



**PENGARUH APLIKASI TOPIKAL GEL EKSTRAK
KITOSAN CANGKANG UDANG PUTIH KOMBINASI
EKSTRAK KOLAGEN SISIK IKAN GURAME TERHADAP
REGENERASI KERAPATAN KOLAGEN PADA TIKUS
WISTAR MODEL GINGIVITIS**

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA KEDOKTERAN GIGI**

OLEH:

NAURAH SHAFI NABILAH

175160101111006

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

MALANG

2020



HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

**PENGARUH APLIKASI TOPIKAL GEL EKSTRAK
KITOSAN CANGKANG UDANG PUTIH KOMBINASI
EKSTRAK KOLAGEN SISIK IKAN GURAME TERHADAP
REGENERASI KERAPATAN KOLAGEN PADA TIKUS
WISTAR MODEL GINGIVITIS**

OLEH:

NAURAH SHAF A NABIILAH

NIM: 175160101111006

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I

drg. Diah Sp. Periodonsia
NIP. 2010037203292001

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH APLIKASI TOPIKAL GEL EKSTRAK
KITOSAN CANGKANG UDANG PUTIH KOMBINASI
EKSTRAK KOLAGEN SISIK IKAN GURAME TERHADAP
REGENERASI KERAPATAN KOLAGEN PADA TIKUS
WISTAR MODEL GINGIVITIS**

Oleh:

NAURAH SHAFA NABILLAH

NIM: 175160101111006

Menyetujui
Pembimbing



drg. Diah Sp. Periodonsia

NIP. 2010037203292001

Malang, 20 November 2020

Mengetahui

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



drg. Citra Insany Irganda, M.Med.Ed.

NIP. 198606232015042001



PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

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

Malang, 20 November 2020
Yang menyatakan,

Naurah Shafa Nabiiilah
175160101111006



ABSTRAK

Naurah Shafa Nabiilah, 17516010111006, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, “**Pengaruh Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Kitosan Cangkang Udang Putih Kombinasi Ekstrak Kolagen Sisik Ikan Gurame Terhadap Regenerasi Kerapatan Kolagen Pada Tikus Wistar Model Gingivitis**”, Pembimbing: drg. Diah Sp. Periodonsia

Latar Belakang: Gingivitis adalah penyakit periodontal yang paling sering terjadi pada individu dari berbagai usia, karena akumulasi plak. Sampah kerang udang dan sisik ikan untuk mencemari lingkungan. Padahal, cangkang sisik udang dan ikan memiliki manfaat baik di dunia kedokteran. Kitosan dapat bermanfaat untuk penyembuhan luka karena memiliki efek pada proliferasi sel fibroblast kulit manusia dan sel keratinosit secara *in vitro*. Dalam studi *in vitro*, Chitosan memiliki potensi untuk mendukung diferensiasi sel osteoprogenitor dan memfasilitasi pembentukan tulang. Fungsi kolagen yang lebih spesifik adalah membentuk embrio jaringan baru dan dengan melepaskan substrat oleh fibroblas, memberi tanda bahwa makrofag, pembuluh darah dan fibroblas sebagai satu kesatuan memasuki area luka. Kolagen juga meningkatkan pembentukan perlekatan baru dengan terjadinya sementum seluler / seluler baru dengan serat kolagen yang terhubung dan tulang alveolar baru. Kolagen dapat memfasilitasi perlekatan dan proliferasi sel dalam membran dan merangsang regenerasi dan perlekatan jaringan. **Tujuan:** Penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh aplikasi topikal gel pada regenerasi kolagen dari tikus model gingivitis. **Metode:** Pembuatan kolagen dari sisik gurami, ekstraksi kitosan dari cangkang udang putih, pembuatan topikal gel dan aplikasi pada gingiva tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Perawatan dibagi menjadi 4 kelompok dengan dosis 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml. **Hasil:** Hasil yang didapatkan dari pengamatan kepadatan kolagen yaitu kolagen yang terbentuk pada tikus perlakuan hampir sama dengan kolagen yang terbentuk pada tikus kontrol negatif. **Kesimpulan:** Aplikasi topikal gel dari kitosan cangkang udang kombinasi kolagen dari sisik ikan gurame dapat meningkatkan regenerasi kepadatan dari kolagen pada tikus model gingivitis.

Kata Kunci: Kolagen, Ekstrak Kitosan, Topikal Gel, Gingivitis, Regenerasi Kolagen

ABSTRACT

Naurah Shafa Nabillah, 17516010111006, Undergraduate Programme, Faculty of Dentistry Brawijaya University Malang, “**The Effect of Topical Application of Shrimp Shell Chitosan Combination with Extract Collagen Gel from Gurame Fish Scales on Collagen Density Regeneration in Wistar Rats Model Gingivitis**”, Advisor: drg. Diah Sp. Periodonsia

Background: Gingivitis is a periodontal disease that occurs most frequently in individuals of various ages, due to plaque accumulation. Trash shrimp shells and fish scales pollute the environment. In fact, shrimp and fish scales have good benefits in the medical world. Chitosan can be useful for wound healing because it has an effect on the proliferation of human skin fibroblast cells and keratinocyte cells in vitro. In in vitro studies, Chitosan has the potential to support osteoprogenitor cell differentiation and facilitate bone formation. The more specific function of collagen is to form new tissue embryos and by releasing the substrate by fibroblasts, signaling that macrophages, blood vessels and fibroblasts as a whole enter the wound area. Collagen also increases the formation of new adhesions with the formation of new cellular / cellular cementum with connected collagen fibers and new alveolar bone. Collagen can facilitate adhesion and cell proliferation in membranes and stimulate tissue regeneration and adhesion. **Purpose:** This study was to determine the effect of topical gel application on collagen regeneration from gingivitis model rats. **Methods:** Making collagen from gouramy scales, extracting chitosan from white shrimp shells, making topical gels and applying it to the gingiva of Wistar rats (*Rattus norvegicus*). The treatment was divided into 4 groups with doses of 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml. **Results:** The results obtained from the observation of collagen density, namely the collagen formed in treated rats were almost the same as the collagen formed in negative control mice gingivitis.

Keywords: *Collagen, Chitosan Extract, Topical Gel, Gingivitis, Collagen Regeneration*



KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Allah SWT yang Maha Esa yang telah member petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH APLIKASI TOPIKAL GEL EKSTRAK KITOSAN CANGKANG UDANG PUTIH KOMBINASI EKSTRAK KOLAGEN SISIK IKAN GURAME TERHADAP REGENERASI KERAPATAN KOLAGEN PADA TIKUS WISTAR MODEL GINGIVITIS”** dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

Penulis meyakini bahwa skripsi ini tidak dapat selesai tanpa bantuan, bimbingan serta dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. drg. Nur Permatasari M.S. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Miftakhul Cahyati Sp.PM selaku wakil dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3. drg. Prasetyo Adi, M.S selaku penasihat PKM 2019 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
4. drg. Citra Insany Irganda, M.Med.Ed. selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
5. drg. Diah Sp. Periodonsia selaku dosen pembimbing yang dengan sabar membimbing dan senantiasa member semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Segenap anggota Tim Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya yang telah membantu melancarkan urusan administrasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Seluruh dosen dan *staff* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
8. Kedua orang tua saya dan keluarga besar yang tidak pernah berhenti untuk memberikan doa, dukungan, semangat, dan kasih sayang untuk penulis setiap harinya.



9. Teman-teman Tim PKM Tokogi dan skripsi saya (Inas dan Puput) yang telah memberikan dukungan, bantuan, semangat, dan waktunya kepada penulis.
10. Teman (Alma, Dea, Nilta, Firas, Afizah, Nadia, Tita) serta seluruh teman FKG UB angkatan 2017 yang telah memberikan bantuan, doa, dan semangat kepada penulis.
11. Teman-teman Tim PKM dari Fakultas Kedokteran Gigi (Mita, Nanda, Kak Putri, Satria, Ririn, dan Kak Sahag) yang telah memberikan dukungan, bantuan, semangat, dan waktunya kepada penulis.
12. Sahabat Urfia Ikramah serta seluruh teman yang telah memberikan bantuan, doa, dan semangat kepada penulis.
13. Serta semua pihak yang telah terlibat secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyelesaian Skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk melengkapi skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya dalam bidang kedokteran gigi.

Malang, 20 November 2020

Penulis,

Naurah Shafa Nabiilah



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5. Luaran	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Gurame	5
2.2 Kolagen	7



2.3	Udang Putih	12
2.4	Kitosan	14
2.5	Proses Penyembuhan Gingivitis	16
2.6	Gingiva	22
2.7	Gingivitis	24
BAB III		29
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		29
3.1	Kerangka Konsep	29
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep	30
BAB IV		31
METODE PENELITIAN		31
4.1	Rancangan dan Desain Penelitian	31
4.2	Sampel Penelitian	32
4.2.1	Pemilihan Hewan Coba	32
4.2.2	Estimasi Jumlah Pengulangan	33
4.3	Variabel Penelitian	34
4.3.1	Variabel Terikat	34
4.3.2	Variabel Bebas	34
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian	34
4.4.1	Tempat Penelitian	34
4.4.2	Waktu Penelitian	34
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	34
4.6	Definisi Operasional	35
4.6.1	Topikal Gel Ekstrak kitosan udang vannamei (Litopenaeus vannamei) kombinasi kolagen sisik ikan Guraame (Osphronemus goramy)	35
4.6.2	Gingivitis	36



4.6.3 Kepadatan Kolagen.....	36
4.7 Prosedur Penelitian.....	36
4.7.1 Pemeliharaan Hewan Uji Coba.....	36
4.7.2. Pembuatan Ekstrak Kitosan dari Cangkang Udang Putih (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	37
4.7.3 Pembuatan Kolagen dari Sisik Ikan gurami (<i>Osphronemus goramy</i>).....	37
4.7.4 Pembuatan Topikal gel Kolagen dan Kitosan.....	38
4.7.5 Pemasangan Retensi dan Peradangan Tikus Putih dengan LPS Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	38
4.7.6 Aplikasi Topikal gel Kombinasi Ekstrak Kitosan dan Kolagen pada Gingiva.....	38
4.7.7 Pembedahan Hewan Coba.....	38
4.7.8 Pengamatan Hasil Histologi dari Pengaplikasian Gel Topikal.....	39
4.7.9 Perhitungan Kepadatan Kolagen.....	39
4.8 Analisis Data.....	39
4.9 Alur Penelitian.....	40
4.9.1 Skema Penelitian Pembuatan Ekstrak Kitosan.....	40
4.9.2 Skema Penelitian Pembuatan Kolagen.....	41
4.9.3 Uji Pengaruh Topikal Gel Ekstrak Kitosan Kombinasi Kolagen.....	42
BAB V.....	43
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
5.1 Hasil Penelitian.....	43
5.1.1 Analisa Data.....	48
5.1.2 Deskriptif.....	48
5.1.3 Uji Kruskal Wallis.....	48



5.2 Pembahasan.....	50
BAB VI.....	53
PENUTUP.....	53
6.1 Kesimpulan.....	53
6.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN.....	57
Lampiran 1 Bukti Penunjang Kegiatan.....	57
Lampiran 2 Dokumen Penunjang Kegiatan.....	63
Lampiran 3 Hasil Statistika.....	72



DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. 1 (A) Penggambaran gingiva normal, (B) Gingivitis klinis dan (C) Histologis Gingivitis	2
Gambar 2. 1 Ikan Gurame	5
Gambar 2. 2 Sisik Ikan Gurame	6
Gambar 2. 3 Struktur Kolagen	7
Gambar 2. 4 Rantai Kolagen	8
Gambar 2. 5 Gambaran Serat Kolagen Pada Mikroskop	9
Gambar 2. 6 Udang Putih (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	13
Gambar 2. 7 Kitosan	16
Gambar 2. 8 Fase Inflamasi dari Penyembuhan Luka	17
Gambar 2. 9 Fase Proliferasi dari Penyembuhan Luka	19
Gambar 2. 10 Fase Remodelling pada Penyembuhan Luka	20
Gambar 2. 11 Fase Penyembuhan pada Gingiva	22
Gambar 2. 12 Gambaran Gingiva Normal	23
Gambar 2. 13 Anatomi Gingiva	24
Gambar 2. 14 Gambaran Klinis Gingivitis	26
Gambar 2. 15 Gambaran Histologi dari Gingivitis	27
Gambar 5. 1 Gambaran Kepadatan Kolagen pada Preparat	44
Gambar 5. 2 Kelompok P1 dengan pemberian topikal gel 0,1 ml ...	45
Gambar 5. 3 Kelompok P2 dengan pemberian topikal gel 0,2 ml ...	45
Gambar 5. 4 Kelompok P3 dengan pemberian topikal gel 0,3 ml ...	46
Gambar 5. 5 Kelompok Kontrol Negatif (K-)	46



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kriteria Penilaian Pemeriksaan Gingiva	28
Tabel 5. 1 Frekuensi skor kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus Wistar dengan pemberian topikal gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame	47
Tabel 5. 2 Pencarian Deskriptif Statistika	48
Tabel 5. 3 Hasil Uji Kruskal Wallis	49

DAFTAR SINGKATAN

FGF = *fibroblast growth factor*

IL-1 = *interleukin-1*

IL-4 = *interleukin-4*

IL-6 = *interleukin-6*

IL-8 = *interleukin-8*

IL-10 = *interleukin-10*

IL-13 = *interleukin-13*

HA = *hydroxapatite*

PDGF = *platelet-derived growth factor*

TGF- β = *tumor growth factor β*

TGF- α = *tumor growth factor- α*

TNF- α = *tumor necrosis factor- α*

GFs = *growth factors*

VEGF = *vascular endothelial growth factor*



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara maritim dengan produktivitas perikanan mencapai 23,26 juta ton pada tahun 2016 dan konsumsi ikan mencapai 46,49 kg/kapita (Kementerian Kelautan dan Perikanan RI, 2017). Banyak limbah dari hasil perikanan yang menumpuk dan dapat belum dimanfaatkan secara optimal. Pemanfaatan limbah cangkang udang dan sisik ikan gurami masih tergolong rendah. Hal tersebut dapat berdampak pada penumpukan limbah dan meningkatkan terjadinya polusi udara dan air. Padahal cangkang udang dan sisik ikan gurami memiliki kandungan yang dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan luka. Pemanfaatan tersebut didasarkan pada kandungan cangkang udang dan sisik ikan gurami.

Kandungan kitosan pada cangkang udang bermanfaat untuk penyembuhan luka karena memberikan efek terhadap proliferasi sel *fibroblast* kulit manusia dan sel keratinosit secara *invitro*. Kitosan bersifat *biocompatible*, *biodegradable*, *bioresorbable*, dan non-toksik (Nather *et al*, 2005).

Selain cangkang udang, sisik ikan dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan luka bakar dan perbaikan jaringan (Gelsetal, 2003). Di lain hal, sisik ikan juga mengandung kandungan kolagen tipe I yang berperan sebagai matrik protein ekstraselular dengan karakteristik peningkatan proliferasi sel sehingga secara langsung mempengaruhi fisiologis dan morfologi sel (Cardoso *et al.*, 2014).

Menurut hipotesa awal, proses penyembuhan luka kulit manusia dengan kandungan cangkang udang dan sisik ikan dapat juga diterapkan pada pengobatan gingivitis. Dimana gingivitis merupakan salah satu penyakit periodontal yang sering terjadi. Hampir 96,58 % pravelensi penduduk Indonesia mengalami penyakit periodontal (RISKESDAS, 2013).

Gingivitis adalah penyakit gingiva yang ditandai dengan peradangan tanpa kehilangan perlekatangingiva pada gigi (Newman *et al*, 2014). Gingivitis adalah proses inflamasi pada jaringan periodontal dan reversibel (Houwink *et al*, 1984). Perkembangan gingivitis terdiri dari 4 tahap, yaitu tahap awal (lesi awal) selama 2-4 hari. Perubahan vaskular terjadi dalam bentuk vasodilatasi dan



peningkatan aliran darah sebagai respons terhadap aktivitas bakteri oleh leukosit dan stimulasi sel endotel. Tahap kedua (Lesi Awal) selama 4-7 hari proliferasi pembuluh darah antara pasak rete membuat gingiva bermanifestasi dalam bentuk eritema dan perdarahan saat probing, peningkatan kerusakan kolagen sebesar 70% di sekitar infiltrat seluler. Lebih lanjut, tahap lesi yang terbentuk ditandai oleh preodminasi sel plasma, aktivitas kolagenolisis oleh enzim kolagenase meningkat pada jaringan yang meradang. Pada tahap Advanced Lesi, lesi telah menyebar ke tulang alveolar (Newman, 2014).

