

PENGARUH KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos Chanos*) DENGAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION SETELAH PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia Cobaya*)

TESIS



Oleh:

Nurhadijah Raja

J035191004

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI PERIODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

PENGARUH KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos Chanos*) DENGAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION SETELAH PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia Cobaya*)

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
Memperoleh gelar Profesi Spesialis-I dalam bidang ilmu Periodonsia
Pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin



1. Dr. Arni Irawaty Djais drg., Sp.Perio (K)
2. Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp.Perio (K)

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

PENGARUH KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos Chanos*) DENGAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION SETELAH PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia Cobaya*)

OLEH:

NURHADIJAH RAJA

J035191004

Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, 5 Maret 2022



Pembimbing 1

Pembimbing 2

Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)

Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp.Perio (K)

Nip. 19750130 200812 2 002

Nip. 19590901 198702 2 001

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
DGS Periodonsia FKG-UNHAS

Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)

Nip. 19641003 199002 2 001

PENGESAHAN UJIAN TESIS

PENGARUH KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos Chanos*) DENGAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION SETELAH PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia Cobaya*)

OLEH:

NURHADIJAH RAJA

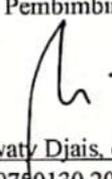
J035191004

Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, 5 Maret 2022

Pembimbing 1

Pembimbing 2


Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
Nip. 19750130 200812 2 002


Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp.Perio (K)
Nip. 19590901 198702 2 001


Ketua Program Studi (KPS)
D3 PGSD/Elitronika FKG-UNHAS
Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001


Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)
Nip. 19730702 200112 1 001

TESIS

PENGARUH KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos Chanos*) DENGAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TINDAKAN SOCKET PRESERVATION SETELAH PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia Cobaya*)

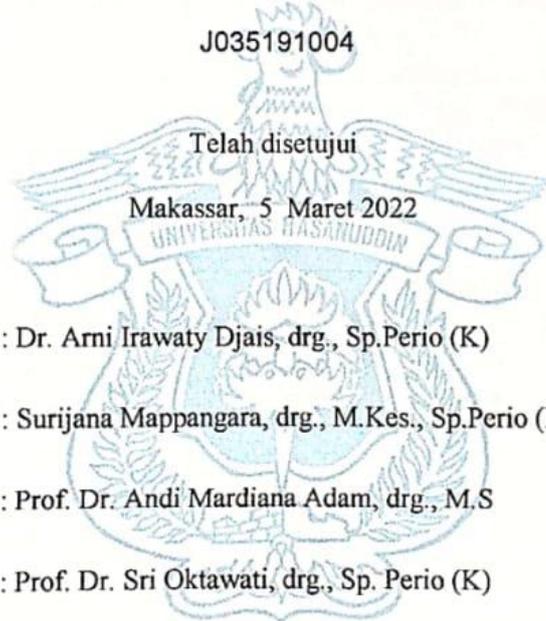
OLEH:

NURHADIJAH RAJA

J035191004

Telah disetujui

Makassar, 5 Maret 2022



1. Pembimbing I : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
2. Pembimbing II : Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp.Perio (K)
3. Penguji I : Prof. Dr. Andi Mardiana Adam, drg., M.S
4. Penguji II : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
5. Penguji III : Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes

.....
.....
.....
.....
.....

Mengetahui
Kasubid Program Studi (KPS)
Periode Periodonsia FKG-UNHAS



Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)
Nip. 19641003 199002 2 001



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurhadijah Raja

Stambuk : J035191004

Program studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 5 Maret 2022

Yang menyatakan



Nurhadijah Raja

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wr.wr

Bismillahirrahmanirrahim, Puji syukur kehadiran Allah SWT karena limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir yang berjudul **Pengaruh Kombinasi Kitosan Sisik Ikan Bandeng (*Chanos Chanos*) Dengan Bovine Hidroksiapatit Terhadap Jumlah Osteoklas Pada Tindakan *Socket Preservation* Setelah Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*)** sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia fakultas kedokteran gigi Universitas Hasanuddin Makassar.

. Di dalam proses penelitian dan penulisan tesis ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, arahan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan tepat waktu. Oleh karena itu, ucapan terimakasih yang sebesar besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada bapak/ibu dan kerabat:

1. Ibu Prof. Dr. Dwia Ariestina Pulubuhu, MA selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. Prof. Dr. drg. Muhammad Ruslin, M. Kes, PhD, Sp. BM(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
3. Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio(K) sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia
4. Dr drg Arni Irawaty Djais, Sp. Perio(K), sebagai Pembimbing pertama yang selama ini telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini
5. drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio(K), sebagai pembimbing kedua yang selama ini sudah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini

6. Prof. Dr. drg. Hj Andi Mardiana Adam, MS., Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio(K), dan Dr. drg. Asdar Gani, M.Kes. sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini.
7. Seluruh staf pengajar pada program pendidikan dokter gigi spesialis yang telah memberikan ilmunya.
8. Ayahanda dan ibunda H.A.S Raja alm / Hj RajaIntang almh yang telah melahirkan, menyayangi dan mendidik hingga dewasa.
9. Suami tercinta Drs M Bahri Ikbal, MM., dan anakku tersayang Andi Muh Dzaky, A.Muh Dzakwan dan A. Muh Dzikra yang selalu mendukung dan memberikan semangat hingga selesainya pendidikan ini.
10. Teman-teman seperjuangan TiTU, drg. Raoda Juanita Ramadhan, drg. Muh Yudin, Afdalia Annisa, drg. Dian Eka Satya, drg. Azizah, drg. Nir Etriyani, drg. Sri Wahyu Putri, drg Gustivani, drg. Ayu Rahayu, drg. Sherly Endang dan drg Jenneifer Tjokro atas segala dukungan dan perhatiannya hingga dapat terselesaikannya pendidikan spesialis ini .
11. Seluruh staf dan karyawan bagian periodonsia dan RSGM Halimah dg. Sikati yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama menjalani pendidikan.

Semoga penelitian ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan terkhusus pada bagian periodontology.

Makassar, 5 Maret 2022

Nurhadijah Raja

PENGARUH KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos Chanos*) DENGAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION* SETELAH PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia Cobaya*)

ABSTRAK

Pendahuluan Pencabutan gigi mengakibatkan terjadinya resorpsi tulang yang mempengaruhi stabilitas, retensi dan dukungan protesa gigi. *Socket preservation* adalah upaya untuk mempertahankan dimensi dan struktur tulang alveolar. Hidroksiapatit adalah bahan bone graft yang sering digunakan. Hidroksiapatit sering dikombinasikan dengan kitosan untuk meningkatkan sifat mekaniknya. Ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan hasil perikanan unggulan Sulawesi Selatan, dan limbah sisik ikan belum dipergunakan secara optimal. Kitosan sisik bandeng merupakan bahan polimer bersifat nontoksik, biokompatibel, dan biodegradable. Beberapa penelitian telah memanfaatkan kemampuan sisik ikan bandeng, sebagai anti mikroba, dan anti inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh kombinasi kitosan sisik ikan bandeng dengan bovine hidroksiapatit terhadap jumlah osteoklas pada tindakan *socket preservation* setelah pencabutan gigi marmut (*Cavia Cobaya*).

