

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Defek pada tulang alveolar merupakan keadaan yang sering terjadi dalam rongga mulut yang terjadi akibat dari penyakit infeksi maupun trauma. Selanjutnya defek alveolar akan memicu proses penyembuhan untuk mengembalikan struktur anatomi dan fisiologi tulang kembali seperti semula. Untuk melakukan evaluasi proses penyembuhan pada tulang alveolar dapat dilakukan dengan pemeriksaan radiografi untuk melihat kepadatan tulangnya.

Kerusakan pada tubuh dapat terjadi di mana saja tanpa terkecuali tulang. Tulang dapat mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh adanya infeksi, trauma, kelainan pada saat lahir, maupun neoplasma. Dalam bidang kedokteran gigi, defek tulang yang paling sering dijumpai diakibatkan oleh infeksi, tumor dan pasca proses ekstraksi (Indrani dkk.,2018). Tulang yang mengalami kerusakan pasti akan mengalami penurunan fungsi. Maka dari itu, untuk mengembalikan fungsinya kembali dibutuhkan proses penyembuhan tulang yang sempurna. Proses penyembuhan tulang terdiri dari beberapa tahap, yaitu fase *inflamasi*, *proliferasi*, dan *remodeling* (Pradnyanandini, 2023). Proses penyembuhan tulang ini dimulai dari fase *inflamasi* yang berlangsung setelah terjadinya luka sampai hari ketujuh. Proses kontriksi dan retriksi pembuluh darah yang putus disertai dengan reaksi hemostasis berupa agregasi trombosit dan jala fibrin yang melakukan pembekuan darah untuk mencegah kehilangan darah. Fase *proliferasi* berlangsung selama dua minggu. Fase ini disebut juga sebagai fase *granulasi* karena terdapat pembentukan

jaringan *granulasi* sehingga luka tampak berwarna merah segar dan mengkilat. Fase *remodeling* yang berlangsung dari beberapa minggu sampai berbulan-bulan berupaya memulihkan struktur jaringan normal. Pada fase ini, tanda inflamasi menghilang, terjadi penyerapan sel radang, pematangan sel muda, serta penutupan dan penyerapan kembali kapiler baru (Naziyah dkk.,2022). Penyembuhan luka adalah proses biologis yang kompleks, terdiri dari serangkaian kejadian berurutan yang bertujuan untuk memperbaiki jaringan yang terluka. Komponen matriks ekstraseluler memainkan peran penting dalam regulasi semua fase perbaikan jaringan, termasuk migrasi sel, *inflamasi*, angiogenesis, *remodeling*, dan pembentukan jaringan parut. Penelitian telah mengungkapkan bahwa Asam Hialuronat (AH) tidak hanya menyediakan lingkungan mikro luka, tetapi juga terlibat dalam berbagai jalur pensinyalan yang diaktifkan di dasar luka selama proses penyembuhan. Asam Hialuronat yang merupakan komponen matriks ekstraseluler dasar dengan beberapa sifat unik yang menjadikannya pemain kunci dalam regenerasi jaringan (Litwiniuk dkk., 2016).

Asam Hialuronat memainkan peran yang beragam di semua tahap penyembuhan luka. Asam Hialuronat meningkatkan sintesis jaringan pada fase *inflamasi* awal perbaikan luka. Asam Hialuronat meningkatkan infiltrasi sel dan membantu dalam mobilisasi sitokin proinflamasi penting seperti TNF- α dan interleukin. Pada tahap awal, jaringan granulasi didominasi oleh matriks ekstraseluler kaya Asam Hialuronat. Selama pembentukan jaringan granulasi ini, Asam Hialuronat yang diproduksi secara lokal memfasilitasi *proliferasi* dan migrasi sel ke matriks luka sementara. Asam Hialuronat juga memainkan peran utama dalam organisasi matriks jaringan granulasi melalui *receptor for HA-mediated*

motility (RHAMM). Di fase selanjutnya terjadi stabilisasi granulasi matriks jaringan asam menstabilkan matriks hialuronat dengan membersihkan radikal bebas dengan sitokin proinflamasi, yang mencegah kerusakan dari matriks ekstra seluler. Akhirnya, di tahap *proliferasi* penyembuhan luka, Asam Hialuronat menopang keratinosit basal yang keduanya berkaitan dengan dukungan dan regulasi seluler (Schneider & Landsman 2019). Asam Hialuronat merupakan komponen dari matriks ekstraseluler. Banyak didapatkan dengan kadar tinggi dalam kulit, cairan sinovial sendi, mata, tulang rawan, tali pusat, jaringan ikat longgar dan jaringan periodonsium. Di dalam jaringan periodonsium terbanyak didapatkan dalam jaringan yang tidak termineralisasi seperti gingiva dan ligamen periodontal, namun hanya sedikit didapatkan dalam jaringan yang termineralisasi seperti sementum dan tulang alveolar. Asam Hialuronat turut berperan dalam mempertahankan keutuhan struktur maupun fungsi fisiologis jaringan ikat gingiva dan ligament periodontal. Asam Hialuronat juga terkandung dengan kadar lebih rendah dalam cairan tubuh, seperti serum darah, saliva, dan cairan krevikular gingiva (Last & Embery 1987). Asam Hialuronat termasuk golongan *glycosaminoglycan* (GAG), yaitu suatu senyawa karbohidrat kompleks dengan berat molekul tinggi, terdiri dari unit-unit disakarida yang mengandung gula amin dan asam uronat. Asam Hialuronat mempunyai banyak peran, antara lain sebagai bahan kimiawi anti inflamasi, anti edema, dan mengurangi infiltrat pada penyakit periodontal. Sebagai bahan anti inflamasi, Asam Hialuronat berpotensi meningkatkan respons tubuh terhadap inflamasi, memfasilitasi pempungian sel-sel inflamasi termasuk proses migrasi dan perlekatan pada daerah inflamasi, fagositosis dan mematikan mikroorganisme. Sedangkan efek anti edema dihasilkan dari aktivitas mitotiknya. Asam Hialuronat

juga berfungsi sebagai pembersih mekanik, pelumas untuk melindungi mukosa mulut dari trauma pengunyahan. Sehingga diharapkan Asam Hialuronat dapat membantu mempercepat penyembuhan dan perbaikan jaringan periodonsium secara alami pada penderita penyakit periodontal (Last & Embury 1987).