Gambar 1. 1 (A) Penggambaran gingiva normal, (B) Gingivitis klinis dan (C) Histologis Gingivitis



Sumber: (Newman, 2014)

Oleh karena itu, mikroba dapat merusak jaringan inang dan memicu respons peradangan dan imun, tetapi tujuan utamanya adalah untuk melipatgandakan, tumbuh, dan bertahan hidup di dalam saku periodontal. Setelah proses imun dan inflamasi dimulai, berbagai molekul inflamasi seperti protease, sitokin, prostaglandin, dan enzim inang dilepaskan dari leukosit dan fibroblas atau sel struktural jaringan. Protease cenderung memecah struktur kolagen jaringan dan dengan demikian, menciptakan ruang untuk terjadinya infiltrasi leukosit lebih lanjut. Kerusakan jaringan sebagian besar terjadi di bawah kendali tuan rumah. Jaringan periodontal menjadi longgar disesuaikan dengan gigi dan jaringan menjadi bengkak dan meradang. (Jurnal of Nutrition and Health, 2019).

Karena sejumlah protein prolin kaya glikosilasi, penguraian protein ini oleh spesies oral kolagenolitik dapat mengakibatkan produksi peptida dan karbohidrat yang dapat diangkut ke dalam sel dan dimetabolisme. Penghancuran jaringan dan invasi selanjutnya dapat memungkinkan bakteri untuk menghindari respon imun inang atau mendapatkan akses ke lebih banyak situs anaerobik jauh di



3

dalam jaringan inang. Atau, produksi enzim pemusnah jaringan dapat mengakibatkan gangguan suplai darah lokal dan penumpukan metabolit dari degradasi protein, yang mengakibatkan penurunan potensi redoks di lokasi yang terinfeksi. Hal ini terbukti dari jumlah bakteri anaerob anaerob dan fakultatif yang terbukti menghasilkan enzim kolagenolitik dan sifat penyakit yang terkait dengannya bahwa bakteri ini dapat menjadi fungsi utama dari enzim ini.

Berdasarkan pemaparan tersebut perlu adanya upaya untuk menguji apakah topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeusvannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemusgoramy*) terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh aplikasi topikal gel ekstrak kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh aplikasi topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Bagi mahasiswa, sebagai sarana pengembangan ilmu pengetahuan sehingga menambah wawasan khususnya tentang gingivitis dan pemanfaatan limbah SDA.
- 2) Bagi masyarakat, sebagai sarana mendapatkan obat penyembuhan gingivitis yang alami.
- 3) Bagi institusi, menambah data tentang penanganan dan rehabilitasi gingivitis.



1.5. Luaran

Luaran yang diharapkan, inovasi dalam bidang kesehatan berupa topikal gel yang memanfaatkan limbah cangkang udang dan sisik ikan untuk mengatasi gingivitis.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Gurame

Ikan gurame telah dikenal cukup jauh dari daerah asalnya yaitu Indonesia, dikarenakan oleh nilainya yang tinggi sebagai sumber makanan (Shedd, 1983) dan dipelihara diseluruh Asia Tenggara (Chaliroff, 1976). Ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) merupakan salah satu ikan konsumsi air tawar. Ikan gurami (*Osphronemus goramy*) merupakan salah satu komoditas unggulan pemerintah di sektor Perikanan dengankenaikan produksi pertahun ditargetkan sebesar 4,9% (KKP, 2010). Di Indonesia sendiri terdapat banyak populasi ikan gurame yang tersebar, antara lain dikenal sebagai Bastar, Bluesafir, Paris dan Porselin (Sudarto, 1989). Populasi gurame tersebut memiliki perbedaan morfologi dan potensi pertumbuhan untuk masing-masingnya. (Nugroho *et al*, 2011).

Gambar 2. 1 Ikan Gurame



Sumber: Nugroho *et al*, 2011

Ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (SNI, 2000):

1. Filum: Chordata
2. Kelas: Actinopterygii
3. Ordo: Perciformes
4. Family: Osphronemidae



Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas
Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers

5. Genus: *Osphronemus*
6. Spesies: *Osphronemus gouramy*

Ikan gurame memiliki bentuk badan agak panjang, pipih dan tertutup sisik yang berukuran besar serta terlihat kasar dan kuat, terdapat garis lateral tunggal, lengkap dan tidak terputus, bersisik stenoid serta memiliki gigi pada rahang bawah (Zakaria, 2008). Warna gurame badan umumnya biru kehitam-hitaman, bagian perut berwarna putih, bagian punggung berwarna kecoklatan. Warna tersebut akan berubah menjelang dewasa, yakni pada bagian punggung berwarna kecoklatan dan pada bagian perut berwarna keperakan atau kekuningan. Pada ikan gurame muda terdapat garis tegak berwarna hitam berjumlah $\pm 7-8$ buah dan akan tidak terlihat bila sudah menjadi ikan dewasa (Respati dan Santoso, 1993). Ikan gurame hidup di perairan yang tenang dan tergenang seperti rawa, situ dan danau. Ikan gurame jarang dijumpai di perairan yang memiliki arus deras. Ikan gurame dapat dibudidayakan di dataran rendah dekat pantai, namun perairan yang paling optimal untuk budidaya adalah pada ketinggian 50-400 meter di atas permukaan laut seperti daerah Bogor, Jawa Barat. Kondisi air yang ideal untuk ikan gurame adalah pada suhu $24-28^{\circ}\text{C}$ dan kisaran pH antara 6,5-8 (Sitanggang dan Sarwono, 2008).

Gambar 2. 2 Sisik Ikan Gurame



Sumber: Ekosistem, 2018

Karakteristik bentuk, ukuran, dan jumlah sisik ikan yang beraneka ragam dapat memberikan gambaran bagaimana kehidupan ikan tersebut. Berdasarkan hasil penelitian komponen yang sisik ikan

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers
Repository Univers



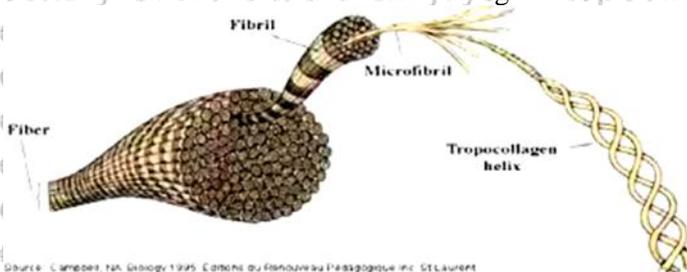
7

antara lain adalah 70% air; 27% protein; 1% lemak; dan 2% abu. Senyawa organik pada sisik ikan terdiri dari 40-90% dan selebihnya merupakan kolagen. Saat ini sisik ikan dalam jumlah besar dapat diperoleh dari limbah buangan penjualan ikan atau perusahaan pengolahan ikan, khususnya perusahaan pembekuan yang mengolah produknya dalam bentuk *frozen scale-off* (Ali, 2010).

2.2 Kolagen

Kolagen berasal dari kata Yunani di mana "kola" berarti permen karet dan "gen" berarti menghasilkan. Kolagen adalah protein berstruktur struktural dalam matriks ekstraseluler dan jaringan ikat hewan (Ramshawetal, 2009). Kolagen merupakan unsur serat utama pada jaringan ikat dan merupakan protein tunggal yang paling melimpah di dalam tubuh. Pada manusia, kolagen ditemukan dalam semua organ-organ tubuh, seperti jantung, ginjal, paru-paru, hati, pembuluh darah, tulang, dan mata. Hampir 30% dari protein dalam tubuh adalah kolagen (Bianti, 2012). Kolagen merupakan material yang mempunyai kekuatan rentang dan struktur yang berbentuk serat (Abu Bakar, 2009).

Gambar 2.3 Struktur Kolagen



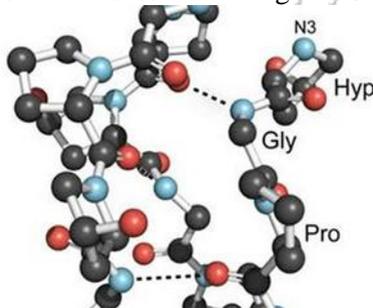
Sumber: Abu Bakar, 2019

Kolagen adalah komponen penting dalam semua fase penyembuhan luka. Disintesis oleh fibroblas, mereka memberikan integritas dan kekuatan untuk semua jaringan dan memainkan peran kunci, terutama di bagian proliferasi dan fase perbaikan. Kolagen bertindak sebagai dasar untuk pembentukan matriks intraseluler di dalam luka (Velnar *et al*, 2009). Kolagen merupakan biomolekuler yang sangat penting dan melimpah pada mamalia yang mewakili



nampir 30% dari total protein dalam tubuh hewan. (Pati *et al.*, 2010). Kolagen merupakan protein struktural utama dari jaringan ikat seperti kulit, tendon, ligamen, tulang, menjadi komponen yang paling umum dari matriks ekstraseluler (ECM). Kolagen termasuk sebagai jaringan pengikat, kolagen terdiri dari serat, fibril kolagen yang nampak sebagai garis melintang (Bakar, 2009). Kolagen memiliki peran dalam fungsi biologis sel seperti kelangsungan hidup sel, proliferasi dan diferensiasi, membantu penyembuhan tulang atau pembuluh darah yang rusak dan mempertahankan integritas struktural (Buehler, 2006). Kolagen sebagian besar dibentuk oleh fibroblast jaringan ikat dan juga oleh berbagai sel epitel lainnya (Lulloetal., 2002; Kadleretal., 2007). Peran kolagen dalam regenerasi jaringan adalah membentuk kembali matriks ekstraseluler untuk melekatkan kembali jaringan yang rusak. Dalam proses regenerasi jaringan, sel fibroblast akan memproduksi kolagen dan material matriks ekstraseluler lainnya yang akan beragregasi membentuk jaringan parut. Proses ini dinamakan fibrosis. Ketika jaringan yang rusak lebar dan terbuka, sel parenkim dan stroma menjadi aktif, fibroblast membelah dengan cepat dan menghasilkan serabut kolagen. Serabut kolagen akan memperkuat jaringan yang rusak. Kapiler darah akan mulai tumbuh di sekitar jaringan yang rusak untuk menambah suplai darah dan nutrisi yang dibutuhkan untuk penyembuhan. Terbentuklah jaringan granulasi yang memiliki stroma. Stroma ini akan diisi oleh sel-sel epitel yang bermigrasi ke sana sehingga jaringan kembali rapat (Marcovitch H, 2005).

Gambar 2. 4 Rantai Kolagen

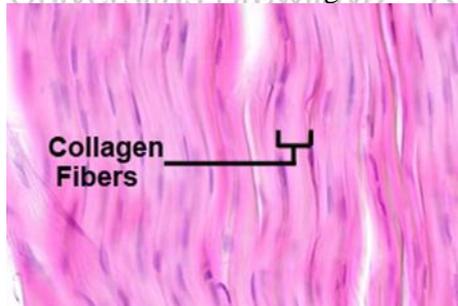


Sumber: Pati *et al.*, 2010

Unit struktural dasar kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang disusun dalam bentuk triplehelix dengan dua rantai

yang identik ($\alpha 1$) dan yang ketiga berbeda sampai batas tertentu dalam komposisi kimianya ($\alpha 2$). Kolagen memiliki bentuk seperti lembaran atau mikrofibrilar. Kolagen dalam gambaran mikroskopis ditemukan sebagai fibril yang memanjang (Szpak & Paul, 2011). Kolagen di dalam matriks ekstraseluler memiliki banyak jenis, tergantung dari struktur dan fungsinya. Jenis-jenis tersebut diantaranya kolagen tipe I, II, III, V, XI yang membentuk fibril (*fibrillar collagen*). Kolegen tipe I sering ditemukan di kulit, tulang, tendon, ligament, kornea, dan organ internal. Kolagen tipe II ditemukan di kartilago, notochord, invertebraldisc, dan vitreous humor. Tipe III dapat ditemukan di kulit, pembuluh darah, dan organ internal. Tipe V sering ditemukan di daerah yang sama dengan tipe I, sedangkan tipe VI sama dengan tipe II. Jenis kolagen yang lain yaitu *Fibril-associated collagen* yaitu kolagen yang ada di permukaan kolagen fibril. Yang termasuk jenis ini adalah kolagen tipe IX dan XII yang ditemukan di kartilago. Jenis yang lain yaitu *Network-forming collagen* yaitu kolagen yang membentuk jaringan dengan molekul lain di lamina basalis. Yang tergolong jenis ini yaitu kolagen tipe IV dan VII. Kolagen tipe IV ditemukan di lamina basalis, sedangkan tipe VII ditemukan di bawah epitel pipih berlapis seperti di kulit. Jenis yang lain yaitu *Trans membrane collagen* artinya kolagen yang menghubungkan sel. Yang termasuk *trans membrane collagen* adalah kolagen tipe XVII yang membentuk hemidesmosom. Jenis kolagen yang terakhir adalah *Core protein of proteoglycan* yaitu kolagen tipe XVIII yang dapat ditemukan di lamina basalis.

Gambar 2. 5 Gambaran Serat Kolagen Pada Mikroskop



Sumber: Wang et al., 2017



Hampir 90% dari kolagen dalam tubuh adalah tipe I diikuti oleh tipe II dan III. Alasan berlimpahnya kolagen tipe I adalah karena prevalensinya yang luas di hampir semua jaringan ikat (Cheah, 1985). Kolagen tipe I telah banyak digunakan sebagai biomaterial untuk pengembangan konstruksi rekayasa jaringan dan sistem pembalut luka karena memiliki sifat adhesi sel antigenik yang tinggi (Pati *et al*, 2010). Kolagen tipe I telah banyak digunakan sebagai bahan dalam aplikasi biomedis, khususnya untuk regenerasi jaringan (Wang *et al*, 2017). Keistimewaan penggunaan kolagen berkaitan dengan karakteristik fisikokimia dari kolagen, diantaranya mudah diserap dalam tubuh, sifat antigenitas rendah, afinitas dengan air tinggi, tidak beracun, *biocompatible* dan *biodegradable*, relatif stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk sesuai kebutuhan, dan mudah dilarutkan dalam air maupun asam (Lee, 2001).

Lebih dari 50 % protein ekstra-seluler pada kulit dan sisik ikan merupakan kolagen (Friess, 1998). Bagian dari ikan, seperti kulit, tulang, sisik, dan sirip, dapat dimanfaatkan sebagai sumber kolagen alternatif (Gomez-Guillen *et al*, 2002). Diasumsikan bahwa suhu habitat mempengaruhi sifat-sifat kolagen dan kolagen dari ikan air tawar memiliki stabilitas termal yang lebih tinggi (Sheik, 2017). Kolagen dari hasil perairan dapat menjadi alternatif yang dapat dikembangkan untuk menghindari penggunaan kolagen dari mamalia dan unggas karena alasan kesehatan dan kehalalan (Setiyowati, 2017).

