

**EKSPRESI RANK PASCA APLIKASI KOMBINASI HYDROGEL KITOSAN  
DAN HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG RAJUNGAN  
PADA SOCKET PRESERVATION**

**Expression Of RANK Post Application The Combination of Chitosan  
Hydrogel and Hydroxiapatite from Crab Shells In Socket A Preservation**



**NAMA : NURUL AFRINI  
NIM : J035211006**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**EKSPRESI RANK PASCA APLIKASI KOMBINASI HYDROGEL KITOSAN  
DAN HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG RAJUNGAN  
PADA SOCKET PRESERVATION**

**NURUL AFRINI**

**J035211006**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**EKSPRESI RANK PASCA APLIKASI KOMBINASI HYDROGEL KITOSAN  
DAN HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG RAJUNGAN  
PADA SOCKET PRESERVATION**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister  
Program Studi Periodonsia

Disusun dan diajukan oleh

**NURUL AFRINI**

**J035211006**

kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**TESIS**

Eksresi *Rank* Pasca Aplikasi Kombinasi Hydrogel Kitosan dan Hidroksiapatit dari Cangkang Rajungan pada *Socket Preservation*

**NURUL AFRINI**  
**J035211006**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Profesi Spesialis-1 pada tanggal 22 Maret 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS**

**PROGRAM STUDI PERIODONSIA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Dr. Andi Mardiana Adam, drg., DDS., M.S.  
NIP. 19551021 19850320 001

Pembimbing Pendamping

Dr. Asdar, drg., M.Kes.  
NIP. 19661229 199702 1 001

Pembimbing Program Studi (KPS)  
Spesialis Periodonsia FKG UNHAS

Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D(K)  
NIP. 19641003 199002 2 000

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
UNIVERSITAS HASANUDDIN

Irfan Sugianto, drg., M. Med., Ed., PhD  
NIP. 19810215 200801 1 009

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “. Ekspresi RANK pasca pemberian kombinasi hydrogel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang Rajungan pada *socket preservation*” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof.Dr.Andi Mardiana Adam,drg.,DDS.,M.S. sebagai Pembimbing Utama dan Dr.Asdar,drg.,M.Kes. sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 10 Juni 2024



NURUL AFRINI  
J035211006

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan disertasi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. Dr. Andi Mardiana Adam, drg., DDS., M.S. sebagai promotor dan Dr. Asdar, drg., M.Kes. sebagai ko-promotor-1. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Dr. Asdar, drg., M.Kes. bimbingan dan masukannya mengenai penelitian yang sedang saya lakukan. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Laboratorium Biokimia Politani POLTEK Pangkep, Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS, Laboratorium Terpadu Departemen Kimia-FMIPA UNHAS, Klinik Dokter Hewan *Doc Pet*, Laboratorium Patologi Anatomi RSP UNHAS dan Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian.

Kepada Kementerian Kesehatan Republik Indonesia saya mengucapkan terima kasih atas beasiswa Kemenkes yang diberikan (No. HK. 01. 07/1/13773/2021) selama menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., dekan Fakultas Kedokteran Gigi Irfan Sugianto, drg., M.Med.Ed., Ph.D. dan Kepala Program Studi Periodonsia Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio., Subsp. R.P.I.D (K) yang telah memfasilitasi saya menempuh program pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia. Terima kasih kepada para dosen Prof. Dr. A. Mardiana Adam, M.S., Prof. Dr. Hasanuddin Thahir, drg., M.S., Sp. Perio (K), Surijana Mappangara, drg., M. Kes., Sp. Perio (K), Dian Setiawaty, drg., Sp. Perio (K) dan Sitti Raodah Juanita Ramadhan, drg., Sp. Perio serta Dr. Asdar Gani, drg., M. Kes dan Supiaty, drg., M.Kes. Terima kasih kepada Kak Ditha sebagai rekan dalam tim penelitian serta teman-teman angkatan saya Dextra (Adel, Tira, Ibri, Kak Juli, dan Kak Ditha) yang saling support selama masa pendidikan. Kepada kakak dan adek junior (Venom, Phoenix, Falcon, Vision dan maba), saya ucapkan terima kasih telah memberikan dukungan dan selamat selama menempuh pendidikan.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya H.Zainal Arifin dan Hj. Ernawati Saleng, saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada suami tercinta A. Muhammad Rezki Firdaus yang selalu mendukung dan menghibur selama proses pendidikan. Terima kasih kepada seluruh saudara saya Agung, Atte, Vira, Fayyad atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis

Nurul Afrini

**NURUL AFRINI. Ekspresi RANK pasca pemberian kombinasi hydrogel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang Rajungan pada socket preservation** ( dibimbing oleh Andi Mardiana Adam dan Asdar Gani)

**Latar Belakang** : Pemanfaatan biomaterial dari alam yang potensial untuk regenerasi tulang alveolar sedang dikembangkan, salah satunya adalah keping Rajungan. Kandungan limbah cangkang Rajungan diantaranya kitosan dan hidroksiapatit yang memiliki keunggulan sebagai antimikroba, anti inflamasi, biokompatibel, osteokonduktif, dan biodegradasi yang baik sehingga biomaterial ini sangat menjanjikan. **Tujuan**: Menilai regenerasi jaringan periodontal melalui indikator ekspresi gen remodeling tulang RANKL. **Metode**: Menggunakan uji penelitian eksperimental laboratoris dan uji klinis dengan rancangan penelitian post test only control group design. Ekstraksi kitosan dan hidroksiapatit dari limbah cangkang keping Rajungan, lalu dilakukan pembuatan hydrogel dari kombinasi kitosan dan hidroksiapatit. Pencabutan gigi anterior kanan mandibula dilakukan pada 27 ekor *Cavia Cobaya* kemudian dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok perlakuan yang diberi kombinasi hidrogel kitosan dan hidroksiapatit, kontrol positif diberikan hidroksiapatit BATAN, dan kontrol negatif diberikan gel plasebo. Hewan coba disacrifice pada hari ke 7,14, dan 21 kemudian dilakukan uji efektifitas terhadap regenerasi jaringan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia dengan indikator pemeriksaan yaitu RANKL. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dan hasil uji statistik menggunakan uji ANOVA dan uji Posthoc Tukey. **Hasil**: Ekspresi RANKL menurun secara signifikan pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif pada hari ke 7, 14, dan 21 dan sebaliknya sedikit mengalami peningkatan pada kelompok kontrol negatif.. Peningkatan yang lebih tinggi terjadi pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. **Kesimpulan**: Kombinasi material hidrogel kitosan dan hidroksiapatit berkolerasi positif dengan penurunan ekspresi RANKL yang memegang peranan penting dalam proses resorpsi tulang.

**Kata Kunci** : Cangkang Rajungan, Hidroksiapatit, Kitosan, Regenerasi tulang alveolar, *Socket preservation*.

**NURUL AFRINI. *RANK* expression after application of a combination of chitosan and hydroxyapatite hydrogel from crab shells in socket preservation** (supervised by Andi Mardiana Adam and Asdar Gani)

**Background:** The use of biomaterials from nature that have the potential to regenerate alveolar bone is being developed, one of which is crab. The contents of crab shell waste include chitosan and hydroxyapatite which have the advantages of being antimicrobial, anti-inflammatory, biocompatible, osteoconductive and good biodegradation so this biomaterial is very promising. **Objective:** To assess periodontal tissue regeneration through the bone remodeling gene expression indicator RANKL. **Method:** Using laboratory experimental research tests and clinical trials with a post test only control group design. Extraction of chitosan and hydroxyapatite from crab shell waste, then making hydrogel from a combination of chitosan and hydroxyapatite. Extraction of the mandibular right anterior teeth was carried out on 27 *Cavia Cobaya* tails and then divided into three groups, namely the treatment group given a combination of chitosan and hydroxyapatite hydrogel, the positive control given BATAN hydroxyapatite, and the negative control given placebo gel. The experimental animals were sacrificed on days 7, 14 and 21, then tested for the effectiveness of tissue regeneration using immunohistochemical examination with the examination indicator namely RANKL. Normality test used the Shapiro-Wilk test and statistical test results used the ANOVA test and Posthoc Tukey test. **Results:** RANKL expression decreased significantly in the treatment group and positive control group on days 7, 14, and 21 and conversely increased slightly in the negative control group. A higher increase occurred in the treatment group compared to the positive control and negative control groups. **Conclusion:** The combination of chitosan and hydroxyapatite hydrogel materials has a positive correlation with reducing RANKL expression which plays an important role in the bone resorption process.