Selain radiografi pengembangan digital sekarang sudah bisa mengakses *software* yang sederhana yaitu *Image-J*. *Image-J* merupakan *software* yang banyak digunakan dalam penelitian menggunakan *image processing*. Saat ini *software Image-J* yang memiliki menu untuk *image*, *process* dan *analyze* serta berbagai fitur untuk menganalisis partikel, *thresholding* dan histogram statistik. Gambaran radiolusen pada periapikal menunjukkan terjadinya destruksi sesudah dilakukan perawatan, penambahan matriks tulang dan fibrous akan mengubah tingkat kepadatan dengan meningkatkan absorpsi sinar X. *Image-J* adalah *software* gratis (*free-Software*) untuk pengolahan gambar digital berbasis Java yang dibuat oleh Wayne Rasband dari *Research Services Branch*, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA. Penggunaan *Image-J* dalam analisis gambar digital telah digunakan secara luas dalam bidang kesehatan. Karena kemampuannya untuk membaca dan menulis gambar dari berbagai format, *Image-J* populer di berbagai bidang sains. Ini digunakan untuk memproses gambaran radiologi, gambar mikroskop, gambar multi-modalitas, dll. Gambar tersedia di sebagian besar sistem operasi umum seperti Microsoft Windows, MacOSX dan Linux (Astuti dkk., 2021). Dari hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan densitas tulang alveolar sebelum dan sesudah perawatan kuretase menggunakan *software Image-J* pada periodontitis kronis yang artinya bahwa *software Image-J* dapat membaca gambaran radiografi pada kasus periodontitis. Pada hasil penelitian yang telah

menunjukkan bahwa selama perawatan kuretase terdapat adanya proses pembentukan tulang yang terjadi sehingga didapatkan hasil signifikan antara sebelum dan sesudah perawatan kuretase, hal ini sejalan dengan penelitian (Lestari dkk., 2017). Yang mengatakan jika kepadatan tulang menurun, maka akan terbentuk perforasi yang mengindikasikan bahwa trabekula tulang tidak terkoneksi dengan baik. Dengan demikian semakin rendah kepadatan tulang maka akan terbentuk perforasi yang lebih banyak. Prinsip deteksi osteoporosis pada radiografi adalah peningkatan radiolusensi, perubahan mikrostruktur tulang yang meliputi pembentukan lubang (porositas) trabekula, dan penipisan korteks yang pada akhirnya berakibat pada perubahan morfologi tulang, yaitu perubahan bentuk dan fraktur (Astuti dkk., 2021).

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui Perbedaan Kepadatan Tulang Alveolar Pada Fase Proliferasi Pasca Pemberian Asam Hialuronat Gel 0,8% Pada Defek Alveolar Mandibula Tikus Wistar Dengan *Image-J*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan suatu masalah yaitu bagaimana analisis kepadatan tulang alveolar pada fase proliferasi pasca pemberian asam hialuronat gel 0,8% pada defek alveolar mandibula tikus wistar dengan *Image-J*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui Perbedaan Kepadatan Tulang Alveolar Pasca Defek Mandibula.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah dapat mengetahui Analisis Kepadatan Tulang Alveolar Pada Defek Mandibula Setelah Pemberian Asam Hialuronat 0,8% Pada Tikus Wistar Di Hari Ke-14 Dengan *Image-J*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat memberikan pengetahuan dan dapat dijadikan informasi atau referensi mengenai Analisis Kepadatan Tulang Alveolar Pada Defek Mandibula Setelah Pemberian Asam Hialuronat 0,8% Pada Tikus Wistar Di Hari Ke-14 dengan *Image-J*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menambah pengetahuan pembaca mengenai teknologi perkembangan zaman sekarang yang dapat membantu wawasan ilmu pengetahuan kita tentang Analisis Kepadatan Tulang Alveolar Pada Defek Mandibula Setelah Pemberian Asam Hialuronat 0,8% Pada Tikus Wistar Di Hari Ke-14 dengan *Image-J*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam Hialuronat

2.1.1 Definisi Asam Hialuronat

Asam Hialuronat (AH) merupakan komponen jaringan ikat dan juga ditemukan di gingiva. Asam Hialuronat telah dipelajari sebagai metabolit atau penanda peradangan pada cairan sulkus gingiva serta faktor penting dalam pertumbuhan, perkembangan, dan perbaikan jaringan. Karena berat molekulnya yang tinggi, Asam Hialuronat merangsang penyembuhan dini dan pembentukan dentin reparatif. Hanya sedikit penelitian yang meneliti efek hialuronan pada kesehatan gingiva. Lebih sedikit yang diketahui tentang efek pemberian hialuronan subgingiva pada periodontitis (Polepalle dkk., 2015).

Asam Hialuronat atau *Hyaluronic Acid* (HA) adalah polimer alami dan tidak bercabang yang termasuk dalam kelompok heteropolisakarida bernama *Glikosaminoglikan* (GAG) yang tersebar di jaringan epitel, jaringan ikat, dan jaringan saraf manusia, dan hewan, di dalam tubuh manusia kandungan total Asam Hialuronat adalah sebesar 15 g untuk setiap 70 kg berat badan manusia. Sekitar 50% dari total Asam Hialuronat berada pada kulit baik pada bagian dermis maupun epidermis. Asam Hialuronat juga tersebar pada cairan sendi sinovial, badan uterus mata, dan tali pusat (Fallacara dkk., 2018).

Asam Hialuronat bekerja sesuai dengan dua mekanisme dasar yaitu bertindak sebagai molekul struktural pasif dan sebagai molekul pemberi sinyal/isyarat. Mekanisme pasif terkait dengan sifat fisika-kimiawi dari Asam Hialuronat dengan berat molekul tinggi, karena ukuran makromolekulnya ditandai

dengan higroskopisitas dan viskoelastisitas, Asam Hialuronat mampu mengatur penggabungan air dengan jaringan, keseimbangan osmotik, sifat fisik matriks ekstraseluler, dan menyusun ruang ekstraseluler yang terhidrasi dan stabil di mana sel, kolagen, serat elastin dan komponen matriks ekstraseluler lainnya dipertahankan dengan kuat (Fallacara dkk., 2018).