Bahan dan metode: Penelitian ini menggunakan sisik ikan bandeng (*chanos chanos*) dari kabupaten Pangkep, kemudian di proses menjadi kitosan. Uji derajat deasetilasi dengan spektrofotometer UV-Vis, DDA diperoleh antara 92,43-92,71%. Pengujian bahan dilakukan pada marmut jantan dengan jumlah sampel 27 ekor dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok perlakuan di berikan kombinasi kitosan sisik ikan bandeng dengan bovine hidroksiapatit, kelompok

kontrol positif di beri bovine hidroksiapatit dan kontrol negatif diberi placebo. Setiap kelompok dibagi 3 berdasarkan waktu pengamatan 7, 14 dan 28 hari. Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan program analisis data IBM SPSS Statistic versi 21 dengan nilai signifikan $p < 0,05$.

Hasil : Hasil analisa data menunjukkan, perbedaan signifikan jumlah ekspresi osteoklas antara kelompok kitosan dan bovine hidroksiapatit terhadap placebo terjadi pada hari ke 14 dan 28, sedangkan antara kelompok kitosan dan bovine hidroksiapatit dengan bovine hidroksiapatit pada hari ke 28

Kesimpulan: Hasil penelitian menunjukkan kombinasi kitosan sisik ikan bandeng dengan bovine hidroksiapatit berpotensi sebagai bahan regeneratif karena mampu menurunkan jumlah osteoklas pada tindakan soket preservasi gigi marmut.

Kata Kunci: hidroksiapatit, kitosan, sisik ikan bandeng, osteoklas.

THE EFFECT OF COMBINATION OF COMBINATION OF FISH SCALES (Chanos Chanos) WITH BOVINE HYDROXYPATITE ON THE NUMBER OF OSTEOCLASES ON SOCKET PRESERVATION ACTIONS AFTER REMOVAL OF TOOTH OF guinea pigs (Cavia Cobaya)

ABSTRACT

Introduction Tooth extraction results in bone resorption which affects the stability, retention and support of dental prostheses. Socket preservation is an attempt to maintain the dimensions and structure of the alveolar bone. One of the bone graft materials that is often used is hydroxyapatite. Hydroxyapatite is often combined with chitosan to improve its mechanical properties. Milkfish (*Chanos chanos*) is a superior fishery product of South Sulawesi, and fish scale waste has not been used optimally. Milkfish scale chitosan is a non-toxic, biocompatible, and biodegradable polymer material. Several studies have utilized the ability of milkfish scales, as an anti-microbial, and anti-inflammatory. This study aims to examine the effect of the combination of milkfish scale chitosan with bovine hydroxyapatite on the number of osteoclasts in socket preservation after tooth extraction in guinea pigs (*Cavia cobaya*).

Materials and methods: This study used milkfish scales (*chanos chanos*) from Pangkep district, processed into chitosan. The degree of deacetylation using UV-Vis spectrophotometer was obtained between 92.43-92.71%. Material testing was carried out on male guinea pigs with a total sample of 27 tails divided into 3 groups. The treatment group was given a combination of milkfish scales chitosan with bovine hydroxyapatite, the positive control group was given bovine hydroxyapatite and the negative control was given a placebo. Each group was divided into 3 based on the observation time of 7, 14 and 28 days. The research data were then analyzed using the IBM SPSS Statistics version 21 data analysis program with a significant value of $p < 0.05$.

Results: The results of data analysis showed that there was no significant difference in the number of osteoclasts in the three groups on day 7. There was a significant difference in the number of osteoclasts between the two groups in the combination of chitosan with bovine hydroxyapatite versus placebo on day 14 and 28. The same was true for bovine hydroxyapatite on day 28.

Conclusion: The results showed that the combination of milkfish scales chitosan with bovine hydroxyapatite had the potential as a regenerative material because it was able to reduce the number of osteoclasts in the guinea pig tooth preservation socket.

Keywords: hydroxyapatite, chitosan, milkfish scales, osteoclasts

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	ii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Bandeng	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Bandeng.....	6
2.1.2 Kandungan Ikan Bandeng	7
2.1.3 Kitosan Sisik Ikan Bandeng	8
2.2 Pencabutan Gigi.....	8
2.2.1 Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi	9
2.2.2 Osteoklas	14
2.3 Perubahan Dimensi Tulang Alveolar Setelah Pencabutan Gigi	16
2.4 Soket Preservasi	16
2.4.1 Pengertian dan Mekanisme Soket Preservasi	17
2.4.2 Bahan yang Digunakan dalam Teknik Soket Preservasi	18

2.5 Kitosan	20
2.5.1 Sifat Kitosan	21
2.5.2 Proses Pembuatan Kitosan	23
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN, HIPOTESIS	27
3.1 Kerangka Teori.....	27
3.2 Kerangka Konsep.....	29
3.3 Hipotesis	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	30
4.1 Rancangan Penelitian	30
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	30
4.2.1 Waktu Penelitian	30
4.2.2 Lokasi Penelitian	30
4.3 Subjek Penelitian.....	30
4.3.1 Kriteria Subjek Penelitian	30
4.3.2 Jumlah Sampel Penelitian	31
4.4 Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional.....	32
4.4.1 Variabel Penelitian	32
4.4.2 Definisi Operasional	32
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	32
4.5.1 Alat Penelitian	32
4.6 Metode Pengumpulan Data	34
4.6.1 Pengelolaan Hewan Coba.....	34
4.6.3 Persiapan Kitosan Sisik Ikan Bandeng (<i>Chanos-Chanos</i>)	35
4.7 Pelaksanaan Penelitian	37
4.7.1 Pengambilan Preparat Jaringan	38
4.8 Analisis Data	39
4.9 Alur Penelitian	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	41
5.1 Hasil Penelitian.....	41
5.2 Pembahasan	48
BAB 6 SIMPULAN DAN SARAN	54
6.1 Simpulan	54
6.2 Saran	54

DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN GAMBAR PENELITIAN	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Bandeng (<i>Chanos chanos</i>),.....	7
Gambar 2. Peristiwa biologis yang terjadi pada soket setelah pencabutan gigi .	9
Gambar 3. Gambaran Histologi Osteoklas	16
Gambar 4. Reaksi senyawa kitin menjadi kitosan.	23
Gambar 5. Gambaran histologis osteoklas pada pengamatan hari ke 7, 14, dan 28 ,.....	46
Gambar 6. Gambaran histologis jumlah osteoklas pengamatan hari ke 7 14 , dan 28 pada kelompok bovine hidroksiapatit.	46
Gambar 7. Gambaran histologis jumlah osteoklas pada pengamatan hari ke 7, 14, dan 28, pada kelompok placebo.....	47
Gambar 8. Diagram jumlah osteoklas pada pengamatan histologis hari ke-7, 14, dan 28. Kelompok I (kitosan kombinasi bovine hidroksiapatit), II (Bovine hidroksiapatit) dan III (Placebo).....	47

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan jumlah osteoklas pada masing masing kelompok.....	42
Tabel 2. Perbandingan jumlah osteoklas pada setiap kelompok perlakuan antara hari ke-7, 14, dan 28	43
Tabel 3. Perbandingan jumlah osteoklas antar dua kelompok hari ke-7	44
Tabel 4. Perbandingan jumlah osteoklas antara dua kelompok hari ke-14....	44
Tabel 5. Perbandingan jumlah osteoklas antara dua kelompok hari ke-28.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

1. Etik.....	60
2. Persiapan pembuatan bubuk sisik ikan bandeng	61
3. Proses pembuatan sisik ikan bandeng menjadi kitosan	61
4. Perlakuan pada hewan coba	62
5. Pengambilan jaringan tulang	62
6. Pembuatan slide	63
7. Analisa data	63