**Keywords:** Crab shell, Hydroxyapatite, Chitosan, Alveolar bone regeneration, Socket preservation.



# DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
DAFTAR TABEL .....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	iv
DAFTAR LAMPIRAN .....	v
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Teori	
1.2.1. Struktur tulang .....	4
1.2.2. Remodelling tulang .....	7
1.2.3. Definisi RANKL dan peran molekuler	
RANK/RANKL/OPG dalam remodelling tulang .....	11
1.2.4. <i>Socket Preservation</i> .....	14
1.2.5. Kepiting Rajungan ( <i>Portunus Pelagicus</i> ) .....	15
1.2.6. Kitosan .....	17
1.2.7. Hidroksiapatit .....	20
1.2.8. Tabel sintetis penelitian .....	21
1.3 Perumusan Masalah .....	23
1.4. Tujuan Penelitian	
1.4.1. Tujuan umum .....	23
1.4.2. Tujuan khusus .....	23
1.5. Manfaat Penelitian .....	23

## BAB II. METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu .....	25
2.2. Bahan dan Alat .....	25
2.3. Metode Penelitian .....	26
2.4. Pelaksanaan Penelitian .....	27
2.5. Parameter Pengamatan.....	31
2.6. Etika Penelitian.....	31
2.7. Analisis Data.....	31
2.8. Alur Penelitian.....	32
2.9. Kerangka Teori .....	33
2.10. Kerangka Konsep.....	34
2.11. Hipotesis.....	34
BAB III HASIL PENELITIAN.....	35
BAB IV. PEMBAHASAN .....	41
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	44
5.2. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN .....	51

## DAFTAR TABEL

No.Urut		Halaman
1.	Sifat fisikokimia dan biologis dari kitosan .....	19
2.	Sintesis penelitian .....	22
3.	Perbandingan ekspresi RANKL antara kelompok perlakuan.....	35
4.	Uji <i>Posthoc</i> LSD Ekspresi RANKL antar kelompok perlakuan....	36

## DAFTAR GAMBAR

No.Urut	Halaman
1. Perbedaan tulang kompakta dan spongiosa pada sebuah tulang panjang.....	6
2. Penampang melintang tulang matur .....	7
3. Penampang longitudinal unit pertumbuhan tulang yang memperlihatkan distribusi osteosit, osteoblast, dan osteoklast .....	7
4. Tahapan proses <i>remodelling tulang</i> .....	10
5. Aktivitas trias OPG/RANK/RANKL pada osteoblast dan osteoklast .....	12
6. Rajungan ( <i>Portunus Pelagicus</i> ) .....	16
7. Struktur Kimia Kitin dan Kitosan .....	18
8. Interaksi kimia antara kitosan-hidroksiapatit .....	20
9. Rumus kimia hidroksiapatit .....	20
10.Struktur hidroksiapatit.....	20
11.Alur penelitian .....	31
12.Spektrum FTIR hidrogel kitosan cangkang Rajungan .....	34
13.Spektrum XRD bubuk hidroksiapatit cangkang Rajungan .....	35
14.Grafik perbandingan ekspresi RANKL antara kelompok perlakuan pada hari ke-7, hari ke-14,dan hari ke-21.....	37
15.Diagram perbandingan ekspresi RANKL antara kelompok perlakuan pada hari ke-7, hari ke-14,dan hari ke-21.....	37
16.Hasil pengamatan ekspresi RANKL dengan pemeriksaan imunohistokimia pada soket gigi insisivus hewan coba Marmut pada kelompok perlakuan, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif hari ke-7 .....	38

17. Hasil pengamatan ekspresi RANKL dengan pemeriksaan imunohistokimia pada soket gigi insisivus hewan coba Marmut pada kelompok perlakuan, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif hari ke-14.....	38
18. Hasil pengamatan ekspresi RANKL dengan pemeriksaan imunohistokimia pada soket gigi insisivus hewan coba Marmut pada kelompok perlakuan, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif hari ke-21.....	38

## DAFTAR ISTILAH

Istilah	Arti dan Penjelasan
Plasebo	Istilah medis yang digunakan untuk terapi dan perawatan dalam bentuk obat-obatan atau prosedur tindakan medis yang tidak memiliki efek samping atau bukti kegunaan bagi kesembuhan pasien.
Antaxanthin	Jenis karotenoid (pigmen) yang sering dikaitkan dengan tumbuhan / sayuran
Agregasi	Pengumpulan atau pengelompokan
<i>Scaffolds</i>	Perancah atau suatu struktur sementara yang digunakan untuk menyangga suatu konstruksi
Sel progenitor	Sel dengan kemampuan untuk terdiferensiasi menjadi suatu sel tertentu (sel punca)
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
Hematopoietik	Pembentukan komponen seluler darah yang terjadi selama perkembangan embrionik hingga dewasa
Prekursor	Senyawa yang berpartisipasi dalam reaksi kimia yang menghasilkan sen
Sel smatur	Sel dewasa /sel matang
Ligan	Molekul sederhana yang bertindak sebagai penyusun electron pada senyawa kompleks
Reservoir penyakit	Populasi organisme atau lingkungan spesifik yang ditempati oleh pathogen untuk kelangsungan hidupnya
Heterotrimer	Jenis dimer protein yang dikomplekskan dari dua monomer yang tidak identic
Homodimer	Jenis dimer protein yang terdiri dari dua monomer identic
Transgenik	Suatu rekayasa teknologi untuk mendapatkan sifat yang diinginkan dan peningkatan produksi
Preservasi	Kegiatan mempertahankan kondisi suatu objek agar terhindar dari kerusakan factor fisika, kimia, biologi serta dapat menjaga kelestariannya.
Flokulan	Zat yang membuat padatan atau koloid halus yang tersuspensi dalam suatu larutan

## DAFTAR SINGKATAN / LAMBANG

Ar	Arti dan Penjelasan
CaCO <sup>3</sup>	Kalsium Karbonat
MgCO <sup>3</sup>	Magnesium Karbonat
RANK	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor κB</i>
RANKL	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor κB-Ligan</i>
OPG	Osteoprotegerin
OPGL	Osteoprotegerin-Ligan
TNF	Tumor Necrosis Factor
TNF α	Tumor Necrosis Factor Alfa
IL-1	Interleukin 1
IL-2	Interleukin 2
NFκB	Nuclear Factor-kappa Beta
BMP-2	Bone Morphogenetic-2
mCS-F	Faktor Stimulasi Koloni Makrofag
OCIF	Osteoclastogenesis Inhibitory Factor
Ca <sup>2+</sup>	Ion Kalsium
NH <sup>2</sup>	Ion Amida
HGF	Hepatocyte growth factor
PEMA	Polimetil metakrilat

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Menurut Riskesdas 2018 menunjukkan data penduduk Indonesia yang bermasalah dengan gigi dan mulutnya sebesar 57,6%. Dimana yang menerima perawatan dan pengobatan oleh tenaga medis gigi sekitar 10,2%, sedangkan sisanya 89,2% tidak memperoleh perawatan. Menurut data Riskesdas 2018, prevalensi periodontitis pada masyarakat usia  $\geq 15$  tahun adalah 67,8%. Hal ini menunjukkan bahwa dari sepuluh orang penduduk Indonesia sebanyak 7 orang yang menderita periodontitis. (Suratri, 2020)