2.1.2 Penggunaan Asam Hialuronat

Asam Hialuronat memiliki efek anti *inflamasi* yang disebabkan oleh aksi hialuronat eksogen dengan cara membersihkan prostaglandin, metalloproteinases, dan molekul bioaktif lainnya. Asam Hialuronat juga memiliki efek anti edema yang berhubungan dengan aktivitas osmotik, karena akselerasinya dalam penyembuhan jaringan sehingga Asam Hialuronat dapat digunakan sebagai tambahan untuk terapi mekanis (Amit dkk., 2016).

Asam Hialuronat telah digunakan dalam bidang medis selama bertahun-tahun antara lain sebagai dermal filler di bidang dermatologi kosmetik, pengobatan osteoarthritis dan rheumatoid arthritis, pengobatan katarak dan xerophthalmia. Asam Hialuronat diteliti sebagai obat agen penghantar untuk berbagai rute pemberian oftalmikus, nasal, paru-paru, parenteral dan topikal. Sifat Asam Hialuronat yang sangat biokompatibel dan non imunogenik digunakan dalam sejumlah aplikasi klinis meliputi suplementasi cairan sendi pada arthritis, sebagai penyokong dalam bedah mata, memfasilitasi penyembuhan dan regenerasi tulang, luka operasi dan jaringan periodonsium (Amit dkk., 2016).

Asam Hialuronat memiliki sifat biofisik yang baik seperti tingginya viskositas dan juga elastisitas. Zat tersebut juga bersifat antibakteri, antijamur, anti radang, dapat menginduksi osteogenesis dan juga progiogenetik. Asam Hialuronat

dapat didapatkan dari melakukan ekstraksi dari jaringan hewan (biasanya diambil dari rooster combs) atau dari beberapa untaian bakteri yang biasanya memproduksi Asam Hialuronat seperti *Streptococcus zooepidemicus* atau dapat dimodifikasi secara genetik agar dapat memproduksi Asam Hialuronat seperti *bacillus*, *agrobacterium*, *escherichia coli* dan *lactococcus*. Konsentrasi yang berbeda-beda serta berat molekul Asam Hialuronat yang berbeda akan memancing respon sel yang berbeda-beda. Pada umumnya, Asam Hialuronat yang memiliki berat molekul yang tinggi (>5 juta Da) memiliki sifat anti angiogenik dan juga efek immunisupresif. Pada yang berat molekul sedang (2×10^4 – 1 juta Da) diasosiasikan dengan proses biologis seperti embriogenesis, penyembuhan luka dan juga regenerasi. Ukuran kecil Asam Hialuronat (6×10^3 Da– 2×10^4 Da) diasosiasikan dengan proses seluler yang berbeda seperti pro-inflammatory, angiogenesis dan gene expression. Untaian kecil dari Asam Hialuronat akan berperan sebagai penginduksi dari heat shock proteins dan juga agen antiapoptotic (Tandjaja, 2024).

Dalam ilmu kedokteran, Asam Hialuronat tersebut tersedia dalam berbagai bentuk dan juga konsentrasi seperti spray dan juga obat kumur yang memiliki konsentrasi 0,01%, lalu sediaan berbentuk gel dengan konsentrasi 0,2% dan juga 0,8%. Pada konsentrasi yang rendah, yaitu 0.2%, Asam Hialuronat biasanya digunakan untuk mengobati lesi oral ataupun diberikan pada margin gingiva setelah dilakukan perawatan skeling dan juga root planing. Pada lesi yang lebih berat, seperti merawat poket periodontal yang dalam pada pasien periodontitis dan juga untuk pasien pasca pencabutan gigi, Asam Hialuronat biasanya diberikan dalam bentuk suntikan dengan konsentrasi 0.8%. Metode tersebut digunakan untuk

mencegah terjadinya disolusi dari bahan materi ke dalam rongga mulut (Tandjaja, 2024).

2.1.3 Peran Fisiologis Asam Hialuronat

Asam Hialuronat adalah senyawa *glikosaminoglikan* (GAG) non-sulfat alami dengan berat molekul tinggi yang tersusun dari D-glukuronat dan N-asetilglukosamin. Senyawa ini juga merupakan komponen matriks ekstraseluler yang memiliki peran penting dalam morfogenesis dan penyembuhan jaringan. Asam Hialuronat merupakan polisakarida linear dari matriks ekstraseluler yang sering ditemukan dalam jaringan ikat, cairan sinovial, sel mesenkim embrionik, humor vitreus, kulit, serta berbagai jaringan atau organ lain dalam tubuh. Asam Hialuronat memiliki sifat biofisik yang baik, seperti viskositas dan elastisitas yang tinggi. Selain itu, senyawa ini juga menunjukkan berbagai sifat lain, termasuk antibakteri, antijamur, antiinflamasi, osteogenesis (pembentukan tulang), dan proangiogenetik (mendorong pembentukan pembuluh darah baru). Lebih jauh lagi, Asam Hialuronat terlibat dalam beberapa proses biologis penting seperti mediasi dan transduksi sinyal, pengaturan adhesi dan proliferasi sel, serta diferensiasi sel (Zhao dkk., 2016).

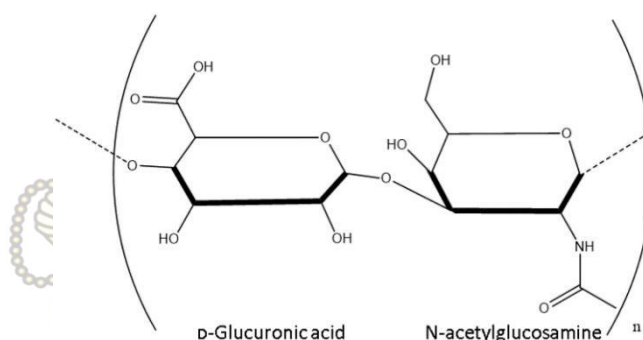
Asam Hialuronat dengan berat molekul tinggi memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan yang lebih kuat dibandingkan dengan Asam Hialuronat yang memiliki berat molekul rendah. Peningkatan berat molekul dan konsentrasi akan meningkatkan viskositas serta viskoelastisitas Asam Hialuronat. Asam Hialuronat dengan berat molekul tinggi juga diduga memiliki efek antiinflamasi yang dapat mempercepat proses penyembuhan (Fallacara dkk., 2018).