Jaringan penyangga gigi terdiri dari serat – serat kolagen. Serat kolagen bertugas mendukung jaringan periodontal dan tergolong kolagen tipe I. Jaringan ikat dan tulang merupakan didominasi oleh kolagen tipe I, sehingga merupakan protein terbanyak yang membentuk 90 – 95% material organik. Kolagen tipe I mempunyai struktur berupa matriks metaloprotein yang mengandung ion logam yang berikatan erat. Kolagen tipe I membentuk lamina propria dalam jumlah yang besar dan memberikan kekuatan tarikan pada jaringan gingiva. Kolagen tipe II terdapat pada membran basal gingiva Kolagen tipe III merupakan *reticular collagen*, dimana berperan penting dalam fase awal dari penyembuhan luka (*wound healing*) dan tetap dalam bentuk *unmineralized*. Kolagen tipe III juga berperan dalam *maintenance*



ruangan dalam matriks penyembuhan. Kolagen tipe IV (*argyrophilic reticulum fiber*) bercabang di antara serangkaian kolagen tipe I dan merupakan lanjutan dari membran basal gingiva dan dinding pembuluh darah. Kolagen tipe VI didistribusikan bersama dengan serat elastin di sepanjang pembuluh darah. Kolagen tipe VI juga memberikan kekakuan yang diperlukan untuk mempertahankan dinding pembuluh darah yang elastis dari terjadinya deformasi yang permanen. Kolagen tipe VII berperan sebagai *anchoring fibrils* yang membantu memperkuat perlekatan jaringan epitel terhadap jaringan ikat di bawahnya

Biomaterial berbahan dasar kolagen sekarang ini menjadi material yang paling penting dalam bidang tissue engineering dan regenerasi karena biokompabilitasnya yang tinggi serta immunogenisitasnya yang rendah. Selain itu kolagen dapat diperoleh dari berbagai sumber mengingat kolagen adalah jenis protein paling banyak di bumi. Kolagen dapat diperoleh dari hampir semua makhluk hidup. Kolagen juga dapat dikombinasikan dengan molekul lain dalam aplikasi bidang medis¹². Absorbable Collagen Sponge (ACS) atau kolagen spon yang dapat diabsorpsi, biomaterial ini digunakan di dalam dunia kedokteran gigi sebagai hemostat maupun sebagai scaffold dalam proses regenerasi jaringan. Kolagen digunakan sebagai scaffold dan pembawa recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP2) dalam merawat defek di kepala hewan coba, hasilnya menunjukkan adanya peningkatan pembentukan tulang Biomaterial berbahan dasar kolagen sekarang ini menjadi material yang paling penting dalam bidang tissue engineering dan regenerasi karena biokompabilitasnya yang tinggi serta immunogenisitasnya yang rendah. Selain itu kolagen dapat diperoleh dari berbagai sumber mengingat kolagen adalah jenis protein paling banyak di bumi. Kolagen dapat diperoleh dari hampir semua makhluk hidup. Kolagen juga dapat dikombinasikan dengan molekul lain dalam aplikasi bidang medis. Absorbable Collagen Sponge (ACS) atau kolagen spon yang dapat diabsorpsi, biomaterial ini digunakan di dalam dunia kedokteran gigi sebagai hemostat maupun sebagai scaffold dalam proses regenerasi jaringan. Kolagen digunakan sebagai scaffold dan pembawa recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP2) dalam merawat defek di kepala



Uji coba, hasilnya menunjukkan adanya peningkatan pembentukan tulang.

Kolagen berperan penting dalam setiap fase penyembuhan luka. Pada fase awal penyembuhan luka, kolagen tipe III dapat dijumpai mendominasi. Jumlah kolagen tipe III akan terus meningkat seiring dengan perkembangan dari pembentukan jaringan parut. Fase inflamasi terjadi segera setelah terjadi injuri dimana komponen kaskade koagulasi, *inflammatory pathways* dan sistem imun teraktivasi untuk membuang sel debris dan mencegah infeksi.

2.3 Udang Putih

Udang vaname tergolong mudah untuk dibudidayakan. Hal itu pula yang membuat para petambak udang di tanah air beberapa tahun terakhir banyak yang mengusahakannya (Amirna *et al*, 2013). Menurut Haliman dan Dian (2006), klasifikasi udang putih (*Litopenaeus vannamei*) adalah sebagai berikut:

1. Kingdom : Animalia
2. Sub kingdom : Metazoa
3. Filum : Arthropoda
4. Sub filum : Crustacea
5. Kelas : Malacostraca
6. Sub kelas : Eumalacostraca
7. Super ordo : Eucarida
8. Ordo : Decapoda
9. Sub ordo : Dendrobrachiata
10. Infra ordo : Penaeidea
11. Super famili : Penaeioidea
12. Famili : Penaeidae
13. Genus : Litopenaeus
14. Spesies : Litopenaeusvannamei



Gambar 2. 6 Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*)



Sumber: Amirna *et al*, 2013

Tubuh udang *vannamei* dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian kepala dan bagian badan. Bagian kepala menyatu dengan bagian dada disebut *cephalothorax* yang terdiri dari 13 ruas, yaitu 5 ruas di bagian kepala dan 8 ruas di bagian dada. Bagian badan dan *abdomen* terdiri dari 6 ruas, tiap-tiap ruas (segmen) mempunyai sepasang anggota badan (kaki renang) yang beruas-ruas pula. Ujung ruas keenam terdapat ekor kipas 4 lembar dan satu *telson* yang berbentuk runcing (Sweeney *et al*, 1991). Udang *vannamei* termasuk genus *Penaeus* dicirikan oleh adanya gigi pada *rostrum* bagian atas dan bawah, mempunyai dua gigi di bagian ventral dari *rostrum* dan gigi 8-9 di bagian dorsal serta mempunyai antena panjang (Elovaara, 2001). Bentuk periopoda beruas-ruas yang berujung di bagian *dactylus*. *Dactylus* ada yang berbentuk capit (kaki ke-1, ke-2, dan ke-3) dan tanpa capit (kaki ke-4 dan ke-5). Di antara *coxa* dan *dactylus*, terdapat ruang berturut-turut disebut basis, *ischium*, *merus*, *carpus*, dan *cropus*. Pada bagian *ischium* terdapat duri yang bisa digunakan untuk mengidentifikasi beberapa spesies *penaeid* dalam taksonomi (Adijaya *et al*, 2005). Adapun habitat yang disukai oleh udang *vannamei* adalah dasar laut yang lumer (*soft*) yang biasanya campuran lumpur dan pasir (Adijaya *et al*, 2005).

Komposisi kimia cangkang udang *vannamei* meliputi kadar air, abu, lemak, protein, karbohidrat dan abu tak larut asam pada cangkang udang *vannamei*, komposisi kimia cangkang udang *vannamei* ditentukan dengan analisis proksimat (Sutpijah, 2005). Cangkang udang *vannamei* juga mengandung protein 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, dan khitin 15-20%, tetapi besarnya



kandungan komponen tersebut tergantung pada jenis udang dan tempat hidupnya (Marganov, 2003).

Indonesia memiliki lebih dari 170 perusahaan pengolahan udang dengan total produksi hampir 500.000 ton per tahun. Sebanyak 75% dari berat total udang menjadi limbah, yaitu bagian cangkang dan kepala (Kelly *et al.* 2005). Limbah udang tersebut masih belum dimanfaatkan secara optimal. Limbah udang biasanya digunakan untuk pakan ternak (Suptijah *et al.*, 2012). Limbah pengolahan udang lama tak termanfaatkan, baru pada sekarang ini dilirik oleh berbagai kalangan. Limbah udang yang telah diproses dapat berfungsi sebagai antibakteri, anti jamur dan anti kanker (Badan Riset dan SDM Kelautan Perikanan, 2018).

2.4 Kitosan

Kitosan adalah polisakarida yang diketahui memiliki sifat antibakterial, antifungal, antiviral dan jika dikombinasi dengan antibiotik mampu meningkatkan efektifitas bahkan mengatasi resistensi beberapa antibiotik. Kitosan adalah biopolimer yang mempunyai keunikan yaitu dalam larutan asam, kitosan memiliki karakteristik kation dan bermuatan positif. Dalam larutan alkali, kitosan akan mengendap (Pratiwi, 2014). Kitosan didapat dari ekstraksi kitin dan kitin merupakan kandungan yang bisa diperoleh dari limbah cangkang udang atau crustacea lainnya. Sumber alam di Indonesia yang memiliki persentase kandungan kitosan cukup potensial adalah cangkang udang putih *Litopenaeus vannamei* (Tamimi *et al.*, 2019). Sumber kitosan sangat melimpah di alam terutama dari hewan golongan krustase seperti udang dan kepiting (Pratiwi, 2014).

Kitosan adalah satu turunan khitin, suatu senyawa yang mempunyai rumus kimia poli β -(1,4)-2-amino-2-dioksi-D-glukosa yang dapat dihasilkan dari proses hidrolisis khitin menggunakan basa kuat (Imam *et al.*, 2005). Kitosan memiliki gugus amino (NH_2) yang artinya lebih nukleofilik dan bersifat basa. Proses deasetilasi kitin menggunakan larutan NaOH pekat bertujuan untuk mengubah gugus asetil dan kitin menjadi gugus amina pada kitosan (Gylien *et al.*, 2003). Kitosan memiliki sifat kationik, nontoxic, biodegradable dan biocompatible.

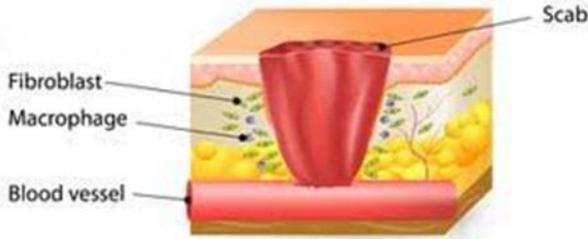
Manfaat khitin dan khitosan di berbagai bidang industri modern cukup banyak, diantaranya dalam industri farmasi, biokimia, bioteknologi, biomedikal, pangan, gizi, kertas, tekstil, pertanian, kosmetik, membran dan kesehatan (Puspawati *et al*, 2010).

Limbah udang banyak mengandung senyawa kitin (20-30%) yang merupakan senyawa terbanyak kedua di alam setelah selulosa. Kitin diperoleh dari limbah udang secara kimiawi dengan proses penghilangan mineral (demineralisasi), penghilangan protein (deproteinase). Selanjutnya kitin diubah menjadi senyawa yang lebih kecil yaitu khitosan. Ada dua metoda untuk mendapatkan khitosan yaitu dengan cara kimia dan enzimatis. Metode enzimatis lebih disarankan karena sifatnya yang ramah lingkungan. Kitosan sendiri sudah dapat berfungsi sebagai zat aktif antara lain untuk pengolahan limbah, pangan dan industri kimia lainnya. Namun demikian, keistimewaan khitosan tersebut dibatasi aplikasinya oleh sifat khitosan yang tidak mudah larut air. Membuat khitosan menjadi lebih mudah larut air atau yang dikenal dengan turunan khitosan atau oligomerkitosan akan makin meningkatkan aplikasi khitosan di berbagai bidang. Seperti halnya khitosan, pembuatan oligomerkitosan juga dapat dilakukan secara kimia, radiasi dan enzimatis.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa khitosan mampu mempercepat penyembuhan luka dan sudah banyak dikembangkan sebagai obat luka (Ishihara *et al*, 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Jawad dkk. (2007), membuktikan bahwa khitosan yang diperoleh dari crustacea memiliki pengaruh dalam penyembuhan luka. Kitosan juga dapat menginduksi fibroblas di area sekitar luka untuk melepaskan IL-8 yang terlibat dalam migrasi dan proliferasi fibroblas lain ke area perlukaan. (Jawad *et al*, 2007). Proses proliferasi sel dalam jaringan yang terluka dimulai adanya Fibroblas Growth Factor (FGF) yang merupakan sinyal stimulasi proliferasi sel fibroblas. Fase proliferasi inilah akan terbantu jaringan granulasi yang terdiri dari serabut kolagen, matriks ekstraseluler, dan pembuluh darah (Ryan, 2013).



Gambar 2. 8 Fase Inflamasi dari Penyembuhan Luka



Sumber: Kumar, 2012

Respon pertama adalah inflamasi atau peradangan, fase ini terjadi segera setelah luka dan berakhir di hari ke 3-4 (Dovi *et al*, 2003). Fase inflamasi terjadi segera setelah terjadi injuri dimana komponen kaskade koagulasi, inflammatory pathways dan sistem imun teraktivasi untuk membuang sel debris dan mencegah infeksi. Proses penyembuhan luka berlangsung ketika terjadi hemostasis dimana terdapat kontribusi dari proses vasokonstriksi, agregasi platelet dan deposisi kolagen. Sel netrofil merupakan sel radang pertama yang terdapat pada daerah luka, biasanya mulai muncul dalam 24 jam pertama setelah terjadinya luka, fungsi utama dari sel neutrofil untuk mengeliminasi benda asing, bakteri, sel dan matrik jaringan yang rusak. Sel mast merupakan sel yang kaya dengan granula dan berisi berbagai macam enzim, histamin dan berbagai jenis mediator kimia lain yang bertanggung jawab terhadap terjadinya inflamasi pada daerah sekitar luka. Bahan aktif yang dilepaskannya akan memicu serangkaian proses yang menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga sel monosit bisa dengan mudah bermigrasi ke dalam jaringan yang luka (Eming *et al*, 2007). Sel monosit dalam darah akan menjadi teraktivasi dan menjadi makrofag setelah 48 jam, yang berperan besar dalam tahap inflamasi penyembuhan luka dan gangguan terhadap fungsi makrofag akan mengganggu penyembuhan luka. Setelah teraktivasi, sel makrofag sendiri juga akan menghasilkan PDGF dan TGF- β . Sifat fagositik dari makrofag bertujuan untuk mengeliminasi sel dan matrik yang rusak, netrofil yang penuh dengan patogen, benda asing dan sisa bakteri yang masih tersisa (Rajan dan Murray, 2008). Karakteristik fase ini adalah *tumor, rubor, dolor, calor, functiolaesa*. Lama fase ini



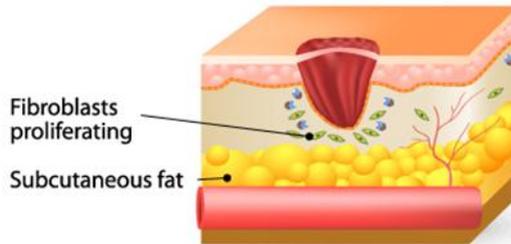
bisa singkat jika tidak terjadi infeksi. Daerah yang tampak merah dan sedikit bengkak. Selama sel berpindah lekosit (terutama neutrofil) berpindah ke daerah interstitial. Tempat ini ditempati oleh makrofag yang keluar dari monosit selama lebih kurang 24 jam setelah cedera/luka. Makrofag ini menelan mikroorganisme dan sel debris melalui proses yang disebut fagositosis. Makrofag juga mengeluarkan faktor angiogenesis (AGF) yang merangsang pembentukan ujung epitel diakhir pembuluh darah. Makrofag dan AGF dapat mempercepat proses penyembuhan. Respon inflamasi ini sangat penting bagi proses penyembuhan. Pada fase ini sel inflamasi akan mensekresi enzim proteolitik berupa neutrofil, eosinofil dan makrofag ke area luka. Makrofag yang teraktivasi akan mensekresi sitokin, antara lain TNF- α dan IL-1 β . IL-1 β akan merangsang sifat mitogenik dari sel fibroblas dan meningkatkan regulasi metaloproteinase matriks (MMP). Sistem imun alami merupakan sistem imun perlindungan awal untuk melawan infeksi atau inflamasi. Sistem imun alami berfungsi juga untuk pengaktifan sel imun adaptif. Sel sel imun alami yaitu sel-sel fagosit seperti polimorfonuklear neutrofil, monosit, dan makrofag yang memicu pelepasan mediator-mediator kimia seperti sitokin tumor necrosis factor (TNF- α), Interleukin (1 β) (Dyke & Kornman, 2008). Sedangkan sel imun adaptif seperti sel-sel limfosit T dan B (Wiedosari, 2000). Interleukin 1 β dihasilkan sebagai respon terhadap mikroorganisme, bakteri toksin, komponen komplemen atau injuri jaringan. IL-1 β memiliki peran penting salah satunya adalah menginduksi sitokin inflamasi lain, menstimulasi fibroblas untuk menghasilkan enzim kolagenase, menginduksi proses demineralisasi tulang dalam menstimulasi resorpsi tulang terutama dalam mengubah matriks jaringan ikat (Champagne *et al*, 2003)

Proses penyembuhan luka berlangsung ketika terjadi hemostasis dimana terdapat kontribusi dari proses vasokonstriksi, agregasi platelet dan deposisi kolagen. Pada fase ini sel inflamasi akan mensekresi enzim proteolitik berupa neutrofil, eosinofil dan makrofag ke area luka. Makrofag yang teraktivasi akan mensekresi sitokin, antara lain TNF- α dan IL-1 β . IL-1 β akan merangsang sifat mitogenik dari sel fibroblas dan meningkatkan regulasi metaloproteinase matriks (MMP). Sitokin ini secara langsung



berpengaruh terhadap deposisi kolagen ke area luka dengan menginduksi produksi kolagen dari sel fibroblas. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan growth factor yang mengaktifasi fibroblas. Fibroblas bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut (Leong dan Philips, 2012). Fibroblas sangat penting dalam akhir proses penyembuhan luka, karena ia dapat menginduksi sintesis matriks ekstraseluler berupa kolagen, yang merupakan bagian utama jaringan ikat pada luka yang menyembuh, khususnya pada jaringan parut. Sitokin ini secara langsung berpengaruh terhadap deposisi kolagen ke area luka dengan menginduksi produksi kolagen dari sel fibroblas. Proses penyembuhan luka pada jaringan gingiva berlangsung lebih cepat dengan pembentukan jejas jaringan parut yang lebih sedikit dibandingkan dengan kulit. Hal ini dikarenakan oleh sel fibroblas dari jaringan gingiva yang menghasilkan MMP13 yang memiliki *turnover* yang besar dari protein matriks ekstraseluler sehingga mencegah pembentukan jaringan parut.