Periodontitis adalah penyakit pada jaringan periodontal yang mengenai jaringan pendukung gigi dikarenakan akumulasi plak. (Suratri, 2020) Periodontitis adalah inflamasi jaringan periodontal yang disebabkan oleh mikroorganisme, ditandai dengan hilangnya perlekatan epitel secara progresif, destruksi ligamen periodontal, destruksi tulang alveolar, dan pembentukan poket. Adanya poket yang tidak dirawat dapat menyebabkan resesi gingiva dan resorpsi tulang alveolar secara progresif. Kondisi seperti ini dapat menyebabkan gigi copot atau lepas dari soket. (Gani et al., 2022)

WHO, FDI dan IADR telah bersepakat bahwa salah satu tujuan *Oral Health* 2020 untuk penyakit periodontal ialah mengurangi kehilangan gigi akibat penyakit periodontal pada usia 18 tahun, 35 - 44 tahun dan 65 - 74 tahun terutama untuk kasus kebersihan mulut yang buruk, penyakit sistemik, rokok dan stress. Jaringan periodontal merupakan jaringan pendukung gigi diantaranya jaringan gusi (gingiva), lapisan luar akar gigi (sementum), tulang alveolar, tulang soket tempat gigi berada, ligamentum periodontal (jaringan ikat antara sementum dan tulang alveolar). (Suratri, 2020) NIDCR, *National Institutes of Health*, Amerika Serikat, menjelaskan bahwa hampir 90% populasi orang dewasa di atas usia 70 tahun mengalami penyakit terkait periodontal. (Gani et al., 2022) Penyakit periodontal ini cenderung sifatnya lebih kronis dan tidak menimbulkan rasa sakit hebat, pada fase awal tidak ada keluhan rasa sakit. Adanya peradangan jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh infeksi bakteri merupakan tanda penyakit periodontal. Peradangan gusi (gingivitis) dan periodontitis merupakan penyakit periodontal yang paling sering ditemui. (Suratri, 2020) Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi tinggi di masyarakat dimana kesehatan mulut akan mempengaruhi kondisi kesehatan tubuh. (Prasetyaningrum et al., n.d.; Ryzanur MF et al., 2022)

Kondisi kesehatan gigi dan mulut tentunya merupakan bagian penting dari kesehatan tubuh secara menyeluruh karena kesehatan gigi dan mulut berefek pada keadaan kesehatan anggota tubuh. Pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut menjadi salah satu solusi dalam peningkatan derajat kesehatan gigi dan mulut. Permasalahan kesehatan gigi dan mulut dapat mempengaruhi kesehatan umum seperti gigi hilang



dalam jumlah yang banyak dan tidak ditangani sehingga proses mengunyah akan terganggu. Faktor-faktor yang memberikan dampak terhadap tingkat kebersihan gigi dan mulut seseorang meliputi kondisi social-ekonomi, usia, jenis kelamin, lingkungan, sikap, dan kebiasaan yang berhubungan dengan kesehatan gigi dan mulut.(Zavera Adam et al., 2022) Permasalahan kesehatan gigi dan mulut dapat mempengaruhi kesehatan umum seperti gigi yang banyak hilang dan tidak diganti dapat menyebabkan seseorang mengalami gangguan makan.(Ryzanur MF et al., 2022). Kebersihan gigi dan mulut yang parah diakibatkan karena adanya debris dan plak yang menyebabkan aktivitas demineralisasi gigi sehingga muncul karies. (Shearer et al, 2011). Kebersihan gigi dan mulut yang buruk juga bisa menjadikan timbulnya plak dan kalkulus. Plak dan kalkulus mengakibatkan terjadinya radang pada jaringan gusi dan dapat berkembang menjadi penyakit periodontal dengan tanda-tanda seperti gusi bengkak, berdarah, bernanah, mulut berbau, gigi yang goyang bahkan gigi bisa lepas dengan sendirinya.(Zavera Adam et al., 2022)

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi belum menjamin ketahanan gigi terhadap penyakit atau trauma secara menyeluruh sehingga masih banyak kasus kehilangan gigi. Ketika gigi tanggal terjadi, volume tulang akan berkurang. Resorpsi tulang akibat pencabutan gigi dapat menyebabkan masalah dalam prostodontik karena dapat menyebabkan hasil perawatan jangka panjang yang buruk. Dalam 6 bulan, resorpsi tulang terjadi sebanyak 1,5-2 mm pada arah vertikal dan 40%-50% pada arah horizontal, dan sebagian besar kasus terjadi pada tiga bulan pertama. Jika pengobatan tidak dilakukan, resorpsi tulang dapat mencapai 40-60% dari volume ridge tulang alveolar dalam tiga tahun pertama.(Kamadajaja et al., 2019)

Saat ini, berbagai jenis bahan dan teknik yang digunakan untuk perawatan resorpsi tulang termasuk bahan cangkok tulang, penggunaan regenerasi jaringan yang dipandu, penerapan faktor pertumbuhan untuk merangsang regenerasi tulang. Cangkok tulang digunakan sebagai perancah, perlekatan matriks, dan proliferasi osteoblas. Bahan cangkok tulang harus memiliki sifat biokompatibilitas dengan jaringan hidup, menguntungkan untuk osteokonduksi, osteoinduksi, osteogenesis dan memiliki kemampuan dalam mendukung pembentukan tulang baru. Biokompatibilitas cangkok sangat penting untuk mencegah penolakan oleh inang dan tidak beracun bagi tubuh. Cangkok tulang yang paling ideal untuk digunakan adalah cangkok tulang yang berasal dari tubuh pasien sendiri. Namun terkadang proses tersebut tidak mampu mendukung, sehingga dikembangkan autograft menjadi bahan allograft. Namun, allograft sering menularkan penyakit menular, terutama HIV dan oleh karena itu allograft dikembangkan menjadi bahan xenograft. Xenograft yang paling umum digunakan adalah dari bovine, tetapi penularan bovine spongiform encephalitis (BSE) sering terjadi. Berbagai jenis cangkok tulang sintetik dikembangkan untuk meminimalkan risiko penularan penyakit. Kondisi ideal yang perlu dipenuhi oleh bone graft sintetik bersifat biokompatibel, menguntungkan untuk osteokonduksi, osteoinduksi dan osteogenesis. Ketiga mekanisme tersebut adalah yang paling penting untuk biomaterial yang dapat diserap yang mendukung pertumbuhan jaringan. (Kamadajaja et al., 2019)

Salah satu jenis cangkok tulang yaitu cangkok hidroksiapatit yang dapat dihasilkan dari kerangka terumbu karang, tulang sapi, ceker ayam, cangkang kerang dan tulang kanselus manusia. Di Indonesia bahan baku alami terutama yang berasal dari biota laut mudah ditemukan, relatif murah dan proses produksinya sederhana. Di antara bahan baku tersebut adalah cangkang kepiting (*Portunus pelagicus*) yang jarang dimanfaatkan, bahkan menjadi limbah. (Kamadjaja et al., 2019)

Salah satu bahan alami yang mengandung kitosan dan hidroksiapatit adalah cangkang kepiting. Limbah dari pengolahan cangkang kepiting, kebanyakan cangkang; 70–80% sering dibuang atau hanya digunakan sebagai bahan campuran pakan ternak, penyedap rasa untuk membuat kerupuk, dan terasi. Jika limbah ini dibiarkan maka akan menyebabkan pencemaran lingkungan dan membahayakan kesehatan manusia. Secara umum, cangkang Rajungan mengandung protein (15,60%–23,90%), kalsium karbonat (53,70%– 78,40%), dan kitin (18,70%–32,20%). Berdasarkan kandungan tersebut, maka limbah cangkang Rajungan tidak boleh hanya dimanfaatkan sebatas itu karena limbah tersebut merupakan potensi sumber energi yang dapat dikembangkan sebagai bahan cangkok tulang. (Gani et al., 2022)