Komponen ini memiliki kemampuan untuk meningkatkan dan menstabilkan ikatan ligan dengan reseptornya, serta mengaktifkan faktor pertumbuhan yang mengatur proses-proses penting dalam penyembuhan luka, seperti proliferasi, diferensiasi, migrasi, dan sintesis protein matriks ekstraseluler. Salah satu faktor pertumbuhan utama yang berperan dalam penyembuhan luka adalah Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) (Putra dkk., 2016).

Anggota dari superkeluarga TGF- β , yaitu Bone Morphogenetic Proteins (BMPs), juga berperan penting dalam proses ini. Proses transduksi sinyal dari BMP dimulai dengan ikatan ligan dengan reseptor tipe I dan II yang merupakan reseptor serin/treonin kinase. Ikatan ini mengaktifkan reseptor tipe I melalui fosforilasi, yang selanjutnya memfosforilasi protein SMAD1, SMAD5, atau SMAD8 (dikenal sebagai R-SMADs). R-SMAD yang terfosforilasi kemudian berasosiasi dengan SMAD4 (co-SMAD) membentuk kompleks yang translokasi ke inti sel. Di dalam inti, kompleks SMAD ini berfungsi sebagai faktor transkripsi yang mengatur ekspresi gen target yang terlibat dalam proses penyembuhan luka, termasuk produksi matriks ekstraseluler dan diferensiasi sel. Proses transduksi sinyal melalui jalur SMAD ini bersifat lambat dan memerlukan waktu yang cukup lama, namun sangat penting dalam mengatur homeostasis jaringan dan proses regenerasi. Selain jalur SMAD, BMP juga dapat mengaktifkan jalur non-SMAD, seperti p38 MAPK, yang berkontribusi pada proses penyembuhan luka melalui mekanisme yang berbeda namun saling melengkapi. Secara keseluruhan, BMP dan TGF- β memainkan peran sentral dalam penyembuhan luka dengan mengatur berbagai proses seluler melalui jalur transduksi sinyal yang kompleks dan terkoordinasi (Wu dkk., 2018).

2.1.4 Struktur Fisik dan Kimia Asam Hialuronat

Asam Hialuronat (AH) adalah polimer anionik yang terdiri dari unit disakarida asam D-glukuronat dan N-asetil-D-glukosamin, yang dihubungkan melalui ikatan glikosidik $\beta(1\rightarrow4)$ dan $\beta(1\rightarrow3)$ (Selyanin dkk., 2015) (Gambar 1).



Gambar 2. 1 Struktur Disakarida Asam Hialuronat (Selyanin dkk., 2015).

Asam Hialuronat terkenal karena sifat viskoelastiknya yang tidak biasa, yang disebabkan oleh interaksi antar rantai melalui ikatan hidrogen. Makromolekul Asam Hialuronat paling baik digambarkan sebagai bola hidrasi. Dalam konformasi terpanjangnya, Asam Hialuronat menunjukkan viskositas tertinggi dalam larutan berair. Seiring dengan meningkatnya konsentrasi Asam Hialuronat dalam larutan berair, viskositasnya juga meningkat akibat anyaman rantai dan pembentukan matriks tiga dimensi. Hal ini menjadi dasar dari proses gelasi; meskipun demikian, garam dapat ditambahkan sebagai modifikasi viskositas untuk memfasilitasi penggunaan larutan dengan konsentrasi tinggi (Selyanin dkk., 2015).

Asam Hialuronat adalah polimer yang sangat hidrofilik. Setiap disakarida mengandung komponen asam karboksilat yang terdisosiasi pada pH fisiologis, meningkatkan sifat polianionik dari polisakarida tersebut. Karena perilaku

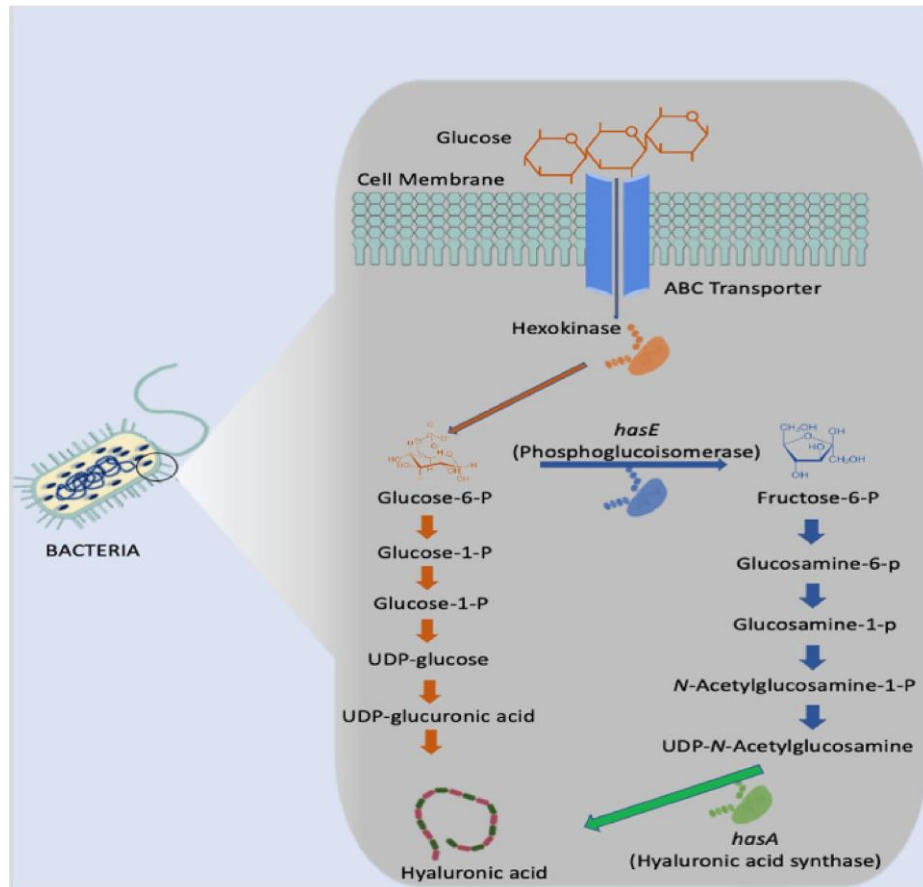
polianioniknya ini, beberapa ion logam dapat terikat pada cangkang hidrasi, menghasilkan peningkatan volume hingga seribu kali lipat dan pembentukan seribu matriks hidrasi yang terkemas lemah. Hal ini menjadi dasar dari fungsi fisiologis Asam Hialuronat, seperti karakteristik reologinya, elastisitas, kapasitas penyembuhan luka, pelumasan sel, dan juga menjelaskan keterlibatan Asam Hialuronat sebagai komponen struktural dari matriks ekstraseluler (Snetkov dkk.,2020).