Gambar 2. 9 Fase Proliferasi dari Penyembuhan Luka



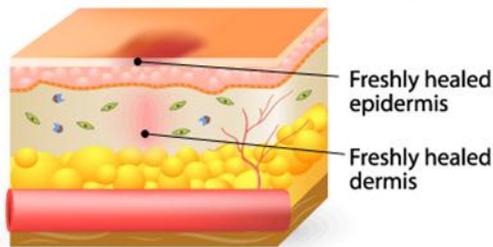
Sumber: Kumar, 2012

Fase proliferasi terdiri dari proses reepitelisasi, neovaskularisasi dan pembentukan jaringan granulasi. Fase proliferasi berlangsung pada 2-10 hari setelah terjadinya injuri. Fase ini meliputi migrasi dan proliferasi dari sel epitel, diferensiasi myofibroblas dan tumbuhnya pembuluh kapiler yang baru pada luka. Fase proliferasi dimulai dengan aktivasi sel fibroblas oleh growth factors yang dapat mensintesa dan mengubah bentuk *collagen-rich Extracelullar Matrix (ECM)* serta menyebabkan terjadinya angiogenesis. ECM yang terovaskularisasi akan menyebabkan



terbentuknya jaringan granulasi. Degradasi kolagen juga akan menstimulasi proliferasi dan migrasi keratinosit. Keratinosit akan bermigrasi ke daerah di sekitar jaringan granulasi yang baru terbentuk dan menyebabkan terjadinya pembentukan epitel kembali. Selain itu, TGF- β yang dilepaskan oleh trombosit, makrofag memegang peranan penting sebagai pengatur fungsi fibroblas. TGF- β memiliki beberapa peran penting dalam pembentukan matrikekstraselular, yaitu meningkatkan pergerakan sel epidermis, pembentukan kolagen, proteoglikan, dan fibronektin, serta mengurangi produksi dari enzim protease yang merusak matriks. Fibroblas akan berikatan dengan serabut dari matrik fibrin dan mulai memproduksi kolagen, sampai saat ini telah diketahui ada 23 jenis kolagen (Diegelman, 2014). Pembentukan kolagen dimulai dari pembentukan prokolagen dengan karakter khas triplehelix, setelah di sekresikan ke dalam ruang ekstraselular, kemudian akan mengalami hidroksilasi dan kemudian mengalami pembelahan pada gugus terminal peptida prokolagen N dan C oleh enzim LysylOxydase yang memungkinkan terjadinya crosslink yang lebih stabil.

Gambar 2. 10 Fase Remodelling pada Penyembuhan Luka



Sumber: Kumar, 2012

Fase *remodelling* sebagai fase terakhir penyembuhan luka, ini memiliki peran untuk regenerasi epitel baru dan akhir dari pembentukan jaringan parut (Hunt, 2003). Pada fase ini terjadi juga remodeling kolagen. Sintesis kolagen diinduksi oleh sejumlah molekul meliputi faktor pertumbuhan (PDGF, bFGF, dan TGF- β) serta sitokin (interleukin 1 [IL-1]) yang disekresikan oleh leukosit dan fibroblas (Kumar, 2007). Kolagen tipe III digantikan kolagen tipe I yang dimediasi matriks metalloproteinase yang disekresi

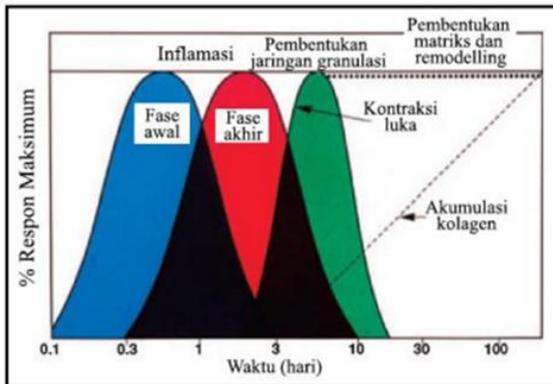
makrofag, fibroblas, dan sel endotel. Pada masa 3 minggu penyembuhan, luka telah mendapatkan kembali 20% kekuatan jaringan normal (Ting *et al.*, 2008). Sintesis dari matriks ekstra seluler dalam proliferaatif dan fase *remodelling* dimulai secara bersamaan dengan pengembangan jaringan granulasi. Remodeling merupakan fase yang paling lama pada proses penyembuhan luka, terjadi pada hari ke 21- hingga 1 tahun, seiring dengan pematangan matriks intraseluler, terjadi peningkatan diameter kolagen, asam hialuronat dan fibronektin terdegradasi. *Remodelling* dari kolagen dipengaruhi oleh keseimbangan antara sintesis dan katabolisme kolagen. Degradasi kolagen pada luka juga dipengaruhi oleh beberapa enzim proteolitik yang disebut MMP yang dihasilkan oleh sel makrofag, epidermis, endothel dan fibroblas (Demidova *et al.*, 2012). Keseimbangan antara MMP dan inhibitor dari MMP akan menentukan perkembangan penyembuhan luka. Proses *remodelling* memungkinkan kekuatan jaringan baru yang terbentuk bisa mendekati aslinya, pada 3 minggu pertama setelah cedera, kekuatan ini hanya berkisar 20% dari semula, dalam proses *remodelling* akan terjadi penggantian serabut kolagen dengan serabut yang lebih besar disertai oleh penguatan *cross linking* dari masing-masing serabut yang membentuk jaringan yang lebih kuat. Kekuatan maksimal yang bisa dicapai oleh jaringan parut baru hanyalah 70% dari kulit yang normal (Epstein *et al.*, 1999). Matrix ekstraseluler juga memainkan peran yang penting dalam penyembuhan luka (Greiling and Clark, 1997). Kolagen, fibronektin, proteoglikan, dan protein matriks seluler merupakan bagian dari matrix ekstraseluler (Frantz *et al.*, 2010). Matrix ekstraseluler memberikan dukungan terhadap proses penyembuhan luka sebagai sel rekonstruksi jaringan dengan memberikan kekuatan yang ditransmisikan melalui serat kolagen ke dalam sel dalam modulasi ekspresi gen, sel proliferasi dan penggerak, respon ini sangat penting untuk membangun jaringan yang rusak dengan membuat komponen matriks baru untuk memungkinkan migrasi sel dan untuk mengganggu jaringan yang rusak (Frantz *et al.*, 2010).

Laju sintesis kolagen dan regulasi sintesis kolagen pada fase ini mulai berkurang. Penurunan regulasi sintesis kolagen diperantarai oleh IFN- γ , TNF- α dan matriks kolagen itu sendiri. Pada fase akhir



tissue remodelling kolagen akan digantikan dengan serabut kolagen yang telah terorganisir dan secara bertahap serabut kolagen akan terlihat lebih tebal. Tahap terakhir dari proses penyembuhan luka akan terjadi apoptosis pada sel fibroblas, makrofag dan sel endotelial. Sel fibroblas tidak hanya dapat merespon sinyal parakrin maupun autokrin, tetapi juga dapat mensintesis dan menghasilkan sejumlah growth factors, sitokin dan produk metabolik. Sel ini dapat mensintesis kolagen, serat elastik, glikoprotein dan glikosaminoglikan dari substansi amorf interselular yang juga dapat disintesis oleh jaringan ikat di bagian tubuh manapun. Sel fibroblas dapat meregulasi degradasi kolagen melalui fagositosis dan mensekresi kolagenase.

Gambar 2. 11 Fase Penyembuhan pada Gingiva



Sumber: Frantz *et al*, 2010

2.6 Gingiva

Gingiva merupakan bagian dari jaringan periodontal yang paling luar (Herijulianti, 2009). Gingiva berfungsi melindungi jaringan di bawah pelekatan gigi terhadap pengaruh lingkungan rongga mulut (Manson&Eley, 1993). Secara klinis, gingiva dapat terlihat di dalam rongga mulut, sedangkan struktur periodonsium lainnya yaitu ligamen periodontal, tulang alveolar dan sementum. Secara klinis gingiva terbagi atas tiga bagian yaitu gingiva bebas, gingiva cekat dan gingivainterdenal. Gingivamerupakan bagian mukosa di dalam rongga mulut yang mengelilingi gigi dan menutupi

alveolar ridge. Gingiva merupakan bagian dari jaringan periodontal yang paling luar (Herijulianti, 2009). Gingiva berfungsi melindungi jaringan di bawah pelekatan gigi terhadap pengaruh lingkungan rongga mulut (Manson&Eley, 1993).

Gambar 2. 12 Gambaran Gingiva Normal



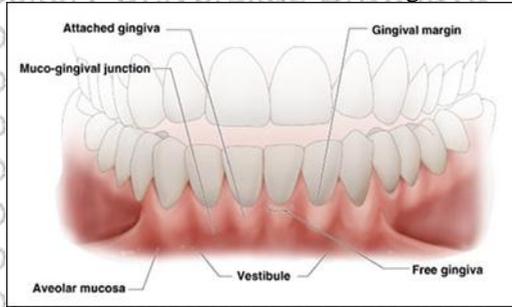
Sumber: Herijulianti, 2009

Warna gingiva normal umumnya berwarna merah jambu (*coral pink*) yang diakibatkan oleh adanya suplai darah dan derajat lapisan keratin epitelium serta sel-sel pigmen. Warna ini bervariasi pada setiap orang dan erat hubungannya dengan pigmentasi kutaneus. Pigmentasi pada gingiva biasanya terjadi pada individu yang memiliki warna kulit gelap. Pigmentasi pada *attached gingiva* mulai dari coklat sampai hitam. Warna pada alveolar mukosa lebih merah disebabkan oleh mukosa alveolar tidak mempunyai lapisan keratin dan epitelnya tipis (Herijulianti, 2009).

Kontur dan ukuran gingiva sangat bervariasi. Keadaan ini dipengaruhi oleh bentuk dan susunan gigi geligi pada lengkungnya, lokalisasi dan luas area kontak proksimal dan dimensi embrasur (interdental) gingiva oral maupun vestibular. Interdentalpapil menutupi bagian interdentalgingiva sehingga tampak lancip (Willman *et al*, 2011).



Gambar 2. 13 Anatomi Gingiva



Sumber: Herijulianti, 2009

Konsistensi gingiva normal adalah kaku dan lenting. Konsistensi gingiva cekat yang kaku adalah disebabkan oleh lamina proprianya yang banyak mengandung serat kolagen dan melekat ke mukoperiosteum tulang alveolar. Gingiva bebas meskipun tidak melekat ke tulang alveolar berkonsistensi kaku karena mengandung serat-serat gingiva. Permukaan *attached gingiva* berbintik-bintik seperti kulit jeruk. Bintik-bintik ini biasanya disebut *stippling* (Willman *et al*, 2011).

2.7 Gingivitis

Inflamasi atau peradangan yang mengenai jaringan lunak di sekitar gigi atau jaringan gingiva disebut *gingivitis* (Nevil, 2002). Gingivitis adalah sebuah reaksi inflamasi dari gingival yang disebabkan oleh akumulasi *biofilm* pada plak di sepanjang gingival margin dan respon *host inflamasi* terhadap produk bakteri (Hidayati *et al*, 2012). Gingivitis merupakan peradangan gusi yang paling sering terjadi dan merupakan respon inflamasi tanpa merusak jaringan pendukung (Newman, 2014). Peradangan gingiva cenderung dimulai pada daerah papila interdental dan menyebar ke sekitar leher gigi (Harty dan Ogston, 2013). Gingivitis bersifat reversibel apabila tidak diobati dapat menjadi lebih parah (Sham *et al*, 2003).

Gingivitis disebabkan oleh faktor primer dan faktor sekunder. Faktor sekunder dibagi menjadi 2, yaitu faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor lokal diantaranya kebersihan mulut yang buruk, sisa-sisa makanan, akumulasi plak dan mikroorganisme, sedangkan faktor sistemik, seperti: faktor genetik, nutrisiional,

hormonal dan hematologi (Manson and Eley, 1993). Penyebab utama terjadinya inflamasi gingiva adanya akumulasi bakteri plak yang bersifat patogen. Plak merupakan lapisan tipis biofilm yang mengandung bakteri, produk metabolisme bakteri, dan sisa makanan. Akumulasi plak ini akan merangsang respon inflamasi pada gingiva yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada daerah akumulasi sejumlah organisme patogen (Newman, 2014)

Proses pembuatan plak terbagi menjadi 3 tahap, diawali dengan pembentukan pelikel. Pelikel berasal dari komponen dalam saliva, cairan krevikularingiva, bakteri, produk sel jaringan inang dan debris. Pembentukan dilanjutkan dengan kolonisasi awal. Kolonisasi awal didominasi oleh bakteri gram positif fakultatif seperti *Actinomyces viscosus* dan *Streptococcus sanguis*. Selanjutnya terjadi kolonisasi sekunder dan maturasi plak. Pada kolonisasi bakteri tidak melekat langsung pada gigi, melainkan pada sel bakteri lain. Bakteri kolonisasi sekunder ini seperti *Provetella intermedia*, *Capnocytopha gasp*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Porphyromonas gingivalis*. Interaksi bakteri pada kolonisasi sekunder dan kolonisasi awal terdiri dari koagregasi bakteri gram negatif dan gram positif. Bakteri tertentu menginduksi aktivasi sel leukosit polimorfonuklear (PMN), dan pelepasan sitokin, seperti interleukin-6 dan *tumor necrosis factor- α* (Forrest *et al.*, 2006). Bakteri pada gingivitis akan menginduksi produksi sel inflamasi pada gingiva. Hal ini akan menyebabkan akumulasi sel leukosit PMN, makrofag dan sel mast pada jaringan yang terinflamasi (Manson dan Eley, 1993). Apabila gigi geligi dibersihkan dengan interval 48 jam tidak akan terjadi gingivitis, tetapi apabila pembersihan gigi geligi ditunda sampai 72 jam akan terjadi inflamasi gingiva (Lang *et al.*, 2008).



Gambar 2. 14 Gambaran Klinis Gingivitis



Sumber: Lang, 2008

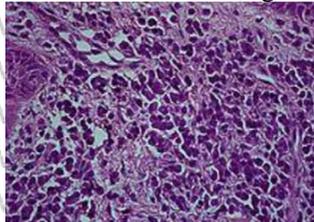
Tanda klinis dari peradangan gingiva adalah perubahan warna. Warna gingiva ditentukan oleh beberapa faktor termasuk jumlah dan ukuran pembuluh darah, ketebalan epitel, keratinisasi dan pigmen di dalam epitel. Gingiva menjadi memerah ketika vaskularisasi meningkat atau derajat keratinisasi epitel mengalami reduksi atau menghilang. Warna merah atau merah kebiruan akibat proliferasi dan keratinisasi disebabkan adanya peradangan gingiva kronis. Pembuluh darah vena akan memberikan kontribusi menjadi warna kebiruan. Terdapat peningkatan jumlah sel keratin dan perdarahan pada margin gingival (Pejci *et al*, 2007). Perubahan warna gingiva akan memberikan kontribusi pada proses peradangan. Perubahan warna terjadi pada papila interdental dan margin gingiva yang menyebar pada *attached gingiva* (Manson & Eley, 1993). Kondisi kronis maupun akut dapat menghasilkan perubahan pada konsistensi gingiva normal yang kaku dan tegas. Pada kondisi gingivitis kronis terjadi perubahan destruktif atau edema dan reparatif atau fibrous secara bersamaan serta konsistensi gingiva ditentukan berdasarkan kondisi yang dominan.