Solusi dalam menanggulangi masalah pencemaran lingkungan dan salah satu upaya untuk mengurangi volume limbah yang terus meningkat adalah dengan pemanfaatan limbah cangkang Rajungan. (Hadiwinata et al., 2021) Potensi bahan dasar lokal yang tersedia melimpah di Indonesia diharapkan melalui penelitian ini untuk menghasilkan bone graft sintesis yang berkualitas dan memenuhi syarat kesehatan yaitu bone graft yang secara struktur dan komposisi mirip tulang alami, dapat diterima tubuh (biokompatibel), tidak beracun, menguntungkan bagi proses osteokonduktif, osteoinduksi dan osteogenesis. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017) Cangkang Rajungan mengandung kitin, protein,  $\text{CaCO}_3$  serta sedikit  $\text{MgCO}_3$  dan pigmen antaxanthin. (Y, 2016) Multazam (2002) menyatakan cangkang Rajungan mengandung kalsium sebesar 19,97%. (Umar Al Faruqi, 2020) Cangkang Rajungan adalah hasil samping pengolahan Rajungan yang pemanfaatannya belum optimal. Kandungan kalsium karbonat yang tinggi menjadikan cangkang kepiting Rajungan berpotensi untuk diekstrak kalsiumnya menjadi bahan baku hidroksiapatit. Hidroksiapatit dapat juga digunakan sebagai bahan anti kanker pada penyakit kanker tulang yakni memperbaiki tulang yang terkikis serta mengisi jaringan tulang yang hilang. Hidroksiapatit dapat dimanfaatkan sebagai biokeramik yang kontak dengan jaringan tulang (*bone tissue*) dan sebagai pelapis (*coating*) pada kasus implan tulang. Hidroksiapatit pun bermanfaat sebagai pasta *Injectable Bone Substitute* (IBS) yang disintesis dengan radiasi dan dapat digunakan sebagai bahan cangkok tulang (*graft biomaterial*). (Hadiwinata et al., 2021)

Tindakan pencabutan gigi menjadi penyebab utama 90% kerusakan tulang dan menyebabkan risiko infeksi hingga perdarahan. Pasca pencabutan gigi, tulang alveolar akan mengalami perubahan bentuk anatomis kemudian menyebabkan tulang rahang menyusut menjadi tipis dan rapuh sehingga mengurangi keberhasilan perawatan gigi lainnya dan mengurangi fungsi pengunyahan makanan termasuk fungsi pencernaan. Perdarahan pasca pencabutan gigi umumnya disebabkan karena perdarahan pembuluh darah vena tetapi juga bisa disebabkan oleh arteri. Proses

penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada prinsipnya terdiri dari proses inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Sel yang berperan pada proses remodeling tulang alveolar pasca pencabutan gigi adalah sel osteoblas. Sel osteoblas akan beragregasi dengan zat interseluler tulang yang mengandung kolagen agar mampu membentuk serat kolagen baru dan membentuk osteoid. Deposisi mineral kalsium diinisiasi dengan pembentukan kristal berupa pulau kecil atau spikula yang selanjutnya akan membentuk osteon dengan sistem *Haversian*. Saat osteoid terbentuk, beberapa sel osteoblas terperangkap dalam osteoid dan selanjutnya disebut osteosit. (Puspita et al., 2022)

Kerusakan atau defek tulang pada penyakit periodontal paling dominan disebabkan karena adanya perluasan inflamasi dari margin gingiva menuju jaringan yang lebih dalam. Selama fase inflamasi, sitokin, chemokine dan mediator pro inflamatory menstimulasi periosteal osteoblast sehingga merubah kondisi level *Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand* (RANKL) pada permukaan osteoblast. Jika respon inflamasi meningkat maka level RANKL akan meningkat dan akan lebih banyak jumlahnya dibanding osteoprotegerin (OPG) sehingga terjadi perlekatan antara RANKL dan RANK *Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand* yang dapat merangsang terjadinya osteoclastogenesis dan mengakibatkan resorpsi tulang. Penggunaan *bone graft* sebagai bahan pengisi dan *scaffolds* di dalam defek tulang mendukung terjadinya regenerasi tulang alveolar dan membantu mempercepat proses healing. (Munika L et al., 2019)

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti tentang keefektifan kombinasi hidrogel kitosan dengan bubuk hidroksiapatit dari cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*) terhadap ekspresi *Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand* (RANKL) pada prosedur *socket preservation*.

## 1.2 Teori

### 1.2.1. Struktur tulang

Tulang adalah jaringan yang hidup dan sebagai jaringan penghubung (*connective tissue*) yang mempunyai tiga fungsi diantaranya : fungsi mekanik yaitu untuk gerakan dan melekatnya otot, melindungi organ vital, dan sebagai cadangan kalsium dan fosfat. (Mahmudati, 2011) Tulang merupakan struktur yang dinamik dan menjalani proses regenerasi secara terus-menerus yang dinamakan proses remodeling. Tulang pada hakikatnya terdiri atas 3 tiga komponen utama sebagai berikut:

#### 1. Senyawa organik

Senyawa organik utama penyusun tulang adalah protein, dan protein utama penyusun tulang adalah kolagen tipe I yang merupakan 90-95% bahan organik utama sedang sisanya adalah medium homogen yang disebut substansi dasar.

2. Subtansi dasar tulang.

Subtansi dasar terdiri atas cairan ekstraseluler ditambah dengan proteoglikan khususnya kondroitin sulfat dan asam hialuronat. Fungsi utama dari bahan tersebut belum diketahui, akan tetapi diduga membantu pengendapan garam kalsium. Sedang bahan anorganik utama adalah garam kristal yang diendapkan di dalam matrik tulang terutama terdiri dari kalsium dan fosfat yang dikenal sebagai kristal hidroksiapatit. Subtansi dasar juga mengandung protein non kolagen, dan beberapa protein tersebut sangat spesifik pada tulang. Protein non kolagen tersebut antara lain: osteonektin, osteokalsin (*bone GLA-protein*), osteopontin (*bone sialoprotein I*) dan *bone sialoprotein II*, growth factor (IGF-I dan II), transforming growth factor (TGF), *bone morphogenetic protein (BMP)*. Protein non kolagen utama adalah osteokalsin, yang menyusun matriks tulang sebesar 1%.

3. Komponen sel yang terdiri atas empat tipe sel yaitu: *osteoprogenitor cell*, osteoblas (OB), osteosit (OS) dan osteoklas (OK). (Mahmudati, 2011)

Adapun komponen sel tulang diantaranya :

1. *Osteoprogenitor cell* (sel osteoprogenitor)

Sel osteoprogenitor berasal dari mesenkim yang merupakan jaringan penghubung yang masih bersifat embrional, oleh karena itu osteoprogenitor masih memiliki kemampuan untuk mitosis, dengan demikian sel ini berfungsi sebagai sumber sel baru dari osteoblas dan osteoklas. Kontrol genetik proliferasi dan diferensiasi osteoblas dari sel mesenkim

2. Osteoblas

Osteoblas adalah sel pembentuk tulang yang berasal dari sel progenitor dan ditemukan di permukaan tulang. Sel ini bertanggung jawab pada pembentukan dan proses mineralisasi tulang. Osteoblas berasal dari *pluripotent mesenchymal stem cells* (sel mesenkim), dan sel ini dapat juga berkembang menjadi kondrosit, adiposit, myoblas, dan fibroblas (Arnet, 2003). Osteoblas mensintesis kolagen dan *glycosaminoglycans* (GAGs) dari matriks tulang dan berperan dalam proses mineralisasi tulang. Osteoblas yang matang akan mengekspresikan beberapa senyawa kimia yang bisa digunakan identifikasi aktivitas osteoblas dalam serum yang biasa diberi istilah *biochemical bone marker* yaitu: kolagen tipe I, alkaline fosfatase, osteopontin dan osteokalsin.

3. Osteosit

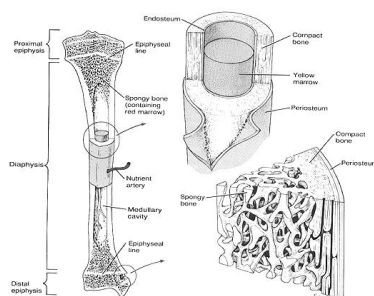
Osteosit adalah osteoblas yang terbenam dalam matriks tulang yang berhubungan dengan sel osteosit lain dan juga osteoblas pada permukaan tulang melalui kanalikuli yang mengandung cairan ekstraseluler. Hubungan antara sitoplasma dengan kanalikuli melalui *gap junction* yang memungkinkan osteosit dapat memberikan tanggapan oleh adanya signal mekanik dan biokimiawi). Osteosit diyakini memainkan peran dalam hal merespon stimulasi mekanik, sensor adanya strain dan inisiasi respon

terhadap modeling dan remodeling melalui beberapa mesenger kimia yang meliputi glukosa 6 fosfat dehidrogenase, *nitric oxide (NO)*, dan IGF.