2.1.5 Sintesis Asam Hialuronat

Asam Hialuronat merupakan satu-satunya mukopolisakarida yang tidak disintesis oleh aparat Golgi. Meskipun memiliki struktur yang relatif sederhana, Asam Hialuronat memiliki berbagai peran fisiologis penting pada manusia dan hewan. Asam Hialuronat dapat diisolasi dari sumber hewani seperti jengger ayam jantan, atau dari bakteri tertentu seperti *Streptococcus*. Namun, pemurnian dari sumber-sumber tersebut sulit dilakukan karena adanya variabilitas alami pada hewan dan keberadaan endotoksin pada spesies *Streptococcus*. Sumber utama Asam Hialuronat komersial untuk industri berasal dari hewan atau mikroorganisme (Sze dkk.,2016).

Sintesis Mikrobial pada bakteri, seperti genus *Streptococcus*, terdapat tiga gen utama yang diperlukan untuk sintesis Asam Hialuronat, yaitu hasA, hasB, dan hasC. Gen - gen ini tergabung dalam sebuah operon yang disebut operon *has*. Proses biosintesis Asam Hialuronat dimulai dengan konversi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat melalui enzim heksokinase (Gambar 2). Glukosa-6-fosfat kemudian menjadi prekursor utama dalam jalur biosintesis ini. Setelah tahap awal ini, terdapat dua

jalur berbeda yang menghasilkan dua blok bangunan utama Asam Hialuronat: asam glukuronat dan N-asetilglukosamin (Yao dkk.,2021).



Gambar 2. 2 Sintesis Asam Hialuronat secara mikroba pada *Streptococcus* (Yao dkk.,2021).

Namun, bakteri *Streptococcus* dikenal menghasilkan beberapa endotoksin yang dapat membuat Asam Hialuronat yang dihasilkan tidak cocok untuk digunakan pada manusia. Selain itu, media pertumbuhan yang mahal dan kesulitan dalam mengontrol proses fermentasi menjadikan genus ini kurang ideal untuk produksi Asam Hialuronat secara komersial (Sze dkk.,2016).

Untuk mengatasi permasalahan produksi Asam Hialuronat oleh *Streptococcus*, para peneliti telah menyelidiki strain bakteri lain yang umumnya dianggap aman *Generally Recognized As Safe* (GRAS) dan merekayasa mereka

untuk produksi Asam Hialuronat. Salah satu strain tersebut adalah *Lactococcus lactis*. Dengan menggunakan operon biosintesis Asam Hialuronat dan penanda seleksi *lacF*. Dalam penelitian tersebut, operon biosintesis Asam Hialuronat dari *Streptococcus zooepidemicus* diperkenalkan ke dalam *L. lactis* menggunakan sistem ekspresi yang dikendalikan oleh nisin *Nisin-controlled Expression System* (NICE). Hasilnya, *L. lactis* rekombinan berhasil mensintesis Asam Hialuronat. Selain itu, overekspresi enzim endogen yang mengarahkan sintesis prekursor gula efektif meningkatkan produksi Asam Hialuronat, dan meningkatkan pasokan donor monosakarida yang teraktivasi *User Datagram Protocol* (UDP) membantu sintesis polisakarida Asam Hialuronat monodisperse. Selain strain inang *Generally Recognized As Safe* (GRAS) (*L. lactis*) dan sistem *Network For International Clinical Epidemiology* (NICE), penanda seleksi (*lacF*) dari strain rekombinan juga bersifat food grade. Oleh karena itu, Asam Hialuronat yang diproduksi oleh *L. lactis* rekombinan mengatasi masalah yang terkait dengan *Streptococcus* dan menyediakan sumber Asam Hialuronat food grade yang sesuai untuk aplikasi bioteknologi yang luas. Dengan menggunakan sistem ekspresi yang dikendalikan oleh nisin dan penanda seleksi *lacF* yang bersifat food grade, *L. lactis* rekombinan menawarkan alternatif yang lebih aman dan efisien untuk produksi Asam Hialuronat dibandingkan dengan metode tradisional yang menggunakan *Streptococcus* (Sheng dkk.,2015).