Gingivitis disebabkan oleh akumulasi plak di tepi gingiva. Proses pembuatan plak dibagi menjadi 3 tahap, dimulai dengan pembentukan pelikel. Partikel berasal dari komponen dalam air liur, cairan creviculargingiva, bakteri, produk sel inang dan puing-puing. Formasi dilanjutkan dengan kolonisasi awal. Kolonisasi awal didominasi oleh bakteri gram positif fakultatif seperti *Actinomyces viscosus* dan *Streptococcus sanguis*. Selanjutnya, terjadi kolonisasi sekunder dan pematangan plak. Dalam kolonisasi bakteri itu tidak



melekat langsung ke gigi, tetapi lebih ke sel bakteri lainnya. Bakteri kolonisasi sekunder ini seperti *Provetella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Porphyromonas gingivalis*. Perkembangan gingivitis terdiri dari 4 tahap yaitu tahap awal (*Initial Lesion*) selama 2-4 hari. Terjadi perubahan vaskuler berupa vasodilatasi dan peningkatan aliran darah sebagai respon terhadap aktivitas bakteri oleh leukosit dan stimulasi pada sel endothelial. Tahap kedua (*Early Lesion*) selama 4-7 hari terjadi proliferasi pembuluh darah di antara *retepegs* membuat gingiva termanifestasi berupa eritema dan pendarahan saat dilakukan *probing*, terjadi peningkatan kerusakan kolagen sebanyak 70% di sekitar infiltrat seluler. Selanjutnya tahap *Established Lesion* ditandai dengan preodminasi dari sel plasma, ativitaskolagenolisis oleh enzim kolagenase meningkat pada jaringan yang terinflamasi. Pada tahap *Advanced Lesion*, lesi sudah menjalar ke tulang alveolar (Newman *et al*, 2014).

Gambar 2. 15 Gambaran Histologi dari Gingivitis



Sumber: Newman, 2014

Manifestasi pertama dari inflamasi gingiva adalah perubahan vaskular, terutama dilatasi kapiler dan adanya peningkatan aliran darah. Respon awal inflamasi bisa terjadi karena respon leukosit terhadap aktivitas mikrobial dan stimulasi berikutnya dari sel endotel. Perubahan jaringan gingiva tidak terlihat secara klinis. Lesi awal timbul sekitar 2-4 hari setelah akumulasi awal plak (Newman, 2014).

Selanjutnya, tahap *early lesion*. Pada tahap ini tanda-tanda klinis dari inflamasi makin jelas terlihat. Papila interdental menjadi sedikit lebih merah dan bengkak serta mudah berdarah ketika dilakukan *probing*. Tahap ini terjadi 4-7 hari setelah akumulasi plak



Dalam waktu 14-21 hari setelah terjadinya akumulasi plak akan berlanjut menjadi gingivitis yang cukup parah. Tahap ini biasa disebut gingivitis kronik. Pembuluh darah gingiva membesar dan aliran darah menjadi lambat. Kondisi tersebut menyebabkan terjadinya anoksemia lokal sehingga gingiva yang berwarna merah menjadi kebiru-biruan. Dengan bertambah parahnya kerusakan kolagen dan pembengkakan, tepi gingiva dapat dengan mudah dilepas dari permukaan gigi (Newman, 2014).

Menentukan derajat inflamasi gingiva atau gingivitis dipakai indeks gingiva yang diperkenalkan oleh Loe dan Silness. Pengukuran dilakukan pada gigi indeks 16, 12, 24, 36, 32, 44. Jaringan sekitar tiap gigi dibagi ke dalam empat unit penilaian gingiva, papila distal-labial, margin gingiva labial, papila mesial-labial dan margin gingivalingual keseluruhan. (Daliemunthe, 2008).

Tabel 2. 1 Kriteria Penilaian Pemeriksaan Gingiva

Skor	Kriteria
0	Gingiva sehat
1	Inflamasi gingiva ringan, gingiva yang ditandai dengan perubahan warna, sedikit edema, pada palpasi tidak terjadi pendarahan
2	Inflamasi gingiva sedang, gingivabewarna merah, edema dan mengkilat, pada palpasi terjadi pendarahan
3	Inflamasi gingiva parah, gingivabewarna merah menyolok, edema ulserasi, gingiva cenderung berdarang spontan

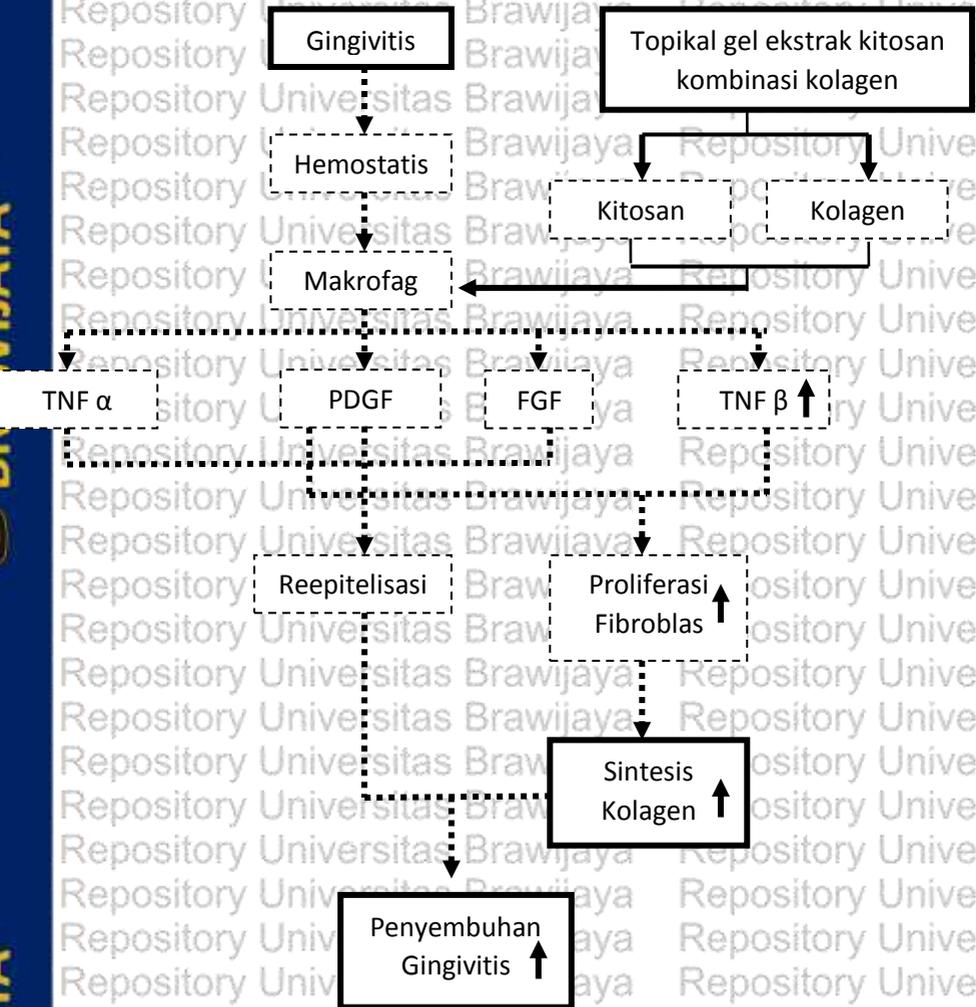
Sumber: Jeffrey *et al*, 2011

Perawatan *gingivitis* terdiri dari tiga komponen yang dapat dilakukan bersama yaitu interaksi kebersihan mulut, menghilangkan *plaque* dan *calculus* dengan *scalling*, memperbaiki faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *plaque*. Ketiga macam perawatan ini saling berhubungan, pembersihan *plaque* dan *calculus* tidak dapat dilakukan sebelum faktor-faktor retensi *plaque* diperbaiki.



BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



**Keterangan:**

↑ = Pengaruh topikal gel ekstrak kitosan kombinasi kolagen

..... = Variabel tidak diteliti

— = Variabel diteliti

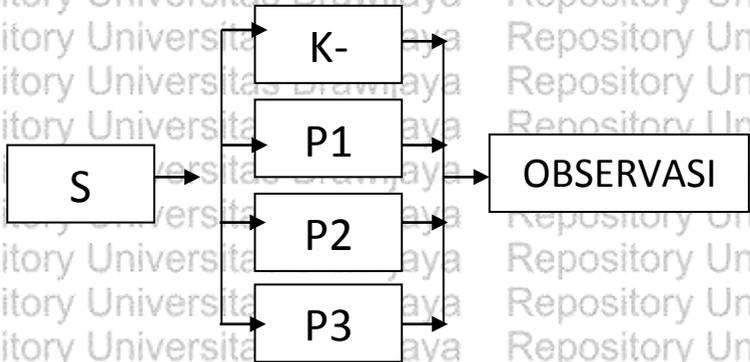
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Penyembuhan gingivitis diawali dengan agregasi platelet yang menginisiasi terjadinya hemostatis. Platelet akan mensekresikan sitokin dan beberapa faktor pertumbuhan. Sitokin yang disekresikan ke luka menginisiasi terlepasnya neutrofil dan makrofag (Miloró *et al.*, 2004). Makrofag mensekresikan Tumor Necrosis Factor α (TNF α), dan Platelet Derived Growth Factor (PDGF) yang dapat menginduksi terbentuknya angiogenesis. Selain itu, makrofag juga mensekresikan Fibroblast Growth Factor (FGF), PDGF dan yang utama adalah TGF - β (Transforming Growth Factor - β) yang akan merangsang sintesis kolagen dan elastin oleh fibroblas (Christine dkk, 2015). Topikal gel ini mengandung kolagen dan juga kitosan. Kitosan juga dapat menginduksi fibroblas di area sekitar luka untuk melepaskan IL-8 yang terlibat dalam migrasi dan proliferasi fibroblas lain ke area perlukaan (Jawad dkk., 2007). Kolagen disintesis oleh fibroblas, mereka memberikan integritas dan kekuatan untuk semua jaringan dan memainkan peran kunci, terutama di bagian proliferasi dan fase perbaikan. Kolagen bertindak sebagai dasar untuk pembentukan matriks intraseluler di dalam luka (Velmar *et al.*, 2009). Hal tersebut dapat mempercepat penyembuhan gingivitis.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) dengan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled* di laboratorium secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruh topikal gel ekstrak kitosan kombinasi kolagen dari sisik ikan gurame pada penyembuhan pada tikus wistar model gingivitis. Penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 6 tikus. Sampel dipilih dengan random sampling menggunakan teknik “*Random Assignment*”. Berikut adalah desain penelitian:



Keterangan:

S= Sampel

K- = Kelompok kontrol negatif

P1 = Kelompok perlakuan dengan diinduksi LPS bakteri *Porphyromons gingivalis* 0,1 ml pemberian sekali dalam sehari selama 14 hari dan aplikasi gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame dosis 0,1 ml sekali dalam sehari selama 7 hari.

P2 = Kelompok perlakuan dengan diinduksi LPS bakteri *Porphyromons gingivalis* 0,1 ml pemberian sekali dalam sehari selama 14 hari dan aplikasi gel ekstrak kitosan udang kombinasi



kolagen sisik ikan gurame dosis 0,2 ml sekali dalam sehari selama 7 hari.

P3 = Kelompok perlakuan dengan diinduksi LPS bakteri *Porphyromons gingivalis* 0,1 ml pemberian sekali dalam sehari selama 14 hari dan aplikasi gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame dosis 0,3 ml sekali dalam sehari selama 7 hari.

4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Pemilihan Hewan Coba

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan pertimbangan proses penyembuhannya lebih mudah dikontrol karena tidak terpengaruh oleh faktor hormon pada saat menstruasi. Sedangkan tikus wistar yang dipilih sebab memiliki metabolisme tubuh yang mirip dengan manusia (Mendrofa *et al.*, 2015) Hewan coba di pelihara di Animal House Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang Sampel penelitian ini dipilih berdasarkan kriteria berikut:

4.2.1.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih galur wistar
2. Berjenis kelamin jantan
3. Umur 8 minggu
4. Dengan berat 120-150 gram
5. Belum pernah digunakan untuk penelitian
6. Sehat, yang ditandai dengan gerakan yang aktif, bulu yang tebal, mata jernih, dan berwarna putih mengkilap
7. Tidak terdapat abnormalitas anatomis yang terlihat.

4.2.1.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus putih galur wistar jantan yang sakit (tidak bergerak aktif) selama masa adaptasi selama 7 hari



33

2. Tikus putih galur wistar jantan yang mati selama perlakuan berlangsung
3. Tikus putih galur wistar jantan yang mengalami infeksi pada interdental gingiva pada daerah gingivitis

4.2.2 Estimasi Jumlah Pengulangan

Jumlah pengulangan penelitian dihitung menggunakan rumus Federer yaitu:

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

Keterangan:

n = jumlah pengulangan penelitian

t = jumlah kelompok

dalam penelitian ini $t = 4$, sehingga jumlah pengulangan penelitian sebagai berikut:

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

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Dalam penelitian ini dibutuhkan minimal 6 tikus putih galur wistar jantan untuk setiap kelompoknya. Penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok, sehingga diperlukan jumlah total tikus 24 tikus putih galur wistar jantan. Untuk menghindari lost of sample ditengah penelitian karena tikus galur wistar jantan sakit atau mati, maka jumlah sampel ditambahkan menjadi 32 ekor tikus putih galur wistar jantan dengan 2 tikus pada setiap kelompok.



4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Terikat

Kerapatan Serabut Kolagen

4.3.2 Variabel Bebas

Topikal gel diaplikasikan tikus dengan dosis 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Animal House Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Klinik Universitas Brawijaya, Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, Laboratorium Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang, Laboratorium Biologi Universitas Negeri Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

April sampai dengan Agustus 2019.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan:

1. Tikus Putih
2. Aquadest
3. Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
4. Gel Kitosan Cangkang Udang
 - a. Ekstrak kitosan cangkang udang
 - b. Asam asetat 1%
 - c. Glutaraldehid 1%
5. Kolagen Sisik Ikan gurame
 - a. Sisik ikan gurame



35

b. Larutan NaOH

c. Larutan CH₃COOH

Alat:

1. Spuit 3cc
2. pH meter
3. Timbangan analitis
4. *Breaker Glass*
5. Kertas saring
6. Pengaduk (Stirer)
7. Freeze Dryer
8. Kapas
9. Spuit dengan ujung kapas
10. Gelas ukur
11. Kandang tikus
12. Wadah gel topikal

4.6. Definisi Operasional

4.6.1 Topikal Gel Ekstrak kitosan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen sisik ikan Guraame (*Osphronemus goramy*)

Ekstrak Kitosan dengan proses demineralisasi dengan menambahkan larutan HCl 1 - 2 N (1 : 10),n untuk menghilangkan protein maka ditambahkan larutan basa NaOH selanjutnya proses deasetilasi dikerjakan dengan menambahkan larutan NaOH 50%. Sedangkan ekstrak kolagen didapatkan dengan melakukan perendaman pada NaOH, melakukan perendaman pada CH₃COOH 0.5 M s. Dilakukan prestisipasi (NaCl 0,9 M 1:1) selama 24 jam di



suhu 4°. Jika terdapat endapan dilakukan sentrifuge 3500 rpm selama 30 menit. Residu diambil, ditambah CH₃COOH 0,5 M sedikit dan didialisis dengan CH₃COOH 0.05 M selama 12 jam. Ekstrak yang digunakan dalam bentuk sediaan gel. Udang putih dan juga ikan gurame didapatkan dari Pasar Tawangmangu, Lowokwaru, Malang.

4.6.2 Gingivitis

Pembuatan gingivitis pada penelitian ini dilakukan pada gingiva interdental gigi anterior regio mandibula yang dilakukan pemasangan retensi berupa black silk suture yang harapannya didapatkan penumpukan sisa makanan. Lalu selama 14 hari dilakukan induksi dari LPS Bakteri *Porphyromonas gingivalis* untuk membuat daerah gingiva menjadi gingivitis. Gingivitis terjadi pada hari ke 15 ditandai dengan adanya daerah kemerahan pada gingiva tanpa disertai destruksi tulang periodontal.

4.6.3 Kepadatan Kolagen

Kepadatan kolagen dilihat dari preparat pasaca perwanaaan menggunakan *Manson's Trichrome* menggunakan mikroskop digital Olympus dengan perbesaran 400x dan selanjutnya dibuat foto preparat. Sediaan sampel dibagi menjadi 5 lapang pandang dan kolagen di hitung di tiap lapang pandang. Distribusi kolagen dilihat berdasarkan kriteria penilaian kepadatan dan sebaran serabut kolagen yang di konversikan menjadi skor angka 0 sampai dengan 4 (semikuantitatif) (Permatasari dkk, 2013). Kolagen merupakan serabut berwarna biru dengan pengecatan *massons's trichrome* (Novriansyah, 2008).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pemeliharaan Hewan Uji Coba

Tikus dipelihara didalam bak plastik berukuran 40 x 30 x 14 cm dengan tutup kandang yang terbuat dari kawat disertai botol air, sekam, dan penimbangan berat badan dengan neraca Sartorius. Pakan tikus berupa pakan pelet dengan jumlah pakan 50 gram setiap tikus.