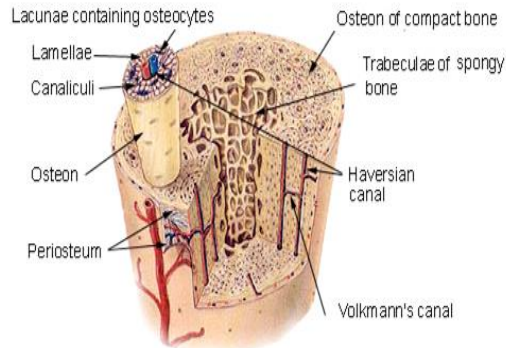
#### 4. Osteoklas

Osteoklas bentuknya besar, bersifat multinukleat berasal dari *hematopoietic stem cell* (sel hematopoietik) yang merupakan prekursor monosit/makrofag. Sel ini kaya dengan enzim lisosom yang meliputi *tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)*. Osteoklas berperan pada proses resorpsi tulang dan selama proses resorpsi, ion hidrogen yang dibentuk dari *carbonic anhydrase* (karbonik anhidrase) memasuki plasma membran untuk melarutkan matriks tulang, lebih lanjut enzim lisosom yaitu kolagenase dan katepsin K dikeluarkan untuk kemudian mencerna matriks tulang. (Mahmudati, 2011)

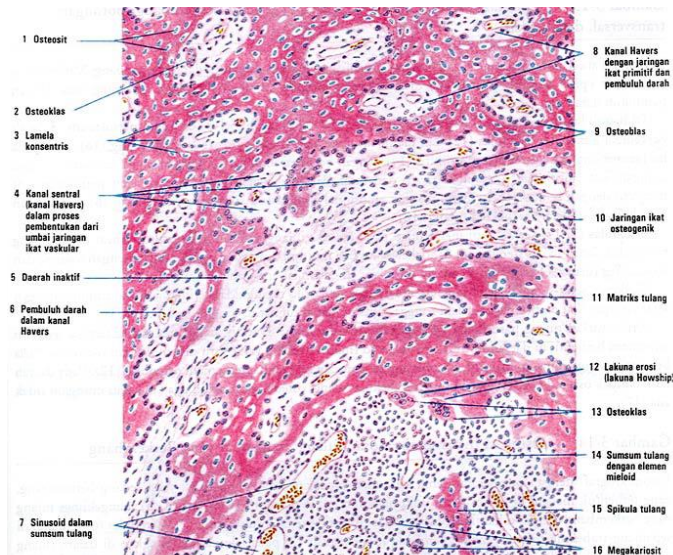
Tulang adalah jaringan yang sangat dinamis dan aktif, mengalami pembaharuan yang konstan sebagai respon terhadap mekanik, nutrisi, dan pengaruh hormonal. Keseimbangan antara proses gabungan resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang oleh osteoblas diperlukan pada orang dewasa yang sehat. (Hienz et al., 2015) Tulang dapat dibedakan secara makroskopik menjadi dua macam yakni tulang spongiosa dan tulang kompakta. Tulang kompakta terdiri dari sistem Harvesian atau osteon yang tersusun padat. Sistem Harvesian terdiri dari sebuah saluran pada bagian tengahnya (kanal Harvesian) yang dikelilingi oleh cincin-cincin konsentris (lamela) di sela-sela matriks. Sel-sel tulang (osteosit) berada pada lakuna di antara lamellae. Lakuna berhubungan secara langsung dengan kanal Harvesian melalui saluran kecil yang disebut kanalikuli. Pembuluh darah tulang berada di dalam kanal Harvesian dan tersusun paralel terhadap aksis longitudinal tulang. Tulang spongiosa yang lebih ringan dan tidak sepadat tulang kompakta tersusun dari lempengan trabekula yang dihubungkan oleh kanalikuli dengan ruang-ruang kecil ireguler berisi sumsum tulang yang disebut kavitas. Trabekula dan kavitas didiapatkan tersusun longgar dan tidak beraturan, namun struktur seperti ini justru berfungsi memaksimalkan kekuatan tulang. Struktur ini tidak kaku dan dapat menyesuaikan diri dengan tekanan fisik pada tulang. (Sihombing et al., 2012)



**Gambar 1.** Perbedaan tulang kompakta dan spongiosa pada sebuah tulang panjang longitudinalnya. (Sihombing et al., 2012)



Gambar 2. Penampang melintang tulang matur. Tulang kompakta tersusun lebih padat, berada di pinggiran tulang. Tulang spongiosa lebih longgar dengan trabekula ireguler dan berada dekat sumsum tulang. (Sihombing et al., 2012)



Gambar 3. Penampang longitudinal unit pertumbuhan tulang yang memperlihatkan distribusi osteosit, osteoblas, dan osteoklas. (Sihombing et al., 2012)

### 1.2.2. Remodelling Tulang

Remodeling tulang adalah suatu proses fisiologis siklik yang mencakup periode osteoblastogenesis dan osteoklastogenesis dengan periode di sela-sela keduanya. Bersama dengan faktor-faktor sistemik dan lokal lainnya, kompleks trimolekuler RANKL–RANK–OPG secara ketat mengatur metabolisme tulang. Ketidakseimbangan antara kedua kompleks ini menyebabkan perubahan laju

pergantian tulang, yang menimbulkan penyakit osteopenik. Dalam hal ini, terjadi resorpsi dan destruksi tulang di area fokus osteolisis lokal atau umum. Struktur tulang pada manusia diperbarui terus menerus sebagai respons terhadap berbagai rangsangan melalui proses remodeling tulang. Hal ini melibatkan penghilangan celah dan rongga tulang dari permukaan tulang trabekuler dan kortikal oleh aktivitas osteoklas. Osteoblas selanjutnya menyusun celah dan rongga tersebut dengan meletakkan matriks tulang baru di dalamnya. Pembentukan tulang sesuai dengan resorpsi yang terjadi selama remodeling tulang normal. (Kohli and Kohli, 2011)

Tulang adalah jaringan aktif yang secara metabolik mengalami remodeling secara kontinyu oleh dua proses, yaitu pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang. Proses ini bergantung pada aktivitas osteoklas, osteoblas, dan osteofit. Dalam kondisi normal, resorpsi dan formasi berkaitan erat satu sama lain, sehingga jumlah tulang yang dihancurkan sama dengan yang dibentuk. Keseimbangan ini dicapai dan diatur melalui berbagai aksi hormon sistemik (misalnya paratiroid, vitamin D, dan hormon steroid lainnya) dan mediator lokal (misalnya sitokin, faktor pertumbuhan). Untuk melihat adanya proses remodeling tulang biasanya dilakukan pemeriksaan pertanda remodeling tulang. Saat ini tersedia pemeriksaan pertanda remodeling tulang baik enzim dan peptida non enzimatis yang berasal dari kompartemen seluler dan non seluler tulang. (Huldani, 2012)

Tujuan remodeling tulang belum diketahui secara pasti, tetapi aktivitas tersebut dapat berfungsi antara lain untuk:

1. Mempertahankan ion kalsium dan fosfat ekstraseluler.
2. Memperbaiki kekuatan skeleton sebagai respon terhadap beban mekanik.
3. Memperbaiki kerusakan (*repair fatigue damage*) tulang dan,
4. Mencegah penuaan sel tulang. (Mahmudati, 2011)