2.1.6 Sifat Biologis Asam Hialuronat

Asam Hialuronat memiliki berbagai fungsi penting dalam matriks ekstraseluler (ECM) karena kemampuannya untuk mengikat sel dan komponen biologis lainnya melalui ikatan spesifik maupun non-spesifik. Molekul dan reseptor

yang berinteraksi dengan Asam Hialuronat terlibat dalam proses transduksi sinyal, seperti molekul aggrecan, versican, dan neurocan; serta reseptor seperti CD44, RHAMM, TSG6, GHAP, ICAM-1, dan LYVE-1. CD44 adalah reseptor permukaan sel yang ditemukan pada berbagai jenis sel, sehingga saat ini dianggap sebagai reseptor utama untuk Asam Hialuronat. Pada tahap awal penyembuhan luka, Asam Hialuronat berperan dalam meningkatkan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-8 melalui mekanisme yang dimediasi oleh reseptor CD44. Proses *inflamasi* juga dapat diperpanjang oleh pelepasan TSG-6, protein pengikat Asam Hialuronat, yang distimulasi oleh $\text{TNF-}\alpha$. Asam Hialuronat juga mempengaruhi perlekatan limfosit yang diaktifasi oleh sitokin pada lapisan endotel. *Proliferasi* sel merupakan fase yang sangat penting dalam penyembuhan luka. Asam Hialuronat sangat diperlukan untuk proses pelepasan fibroblas dari matriks ekstraseluler dan mitosis. Pada tahap awal penyembuhan luka, Asam Hialuronat akan meningkatkan migrasi sel, karena matriks ekstraseluler yang baru terbentuk menyediakan lingkungan yang ideal untuk migrasi melalui reseptor CD44 dan RHAMM. Interaksi antara Asam Hialuronat dan reseptornya diatur dalam sel oleh sitokin. Aktivasi sinyal Asam Hialuronat bergantung pada interaksi simultan antara molekul CD44 dan Asam Hialuronat. Semakin tinggi berat molekul Asam Hialuronat, semakin banyak area ikatan yang tersedia untuk reseptor CD44 (Zhao., 2016).

2.2 Defek Tulang Alveolar Mandibula

2.2.1 Definisi Defek Tulang Alveolar Mandibula

Kerusakan tulang alveolar merupakan suatu proses kompleks yang terjadi pada jaringan pendukung gigi sebagai akibat dari penurunan mineral anorganik

tulang. Berkurangnya mineral anorganik tulang dapat mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang alveolar yang ditandai dengan menurunnya ketinggian dan kepadatan tulang (Ayu, 2018). Apabila terjadi resorpsi berlebih maka pembentukan ketinggian tulang, kepadatan atau keduanya menjadi berkurang (Newman dkk., 2019). Kerusakan tulang alveolar dapat disebabkan oleh faktor lokal penyakit periodontal, trauma from occlusion, maupun adanya gangguan sistemik (Newman dkk., 2019).

Kerusakan tulang yang terjadi pada penyakit periodontal umumnya disebabkan oleh keberlanjutan inflamasi jaringan pendukung gigi karena infeksi bakteri. Infeksi bakteri tersebut dapat menginduksi pembentukan dan aktivasi osteoklas yang mengakibatkan terjadinya peningkatan resorpsi tulang dan penghambatan pembentukan tulang yang berakibat pada kehilangan tulang (Kagiya, 2016). Kerusakan tulang alveolar akibat penyakit periodontal dapat dibedakan menjadi kehilangan tulang vertikal, kehilangan tulang horizontal, osseous craters, kontur tulang bulbous, reversed architecture, ledges, dan keterlibatan furkasi (Newman dkk., 2019). Kerusakan tulang alveolar yang tidak dirawat dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan gigi menjadi goyang dan akibat terburuknya adalah gigi lepas dari soketnya, sehingga diperlukan suatu perawatan komprehensif yang meliputi perawatan non bedah maupun bedah periodontal untuk merawat defek tulang tersebut (Aydinyurt dkk., 2020). Pada perawatan non bedah dan bedah periodontal keberhasilan klinisnya dapat diamati dengan melakukan evaluasi berkurangnya inflamasi, kedalaman poket, serta peningkatan perlekatan klinis (Elakel dkk., 2021).

Bedah flap periodontal merupakan salah satu prosedur terapi yang paling sering digunakan dalam mengatasi defek berupa kerusakan tulang alveolar. Bedah flap terbukti mampu meningkatkan penurunan kedalaman poket dan peningkatan perlekatan klinis, namun dirasa kurang efektif dalam meregenerasi jaringan (Sculean dkk., 2015).

2.2.2 Fase Penyembuhan Defek

Proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa tahap, yaitu fase *inflamasi*, *proliferasi*, dan *remodeling*. Ketiga fase tersebut memiliki rentang waktu penyembuhan luka yang berbeda. Pada fase inflamasi terjadi pelepasan trombosit yang akan mengirimkan sinyal ke host untuk melepaskan makrofag sehingga terjadi absorpsi jaringan nekrotik sekaligus merangsang aktivitas osteoklas. Selain itu, berbagai faktor pertumbuhan akan dilepaskan dari area lokal untuk membantu proses proliferasi dan diferensiasi sel osteoprogenitor seperti Mesenchymal Stem Cell (Hendrijantini dkk., 2021). Fase *inflamasi* merupakan proses fisiologi dasar yang umum terjadi pada semua luka. Secara klinis, *inflamasi* ditandai dengan adanya kemerahan (*rubor*), panas (*calor*), pembengkakan (*tumor*), rasa sakit (*dolor*) dan fungsi yang hilang, ketika luka terjadi dan berlangsung sampai empat atau tujuh hari. Secara umum fase ini bertujuan untuk membuang jaringan yang terkena dampak luka dan mencegah infeksi yang invasif. Fase ini ditandai dengan adanya peningkatan permeabilitas vaskular oleh trombin. Sel yang berperan pada fase ini adalah polymorphonuclear leukocytes (PMNs), platelet, dan makrofag. PMNs bertindak sebagai mediator *inflamasi*, sementara makrofag akan bertindak mengatasi bakteri pada luka. Proses ini dimulai dengan hemostasis, deposisi platelet, dan interaksi dari mediator dan growth factor dengan matriks ekstraselular.

Selanjutnya terjadi fase *proliferasi* dapat diperhatikan dengan adanya epitelisasi, angiogenesis, dan *proliferasi* fibroblast dimulai pada hari ketiga setelah luka dan berlangsung selama sekitar 2 minggu setelahnya (Nurwahida, 2022).