DAFTAR SINGKATAN

BMPs	: <i>Bone Moefogeneic proteins</i>
BNF	: <i>Buffered neutral formalin</i>
Ca	: <i>Calsium</i>
COX-2	: <i>Siklooksigenase-2</i>
DDA	: <i>Derajat Deasetilasi</i>
E. coli	: <i>Escherichia coli</i>
Fe	: <i>Ferrum</i>
GlcN	: <i>Glukosamin</i>
GlcNAc	: <i>N-asetil glukosamin</i>
Mg	: <i>Magnesium</i>
HA	: <i>Hidroksiapatit</i>
HCl	: <i>Hidrogen Kloride</i>
HE	: <i>Haematoksilin Eosin</i>
IL-1	: <i>Interleukin 1</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-11	: <i>Interleukin 11</i>
K	: <i>Kalium</i>
Mn.	: <i>Mangan</i>
M-CSF	: <i>Makrofag-coloni stimulin faktot</i>
Na	: <i>Natrium</i>
NFκB	: <i>Nuclear factor-Kappa B</i>
NaOH	: <i>Natrium Hidroksida</i>
OPG	: <i>Osteoprotegerin</i>
PDGF	: <i>Platelet derivate growt facor</i>
RANKL	: <i>Receptor activator of NFκB ligand</i>
RANK	: <i>Receptor activator of NFκB</i>
ROS	: <i>Reaktif spesies oksigen</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
TRAP	: <i>Tartrate-resistant acid phosphatase</i>
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor-beta</i>
TNFα	: <i>Tumor Necrosis Factor α</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan tahun 2018, terdapat 57,6% masyarakat Indonesia yang mengalami masalah kesehatan gigi dan mulut, dan hanya 10,2% yang mendapatkan pelayanan dari dokter gigi.¹ Tingginya masalah kesehatan gigi dan masih kurangnya masyarakat yang memperoleh pelayanan dokter gigi dapat mengakibatkan pencabutan gigi terjadi.

Proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi, akan mengalami inflamasi dan respon imun di dalam soket pencabutan berhubungan dengan resorpsi tulang.² Menurut penelitian sebelumnya bahwa kehilangan tulang horizontal mencapai 29-63% dan kehilangan tulang vertikal 11 – 22 % setelah 6 bulan pencabutan gigi. Studi ini menunjukkan pengurangan yang cepat dalam 3-6 bulan pertama yang diikuti oleh pengurangan dimensi secara bertahap.³ Kehilangan struktur tulang ini dapat mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi, sehingga berpotensi menyebabkan berbagai komplikasi dikemudian hari. Karena itu, perlu upaya untuk mempertahankan dimensi dan struktur tulang alveolar pasca pencabutan gigi, metode ini disebut dengan soket preservasi.⁴ Socket preservation adalah prosedur pembedahan yang bertujuan untuk mengurangi resorpsi fisiologis dari ridge alveolar yang terjadi setelah pencabutan gigi, agar memiliki tulang cukup untuk melakukan penempatan

protesa atau implan dengan cara menempatkan bahan graft kedalam soket

.⁵

Salah satu bahan graft yang sering digunakan untuk regenerasi tulang adalah hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$. Hidroksiapatit (HA) merupakan salah satu penyusun utama dari komponen anorganik dalam jaringan keras manusia (tulang dan gigi). Bahan ini berasal dari tulang sapi serta memiliki sifat bioaktif, biokompatibel, osteokonduktif dan osteointegrasi.⁶ Namun, keterbatasan hidroksiapatit karena sifat mekanik yang rapuh dan lambat terdegradasi. Untuk mengatasi masalah ini, hidroksiapatit telah dikombinasi dengan beberapa polimer dalam bentuk biokomposit untuk meningkatkan sifat mekaniknya dan juga secara bersamaan mengeksplorasi efek positif dari polimer yang terlibat dalam pembuatan biokomposit.⁷

Kitosan merupakan polimer bahan alami turunan dari kitin yang terdeasetilasi, memiliki sifat biokompatibel serta memiliki kemampuan osteointegrasi dan osteokonduktif yang tinggi untuk merangsang pembentukan osteoblas dan menurunkan aktifitas osteoklas sehingga cocok digunakan untuk regenerasi tulang.⁸ Kitosan juga memiliki sifat biodegradabilitas, non-alergi dan non-toksisitas, kitosan dan turunannya juga dikenal sebagai agen yang sangat baik untuk menghambat pembentukan biofilm oleh berbagai macam bakteri patogen.⁹ dan kitosan memiliki efek anti-inflamasi.¹⁰⁻¹¹

Beberapa penelitian mengkombinasikan hidroksiapatit dengan kitosan. Kitosan dalam hal ini berfungsi untuk meningkatkan sifat mekanik

dari hidroksiapatit tanpa mengubah sifat kimianya.¹² Kitosan mampu menambah porositas, sehingga mempercepat pertumbuhan sel osteoblas. Kombinasi polimer kitosan dan hidroksiapatit dianggap sebagai bahan yang cocok untuk membentuk scaffold dan menunjukkan sifat fisik, biologi dan mekanik serta degradasi yang dapat diprediksi.¹³ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Cheko dkk (2011) bahwa kombinasi hidroksiapatit dengan kitosan memperlihatkan sifat osteokonduktif yang baik.¹⁴

Ikan bandeng (*chanos chanos*) merupakan hasil perikanan yang melimpah di Sulawesi Selatan, dikenal sebagai ikan yang memiliki banyak sisik dan tulang.^{15,16} Sisik ikan bandeng mengandung kitin yang dapat diubah menjadi kitosan dengan proses deasetilasi. Beberapa penelitian telah memanfaatkan kemampuan sisik ikan bandeng, sebagai anti mikroba, dan anti inflamasi.^{17, 18, 19}

Penyembuhan luka setelah pencabutan gigi terjadi beberapa fase diawali fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Pada fase remodeling ini terdapat dua sel utama yang berperan yaitu osteoblas dan osteoklas.²⁰ Osteoblas dan osteoklas bertanggung jawab untuk remodeling tulang dengan pertama-tama meresorpsi tulang, yang kemudian digantikan oleh tulang baru yang diproduksi oleh osteoblas. Osteoklas adalah sel multinuklear turunan dari makrofag – monosit²¹

Pemanfaatan kitosan dengan bahan dasar sisik ikan bandeng sebagai bone graft sejauh ini belum pernah dilakukan. Penelitian ini bermaksud untuk mengkombinasikan bahan graft dari jenis bovine

hidroksiapatit dengan kitosan yang berasal dari sisik ikan bandeng, dengan melihat jumlah osteoklas setelah pemberian kombinasi bahan tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*chanos chanos*) dengan bovine hidroksiapatit berpengaruh terhadap jumlah osteoklas pada tindakan soket preservasi setelah pencabutan gigi marmut (*cavia cobaya*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat pengaruh kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit terhadap jumlah osteoklas pada tindakan *socket preservation* setelah pencabutan gigi marmot (*cavia cobaya*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk melihat pengaruh kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit terhadap jumlah osteoklas pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi bahan pada hari ke-7, 14 dan 28

1. Untuk melihat pengaruh kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit terhadap jumlah osteoklas pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi bahan pada hari ke-7, 14 dan 28.
2. Untuk melihat pengaruh hidroksiapatit *xenograft bovine* terhadap jumlah osteoklas pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi pada hari ke-7, 14 dan 28.