Modeling dan remodeling akan mencapai dua hal dalam kehidupan seseorang yaitu: pemanjangan tulang (*longitudinal bone growth*) dan kepadatan tulang (*bone massa*). Proses remodeling meliputi dua aktivitas yaitu: proses pembongkaran tulang (*bone resorption*) yang diikuti oleh proses pembentukan tulang baru (*bone formation*), proses yang pertama dikenal sebagai aktivitas osteoklas sedang yang kedua dikenal sebagai aktivitas osteoblas. Proses remodeling melibatkan dua sel utama yaitu osteoblas dan osteoklas, dan kedua sel tersebut berasal dari sumsum tulang (*bone marrow*). Osteoblas berasal dari *pluripotent mesenchymal stem cell* yaitu: *fibroblast coloni forming unit* (CFU-F), sedang osteoklas berasal dari *hematopoietic stem cell* yaitu *granulocyte-macrophage colony-forming units* (CFU-GM). (Mahmudati, 2011)

Pada orang dewasa normal, terdapat keseimbangan antara jumlah tulang yang diresorpsi oleh osteoklas dan jumlah tulang yang dibentuk oleh osteoblas melalui mekanisme coupling. Proses kopling memastikan bahwa jumlah tulang yang dihilangkan setara dengan jumlah tulang yang diletakkan selama fase

pembentukan tulang berikutnya. Konsep remodeling tulang didasarkan pada hipotesis bahwa prekursor osteoklastik menjadi aktif dan berdiferensiasi menjadi osteoklas, dan ini memulai proses resorpsi tulang. Fase ini diikuti oleh fase pembentukan tulang. Kedua fase ini bersama-sama menentukan tingkat pergantian jaringan. (Shankar Ram et al., 2015)

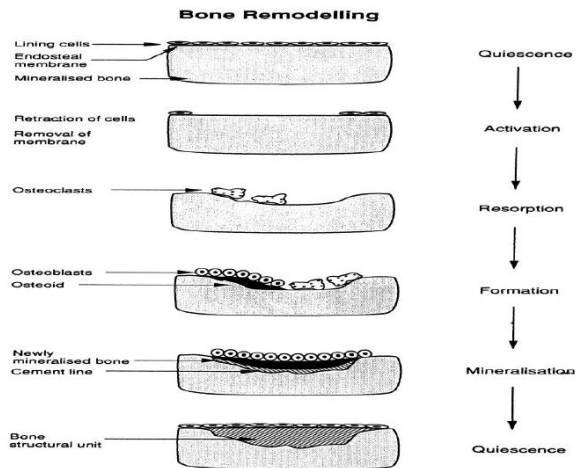
Proses remodeling merupakan dua tahapan aktivitas seluler yang terjadi secara siklik, yakni resorpsi tulang lama oleh osteoklas dan formasi tulang baru oleh osteoblas. Pada tahap awal, osteoklas akan memulai resorpsi melalui proses asidifikasi dan digesti proteolitik. Setelah resorpsi oleh osteoklas berakhir, osteoblas menginvasi area tersebut dan memulai proses formasi dengan cara menyekresi osteoid (matriks kolagen dan protein lain) yang kemudian mengalami mineralisasi. Secara normal, kecepatan resorpsi dan formasi tulang berlangsung dalam kecepatan yang sama sehingga massa tulang tetap konstan. (Sihombing et al., 2012)

Raisz (1999) dan Monologas (1995) menyatakan bahwa 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 osteoclast* 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. Perkembangan osteoklas dari prekursor hematopoietik tidak bisa diselesaikan jika tidak ada kehadiran sel stroma. Oleh karena itu hormon sistemik dan lokal yang mempengaruhi perkembangan osteoklas disediakan oleh *stromal-osteoblastic lineage* (sel stroma).
2. Tahap resorpsi (*resorption phase*) adalah tahap pada waktu osteoklas akan 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 mononuclear 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. (Mahmudati, 2011)



Gambar 4. Tahapan Proses *Remodeling Tulang* (Mahmudati, 2011)

Keterangan :

*Activation* = tahap terjadi aktivasi

*Resorption* = tahap resorpsi

*Formation* = tahap formasi

*Mineralisation* = tahap mineralisasi

*Quiescence* = tahap tidak terjadi remodeling

Jumlah formasi tulang baru akan berkurang seiring dengan bertambahnya usia seseorang karena menurunnya pasokan osteoblas yang tidak bisa mengimbangi kecepatan resorpsinya. Penurunan massa tulang akibat penuaan mulai terjadi pada dekade 4-5 kehidupan dengan kecepatan 0,3 - 0,5% per tahun. Berbeda dengan osteoporosis pada penuaan yang lebih disebabkan oleh menurunnya pasokan osteoblas, osteoporosis pada defisiensi estrogen cenderung dikaitkan dengan peningkatan aktivitas osteoklastik. Laju penurunan massa tulang dapat bertambah hingga 10 kali lipat pada wanita menopause atau pria yang telah menjalani vasektomi. (Sihombing et al., 2012) Penyebab keropos tulang setelah pencabutan gigi tidak diketahui. Pada tahun 1881, Roux menunjukkan bahwa hilangnya tulang alveolar terjadi setelah kehilangan gigi di usia tua dan merupakan contoh dari disfungsi atrophy. Alasannya adalah setelah kehilangan gigi, kekuatan pada tulang berkurang. (Hansson and Halldin, 2012)

Etiologi osteoporosis adalah multifaktorial (dengan faktor genetik 70% dari variabilitas kepadatan tulang), paparan kortikosteroid dosis tinggi dan mobilitas yang rendah adalah dua penyebab potensial penting. (Nandar, 2018) Tingkat keropos tulang setelah pencabutan tampaknya bergantung pada faktor-faktor

seperti ketebalan dinding tulang wajah, angulasi gigi, dan perbedaan anatomi lainnya di berbagai lokasi gigi. (Chappuis et al., 2017)

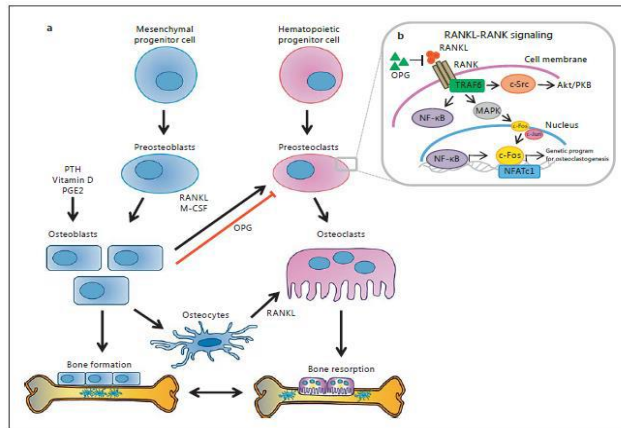
### 1.2.3. Definisi RANKL dan peran molekuler RANKL / RANK / OPG dalam remodeling tulang

RANKL adalah bagian dari TNF (Tumor Necrosis Factor), suatu ligan yang berfungsi meregulasi metabolisme dari tulang. RANKL secara dominan memiliki peran pada fisiologis tulang, yakni menstimulasi diferensiasi dan aktivasi osteoklas, dan menghambat apoptosis osteoklas. Lebih lanjut, cytokine ini berhubungan erat dengan M-CSF yang terlibat dalam proses osteoklasogenesis. RANK, seperti halnya OPG, merupakan superfamily TNFR. RANK diyakini berfungsi sebagai reseptor alami RANKL dan juga diekspresikan pada beberapa jaringan seperti pada muskuloskeletal, thymus, hepar, colon, kelenjar mammae, prostat, pankreas, dan sel-sel linear monosit/makrofag yang termasuk diantaranya prekursor osteoklas dan osteoklas matur, limfosit B dan T, sel dendritik, fibroblast dan *articular chondrocytes*. Aktivasi dari RANK akan merangsang diferensiasi prekursor osteoklas menjadi osteoklas matur yang mana juga akan mengaktivasi osteoklas matur. (Indrayanti, 2016) Proses permodelan tulang erat kaitannya dengan RANK/RANKL, dan OPG. Ketiga protein ini termasuk dalam superfamili TNF- $\alpha$  dan memiliki pola ekspresi yang berbeda. RANKL diekspresikan dalam osteoblas yang berperan dalam diferensiasi osteoklas. OPG mampu mengenali dan mengikat RANKL, sehingga menghalangi interaksinya dengan RANK dan akibatnya mampu menghambat diferensiasi dan aktivasi osteoklas. (Ali et al., 2021)