Fase *proliferasi* atau epitelisasi dapat ditandai dengan adanya jaringan granulasi pada daerah luka yang terdiri dari jaringan kapiler, fibroblas, dan makrofag. Epitelisasi distimulasi oleh inflammatory cytokins 1, IL-1, dan TGF- α . Fase ini juga ditandai oleh adanya produksi kolagen pada luka. Luka tetap mengalami *inflamasi*, tetapi tidak seperti pada fase satu. Bekas luka akan terlihat meninggi, merah, dan keras. Sel yang paling berperan pada fase ini adalah fibroblas yang berfungsi memproduksi kolagen. Fibroblas akan mensekresi KGF-1, KGF-2, dan IL-6 yang akan menstimulasi keratinocytes untuk bermigrasi ke daerah luka, berproliferasi dan berdiferensiasi pada luka (Nurwahida, 2022). Sel osteoprogenitor yang sudah berdiferensiasi menjadi sel osteogenik akan mulai membentuk jaringan kalus. Fase ini membutuhkan protein kolagen dan nonkolagen seperti bone morphogenetic protein (BMP), osteocalcin (OCN), dan osteopontin (OPN) (Hendrijantini dkk., 2021).

Pada hari ke-14, fase *proliferasi* luka melibatkan dua proses utama: angiogenesis (pembentukan pembuluh kapiler baru) dan penutupan luka melalui reepitelisasi, pembentukan jaringan granulasi, dan deposisi kolagen. Selama fase ini, luka dikelilingi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen yang membentuk jaringan granula berwarna kemerahan (Ananta, 2020).

Fase ketiga atau fase akhir dalam penyembuhan luka adalah fase *maturasi* atau *remodeling*. Fase ini ditandai dengan adanya maturasi dari kolagen. Bekas luka

akan menjadi rata, kurang menonjol, lebih pucat, dan lentur secara bertahap. Kolagen akan berdeposisi pada luka, sementara kolagen yang ada akan diremodel dan dibuang. Ekspresi gen-gen tertentu dan protein akan memandu terjadinya proses remodelling. Sejumlah faktor gen seperti macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) dan receptor activator of nuclear factor kB (RANK) dan ligannya (RANKL) berperan penting dalam menyeimbangkan aktivitas osteoblas dan osteoklas. Selain itu, osteoblas dan osteoklas juga mensekresi matriks metalloproteinase (MMP) yang akan melarutkan dan mendegradasi matriks organik dan mineral tulang (Hendrijantini dkk., 2021).

Fase ini dimulai sejak akhir fase proliferasi dan dapat berlangsung hingga berbulan-bulan. Pada fase ini luka akan mengalami proses maturasi dengan serat kolagen dan elastin yang secara terus menerus akan disimpan dan dibentuk kembali bersamaan dengan perubahan fibroblas menjadi miofibroblas (Rowan, 2015).

2.2.3 Efek Asam Hialuronat Pada Defek

Penyembuhan luka adalah proses biologis yang kompleks, terdiri dari serangkaian kejadian berurutan yang bertujuan untuk memperbaiki jaringan yang terluka. Komponen matriks ekstraseluler memainkan peran penting dalam regulasi semua fase perbaikan jaringan, termasuk migrasi sel, *inflamasi*, angiogenesis, *remodeling*, dan pembentukan jaringan parut. Penelitian telah mengungkapkan bahwa Asam Hialuronat tidak hanya menyediakan lingkungan mikro luka, tetapi juga terlibat dalam berbagai jalur pensinyalan yang diaktifkan di dasar luka selama proses penyembuhan. Asam Hialuronat yang merupakan komponen matriks ekstraseluler dasar dengan beberapa sifat unik yang menjadikannya pemain kunci dalam regenerasi jaringan (Litwiniuk dkk., 2016).

Asam Hialuronat memainkan peran yang beragam di semua tahap penyembuhan luka. Asam Hialuronat meningkatkan sintesis jaringan pada fase *inflamasi* awal perbaikan luka. Asam Hialuronat meningkatkan infiltrasi sel dan membantu dalam mobilisasi sitokin proinflamasi penting seperti TNF- α dan interleukin. Pada tahap awal, jaringan granulasi didominasi oleh matriks ekstraseluler kaya Asam Hialuronat. Selama pembentukan jaringan granulasi ini, Asam Hialuronat yang diproduksi secara lokal memfasilitasi *proliferasi* dan migrasi sel ke matriks luka sementara. Asam Hialuronat juga memainkan peran utama dalam organisasi matriks jaringan granulasi melalui receptor for AH-mediated motility RHAMM. Di fase selanjutnya terjadi stabilisasi granulasi, matriks jaringan asam menstabilkan matriks hialuronat dengan membersihkan radikal bebas dengan sitokin proinflamasi, yang mencegah kerusakan dari matriks ekstraseluler. Akhirnya, di tahap *proliferasi* penyembuhan luka, Asam Hialuronat menopang keratinosit basal yang keduanya berkaitan dengan dukungan dan regulasi seluler (Schneider dkk., 2019).

Asam Hialuronat juga merupakan polisakarida yang terdapat secara alami dalam tubuh manusia di seluruh jaringan ikat, epitel, dan saraf. Asam Hialuronat menyediakan dua fungsi yang sangat penting dalam penyembuhan luka sebagai bagian dari *proliferasi* dan migrasi sel. Pertama, menyediakan struktur sementara pada tahap awal luka. Struktur ini membantu memfasilitasi difusi suplai nutrisi dan membantu membersihkan luka dari produk limbah dari metabolisme sel. Kedua, dan yang paling penting, Asam Hialuronat terlibat erat dalam *proliferasi* dan migrasi keratinosit (jenis sel epidermis atau lapisan terluar kulit). Akhirnya, struktur sementara ini diganti saat luka ‘matang’, dengan penambahan molekul protein

proteoglikan (yang berfungsi untuk memberikan tekanan hidrasi dan pembengkakan ke jaringan sehingga memungkinkan untuk menahan gaya kompresi) dan kolagen. Lebih lanjut, karena asam hialuronat adalah makromolekul higroskopis, ia sangat osmotik, memungkinkan untuk mengontrol hidrasi selama periode perbaikan luka dan proses peradangan yang terkait dengannya ketika tingkat Asam Hialuronat (Ardillah & Amsia 2021).