3. Untuk melihat pengaruh kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit terhadap jumlah osteoklas pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi bahan pada hari ke-7, 14 dan 28.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi kombinasi kitosan sisik ikan bandeng dan bovine hidroksiapatit sebagai bahan regenerasi tulang alveolar setelah pencabutan gigi.
- b. Memberikan informasi terhadap penggunaan sisik ikan, sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai xenograft.
- c. Menjadi pertimbangan dalam perawatan regenerasi tulang alveolar sebagai bahan penginduksi tulang.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Ikan Bandeng

Indonesia mempunyai potensi yang besar dalam bidang perikanan, baik perikanan air tawar, air payau, maupun air laut. Potensi perikanan air payau, yaitu dengan cara tambak diperkirakan mencapai 931.000 ha dan hampir telah dimanfaatkan potensinya hingga 100%, dimana sebagian besar digunakan untuk memelihara ikan bandeng (*Chanos chanos*) dan udang (*Pennaeus* sp).²²

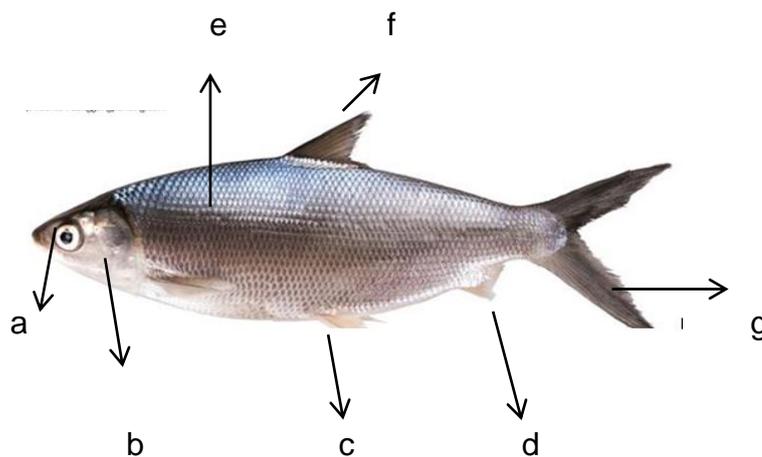
Produksi ikan bandeng sebagai salah satu komoditi unggulan perikanan di Sulawesi Selatan, tersebar hampir di seluruh kabupaten. Menurut data Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Selatan, produksi ikan bandeng segar pada tahun 2013 mencapai 119.887,1 ton, kemudian pada tahun 2014 mencapai 123.933,6 ton dan terjadi peningkatan sebesar 1,9 % pada tahun 2015 menjadi 126.226,6 ton.¹⁵

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Bandeng

Morfologi Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) bentuk tubuhnya ramping, mulut terminal, tipe sisik cycloid, Jari – jari lunak, jumlah sirip punggung 13 – 17, sirip anal 9 –11, sirip perut 11 – 12, sirip ekornya panjang dan bercagak, jumlah sisik pada gurat sisi ada 75 – 80 keping, panjang maksimum 1,7.²³

Secara taksonomi sistematika bandeng menurut Nelsen adalah sebagai berikut :²³

Phylum : Chordate
Subphylum : Vertebrate
Superklas : Gnathostomata
Klas : Osteichthyes
Subklas : Teleostei
Ordo : Gonorynchiformies
Subord : Chanoidei
Famili : Chanidae
Genus : Chanos
Species : *Chanos chanos*



Gambar 1. Morfologi Bandeng (*Chanos chanos*), Keterangan: (a), Mata (b), Tutup insang (c) Sirip pectoralis(d), Sirip abdominalis (e), Sisik (f), strip dorsalis (g), ekor.

2.1.2 Kandungan Ikan Bandeng

Ikan bandeng kaya akan protein mencapai 20-24%, asam amino, asam lemak, mineral dan vitamin. Komposisi asam amino tertinggi yaitu glutamat sebesar 1,386%. Asam lemak tidak jenuh tertinggi oleat 31-32%, mineral makro pada daging ikan bandeng yaitu: Ca, Mg, Na dan K.

Mineral mikronya terdiri dari Fe, Zn, Cu, Mn. Kandungan vitamin daging ikan bandeng meliputi vitamin A, B1 dan B12.²⁴ Hasil uji proksimat sisik ikan bandeng, yang di lakukan oleh Aulia (2019) bahwa tepung sisik ikan bandeng mengandung kalsium 7,2%, air 32,48%, abu 13,16%, lemak 2,41% dan protein 45,07%.²⁵

2.1.3 Kitosan Sisik Ikan Bandeng

Beberapa penelitian menggunakan kitosan sisik ikan bandeng. Ummah dkk (2017) membandingkan efektifitas kitosan pada sisik ikan bandeng dengan antibiotik gentamisin terhadap perkembangan *E. coli*.¹⁷ Dewi dkk (2019) melaporkan bahwa kitosan dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.²⁶ Irawaty dkk (2020) melaporkan bahwa kitosan sisik ikan bandeng memiliki daya hambat terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* & *Porphyromonas gingivalis*.¹⁸ Irawati dkk (2021) melaporkan bahwa kitosan sisik ikan bandeng berpotensi sebagai agen anti inflamasi serta merangsang aktivitas fibroblas, osteoblas, dan diferensiasi sel punca mesenkim.¹⁹

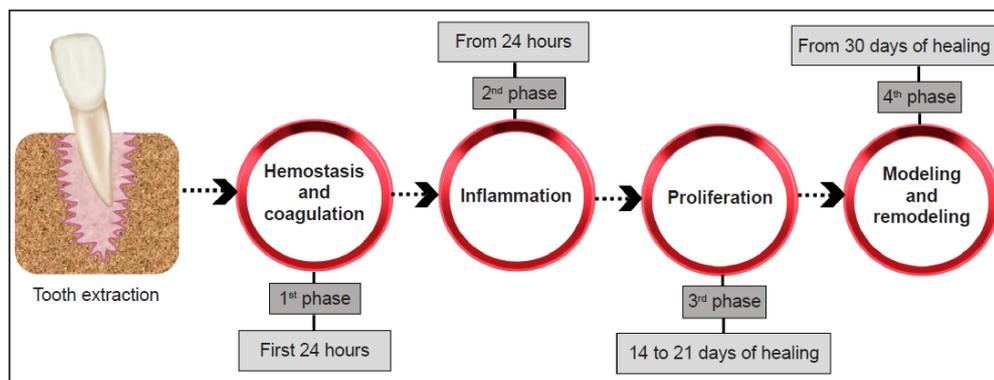
1.2 Pencabutan Gigi

Pencabutan atau ekstraksi gigi adalah suatu tindakan bedah untuk melepaskan gigi dari soketnya dengan kondisi gigi yang sudah tidak dapat dipertahankan lagi. Prosedur pencabutan gigi mengkombinasikan prinsip-prinsip bedah serta prinsip fisika dan mekanis. Ketiga prinsip ini adalah prinsip dasar yang harus dilakukan saat melakukan pencabutan gigi sehingga gigi dapat dikeluarkan dari tulang alveolar tanpa rasa sakit berlebihan dan trauma minimal pada jaringan sekitarnya, sehingga luka

yang timbul dapat sembuh dengan baik dan tidak ada komplikasi yang muncul setelah pencabutan dilakukan.²⁷

