepompong ulat sutera dan konsentrat platelet sebagai inovasi terapi regenerasi tulang alveolar disebutkan bahwa silk fibroin dalam ulat sutera yang mengandung asam amino glisin dapat meningkatkan ekspresi gen-gen spesifik seperti RUNX2, TGF-1 dan kolagen tipe I yang berperan untuk menstimulus diferensiasi osteoblas^[13]. Sedangkan menurut penelitian Septyono Hariawan (2017) yang meneliti ekspresi RUNX2 setelah aplikasi hidroksiapatit dari toothgraft pada soket preservasi tulang alveolar tikus wistar didapatkan hasil bahwa pengamatan ekspresi RUNX2 meningkat pada hari ke 7 setelah aplikasi toothgraft^[14].

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hipotesis penelitian dapat diterima karena pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

E. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian gelatin patin (*Pangasius djambal*) terhadap ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Terdapat pengaruh pemberian gelatin patin (*Pangasius djambal*) terhadap

peningkatan ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*)

2. Jumlah perhitungan ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebesar 5,5 pada hari ke-3 (fase inflamasi), 7,28 pada hari ke-5 (fase awal proliferasi), dan 8,14 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 12,85 pada hari ke-3, 13,71 pada hari ke-5, dan 14,85 pada hari ke-7.
3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi gelatin patin (*Pangasius djambal*) dengan ekspresi RUNX2 pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi gelatin patin (*Pangasius djambal*) dibuktikan dengan jumlah ekspresi RUNX2 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 RUNX2 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 patin (*Pangasius djambal*) sebagai bahan untuk penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Selimovic, E, Ibrahimagic-Seper Lejla, Sisic Ibrahim, Sivic Suad, Huseinagic Senad. 2008. "Prevention of trimus with different

pharmacological therapies after surgical extraction of impacted mandibular third molar". Jurnal of Public Institution Healthcare Center Zenica University of Zenica Bosnia and Herzegovina

2. Theddeus OH Prasetyono. 2009. "General Concept of Wound Healing". Departemen of Surgery Faculty of Medicine University of Indonesia
3. Sato Hirotaka, Takaoka Yutaka. 2015. "RUNX2 expression during early of tooth-extraction wounds in rats. Department of Pathology", Division of Anatomical and Cellular Pathology, Iwate Medical University, Iwate, Japan
4. Astawan Made, Hariyadi Purwiyatno, Mulyani Ani . 2002. "Analisi Sifat Reologi Gelatin dari Kulit Ikan Cucut". Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Institut Pertanian Bogor
5. Hernowo. 2001. *Pembenihan Patin Skala Kecil dan Besar*. Jakarta : Penebar Swadaya
6. Khairuman dan Dody S.. *Budi Daya Patin Secara Intensif Revisi*. Jakarta Selatan: Agromedia Pustaka; 2009.
7. Gomez-Guillen, Turnay MCJ, Fernandez-Diaz MD, Ulmo N, Lizarbe MA, dan Montero P. 2002. Structural and Physical Properties of Gelatin Extracted from Different Marine Appecies: A Comparative Study. *Jurnal Food Hydrocolloids*, 16:25-34.
8. Silva Florencio R, Sasso Gisela D, Cerri Estela S, Simoes Manuel J, Cerri Paula S. 2015. *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells*. Fundacao de Amparo a pesquisa do Estado de Sao Paolo, Brazil.
9. Koerner, Karl R. *Manual of Minor Oral Surgery*. USA: Blackwell Publishing Company; 2006. p.20.
10. Alida, Ardani Iga Wahyu, Winoto Ervina. 2016. Pengaruh Tekanan Mekanis Ortodonti terhadap Ekpresi RUNX2 pada Sisi Tarikan Gigi Molar Tikus Wistar. *Orthodontic dental Journal Faculty of Dental Medicine, Airlangga Univesity*

11. Mario Agung A, Rahardjo, Dwirahardjo Bambang. 2015. Pengaruh Aplikasi Topikal Simvastatin terhadap Ekspresi Osteokalsin pada Proses Penyembuhan Tulang Tikus Model Diaetes Melitus. Program Studi Ilmu Bedah Mulut dan Maksilofasial Universitas Gadjahmada
12. Suryaningrum, T.D., et al. Profil Sensori dan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Patin dan Hibrid Nasutus. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2010; 5 (2).p. 153 – 164.
13. Widjaningsih, E., Wirjatman, Bambang. 2013. Hubungan Tingkat Konsumsi Gizi Dengan Proses Penyembuhan Luka Pasca Operasi Caesarean Section. Program Studi Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga : Surabaya
14. Rustam Adrian, Tatengkeng F, Fahrudin AM, djais AI. 2017. Kombinasi perancah Silk-Fibroin dari Kepompong Ulat Sutera (*Bombyx Mori*) dan Konsentrasi Platelet sebagai Inovasi terapi regenerasi Tulang Alveolar. Departemen Peridontologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
15. Septyono Hariawan. 2017. Ekspresi RUNX2 Setelah Aplikasi Hidroksiapatit dari Toothgraft pada Soket Preservasi Tulang Alveolar Tikus Wistar. Universitas Airlangga
16. Testa, Donald dan Michael Florman. Complication of Extraction. The Academy of Dental Therapeutics and Stomatology a Penwell. 2008.p. 1-9.