2.3 *Image-J*

2.3.1 Definisi *Image-J*

Image-J merupakan sebuah software pengolah citra/gambar yang dikembangkan oleh Wayne Rasband dari National Institutes of Health (NIH). *Image-J* ditulis menggunakan Java yang dapat dijalankan pada sistem operasi linux, macintosh, dan windows serta dapat digunakan pada mode 32 bit dan 64 bit. Salah satu contoh pengaplikasian software ini dalam bidang kesehatan adalah untuk menentukan kualitas citra radiografi mengenai kontras dan ketajaman gambar menggunakan salah satu fitur pada aplikasi *Image-J* yaitu histogram (Novianto, 2019).

Software *Image-J* mendukung semua proses manipulasi gambar secara umum termasuk membaca dan mengedit file gambar. Format gambar yang dapat dibaca antara lain TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS, dan RAW. Selain itu juga dapat digunakan untuk memproses gambar secara langsung dari kamera, *scanner*, dan *video recorder*. *Image-J* memungkinkan pengguna untuk membuat grafik dari data serta meningkatkan kualitas gambar. Ini sering digunakan untuk menganalisis gambar mikroskop, pengukuran area, penghitungan partikel, segmentasi dan pengukuran fitur spasial atau temporal dari elemen biologis. Fitur-

fitur ini sangat penting bagi para peneliti untuk menganalisis foto dan gambar mereka. Beberapa fitur utama dari program ini adalah sebagai berikut (Novianto, 2019) :

1. Fungsi Paralel: Mendukung pengolahan beberapa gambar sekaligus dalam satu jendela tampilan dan melakukan fungsi simultan pada gambar-gambar ini.
2. Perhitungan (*Calculations*): Membuat statistik sesuai dengan parameter yang ditentukan pengguna seperti rerata (*mean*) dan standar deviasi menggunakan satuan SI.
3. Pengukuran (*Measurements*): Menentukan jarak, luas, dan pengukuran geometris lainnya berdasarkan gambar.
4. Output: Membuat histogram kepadatan populasi dan beberapa jenis grafik lainnya.
5. Scaling: Memungkinkan untuk memperbesar, memperkecil, atau mengubah orientasi gambar.
6. Pengeditan Foto: Memungkinkan untuk mengedit gambar seperti menghilangkan cacat, mempertajam gambar, dan menerapkan filter.
7. Plugin: Memungkinkan untuk menulis plugin untuk menyesuaikan dengan kebutuhan.
8. Macro: Dapat membuat makro yang akan mengotomatiskan tugas yang paling sering digunakan.
9. Warna: Tersedia *grayscale* dan warna yang diindeks untuk membantu mempercepat pemrosesan gambar. Ketika kecepatan tidak menjadi masalah, banyak pilihan warna lain tersedia untuk membuat efek tambahan.

2.3.1 Penggunaan *Image-J* Untuk Deteksi Kelainan Pemeriksaan Radiologi

Image-J adalah software pengolah gambar berbasis open source dengan platform Java yang dikembangkan oleh Wayne Rasband dan tim di National Institute of Health (NIH). *Image-J* mampu melakukan manipulasi kontras citra, filtering, menghitung area dan nilai piksel dari suatu ROI. *Image-J* dapat menampilkan histogram dan profil dari citra yang dianalisis (Aprianoro., dkk 2018).

Image-J merupakan jenis gambar yang dibangun menggunakan piksel, di mana setiap piksel memiliki nilai yang dikodekan oleh bit, jumlah bit menentukan jumlah nilai *gray value* atau warna yang dapat direpresentasikan. Gambar skala *gray value* dengan 8-bit, berarti setiap piksel memiliki nilai antara 0 (hitam) dan 255 (putih). Gambar skala *gray value* juga bisa 16 bit dengan (nilai antara 0 dan 65535) dan 32 bit (gambar titik-floating)(Broeke., dkk 2015).

Pemeriksaan radiografi dapat memberikan informasi semaksimal mungkin yang diperlukan oleh ahli radiologi terkait dengan kualitas radiografi yang baik. Kualitas radiografi meliputi densitas, kontras dan ketajaman. Faktor lain yang menentukan kualitas radiografi yaitu faktor eksposi. Faktor eksposi adalah faktor yang menentukan dan mempengaruhi kualitas dan kuantitas dari penyinaran radiasi sinar-X yang diperlukan dalam pembuatan gambar radiografi (Aprianoro dkk., 2018). Pengaturan faktor eksposi yang tepat dapat menghasilkan kontras radiografi yang optimal yaitu mampu menunjukkan perbedaan derajat kehitaman yang jelas antar organ yang mempunyai kerapatan berbeda (Zelviani, 2017).

BAB III

KERANGKA BERPIKIR, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Berpikir

Defek Tulang Alveolar Mandibula didefinisikan kondisi kerusakan atau kehilangan sebagian tulang alveolar yang menyangga gigi pada rahang bawah (mandibula). Berdasarkan durasi dan sifat proses penyembuhan, luka dapat dikategorikan sebagai luka akut dan kronis. Penyembuhan luka adalah proses regenerasi dan pertumbuhan jaringan yang dinamis dan kompleks melalui empat fase yang berbeda yaitu fase koagulasi dan hemostasis (segera setelah cedera); fase *inflamasi*, segera setelah cedera pada jaringan dimana terjadi pembengkakan; periode *proliferasi*, dimana jaringan dan pembuluh darah baru terbentuk dan fase pematangan, di mana *remodeling* jaringan baru terjadi. Fase - fase ini terjadi secara teratur yang tumpang tindih satu sama lain terhubung dengan baik (Dhivya dkk., 2015).

Proses penyembuhan luka normal dimulai dengan penyempitan pembuluh darah yang rusak dan penghentian adanya pendarahan yang disebut aktivitas faktor vasokonstriksi (Mancuso & Santagostino 2017). Hasil pengamatan mikroskopis pada hari ke-3 menunjukkan terjadinya proses *inflamasi*. Proses *inflamasi* melibatkan peradangan yang menyebabkan kerusakan pada jaringan. Selain trombosit, PMN, dan MN seperti sel neutrofil, monosit, dan makrofag menyerang ke lokasi luka untuk menjaga luka tetap aseptik melalui fagositosis bakteri dan benda asing yang masuk kedalam luka mencapai puncak fase *proliferasi* (Jayme dkk., 2020).