4.7.2. Pembuatan Ekstrak Kitosan dari Cangkang Udang Putih (Litopenaeus vannamei)

Persiapan sejumlah kulit udang yang telah dihaluskan, lalu dilakukan proses demineralisasi dengan penambahan larutan HCl 1 - 2 N (1 : 10), diaduk pada suhu sekitar 75°C selama 1 jam. Kemudian disaring, residu dicuci dengan air dan akuades hingga netral, dan untuk menghilangkan protein maka ditambahkan larutan basa NaOH dengan konsentrasi 3 - 4 N sebanyak 6 kali bahan baku (1 : 6) dan dipanaskan pada suhu 75°C selama 1 jam. Filtrat dibuang dengan cara menyaring, kitin yang dihasilkan dicuci dengan akuades hingga netral. Untuk menghasilkan kitosan, maka proses deasetilasi dikerjakan dengan menambahkan larutan NaOH 50% sebanyak 5 - 10 kali bahan baku kulit udang (1 : 5 - 10), kemudian diaduk, dipanaskan pada suhu 120°C selama 1 - 4 jam. Setelah itu disaring, dicuci dengan akuades sampai pH netral, dan dikeringkan dalam oven selama 6 jam pada suhu 50°C. Lalu dilakukan uji kandungan ekstrak kitosan udang putih pada Laboratorium Sentral FMIPA Universitas Negeri Malang.

4.7.3 Pembuatan Kolagen dari Sisik Ikan gurami (Osphronemus goramy)

Persiapan sisik ikan gurami dan dilakukan perendaman NaOH 0.1 M dengan perbandingan dengan sampel 1:10 dengan aquadest selama 6 jam pada suhu 4°. Melakukan netralisasi menggunakan air mengalir hingga pH netral. Dilakukan perendaman menggunakan n-butanol 10% selama 18 jam dengan perbandingan 1:10. Melakukan netralisasi kembali. Melakukan perendaman pada CH₃COOH 0.5 M dengan perbandingan 1:10 selama 24 jam lalu disaring menggunakan kain katun sebanyak 2 lapis. Dilakukan prestisipasi (NaCl 0,9 M 1:1) selama 24 jam di suhu 4°. Jika terdapat endapan dilakukan *sentrifuge* 3500 rpm selama 30 menit. Residu diambil, ditambah CH₃COOH 0,5 M sedikit dan didialisis dengan CH₃COOH 0.05 M selama 12 jam. Cairan dialisis diganti menggunakan aquadest dan dialisis selama 24 jam dan setiap 6 jam dilakukan pergantian aquadest. Didapatkan hasil berupa kolagen.



4.7.4 Pembuatan Topikal gel Kolagen dan Kitosan

Persiapkan bahan dan alat, selanjutnya mencampurkan kolagen cair dengan bubuk ekstrak kitosan cangkang udang 100 mesh dalam wadah dengan perbandingan 1.5 : 1.

4.7.5 Pemasangan Retensi dan Peradangan Tikus Putih dengan LPS Bakteri *Porphyromonasgingivalis*

Hewan uji berupa 20 tikus putih jantan dengan berat 150-200 gram dibuat gingivitis. Melakukan pemasangan benang *black silk suture* yang diikat pada gigi anterior mandibula sebagai retensi dengan harapan adanya akumulasi plak. Selanjutnya menginduksi LPS bakteri *Porphyromonasgingivalis* sebanyak 0,1 ml dengan spuit pada sulkusgingiva tikus bagian anterior 1 kali sehari selama 2 minggu agar terjadi gingivitis.

4.7.6 Aplikasi Topikal gel Kombinasi Ekstrak Kitosan dan Kolagen pada Gingiva

Aplikasika topikal gel dengan menggunakan spuit tanpa jarum pada gingivaltikus kelompok P1 (0,1 ml), kelompok P2 (0,2 ml), dan kelompok P3 (0,3 ml) satu kali sehari selama 7 hari dan dilakukan pembedahan pada hari ke-8.

4.7.7 Pembedahan Hewan Coba

Setelah pemberian topikal gel selama 1 minggu pada hari ke-23, hewan coba dianastesi menggunakan ketamin dengan dosis letal yaitu sebanyak 3x dosis anastesi yaitu 0,9 ml injeksi peritoneal. Kemudian dilakukan konfirmasi kematian tikus dengan cara melihat respirasinya, apabila sudah tidak terlihat respirasinya, maka dilakukan pemotongan rahang dengan arah sagital dan dimasukkan kedalam tabung berisi formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Tikus dikuburkan dalam tanah dengan bantuan tenaga ahli dari laboratorium.

4.7.8 Pengamatan Hasil Histologi dari Pengaplikasian Gel

Topikal

Menyiapkan 24 tikus putih gingivitis sesuai dengan kelompok perlakuan, lalu mengambil jaringan gingiva anterior rahang bawah diambil untuk pembuatan preparat histologis. Fiksasi jaringan menggunakan larutan buffer formalin 10% selama 24 jam lalu dekalsifikasi menggunakan EDTA 10%. Pewarnaan imunohistokimia menggunakan metode pewarnaan *Hematoxyline Eosin* dan *Masson's Trichome*.

4.7.9 Perhitungan Kepadatan Kolagen

Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk perhitungan kepadatan kolagen yaitu preparat, slide glass, dan mikroskopis digital, dan software OLIVYA. Kepadatan kolagen dilihat dari preparat pasca perwanaaan menggunakan *Manson's Trichrome* menggunakan mikroskop digital Olympus dengan perbesaran 400x dan selanjutnya dibuat foto preparat. Sediaan sampel dibagi menjadi 5 lapang pandang dan kolagen di hitung di tiap lapang pandang. Distribusi kolagen dilihat berdasarkan kriteria penilaian kepadatan dan sebaran serabut kolagen yang di konversikan menjadi skor angka 0 sampai dengan 4 (semikuantitatif) (Permatasari dkk, 2013). Kolagen merupakan serabut bewarna biru dengan pengecatan *massons's trichrome* (Novriansyah, 2008).

Kepadatan kolagen dintrepretasikan secara semikumulatif dengan melihat kepadatannya. Parameter skoring untuk kepadatan kolagen sebagai berikut:

- 0 = Tidak ditemukan serabut kolagen pada daerah luka
- 1 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rendah
- 2 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sedang
- 3 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rapat
- 4 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sangat rapat (Novriansyah, 2008)

4.8 Analisis Data

Hasil perhitungan kepadatan serabut kolagen pada tikus galur wisatr dianalisa secara statistik dengan tingkat signifikansi 0.05



($p=0.05$) dan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha= 95\%$). Langkah-langkah uji hipotesis sebagai berikut:

a. Uji Normalitas Data

Untuk menginterpretasi apakah suatu data memiliki sebaran atau distribusi normal atau tidak, karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis bergantung dari normal atau tidaknya distribusi data. Uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena sampel < 50 .

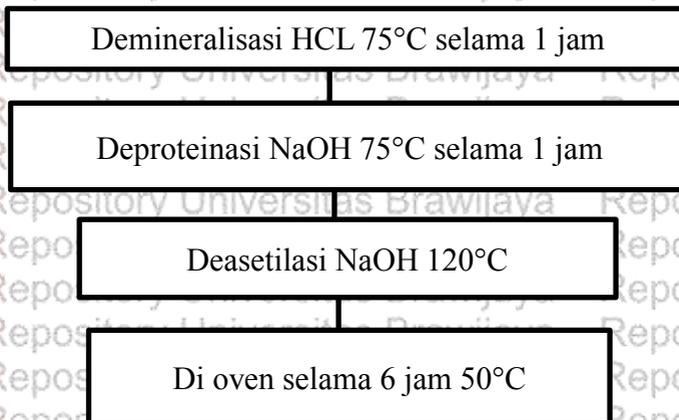
b. Uji homogenitas data

Untuk mengetahui homogenitas varian data penelitian menggunakan *Levene's Test*

Apabila didapatkan data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan uji parametrik menggunakan uji *One Way Anova*. Namun apabila data tidak terdistribusi normal atau data ordinal maka dapat dilakukan uji non parametrik dengan uji *Kruskal Walls*.

4.9 Alur Penelitian

4.9.1 Skema Penelitian Pembuatan Ekstrak Kitosan





4.9.2 Skema Penelitian Pembuatan Kolagen

Perendaman dalam NaOH 6 Jam dalam suhu 4 derajat

Perendaman pada n-Butanol selama 18 jam

Perendaman pada CH₃COOH selama 24 jam

Perendaman pada NaCl selama 24 jam dengan suhu 40 derajat

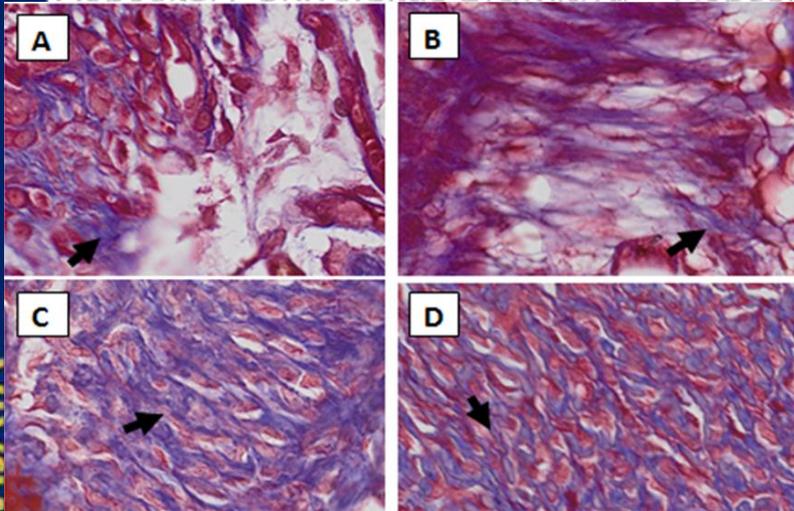
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok, yaitu Kelompok K- yaitu kelompok kontrol negatif. Kelompok P1 yaitu kelompok perlakuan dengan diinduksi LPS bakteri *Porphyromons gingivalis* 0,1 ml pemberian sekali dalam sehari selama 14 hari dan aplikasi gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame dosis 0,1 ml sekali dalam sehari selama 7 hari. Kelompok P2 yaitu kelompok perlakuan dengan diinduksi LPS bakteri *Porphyromons gingivalis* 0,1 ml pemberian sekali dalam sehari selama 14 hari dan aplikasi gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame dosis 0,2 ml sekali dalam sehari selama 7 hari. Kelompok P3 yaitu kelompok perlakuan dengan diinduksi LPS bakteri *Porphyromons gingivalis* 0,1 ml pemberian sekali dalam sehari selama 14 hari dan aplikasi gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame dosis 0,3 ml sekali dalam sehari selama 7 hari.

Sampel penelitian didapatkan dengan pemotongan rahang dengan arah sagital dan dimasukkan kedalam tabung berisi formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Setelah itu dilakukan pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan *masson's trichrome* kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop Olympus pembesaran 400 kali dan dibagi menjadi lima lapang pandang dan didapatkan gambaran kolagen berwarna biru. Skor kepadatan kolagen tiap lapang pandang masing-masing kelompok tikus kemudian dihitung.

Hasil yang didapatkan dari pengamatan kepadatan kolagen yaitu kolagen yang terbentuk pada tikus perlakuan hampir sama dengan kolagen yang terbentuk pada tikus kontrol negatif, hal ini dapat disebabkan karena pada kelompok perlakuan diberikan gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame mempercepat penyembuhan luka.



Gambar 5. 1 Gambaran Kepadatan Kolagen pada Preparat

Keterangan:

A = Kelompok perlakuan P1 dengan pemberian topical gel 0,1 ml

B = Kelompok perlakuan P2 dengan pemberian topical gel 0,2 ml

C = Kelompok perlakuan P3 dengan pemberian topical gel 0,3 ml

D = Kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan (K-)

Gambar diatas menunjukkan gambaran dari preparat histologi kolagen dengan pewarnaan *masson's trichrome* perbesaran 400 kali. Gambaran serat kolagen bewarna biru yang ditunjukkan dengan anak panah. Terdapat kelompok perlakuan 1 (P1) tampak kepadatan serabut kolagen rendah, kelompok perlakuan 2 (P2) tampak kepadatan serabut kolagen sedang, sedangkan pada kelompok perlakuan 3 (P3) tampak kepadatan kolagen mulai rapat, kelompok kontrol negatif dengan serabut kolagen yang sangat rapat.

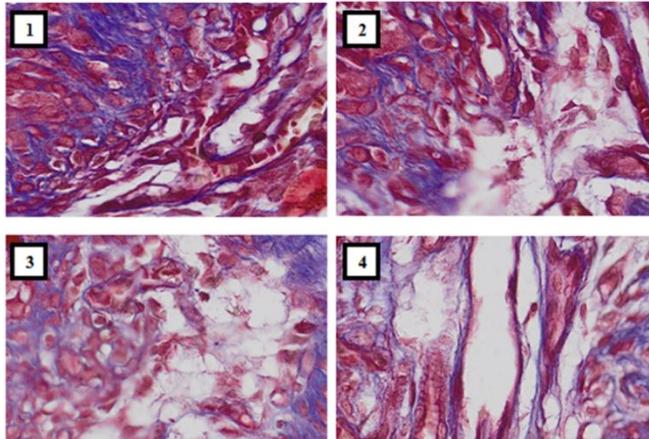
Sediaan sampel dibagi menjadi 5 lapang pandang dan kolagen di hitung di tiap lapang pandang. Distribusi kolagen dilihat berdasarkan kriteria penilaian kepadatan dan sebaran serabut kolagen yang di konversikan menjadi skor angka 0 sampai dengan 4. Kepadatan kolagen dinterpretasikan secara semikumulatif dengan



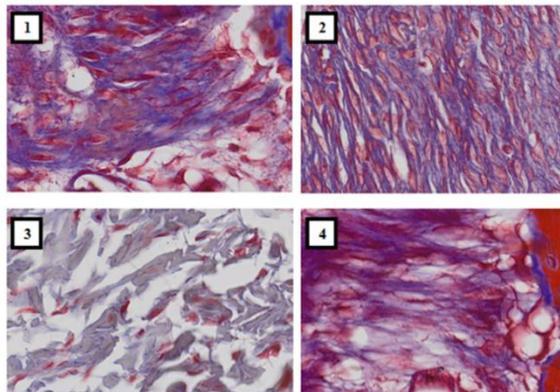
45

melihat kepadatannya. Parameter skoring untuk kepadatan kolagen sebagai berikut:

- 0 = Tidak ditemukan serabut kolagen pada daerah luka
- 1 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rendah
- 2 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka sedang
- 3 = Kepadatan serabut kolagen pada daerah luka rapat.



Gambar 5. 2 Kelompok P1 dengan pemberian topikal gel 0,1 ml



Gambar 5. 3 Kelompok P2 dengan pemberian topikal gel 0,2 ml



Tabel 5. 1 Frekuensi skor kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus Wistar dengan pemberian topikal gel ekstrak kitosan udang kombinasi kolagen sisik ikan gurame

Kelompok	Lapang Pandang	Skor Nilai
P1	Ke-	
	1	1
	2	1
	3	0
P2	4	0
	1	1
	2	2
	3	1
P3	4	1
	1	3
	2	2
	3	3
P4	4	2
	1	3
	2	3
	3	3
	4	3

Keterangan:

Kelompok : Kelompok perlakuan tikus wistar

Skor Nilai : Skor kepadatan kolagen yang telah ditentukan

Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa kepadatan kolagen pada ligament periodontal pada tikus wistar setelah pemberian topikal gel dengan dosis 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml dan K- memberikan



skor berbeda. Kelompok P1 derajat rendah (Skor = 1), sedangkan Kelompok P2 menunjukkan derajat sedang (Skor = 2), sedangkan Kelompok P3 menunjukkan derajat rapat (Skor = 3).