RANKL adalah singkatan dari reseptor aktivator faktor nuklir *kappa beta* (ligan NFkB). Hal ini juga sering disebut sebagai ligan osteoprotegerin (OPGL) atau faktor diferensiasi osteoklas (ODF) atau sitokin yang diinduksi aktivasi terkait TNF (TRANCE). RANKL diidentifikasi termasuk dalam keluarga faktor nekrosis tumor (TNF) dan telah diakui sebagai satu-satunya sitokin memainkan peran penting dalam metabolisme tulang karena mengatur pengembangan, pemeliharaan dan aktivasi osteoklas. Gen *RANKL* mengkodekan protein 316AA yang secara struktural merupakan monomer tetapi fungsinya ada sebagai homotrimer. RANKL dinyatakan dalam dua bentuk: sebagai molekul yang melekat pada membran pada permukaan sel dan sebagai molekul larut yang dilepaskan oleh TNF-Alpha Convertase (TACE). (Kohli and Kohli, 2011)

Resorpsi tulang alveolar diperankan oleh sel osteoklas. Diferensiasi dan aktivasi osteoklas salah satunya di perankan oleh RANKL yang merupakan anggota dari TNF. RANKL akan berikatan dengan RANK untuk menstimulasi diferensiasi dan aktivasi osteoklas. RANKL dan reseptor RANK berperan pada pembentukan dan fungsi dari osteoklas. RANKL di produksi oleh sel-sel stromal sumsum tulang serta membran yang mengelilingi osteoblas. OPG merupakan membran yang mengelilingi dan mensekresi protein yang melekat pada RANKL untuk menghambat perannya terhadap reseptor RANK. (Hikmah and Shita, 2013)

RANKL memiliki peranan utama pada resorpsi tulang yang termediasi melalui osteoklastogenesis dan aktivasi dari osteoklas dewasa. (Sun *et al.*). RANKL menstimulasi osteoklastogenesis dan aktivasi osteoklas dengan berikatan pada reseptor sel permukaan RANK, yang berlokasi di osteoklas (prekursor pada matur). Ikatan RANKL pada RANK ekstraseluler mengakibatkan aktivasi jalur sinyaling spesifik yang melibatkan formasi dan pertahanan dari osteoklas, yang berakibat pada resorpsi tulang. (Indrayanti, 2016)



Gambar 5 . Aktivitas trias OPG/RANK/RANKL pada osteoblas dan osteoklas. (Indrayanti, 2016)

Mekanisme destruksi tulang merupakan hal yang penting untuk diketahui sebab komplikasi yang diakibatkan dari kemampuan destruksi tulang tersebut merupakan hal yang sangat berbahaya. Osteoklas dan osteoblas memegang peranan penting dalam hal meningkatnya kemampuan destruksi tulang. RANKL diketahui memiliki peranan penting dari mekanisme destruksi tulang pada sejumlah penyakit. Pengenalan RANKL oleh ekspresi RANK dari membrane sel osteoklas juga memfasilitasi destruksi tulang. Sejumlah sitokin dan *growth factor* akan dilepaskan pada proses diferensiasi osteoklas, yang akan merangsang destruksi tulang, sehingga aktivitas proliferasi meningkat. Selain itu, RANKL juga memegang peranan penting dalam hal diferensiasi osteoblas yang dapat berikatan dengan reseptor RANK sehingga dapat menginduksi diferensiasi dari osteoklas. Meningkatnya osteoklas menjadikan absorpsi tulang juga meningkat, sehingga destruksi tulang juga dapat meningkat. Terjadinya destruksi tulang dipicu oleh overekspresi RANKL dan sering ditemukan pada penyakit rheumatoid arthritis, osteoporosis, penyakit periodontal, koleastatoma, dan lain-lain. (Yarisman *et al.*, 2017)

Regenerasi dari jaringan periodontal adalah proses fisiologis yang berkelanjutan. Dalam kondisi normal, sel dan jaringan baru terus dibentuk untuk menggantikan sel dan jaringan yang mati. Ketika ada peradangan pada jaringan periodontal, garis pertahanan pertama diaktifkan. Infiltrasi makrofag sebagai

proteksi terhadap infeksi juga akan meningkat pada area yang meradang dan menginduksi reseptor aktivator kappa B (NFκB). NFκB akan memicu sekresi mediator proinflamasi yaitu IL-1, IL-6, dan TNF-α, untuk memperkuat respon imun dan mempercepat proses metabolisme. Mediator proinflamasi ini kemudian meregulasi receptor activator of NFκB ligand (RANKL) untuk berikatan dengan receptor activator NFκB (RANK), yang menyebabkan peningkatan diferensiasi preosteoklas menjadi osteoklas, kemudian mempercepat proses resorpsi tulang. Osteoprotegerin yang diproduksi oleh osteoblas menghambat perkembangan osteoklas. BMP-2 adalah penginduksi kuat pembentukan tulang yang mempromosikan diferensiasi sel fibroblas menjadi osteoblas dan kondroblas. BMP-2 meningkatkan pembentukan kalus pada penyembuhan fraktur.(Gani et al., 2022)

Fungsi RANKL terkonsentrasi pada biologi tulang terkhusus untuk metabolisme tulang. RANKL memainkan peran penting dalam osteoklastogenesis. Di bawah interaksi kompleks antara RANKL dan M-CSF progenitor monosit dari reservoir mieloid hematopoietik berdiferensiasi menjadi osteoklas matang. Osteoklas terutama bertanggung jawab atas resorpsi tulang dan RANKL memengaruhi pengaktifannya. Pada saat yang sama, RANKL merupakan sebuah ligan untuk reseptor OPG yang dapat larut dan interaksi ini menghalangi osteoklastogenesis melalui RANKL. Dengan demikian, RANKL memiliki aksi tipe antagonis ganda pada osteoklastogenesis, bergantung pada tipe reseptor yang berinteraksi dengannya, RANK atau OPG, meskipun kedua reseptor tersebut termasuk dalam keluarga reseptor TNF yang sama. Oleh karena itu, RANKL memainkan peranan penting dalam aktivasi osteoklas, sehingga mempengaruhi resorpsi tulang. Interaksi antara RANK dan RANKL menandakan inisiasi osteoklastogenesis dan aktivasi osteoklas. Dengan demikian, secara teori mekanisme molekuler terdiri dari pengikatan ligan RANKL ke reseptor umpan OPG yang dapat larut, dalam kompetisi dengan RANK, yang diikuti oleh penghambatan perkembangan osteoklas melalui RANKL. RANK dianggap sebagai sebuah penggerak reseptor dari sel-sel osteoklas. Faktor NFκB, mirip dengan pensinyalan TNF-R. Mekanisme sinyal intraseluler kompleks yang bertanggung jawab atas diferensiasi, kelangsungan hidup dan aktivasi osteoklas dan resorpsi tulang menandakan aktivasi RANK melalui ligan atau RANKL.(Kohli and Kohli, 2011) RANKL menstimulasi osteoklastogenesis dan aktivasi osteoklas dengan berikatan pada reseptor sel permukaan RANK, yang berlokasi di osteoklas (prekursor dan matur).(Indrayanti, 2016)

Secara struktural, RANK adalah heterotrimer. RANK ditemukan diekspresikan pada permukaan sel-sel progenitor osteoklas, osteoklas matang, kondrosit, sel dendritik dan trofoblas. Osteoprotegerin (OPG) diibaratkan sebagai pelindung tulang. Ia juga dikenal sebagai faktor penghambat osteoklas (OCIF). OPG disekresikan sebagai homodimer dan merupakan protein glikolisasi pasca-translasi. OPG adalah reseptor terlarut yang homolog dengan TNF-R. Reservoir seluler osteoblas adalah sel stroma sumsum tulang dan sel dendritik folikuler. OPG adalah reseptor umpan yang dapat larut, yang bersaing dengan reseptor