2.2.1 Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi

Setelah pencabutan gigi, serangkaian peristiwa biologis terjadi pada alveolus, yang menghasilkan penyembuhan soket. Penyembuhan terdiri dari berbagai proses termasuk perubahan vascular, aktivasi inflamasi, migrasi, proliferasi dan diferensiasi populasi sel yang berbeda, produksi dan pematangan matriks ekstraseluler, pembentukan tulang, modelin dan remodeling, yang berpuncak pada pemulihan jaringan yang hilang. Hal ini dicapai melalui interaksi dari sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan, aktivasi jalur pensinyalan dengan modulasi ekspresi gen dan faktor transkripsi, yang menentukan kerja seluler dalam lingkungan penyembuhan.²⁸



Gambar 2. Peristiwa biologis yang terjadi pada soket setelah pencabutan gigi setelah pencabutan gigi (Gomes, 2019)

Proses penyembuhan luka dibagi menjadi 4 fase yang berkesinambungan dan tumpang tindih yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling.

a. Fase Hemostasis

Segera setelah terjadi luka, terjadi fase haemostasis sebagai awal dari fase inflamasi dimana tujuan utama fase ini untuk mencegah terjadinya eksanguinasi. Rangkaian dari fase haemostasis yaitu terjadinya kontak antara trombosit dengan kolagen dan komponen matriks ekstraseluler yang menyebabkan penggumpalan darah yang terdiri dari fibronektin, fibrin, vitronektin, dan trombospondin. Trombosit sangat penting dalam perekrutan sel imun baik dengan menangkap sel imun secara langsung atau dengan melepaskan kemokin atraktan pada degranulasi. Sekresi trombosit mengandung faktor pertumbuhan yang merangsang sel, termasuk fibroblas dan keratinosit. Trombosit berperan dalam menghambat infeksi bakteri.²⁹

b. Fase Inflamasi

Fase inflamasi merupakan sebuah respon dari jaringan terhadap adanya luka, dimana fase ini terjadi pada awal terbentuknya luka sampai hari ke 2 atau 4. Sel yang berperan pada fase inflamasi adalah neutrofil dan makrofag, dimana neutrofil akan keluar dari pembuluh darah ke tempat luka dengan bantuan daya kemotaksis, sel TGF- β , dan formil metionil peptida yang diproduksi oleh bakteri dan produk trombosit pada 24-36 jam setelah adanya luka.²⁰ Setelah berada dilingkungan luka, neutrofil memfagositosis bakteri dan materi asing, menghancurkan bakteri

dan materi asing dengan melepaskan enzim proteolitik dan reaktif spesies oksigen (ROS).²⁰

Akhir fase inflamasi, dalam waktu 48-72 jam setelah adanya luka, makrofag muncul dalam luka dan melanjutkan proses fagositosis. Sel TGF- β yang memediasi pengeluaran makrofag bertindak sebagai pengatur utama dan menyediakan cadangan berlimpah faktor pertumbuhan jaringan, dimana sel TGF- β mengikat heparin faktor pertumbuhan epidermal, pertumbuhan fibroblast dan miofibroblas.^{20,30}

c. Fase Proliferasi

Fase proliferasi dimulai pada hari ke tiga setelah cedera dan berlangsung sekitar 2 minggu, ditandai dengan migrasi fibroblast dan deposisi matriks ekstraseluler yang baru disintesis dan bertindak sebagai pengganti jaringan sementara yang terdiri dari fibrin dan fibronectin. Sebagai awal fase proliferasi, fibroblast akan bermigrasi ke dalam luka yang tertarik oleh faktor sel TGF- β dan PDGF yang dilepaskan oleh sel-sel inflamasi dan trombosit. Setelah berada di luka, fibroblast berkembangbiak dan menghasilkan protein matriks hiluronan, fibronectin, proteoglikan dan prokolagen tipe 1 dan tipe 3.^{20,29}

d. Fase Remodeling

Proses remodelling dihasilkan dari interaksi aktif antara osteoblas dan osteoklas, yang sangat termodulasi oleh adanya faktor-faktor seperti faktor stimulasi koloni makrofag (M-CSF),

aktivator reseptor faktor nuklir kappa B (RANK), aktivator reseptor nuklir ligan faktor kappa B (RANKL) dan osteoprotegerin (OPG). Proses ini biasanya dimulai dengan perekrutan osteoklas, diidentifikasi sebagai lapisan pada dinding soket dan melalui struktur trabekular marginal dari anyaman tulang. Pada fase ini terjadi perkembangan epitelium baru, maturasi kolagen dan siklus resorpsi tulang oleh osteoklas yang diikuti dengan pembentukan dan remineralisasi tulang oleh osteoblas. *Woven bone* akan diganti dengan *lamellar bone* dan *bone marrow* yang merupakan proses remodeling, sedangkan resorpsi tulang terjadi pada dinding soket yang mengarah ke perubahan dimensi ridge alveolar merupakan hasil dari modeling tulang.²⁰

Proses remodeling tulang merupakan suatu siklus yang meliputi tahapan yang kompleks yaitu:

- 1) Tahap aktivasi (*activation phase*) adalah tahap interaksi antara prekursor osteoblas dan osteoklas, kemudian terjadi proses diferensiasi, migrasi, dan fusi multinucleated osteoklas dan osteoklas yang terbentuk kemudian akan melekat pada permukaan matrik tulang dan akan dimulai tahap berikutnya yaitu tahap resorpsi. Sebelum migrasi ke matrik tulang osteoklas tersebut akan melewati sederetan lining sel osteoblas pada permukaan tulang untuk dapat mengeluarkan enzim proteolitik. Interaksi sel antara stromal

cell (sel stroma) dan hematopoietik cell (sel hematopoietik) menjadi faktor penentu perkembangan osteoklas.

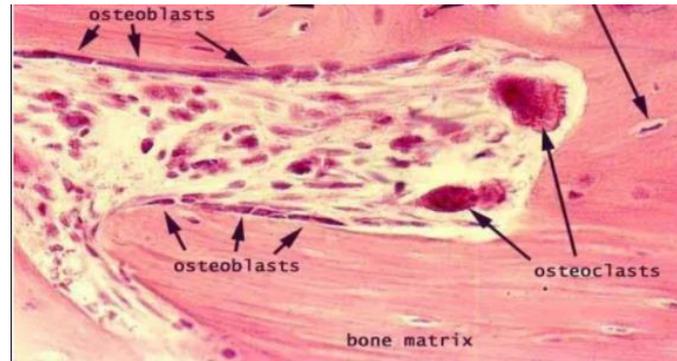
- 2) Tahap resorpsi (resorption phase) adalah tahap pada waktu osteoklas mensekresi ion hydrogen dan enzim lisosom terutama cathepsin K dan akan mendegradasi seluruh komponen matriks tulang termasuk kolagen. Setelah terjadi resorpsi maka osteoklas akan membentuk lekukan atau cekungan tidak teratur yang biasa disebut lakuna howship pada tulang trabekular dan saluran haversian pada tulang kortikal.
- 3) Tahap reversal (reversal phase), adalah tahap pada waktu permukaan tulang sementara tidak didapatkan adanya sel kecuali beberapa sel mononuklear yakni makrofag, kemudian akan terjadi degradasi kolagen lebih lanjut dan terjadi deposisi proteoglycan untuk membentuk coment line yang akan melepaskan faktor pertumbuhan untuk dimulainya tahap formasi.
- 4) Tahap formasi (formation phase), adalah tahap pada waktu terjadi proliferasi dan diferensiasi prekursor osteoblas yang dilanjutkan dengan pembentukan matrik tulang yang baru dan akan mengalami mineralisasi. Tahap formasi akan berakhir ketika defek (cekungan) yang dibentuk oleh osteoklas telah diisi.^{31,32}