5.1.1 Analisa Data

Hasil dari rata-rata kolagen merupakan data kategorik. Maka tidak diperlukan uji normalitas, dan untuk mencari perbedaan antar data berskala kategorik, maka dilakukan pencarian deskriptif dan uji kruskal wallis.

5.1.2 Deskriptif

Statistik deskriptif bagian dari ilmu statistika yang berhubungan dengan aktivitas pengumpulan, penataan, peringkasan dan penyajian data dengan harapan agar data lebih bermakna, mudah dibaca, dan mudah dipahami oleh pengguna data. Statistik deskriptif hanya sebatas memberikan deskripsi atau gambaran umum tentang karakteristik objek yang diteliti tanpa maksud untuk melakukan generalisasi sampel terhadap populasi.

		Statistics			
		Kontrol Negatif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
N	Valid	4	4	4	4
Mean		3.00	.50	1.25	2.50
Median		3.00	.50	1.00	2.50
Mode		3	0 ^a	1	2 ^a
Range		0	1	1	1
Minimum		3	0	1	2
Maximum		3	1	2	3
a. Multiple modes exist. The smallest value is shown					

Tabel 5. 2 Pencarian Deskriptif Statistika

5.1.3 Uji Kruskal Wallis

Uji Kruskal Wallis adalah salah satu statistika non-parametrik dalam kelompok prosedur untuk sampel independen. Prosedur ini digunakan untuk membandingkan dua variabel yang diukur dari sampel yang tidak sama (bebas), dimana kelompok yang diperbandingkan lebih dari dua. Pada statistik nonparametrik,



diantaranya adalah analisis varians satu arah berdasarkan peringkat Kruskal-Wallis dan Median test. Maka penelitian kali ini, menggunakan uji kruskal wallis.

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test Summary	
Total N	16
Test Statistic	12.847 ^a
Degree Of Freedom	3
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.005
a. The test statistic is adjusted for ties.	

Pairwise Comparisons of Kelompok					
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
Perlakuan 1-Perlakuan 2	-2.750	3.215	-.855	.392	1.000
Perlakuan 1-Perlakuan 3	-8.000	3.215	-2.489	.013	.077
Perlakuan 1-Kontrol Negatif	10.250	3.215	3.189	.001	.009
Perlakuan 2-Perlakuan 3	-5.250	3.215	-1.633	.102	.615
Perlakuan 2-Kontrol Negatif	7.500	3.215	2.333	.020	.118
Perlakuan 3-Kontrol Negatif	2.250	3.215	.700	.484	1.000
Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same. Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05. a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.					

Tabel 5.3 Hasil Uji Kruskal Wallis

Pada kolom sig terdapat nilai p value, jika nilai < 0.05 = ada perbedaan bermakna/signifikan antar kelompok. Nilai dari Kruskal wallis 0.005, yang berarti ada perbedaan bermakna/signifikan antar kelompok.



Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda signifikan maka diperlukan uji lanjutan yaitu multiple/pairwise comparison, di table pairwise comparison dapat dilihat pada kolom sig, jika nilai < 0.05 , maka ada perbedaan signifikan antar kelompok

Hasil antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 menunjukkan adanya perbedaan bermakna/signifikan, sedangkan dengan perlakuan 3 tidak ada perbedaan bermakna/signifikan, yang berarti pemberian topical gel dengan dosis 0.1 dan 0.2ml memberikan pengaruh signifikan terhadap kerapatan serabut kolagen.

5.2 Pembahasan

Pada penelitian ini mengamati pengaruh aplikasi topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis. Seluruh kelompok menunjukkan adanya perubahan kerapatan kolagen. Regenerasi kerapatan kolagen pada kelompok pemberian topikal gel kitosan kombinasi kolagen dengan dosis 0,3 ml menunjukkan rata-rata yang lebih tinggi dari kelompok pemberian topikal gel dosis 0,2 ml dan 0,1 ml. Adanya peningkatan dari kepadatan kolagen menunjukkan adanya regenerasi dari kolagen yang merupakan penyembuhan gingivitis oleh ekstra ekstrak kitosan dan kolagen. Peran kolagen dalam regenerasi jaringan adalah membentuk kembali matriks ekstraseluler untuk melekatkan kembali jaringan yang rusak. Dalam proses regenerasi jaringan, sel fibroblast akan memproduksi kolagen dan material matriks ekstraseluler lainnya yang akan beragregasi membentuk jaringan parut.

Tissue engineering terdiri dari tiga komponen yaitu: sel, bahan pembawa (*scaffold*) dan *signaling molecules/ growth factors*. Proses *tissue engineering* meliputi pengambilan sel dari daerah donor, penempatan sel pada *scaffold*, menstimulasi proliferasi sel, mempertahankan atau meningkatkan diferensiasi sel, dan pada akhirnya adalah proses pengaplikasian. Kolagen merupakan bagian dari protein berjenis stroma. Masa kolagen yang relatif avaskuler dan aseluler ini berfungsi untuk mengembalikan kontinuitas, kekuatan dan fungsi jaringan. Kitosan memiliki kemampuan untuk

memfasilitasi migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel progenitor yang bisa dimanfaatkan sebagai biomaterial pengisi soket. Hasil uji biokompatibilitas menunjukkan adanya proliferasi dan aktivitas TGF-B1 yang merupakan *growth factor* dalam perbaikan jaringan.

Kolagen merupakan protein yang terbanyak pada matriks ekstraselular kulit, dan berfungsi untuk mengisi matriks ekstraselular. Pada proses penyembuhan luka, kolagen dibentuk sejak hari ke-3 dan akan tampak nyata jumlahnya di hari ke-7 setelah luka, dan mulai stabil dan terorganisir sekitar hari ke-14. Serabut kolagen dapat dibedakan dengan matriks ekstraselular lainnya secara lebih spesifik dengan menggunakan teknik pewarnaan khusus yaitu pewarnaan histokimia. Serabut kolagen pada proses perbaikan luka mulai terlihat pada hari ke-3 pascaperluakaan yang terjadi di sekitar tepi luka tersebut, terutama yang dimediasi pengeluarannya oleh IL-4 dari sel makrofag. Selanjutnya, pada fase proliferasi, kolagen mulai disintesis oleh fibroblas dengan dirangsang oleh TGF- β dari sel makrofag dan fibroblas sendiri, terutama kolagen tipe III yang berbentuk serabut. Deposisi kolagen yang terlihat pada fase ini tersusun secara acak. Pada fase remodeling yaitu hari ke-14 pascaperluakaan, sintesis kolagen tipe III mulai digantikan oleh kolagen tipe I yang berbentuk pita dan memiliki kekuatan regang lebih kuat. Reorganisasi susunan kolagen dan cross-linking kolagen yang terjadi pada fase remodeling memberikan kekuatan dan kepadatan jaringan baru. Dilakukan pengamatan mengenai adanya serabut kolagen dari tiap kelompok, dari hasil penelitian ini didapatkan regenerasi kolagen pada setiap kelompoknya dengan jumlahnya yang berbeda. Regenerasi kolagen lebih banyak ditemukan pada kelompok perlakuan 3, hal ini terjadi karena efek dari topikal gel yang diberikan pada gingivitis.

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa topikal gel dari ekstrak kitosan kombinasi ekstrak kolagen ini dapat menyembuhkan luka dengan meregenasi dari kolagen apabila dilihat dari parameter yang diteliti. Topikal gel ini mengandung kolagen dan juga kitosan. Kitosan bekerja dengan menginduksi fibroblas di area sekitar luka untuk melepaskan IL-8 yang terlibat dalam migrasi dan proliferasi fibroblas lain ke area perlukaan. Kolagen disintesis oleh fibroblas, mereka memberikan integritas dan kekuatan untuk semua jaringan



dan memainkan peran kunci, terutama di bagian proliferasi dan fase perbaikan. Kolagen bertindak sebagai dasar untuk pembentukan matriks intraseluler di dalam luka. Hal tersebut dapat mempercepat penyembuhan gingivitis.

Berdasarkan hasil dari uji berdasarkan frekuensi skor kepadatan serat kolagen pada ligamen periodontal tikus model gingivitis ini menunjukkan bahwa kepadatan kolagen terpadat ada pada kelompok perlakuan ke 3. Sedangkan berdasar uji statistika *Kruskal Wallis* didapatkan hasil antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 menunjukkan adanya perbedaan bermakna/signifikan, yang berarti pemberian topical gel dengan dosis 0.1 ml dan 0.2 ml memberikan pengaruh signifikan terhadap kerapatan serabut kolagen. Sehingga pengaplikasian dari topikal gel ini dapat memberikan pengaruh dalam meningkatkan regenerasi kolagen yang mana merupakan tanda dari penyembuhan luka dari gingivitis.

Pada hasil penelitian ini membuktikan dengan aplikasi topikal gel ini dapat membantu penyembuhan luka dengan meregenerasi dari kolagen. Diharapkan topikal gel dari ekstrak kitosan kombinasi ekstrak kolagen dari sisik ikan gurame ini dapat digunakan sebagai obat bahan alam yang dapat dipakai dengan aman dan bermanfaat pada penyembuhan luka. Berdasarkan hasil penelitian dapat menguatkan hipotesis penelitian yaitu aplikasi topikal gel ekstrak kitosan cangkang udang putih kombinasi ekstrak kolagen sisik ikan gurame menunjukkan adanya peningkatan kepadatan kolagen dan regenerasi dari kolagen pada tikus wistar model gingivitis.



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data, dan pembahasan mengenai pengaruh aplikasi topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) berpengaruh terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis.
2. Regenerasi kerapatan kolagen pada kelompok pemberian topikal gel kitosan kombinasi kolagen dengan dosis 0,3 ml menunjukkan rata-rata yang lebih tinggi dari kelompok pemberian topikal gel dosis 0,2 ml dan 0,1 ml.
3. Semakin tinggi konsentrasi topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) yang diberikan, semakin tinggi tingkat regenerasi kolagen yang terbentuk.

6.2 Saran

Saran yang diperoleh dalam penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan uji lebih lanjut mengenai efek samping dan toksisitas pemberian aplikasi topikal gel kitosan dari cangkang udang putih (*Litopenaeus vannamei*) kombinasi kolagen dari sisik ikan (*Osphronemus goramy*) terhadap regenerasi kerapatan kolagen pada tikus wistar model gingivitis
2. Pada penelitian selanjutnya dosis 0,1 ml tidak perlu dilakukan karena pengaruh pemberian topikal gel tampak mulai dari pemberian dosis 0,2 ml.
3. Perlu mengganti bahan untuk retensi pada gigi tikus dengan menggunakan karet orthodontic.
4. Perlu dilakukan uji lebih lanjut untuk variabel lain yang terkait dan berperan dalam penyembuhan gingivitis pada tikus wistar.

DAFTAR PUSTAKA

- Afizia, W. M. (2012). Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji Sebagai Antibakterial Untukmenanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Gurame (*Osphronemus Gouramy Lacepede*). *Jurnal Akuatika*, 3(1).
- Bhagwat, P. K., & Dandge, P. B. (2016). Isolation, Characterization And Valorizable Applications Of Fish Scale Collagen In Food And Agriculture Industries. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 7, 234-240.
- Biran, A. R., Chairani, S., & Dewi, S. R. P. (2019). EFEK EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia Mangostana* L.) TERHADAP PEMBENTUKAN PEMBULUH DARAH BARU PADA LUKA GINGIVA TIKUS WISTAR. *Jurnal'Aisyiyah Medika*, 3(2).
- Chen, S., Chen, H., Xie, Q., Hong, B., Chen, J., Hua, F., ... & Wu, H. (2016). Rapid Isolation Of High Purity Pepsin-Soluble Type I Collagen From Scales Of Red Drum Fish (*Sciaenops Ocellatus*). *Food Hydrocolloids*, 52, 468-477.
- Enoch, S., & Leaper, D. J. (2005). Basic Science Of Wound Healing. *Surgery (Oxford)*, 23(2), 37-42.
- Hatayama, T., Nakada, A., Nakamura, H., Mariko, W., Tsujimoto, G., & Nakamura, T. (2017). Regeneration Of Gingival Tissue Using In Situ Tissue Engineering With Collagen Scaffold. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology And Oral Radiology*, 124(4), 348-354.



Koh, T. J., & Dipietro, L. A. (2011). Inflammation And Wound Healing: The Role Of The Macrophage. *Expert Reviews In Molecular Medicine*, 13.

Mahboob, S. (2015). Isolation And Characterization Of Collagen From Fish Waste Material-Skin, Scales And Fins Of Catla Catla And Cirrhinus Mrigala. *Journal Of Food Science And Technology*, 52(7), 4296-4305.

Manson JD, Eley BM. 1989. *Manual De Periodontia*. 2nd Ed. Sao Paulo:Santos.

Nirmala, K., Hadiroseyani, Y., & Widiasto, R. P. (2012). Penambahan Garam Dalam Air Media Yang Berisi Zeolit Dan Arang Aktif Pada Transportasi Sistem Tertutup Benih Ikan Gurame Osphronemus Goramy Lac. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 11(2), 190-201.

Newman, M. G., Takei, H., Klokkeveld, P. R., & Carranza, F. A. 2011. *Carranza's Clinical Periodontology*. Elsevier Health Sciences.

Nofikasari, I., Rufaida, A., Aqmarina, C. D., Failasofia, F., Fauzia, A. R., & Handajani, J. (2016). Efek Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Pandan Wangi Terhadap Penyembuhan Luka Gingiva. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(2), 53-59.

Permana, H. J., Rizqi, F., & Defrigunawan, A. I. (2012). Inovasi tissue engineering menggunakan limbah ikan sebagai biomaterial pengisi soket pasca ekstraksi. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*, 1(2), 106-111.

Puspawati, N. M., & Simpen, I. N. (2010). Optimasi Deasetilasi Khitin Dari Kulit Udang Dan Cangkang Kepiting Limbah Restoran Seafood Menjadi Khitosan



Melalui Variasi Konsentrasi Naoh. *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*.

Semihardjo, H. (2016). *Pengaruh Desloratadine Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Wistar* (Doctoral Dissertation, UNS (Sebelas Maret University)).

Silvipriya, K. S., Kumar, K. K., Bhat, A. R., Kumar, B. D., John, A., & Lakshmanan, L. (2018). Animal Sources And Biomedical Application. *J Appl Pharm Sci*, 5(3), 123-127.

Suptijah, P., Indriani, D., & Wardoyo, S. E. (2018). ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN (*Pangasius Sp.*). *Jurnal Sains Natural*, 8(1), 8-23.

Suptijah, P., Jacoeb, A. M., & Deviyanti, N. (2012). Karakterisasi Dan Bioavailabilitas Nanokalsium Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus Vannamei*). *Jurnal Akuatika*, 3(1).

Tamimi, S. M., Agustina, D., & Komariah, C. (2019). SKKD No. 756/UN25. 5.1/TU. 3/2019" Daya Antibakteri Kombinasi Kitosan Cangkang Udang Putih (*Litopenaeus Vannamei*) Dan Siprofloksasin Terhadap *Salmonella Typhi* (Antibacterial Activity Of Combination Of Arhite Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) Shells Chitosan And Ciprofloxacin Against *Salmonella Typhi*)".

Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The Wound Healing Process: An Overview Of The Cellular And Molecular Mechanisms. *Journal Of International Medical Research*, 37(5), 1528-1542.