2.2.2 Osteoklas

Osteoklas adalah sel besar berinti banyak dengan kemampuan untuk mendegradasi jaringan tulang dengan mensekresi ion hidrogen, kolagenase, cathepsin K dan enzim hidrolitik kedaerah resorpsi. Resorpsi matriks tulang oleh osteoklas melibatkan dua langkah: (1) pelarutan komponen anorganik (mineral), dan (2) pencernaan komponen organik matriks tulang. Osteoklas memompa ion hidrogen ke daerah resorpsi subosteoklastik dan dengan demikian menciptakan lingkungan mikro asam, yang meningkatkan kelarutan mineral tulang, menghasilkan pelepasan dan pemasukan kembali mineral tulang ke dalam sitoplasma osteoklas untuk dikirim ke kapiler terdekat. Setelah penghilangan mineral, kolagenase dan gelatinase disekresikan ke daerah resorpsi subosteoklastik. Enzim-enzim ini mencerna dan mendegradasi kolagen dan komponen organik lain dari matriks tulang yang mengalami dekalsifikasi.³³ Sel ini berasal dari hematopoietic stem cell yang merupakan prekursor monosit / makrofag yang kaya dengan enzim lisosom yang meliputi tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP).³⁴

Progenitor osteoblas mensekresikan RANKL yang akan membentuk ikatan yang bersifat aktif dengan RANK pada sel progenitor osteoklas dan akan mengakibatkan terjadi pematangan osteoklas sehingga membentuk osteoklas yang fungsional, dan pada saat yang sama juga akan disekresikan faktor penghambat *osteoklastogenesis* yang dikenal sebagai *osteoprotegerin* (OPG). OPG kemudian akan berikatan dengan RANKL untuk menghambat *osteoklastogenesis*.³¹

Osteoklas adalah sel multinukleat dengan diameter mencapai 100 μm , rata rata jumlah nucleus sebanyak 10-12 yang berasal dari precursor makrofag – granulotik dan ditemukan dalam sumsum tulang. Osteoklas terdapat di sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, remodeling dan perbaikan tulang. Proses pembentukan tulang baru diawali oleh fase inflamasi yang terjadi antara minggu pertama sampai minggu kedua. Pada tingkat seluler, sel inflamasi (neutrofil, makrofag dan fagosit) dan fibroblas akan menginfiltrasi daerah luka yang distimulasi oleh prostaglandin. Sel-sel inflamasi bersama dengan osteoklas berfungsi untuk membersihkan jaringan nekrotik, serta untuk mempersiapkan fase reparasi. Berbeda dengan makrofag polikaryon, osteoklas memiliki batas yang berkerut (ruffled border) yang berfungsi untuk membangun wilayah resorptif dari osteoklas dimana terjadi penghancuran enzimatik pada permukaan tulang.³³ Zona perlekatan antara batas berkerut dan tulang mengisolasi permukaan lingkungan mikro, menyediakan enzim tambahan, seperti karbonik anhidrase untuk menurunkan pH, lalu membangun solubilisasi dari matrik inorganik dari kalsium phosphatase dan memaparkan matriks organik pada enzim proteolitik, mengikuti proses seluler dari konstituen organik, terbentuklah kavitas resorptif, yaitu lacuna Howship.³¹ Selanjutnya terjadi fase reparasi, bone graf akan merangsang pertumbuhan dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang.³²



Gambar 3. Gambaran Histologi Osteoklas (Roza dan Damron, 2014).

2.3 Perubahan Dimensi Tulang Alveolar Setelah Pencabutan Gigi

Ridge alveolar adalah struktur yang bergantung pada gigi yang berkembang bersamaan dengan erupsi gigi dan mengalami perubahan volume dan morfologi setelah kehilangan gigi. Studi terbaru menunjukkan bahwa penyembuhan alami alveolar pasca ekstraksi menyebabkan hilangnya volume ridge yang substansial, dan perubahan morfologi alveolar ridge terjadi dengan cepat dalam 3 bulan pertama hingga 6 setelah bulan pencabutan gigi dan berlanjut secara bertahap dengan kecepatan yang lebih lambat setelahnya. Pada 6 bulan, ridge dapat resorpsi hingga 63% dari lebarnya dan hingga 22% dari aslinya. Selain itu, diperkirakan kehilangan tulang rata-rata 3,87 mm secara horizontal dan 1,25 mm sampai 1,67 mm secara vertikal^{35 - 37}

2.4 Socket Preservation

Soket preservasi bertujuan mempertahankan volume tulang pasca ekstraksi dengan menempatkan bone graft kedalam soket, Prosedur ini membantu mengimbangi resorpsi dan mempercepat pembentukan tulang sehingga mengurangi kebutuhan akan augmentasi tulang di kemudian

hari. Biomaterial untuk pencangkakan soket termasuk autograft, allograft, xenograft dan alloplast.^{5, 38}

2.4.1 Pengertian dan Mekanisme Soket Preservasi

Socket preservation merupakan suatu prosedur untuk meminimalkan resorpsi tulang alveolar pasca pencabutan gigi. Prosedur ini biasanya dilakukan segera setelah pencabutan gigi dengan menempatkan material bone graft, membran barrier, dan atau agen biologis dalam soket gigi.³⁹

Mekanisme biologis bone graft didasarkan pada:

- a. Osteokonduksi: Bahan graft tulang berfungsi sebagai scaffold untuk pertumbuhan tulang baru. Osteoblas dari area kerusakan tulang, memanfaatkan bahan *graft* tulang sebagai rangka untuk menyebar dan menghasilkan tulang baru. Setidaknya suatu bahan *graft* tulang harus bersifat osteokonduktif.
- b. Osteoinduksi: Melibatkan stimulasi sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas yang kemudian memulai pembentukan tulang baru. Jenis sel osteoinduktif yang paling banyak dipelajari mediator adalah protein morfogenetik tulang (BMP). Bahan graft tulang yang bersifat osteokonduktif dan osteoinduktif, tidak hanya berfungsi sebagai perancah untuk osteoblas, tetapi juga akan memicu pembentukan osteoblas baru, yang mendorong integrasi graft yang lebih cepat.

- c. Osteogenesis : mengandung sel progenitor osteogenik pada *scaffold bone graft* sehingga dapat mendeposisi matriks tulang yang baru .^{40,41}

2.4.2 Bahan yang Digunakan dalam Teknik Soket Preservasi

Prosedur ini biasanya dilakukan segera setelah pencabutan gigi dengan menempatkan material *bone graft*, *membran barrier*, dan atau agen biologis dalam soket gigi.