LAMPIRAN

Lampiran 1 Bukti Penunjang Kegiatan

Proses pembuatan LPS *Porphorymonas gingivalis*

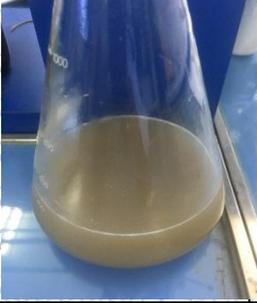
Proses pemisahan
LPS
Porphorymonas
gingivalis

Hasil pemisahan
LPS
Porphorymonas
gingivalis

Persiapan alat dan bahan





		
<p>Perendaman NaOH 0.1 M dengan perbandingan dengan sampel 1:10 dengan aquadest selama 6 jam</p>	<p>Netralisasi menggunakan saringan di cuci dibawah air mengalir hingga pH netral</p>	<p>Dilakukan perendaman menggunakan n-butanol 10% selama 18 jam dengan perbandingan 1:10</p>
		
<p>Netralisasi menggunakan saringan di cuci dibawah air mengalir hingga pH netral kemudian melakukan perendaman pada CH₃COOH 0.5 M</p>	<p>Dilakukan prestisipasi (NaCl 0.9 M 1:1) selama 24 jam kemudian didialisis dengan aquadest 40°C</p>	<p>Bentuk akhir kolagen cair</p>



dengan perbandingan 1:10 selama 24 jam lalu disaring menggunakan kain katun 2 lapis

Pembuatan dan aplikasi topikal gel



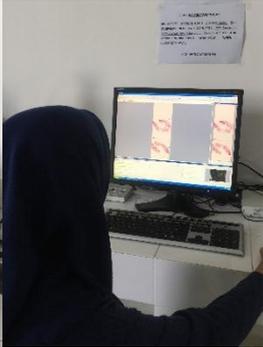
Pencampuran kolagen cair dengan bubuk ekstrak kitosan cangkang udang 100 mesh dalam wadah dengan perbandingan 1:5 : 1

Hasil topikal gel kombinasi kitosan cangkang udang dan kolagen sisik ikan gurame

Aplikasi topikal gel kombinasi kitosan cangkang udang dan kolagen sisik ikan gurame

Pembedahan hewan uji



		
Persiapan alat dan bahan	Dekaputasi rahang dan pengambilan darah hewan uji	Hasil pengambilan sample darah hewan uji
Pengamatan sel pada preparat		
		
Mikroskop untuk dot scan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB	Pengamatan hasil scan dot pada Laboratorium Patologi Anatomi FK UB	

Lampiran 2 Dokumen Penunjang Kegiatan



KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARENCE"

No: 1191-KEP-UB

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SIKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : TOKOGI : PENGARUH TOPIKAL GEL KITOSAN
UDANG KOMBINASI KOLAGEN SIKSI GURAME
TERHADAP GINGIVITIS

PENELITI : NAURAH SHAFIA NABILAH

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAKI ETIK



Malang, 18 Maret 2019
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. drh. Aulann'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

NB. Nama yang terlampir pada sertalitat ini merupakan anggota peneliti

Kode Etik

The screenshot shows the user interface of the Prodentia Journal of Dentistry website. At the top, there is a navigation menu with links for 'TENTANG KAMI', 'BERANDA PENGGUNA', 'CARI', 'TERKINI', 'ARSIP', and 'INFORMASI'. Below the menu, the breadcrumb trail reads 'Beranda > Pengguna > Penulis > Naskah > Penyerahan Aktif'. The main content area is titled 'Penyerahan Aktif' and contains a message: 'Penyerahan naskah sukses. Terima kasih atas partisipasi Anda untuk bergabung bersama PRODENTIA JOURNAL OF DENTISTRY.' followed by a list item '• Penyerahan Aktif'. On the right side, there are several vertical buttons: 'Open Journal Systems', 'Bantuan Jurnal', 'Pengguna', and 'Notifikasi'. The 'Pengguna' button is expanded to show a user profile section with the text 'Anda login sebagai... nnyaa' and a list of options: '• Profil Saya' and '• Log Out'. The 'Notifikasi' button is expanded to show a list item '• Lihat'.

Keterangan submit jurnal



PANITIA PELAKSANA
YOUNG SCIENTIST INTERNATIONAL SEMINAR AND EXPO
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Sekretariat : Gedung UKM RKIM Lantai III Nomor 5, Jl. Veteran
Malang : 65145



Malang, 16 June 2019

Number : 126/YSIS/U.RKIM/VI/2019
Attachment : -
Page : Letter of Acceptance for Journal Publication Script

Dear,

Naurah Shafa N

Thank you for sending scientific articles to be published in Young Scientist International Seminar and Expo with the Title

**TOKOGI: Effects of Topical Gel Extract Chitosan Shrimp Combination of Collagen
Gurame Scales on Gingivitis**

Based on the results, of the articles was declared **ACCEPTABLE** for publication at our seminar.

We will send the edition hardcopy at the end of the month the publication of the article will first be available online at youngscientist.ub.ac.id

Thus this information is conveyed and for your attention, thank you.

Best regards,

ShoraRahmadhani

NIM. 175160101111034

Chief Executive Young Scientist International and Expo 2019

UniversitasBrawijaya

Bukti ikut serta dalam ikut serta pada acara YSIS 2019
(*Young Scientific Internasioanl Seminar and Expo*)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Jalan Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp : 62-41-575874, 575825, 584191 Fax : 62-41-575825, 575828
http : lppm.ub.ac.id E-mail : lppm@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor: /UN10.C10/PN/2019

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dr. Ir. Bambang Susilo, MSc. Agr
NIP : 196207191987011001
Jabatan : Ketua LPPM Universitas Brawijaya

Menerangkan bahwa:

NO	NAMA	NIM	STATUS
1.	Naurah Shafa Nabiilah	175160101111006	Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
2	Inas Shofiah	175160101111014	Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3	Salsabila Aulia Putri	185160100111011	Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

Telah mengajukan pendaftaran paten sederhana di Sentra HKI Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Brawijaya dengan judul: '**Topikal Gel KOLagen Sisik Gurame KOMBINASI Kitosan Udang Terhadap Gingivitis**'. Pengajuan ini untuk tujuan mengikuti pelaksanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 5 Bidang yang didanai DIKTI 2018.

Demikian surat keterangan ini kami buat, untuk digunakan dengan sebaik-baiknya.

Malang, 21 Juni 2019


Ketua LPPM

Dr. Ir. Bambang Susilo, MSc. Agr
NIP: 196207191987011001

Surat Keterangan pengajuan pendaftaran paten

SURAT KETERANGAN PEMERIKSAAN KESEHATAN HEWAN

Nomor: 524.3/067/35.73.309/2019

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan signalement :

Hewan / Signalement	1
Spesies	RAT
Ras	WISTAR
Jumlah	25 ekor
Kelamin	Jantan
Warna bulu	Putih

Owner Farm.

Nama : Dhanny Kurniawan
Alamat : Perum Bumi Mondoroko Raya Blok GO1 nomer 36
Singosari Malang
Telpon : 081252500799, 085755511102

Penerima Hewan

Nama : Sdri. Naurah Shafa N.
Alamat : Fakultas Kedokteran Gigi UNIBRAW

Tujuan Pengiriman : Experiment Animal

Terhadap hewan tersebut diatas pada tanggal 20 Juni 2019 telah kami periksa dalam keadaan sehat (tidak menunjukkan adanya gejala penyakit hewan menular).

Surat keterangan ini dikeluarkan untuk 1 (satu) kali/pake pengiriman dan berlaku sampai dengan tanggal 27 Juni 2019.

a.n. Kepala Dinas Pertanian Kota Malang
Kepala Bidang Peternakan dan
Kesehatan Hewan

drh. ANTON PRAMUJONO
Pembina
NIP. 19691002 199703 1 007

Surat Keterangan Pemeriksaan Kesehatan Hewan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM JURUSAN BIOLOGI

Alamat : Gedung D11 FMIPA UNNES Kampus Sekaran Gunungpati Semarang 50229
website : biologi.unnes.ac.id, email : labbioologi.unnes@yahoo.com

No. : /UN/37.1.4.5/LT/2019
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi hewan

Kepada Yth.

Sdr. Naura Shafa Nabillah - NIM : 17516010111006
Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi hewan yang Saudara kirimkan ke Laboratorium Taksonomi Hewan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES), adalah sebagai berikut.

SPEKIMEN I :

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Classis : Malacostraca
Ordo : Decapoda
Familia : Penaidae
Genus : *Litopenaeus*
Spesies : *Litopenaeus vannamei*
(Boone,1931)
Nama local : Udang putih

SPEKIMEN II :

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Classis : Osteichtyes
Ordo : Perciformes
Familia : Osphronemidae
Genus : *Osphronemus*
Spesies : *Osphronemus goramy*
(Roberts,1992)
Nama local : Ikan Gurami

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Semarang, 10 April 2019

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Biologi FMIPA UNNES

Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP. 196511161991032001

Kepala laboratorium Biologi

Dr. Ning Setiati, M.Si.
NIP. 195903101987032001

Hasil Uji Taksonomi

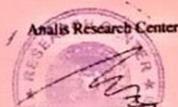


KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
RESEARCH CENTER

Jalan Mayjen. Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132 Telp. (031) 5030255, Fax (031) 5020256
Website : <http://www.fkg.unair.ac.id> – E-mail : fkgsa.skrt@gmail.com

SURAT PERNYATAAN

Menerangkan bahwa stock *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Research Center FKG Unair sudah terkarakterisasi sebagai *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 melalui pemeriksaan pengecatan gram dan uji biokimiawi.



Eta Radhianto, A.Md
NIK. 198409262018013101

Penanggung Jawab :
Dr. Retno Puji Rahayu, drg., M.Kes.
NIP. 195911141986032002

UNIVERSITAS NEGERI MALANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM MINERAL DAN MATERIAL MAJU (LABORATORIUM SENTRAL)Jalan Semarang 3, Malang 65145
Telp. 0341-551312 (psw 200) 574895; 08106001088
E-mail : laboratoriumsentralum@yahoo.co.id
Website : central-laboratory.um.ac.idLAPORAN HASIL UJI
LSUM.LHU.F.00391.2019

Customers : Nauran Shara N. – FKG UB
Contact Customer : 081334142256/ email : nasyanaurah31@gmail.com
Methods : IK.F.1
Test Equipment : FT IR
Received Date : Mei 22, 2019
Order Number : LHU.P.00645.2019

SPECIMEN DESCRIPTION

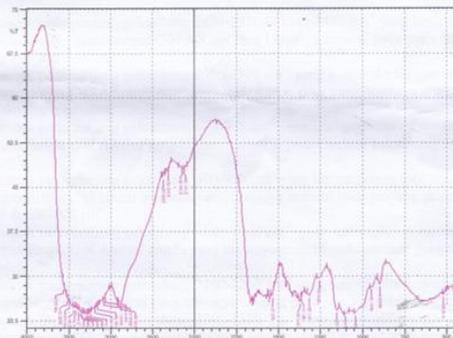
Condition of Samples : Sampel serbuk kuning dalam plastik klip
Sample Code : F 429
Material Name : Chitosan 100 mesh
Measurement time : Juni 12, 2019

OPERATOR, ANALYZER & SUPERVISOR

Analyzer : Mailinda A.H., S.Si
Supervisor : Dra. Surjani Wonorahardjo, Ph.D.

RESULTS

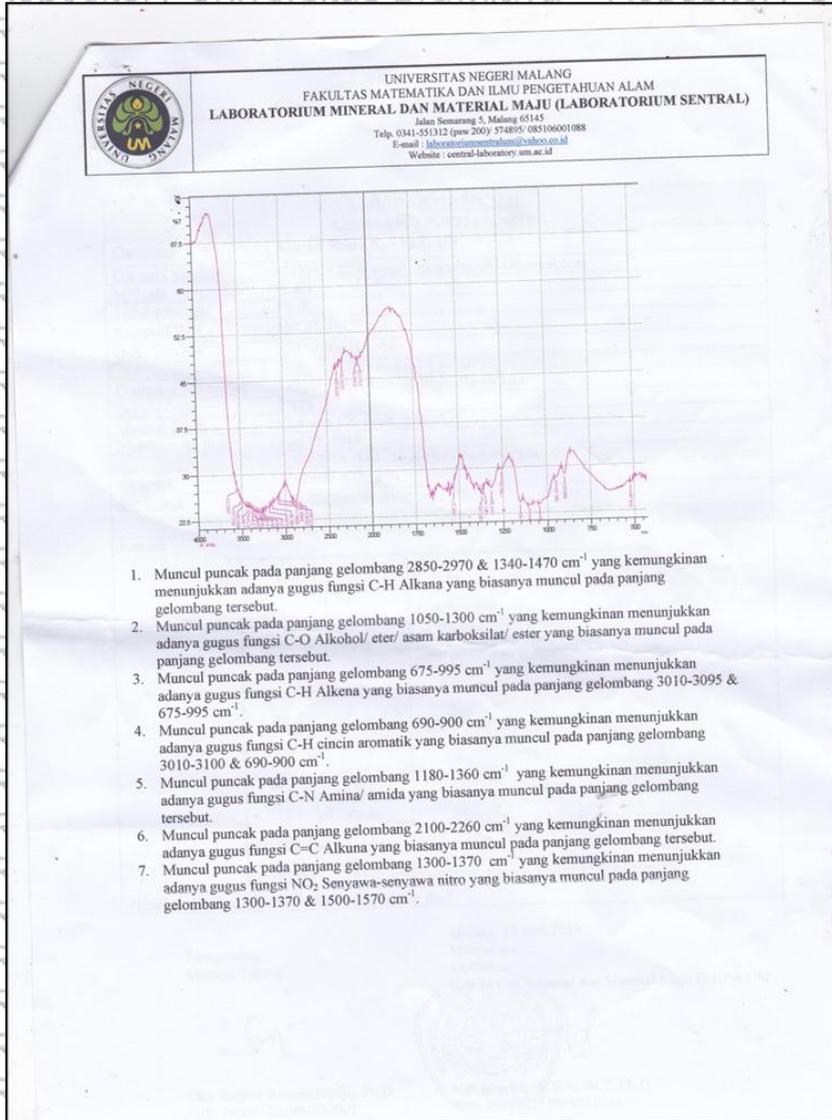
Remark :



*Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang diuji

Mengetahui,
Manajer TeknisDra. Surjani Wonorahardjo, Ph.D.
NIP. 196605281991032001Malang, 14 Juni 2019
Menyetujui
a.n. Dekan
Kepala Lab. Mineral dan Material Maju FMIPA UMNaldang Mulyo, S.Si, M.T, Ph.D
NIP. 197208152005011001

Hasil Uji FTIR Serbuk Kitosan



Hasil Uji FTIR Serbuk KITOSAN 2

Lampiran 3 Hasil Statistika

1. Deskriptif

Statistics					
		Kontrol Negatif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
N	Valid	4	4	4	4
Mean		3.00	.50	1.25	2.50
Median		3.00	.50	1.00	2.50
Mode		3	0 ^a	1	2 ^a
Range		0	1	1	1
Minimum		3	0	1	2
Maximum		3	1	2	3

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Kontrol Negatif

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Baik	4	25.0	100.0	100.0

Perlakuan 1

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tidak ada	2	12.5	50.0	50.0
	Rendah	2	12.5	50.0	100.0
	Total	4	25.0	100.0	

**Perlakuan 2**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Rendah	3	18.8	75.0	75.0
	Sedang	1	6.3	25.0	100.0
	Total	4	25.0	100.0	

Perlakuan 3

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Sedang	2	12.5	50.0	50.0
	Baik	2	12.5	50.0	100.0
	Total	4	25.0	100.0	

2. UJI KOMPARATIF PARAMETRIK >2 KELOMPOK 1x PENGUKURAN – KRUSKAL-WALLIS TEST

Nonparametric Tests**Independent-Samples Kruskal-Wallis Test****Independent-Samples Kruskal-Wallis Test Summary**

Total N	16
Test Statistic	12.847 ^a
Degree Of Freedom	3
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.005

a. The test statistic is adjusted for ties.

Pairwise Comparisons of Kelompok

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig. ^a
Perlakuan 1-Perlakuan 2	-2.750	3.215	-.855	.392	1.000
Perlakuan 1-Perlakuan 3	-8.000	3.215	-2.489	.013	.077
Perlakuan 1-Kontrol Negatif	10.250	3.215	3.189	.001	.009
Perlakuan 2-Perlakuan 3	-5.250	3.215	-1.633	.102	.615
Perlakuan 2-Kontrol Negatif	7.500	3.215	2.333	.020	.118
Perlakuan 3-Kontrol Negatif	2.250	3.215	.700	.484	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

Pada kolom sig terdapat nilai p value, jika nilai < 0.05 = ada perbedaan bermakna/signifikan antar kelompok. Nilai dari Kruskal wallis 0.005, yang berarti ada perbedaan bermakna/signifikan antar kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda signifikan maka diperlukan uji lanjutan yaitu multiple/pairwise comparison, di table pairwise comparison dapat dilihat pada kolom sig, jika nilai < 0.05 , maka ada perbedaan signifikan antar kelompok. Hasil antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 menunjukkan adanya perbedaan bermakna/signifikan, sedangkan dengan perlakuan 3 tidak ada perbedaan bermakna/signifikan, yang berarti pemberian topical gel dengan dosis 0.1 dan 0.2ml memberikan pengaruh signifikan terhadap kerapatan serabut kolagen.