2.4.2.1 Bone Graft

Bone graft digunakan sebagai pengisi dan perancah untuk memfasilitasi pembentukan tulang dan mempercepat penyembuhan luka. *Grafting* ini dapat diserap secara biologis dan tidak memiliki reaksi antigen-antibodi. *Bone graft* ini bertindak sebagai reservoir mineral yang menginduksi pembentukan tulang baru.⁴²

a. Sifat Ideal

Sifat *bone graft* yang ideal harus stabil secara biomekanik, dapat terdegradasi dalam jangka waktu yang tepat, menunjukkan sifat *osteokonduktif*, *osteogenik* dan *osteoinduktif* serta menyediakan lingkungan yang menguntungkan untuk invasi pembuluh darah dan sel pembentuk tulang.⁴³

b. Klasifikasi

Klasifikasi bahan *bone graft* berbeda-beda menurut sumbernya.⁴²

a. Autograft

Bone graft autogenous dapat diambil dari krista iliaka pasien, ramus mandibula atau intraoral lainnya. Kerugian dari autograft

adalah kebutuhan akan tempat pembedahan kedua dan morbiditas yang berhubungan dengan pengambilan tulang. Tulang autogenous mungkin juga memerlukan periode waktu yang lebih lama untuk resorpsi daripada beberapa sintetis atau DFDBA yang dicampur dengan kalsium sulfat. Ini juga bisa menjadi kerugian jika resorpsi cangkok diinginkan dalam jangka waktu singkat yang tidak akan terjadi dengan cangkok tulang kortikal autogenous.

b. Allograft

Bahan allograft adalah bahan tulang dari individu lain dari spesies yang sama. Allograft bekerja melalui osteoinduksi dan memiliki kemampuan osteokonduktif juga pada sel mesenkim asli yang tidak berdiferensiasi. Mereka diketahui membentuk tulang melalui osseokonduksi dengan kombinasi resorpsi matriks cangkok dan deposisi tulang baru pada scaffold. Allograft bukan merupakan osteogenesis karena sel-selnya tidak vital. Beberapa tantangan dengan jenis tulang ini adalah riwayat medis pendonor harus bersih dari infeksi, kanker, dan masalah lainnya demi keamanan penerima.

c. Xenograft

Bahan xenograft adalah bahan tulang yang berasal dari kuda, babi atau sapi yang sebagian besar dideproteinisasi dan diproses lebih lanjut. Komponen organik dari bahan ini dihilangkan untuk mengurangi reaktivitas kekebalan atau transmisi patogen. Mineral

yang tersisa bertindak sebagai scaffold untuk pertumbuhan tulang asli. Pembentukan tulang sebagian besar melalui osteokonduksi.

d. Alloplast

Bahan alloplastik seluruhnya sintetis dan disintesis dari sumber non-organik. Jenis alloplast yang umum adalah keramik bioaktif seperti kalsium fosfat, Keramik (kalsium fosfat, bioglass, kalsium sulfat) dapat dilengkapi dengan faktor pertumbuhan dan ion untuk meningkatkan kepadatan mineral tulang dan proliferasi osteoblas. Pembentukan tulan bahan ini adalah osteokonduksi.

2.5 Kitosan

Kitosan adalah kopolimer yang terbuat dari ikatan D-glukosamin dan N-asetil-D-glukosamin dan ikatan, dimana glukosamin adalah unit dominan dalam strukturnya.⁴⁴ Kitosan merupakan polimer alami dengan kelimpahan terbesar kedua setelah selulosa. Senyawa ini dapat ditemukan pada cangkang udang, tulang ikan, kepiting, kerang, serangga, annelida serta beberapa dinding sel jamur dan alga.⁴⁵

Kitosan memiliki sifat bioaktif yang sangat baik, seperti biodegradabilitas, non-toksisitas, biokompatibilitas, aktivitas hemostatik dan antimikroba.⁴⁶ Kitosan dihasilkan dari deasetilasi kitin dengan cara menghilangkan gugus *acetyl*, sehingga membuat kitosan ini bermuatan positif (kationik). Semakin tinggi derajat deasetilasi dari kitin akan memberikan sifat kationik yang lebih besar, namun berpengaruh pada kemampuan biodegradasi yang semakin rendah.¹³

Proses ekstraksi kitin diawali dengan tahap preparasi yang meliputi pengeringan bahan baku sisik ikan, dilanjutkan tahap deproteinasi dan tahap demineralisasi. Deproteinase proses penghilangan protein dengan menggunakan larutan NaOH. Demineralisasi merupakan proses penghilangan mineral dengan menambahkan asam seperti asam klorida, asam sulfat, dan asam sulfit. Ekstraksi dengan larutan alkali akan memutuskan ikatan antara mineral dengan kitin. selanjutnya kitosan dibentuk melalui proses deasetilasi dari kitin dengan menggunakan NaOH. Deasetilasi adalah proses untuk menghilangkan gugus asetil .⁴⁷

2.5.1 Sifat Kitosan

Kitosan adalah polimer alami yang diperoleh dari deasetilasi kitin, memiliki keunggulan seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas dan tidak beracun, selain itu juga bersifat bakterostatik dan fungistatik. Kitosan tidak larut dalam larutan netral dan basa, tetapi larut dalam asam-asam organik. Kitosan adalah polisakarida alami yang dapat terurai secara hayati dan *biokompatibel* yang memiliki berbagai aplikasi di bidang kedokteran gigi, karena keserbagunaan fungsional dan kemudahan aksesnya, beberapa studi menemukan bahwa kitosan dan turunannya dapat digunakan sebagai bahan *dental adhesives*, *membran barrier*, *bone replacement*, regenerasi jaringan, dan agen antimikroba untuk penyembuhan penyakit mulut dengan lebih baik.⁴⁸

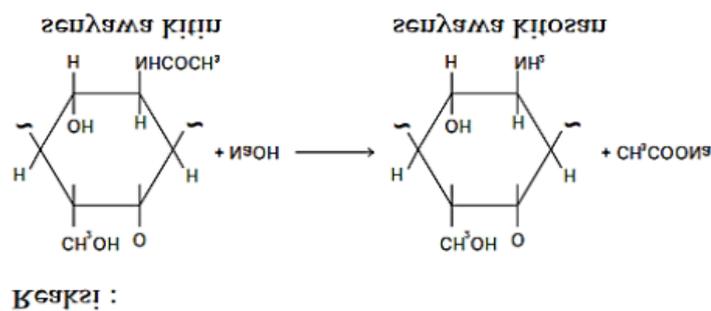
Kitosan terdiri dari dua monosakarida: glukosamin (GlcN) dan N-asetil glukosamin (GlcNAc). Derajat Deasetilasi (DDA) dan Molekul Weight (MW) sangat menentukan aktivitas antimikroba dan anti-biofilm dari

kitosan, dan DDA menentukan kelarutan dan viskositas kitosan. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa sifat antibiotik kitosan dikaitkan dengan sifat polikationiknya yang diberikan oleh gugus amino fungsional (NH₂) dari unit N acetylglucosamine. Muatan positif kitosan diharapkan bereaksi elektrostatis dengan komponen biofilm bermuatan negatif seperti EPS, protein dan DNA, menghasilkan efek penghambatan pada biofilm bakteri. Begitu pula dengan sifat antimikroba kitosan didapat dari interaksi kitosan bermuatan positif dan residu bermuatan negatif seperti karbohidrat, protein dan lipid yang ada pada sitoplasma atau membran sel mikroba. Jenis interaksi ini mengubah permeabilitas membran sel dan mengakibatkan kebocoran kandungan sitoplasma, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel. Kemampuan untuk berinteraksi secara elektrostatis dengan komponen membran sel ini bisa lebih jauh kationik (AMPs), yang telah terbukti secara aktif menargetkan pertumbuhan berbagai bakteri Gram-positif dan Gram-negatif.⁴⁹

Daya anti inflamasi yang dimiliki kitosan dapat disebabkan karena kitosan memiliki struktur menyerupai glukosamin, dimana salah satu mekanisme kerja dari glukosamin adalah dengan mengurangi produksi enzim COX-2 sehingga ekspresi dari IL-1 yang diinduksi oleh COX-2 dan NFκB pada tulang rawan dapat ditekan. Hanifah dkk 2015 melaporkan bahwa Kitosan memiliki daya anti inflamasi hampir setara dengan natrium diklofenat

2.5.2 Proses Pembuatan Kitosan

Pembuatan kitosan dilakukan melalui tahap deproteinasi untuk menghilangkan protein yang terkandung dalam sisik ikan, dengan menggunakan larutan NaOH 5% selama 2 jam dengan suhu 65°C, tahap demineralisasi untuk menghilangkan mineral yang terkandung dalam sisik ikan, dengan menggunakan larutan HCl 0,5N selama 30 menit sehingga diperoleh kitin, dan tahap deasetilasi menggunakan NaOH 10% 50 mL dengan waktu ekstraksi 2 jam, sebagai upaya menghilangkan gugus asetil yang terdapat pada kitin untuk membentuk kitosan.⁴⁷



Gambar 4. Reaksi senyawa kitin menjadi kitosan setelah ditambahkan NaOH. Sumber: Haryono *et al* (2008)

Derajat deasetilasi merupakan suatu parameter mutu kitosan yang menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah sehingga interaksi antar ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat. Pelepasan gugus asetil dari kitosan menyebabkan kitosan bermuatan positif yang mampu mengikat senyawa bermuatan negative, seperti protein, anion polisakarida membentuk ion netral.⁵¹

Kualitas kitosan harus berdasarkan pada spesifikasi standar mutu kitosan yakni derajat deasetilasi minimal 75 %. (SNI 7949: 2013 Kitosan – Syarat mutu dan pengolahan) Kemurnian kitosan dapat dilihat dari nilai derajat deasetilasinya. Semakin tinggi derajat deasetilasinya, jumlah gugus amina (NH₂) pada rantai molekul kitosan akan tinggi sehingga kitosan semakin murni.⁵¹

Berikut adalah beberapa penelitian mengenai perkembangan penggunaan kombinasi kitosan dengan polimer lain sebagai sintetik bone graft terhadap osteoklas:

Referensi	Kombinasi Polimer/Bio material	Hasil
<u>Nathalie Rochet</u> dkk (2009) Differentiation and activity of human preosteoclasts on chitosan enriched calcium phosphate cement	Semen kalsium fosfat (cementek) dan kitosan	Penggabungan kitosan ke Cementek tidak mempengaruhi proliferasi dan adhesi preosteoklas tetapi menghambat pembentukan sel positif TRACP dan mencegah resorpsi osteoklastik dari biomaterial komposit dibandingkan dengan Cementek saja
<u>Miho Nakamura</u> dkk (2013) Characterization of bone mineral-resembling biomaterials for optimizing human osteoclast differentiation and resorption	Hidroksiapatit dan (β -tricalcium fosfat)	Cincin aktin osteoklas di CA tebal, berdiameter kecil dan terlokalisasi dengan vinculin, mirip dengan cincin yang ditemukan pada irisan tulang. Sebaliknya, cincin aktin osteoklas pada HA berdiameter tipis dan besar
<u>Lijun Kong</u> dkk (2005) Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan composite scaffolds	Hidroksiapatit dan kitosan	Scaffold komposit hidroksiapatit dengan kitosan menunjukkan biokompatibilitas yang lebih baik daripada scaffold kitosan murni.

<p><u>Benjamin Kruppke</u> dkk (2020) Hemocyanin Modification of Chitosan Scaffolds with Calcium Phosphate Phases Increase the Osteoblast/Osteoclast Activity Ratio-A Co-Culture Study</p>	<p>Kitosan/ kalsium fosfat dan kitosan/hemosianin</p>	<p>Scaffold yang sangat bioaktif (mengandung fase mineral) menahan perkembangan osteoklas sementara lapisan hemosianin secara signifikan mendukung osteoblastogenesis. Pengaruh ini pada rasio aktivitas osteoblas / osteoklas dapat mendukung penyembuhan tulang</p>
<p><u>Soher Nagi Jayash</u> dkk (2017) Formulation and in vitro and in vivo evaluation of a new osteoprotegerin-chitosan gel for bone tissue regeneration</p>	<p>Gel OPG dan kitosan</p>	<p>Gel OPG-kitosan 25 kDa memiliki laju pelepasan protein tertinggi dan mencapai degradasi 90% dalam 28 hari. Pada 12 minggu, defek yang diisi dengan gel OPG-kitosan 25 kDa menunjukkan pembentukan tulang baru yang signifikan ($p < 0,05$) dan ekspresi osteokalsin dan osteopontin tertinggi dibandingkan dengan kontrol. Dengan demikian, gel OPG-kitosan 25 kDa memungkinkan menjadi biomaterial baru yang menjanjikan untuk rekayasa jaringan</p>
<p><u>Lining Wang</u> (2020) Osthole-loaded N-octyl-O-sulfonyl chitosan micelles (NSC-OST) inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and prevents ovariectomy-induced bone loss in rats</p>	<p>Kitosan/osthole</p>	<p>Dalam studi ini, kami menemukan bahwa NSC-OST menghambat aktivitas osteoklas pembentukan dan resorpsi melalui penggunaan sistem kultur osteoklas yang berasal dari sumsum tulang belakang (BMM) secara in vitro, mempengaruhi viabilitas sel. NSC-OST menghambat pembentukan osteoklas, resorpsi hidroksiapatit dan ekspresi protein penanda osteoklas yang diinduksi RANKL.</p>
<p>Endang W Bachtia (2016) Scaffold degradation during bone tissue reconstruction in <i>Macaca nemestrina</i> mandible</p>	<p>hidroksiapatit/trikalsium fosfat (HA / TCP) dengan rasio 70:30, HA / TCP dengan rasio 50:50, dan scaffold</p>	<p>Sel inflamasi masih terdeteksi di daerah di mana terjadi pembentukan tulang dan pembuluh darah yang aktif. Sisa biomaterial perancah jarang terlihat. Ekspresi MMP2, IL13, dan TRAP diamati pada semua sampel. Ekspresi mereka meningkat pada minggu ke-4 dan penurunan ekspresi gen TRAP</p>

	HA / TCP / kitosan	pada kelompok eksperimen ditemukan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Gen TRAP pada kelompok HA / TCP / kitosan ditemukan tertinggi pada minggu ke-2 dan terendah pada minggu ke-4.
Hala Jarrar (2021) Effect of melatonin/BMP-2 co-delivery scaffolds on the osteoclast activity	Melatonin/BMP dan kitosan/hidroksiapatit	MEL / BMP-2 kitosan / HAp meningkatkan pembentukan tulang dan menghambat aktivitas osteoklas
Sung Eun Kim dkk (2012) Local delivery of alendronate eluting chitosan scaffold can effectively increase osteoblast functions and inhibit osteoclast differentiation		Bahwa osteoblas yang tumbuh pada perancah kitosan yang memuat alendronate menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam proliferasi sel, aktivitas ALP, dan deposisi kalsium dibandingkan dengan yang tumbuh pada perancah kitosan. Selain itu, studi in vitro menunjukkan bahwa diferensiasi osteoklas dalam sel RAW 264.7 yang dibiakkan pada scaffold kitosan bermuatan alendronat sangat terhambat dibandingkan dengan yang dikultur pada scaffold kitosan