RANK dan berikatan dengan RANKL. Baik OPG maupun RANK merupakan reseptor yang menunjukkan afinitas terhadap ligan RANKL yang sama. OPG merupakan reseptor endogen antagonis dan jika berikatan dengan RANKL menghambat osteoklastogenesis, sehingga menghambat proses resorpsi tulang. Kompleks OPG-RANKL mengimbangi efek kompleks RANK-RANKL, sehingga memainkan peran paling penting dalam homeostatis tulang. Hal ini dapat dibuktikan lebih lanjut dengan fakta bahwa pada tikus transgenik yang gen *OPG*-nya dihilangkan, osteoporosis parah dengan cepat terjadi. Fraktur spontan diamati pada model hewan ini karena pembentukan kompleks RANKL-RANK yang berlebihan. (Kohli and Kohli, 2011)

#### 1.2.4 *Socket preservation*

Soket preservasi atau *alveolar ridge preservation* adalah prosedur untuk menahan atau meminimalkan resorpsi ridge alveolar setelah pencabutan gigi. (Kalsi et al., 2019) Variasi perubahan dimensi pasca ekstraksi tampaknya terkait dengan factor lokal, individu, dan terkait dengan operasi dan tidak dapat dihilangkan sepenuhnya. (Juodzbaly et al., 2019) Komplikasi pasca ekstraksi yang terjadi dapat memperlambat penyembuhan luka dan menginduksi terjadinya resorpsi tulang. Terhambatnya proses penyembuhan luka dan regenerasi tulang pada soket menyebabkan regenerasi tulang yang tidak optimal sehingga dapat terbentuk defek cekungan pada alveolar ridge yang berdampak terhadap integritas alveolar ridge. Perawatan yang sering dilakukan untuk mengoptimalkan proses penyembuhan luka dan regenerasi tulang dalam menjaga integritas alveolar ridge setelah ekstraksi dilakukan adalah dengan penambahan material stabilisasi bekuan dan okulasi pada soket alveolar. (Maryani et al., n.d.) Dalam 6 bulan, resorpsi tulang terjadi sebanyak 1,5-2 mm pada arah vertikal dan 40%-50% pada arah horizontal, dan sebagian besar kasus terjadi pada tiga bulan pertama. Jika pengobatan tidak dilakukan, resorpsi tulang dapat mencapai 40-60% dari volume puncak tulang dalam tiga tahun pertama. (Kamadajaja et al., 2019)

Preservasi ridge adalah prosedur yang mengurangi kehilangan tulang dan jaringan lunak setelah pencabutan gigi. Ini dilakukan segera setelah pencabutan gigi. Telah ditemukan bahwa prosedur preservasi ridge setelah pencabutan gigi menghasilkan dimensi tulang orofasial yang lebih besar bila dibandingkan dengan kasus dimana tidak ada prosedur preservasi ridge yang diselesaikan. (Fee, 2017)

Pencabutan gigi diawali dengan resorpsi tulang alveolar yang dimulai dengan cepat dan berlanjut selama bertahun-tahun. (Stumbras et al., 2019) Kehilangan gigi merupakan salah satu indikator utama kesehatan rongga mulut pada suatu populasi dan merupakan salah satu variabel favorit yang dipertimbangkan dalam banyak penelitian. (Passarelli et al., 2020) Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi belum menjamin ketahanan gigi terhadap penyakit atau trauma secara

menyeluruh sehingga masih banyak kasus kehilangan gigi. Ketika gigi tanggal terjadi, volume tulang akan berkurang. resorpsi tulang akibat pencabutan gigi dapat menyebabkan masalah dalam prostodontik karena dapat menyebabkan hasil perawatan jangka panjang yang buruk.(Kamadjaja et al., 2019) Remodeling alveolar ridge setelah pencabutan dapat menyebabkan resorpsi hampir setengah dari lebar tulang alveolar.(Wang et al., 2020) Dalam 6 bulan, resorpsi tulang terjadi sebanyak 1,5-2 mm pada arah vertikal dan 40%-50% pada arah horizontal, dan sebagian besar kasus terjadi pada tiga bulan pertama. Jika pengobatan tidak dilakukan, resorpsi tulang dapat mencapai 40-60% dari volume puncak tulang dalam tiga tahun pertama.(Kamadjaja et al., 2019) Dalam banyak kasus setelah pencabutan gigi, soket tulang alveolar mengalami kehilangan tulang sebesar 50% lebarnya dalam tahun pertama . Dalam upaya mempertahankan tulang alveolar yang adekuat setelah pencabutan gigi, dan untuk meminimalkan resorpsi, banyak peneliti telah meneliti kemanjuran berbagai biomaterial dalam menjaga soket pencabutan. Penggunaan bahan cangkok pada soket pencabutan untuk memperlambat resorpsi dinding soket telah menjadi praktik klinis yang umum. Pemilihan bahan berpengaruh terhadap keberhasilan pengawetan soket gigi.(Lin et al., 2019)

Terapi regenerasi mempercepat penyembuhan dan pembentukan tulang baru. Salah satu jenis rekayasa jaringan untuk regenerasi secara periodontal adalah penerapan cangkok tulang. Ada empat jenis cangkok tulang, yaitu autograft, allograft, xenograft, dan bahan sintetik alloplastik. Autograft masih menjadi pilihan utama dalam memulihkan defek tulang namun masih sangat terbatas, sehingga diperlukan material bone graft pengganti untuk membantu regenerasi tulang. Salah satu bahan cangkok yang tersedia adalah xenograft, bahan alami yang tersedia dalam jumlah besar. Bahan alam yang berpotensi sebagai bone graft dalam regenerasi dan perbaikan jaringan tulang adalah kitosan dan hidroksiapatit.(Gani et al., 2022)

### **1.2.5 Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*)**

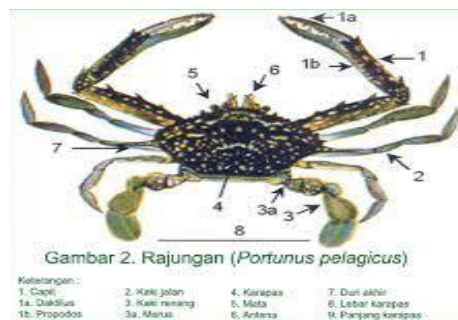
#### **1. Klasifikasi Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*)**

Coleman (1991) melaporkan bahwa Rajungan (*Portunus Pelagicus*) merupakan jenis kepiting perenang yang juga mendiami dasar lumpur berpasir sebagai tempat berlindung. Jenis Rajungan ini banyak terdapat pada lautan Indo-Pasifik dan India.(Y, 2016) Sebaran Rajungan (*Portunus pelagicus*) meliputi perairan pantai tropis di sepanjang Samudera Hindia bagian barat, timur Samudera Pasifik dan Indo-Pasifik barat.(Ernawati, Boer, et al., 2014) Habitat Rajungan adalah pada pantai ber substrat pasir, pasir berlumpur, dan di pulau berkarang juga berenang dari dekat permukaan laut (sekitar 1 m) sampai kedalaman 56 meter. Rajungan hidup di daerah estuaria kemudian bermigrasi ke perairan yang bersalinitas lebih tinggi untuk menetaskan telurnya, dan setelah mencapai Rajungan muda akan kembali ke Estuaria.(Y, 2016)

### Klasifikasi Rajungan(Y, 2016)

Kingdom	: Animalia
Sub Kingdom	: Eumetazoa
Grade	: Bilateria
Divisi	: Eucoelomata
Section	: Protostomia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub Kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Sub Ordo	: Reptantia
Seksi	: Brachyura
Sub Seksi	: Branchyrrhyncha
Famili	: Portunidae
Sub Famili	: Portunninae
Genus	: <i>Portunus</i>
Spesies	: <i>Portunus pelagicus</i>

Cangkang merupakan bagian terkeras dari semua komponen Rajungan dan mengandung khitin, protein, CaCO<sub>3</sub> serta sedikit MgCO<sub>3</sub> dan pigmen *antaxanthin*. Rajungan (*Portunus pelagicus*) adalah binatang yang termasuk ke dalam jenis kepiting. Rajungan juga sering disebut sebagai kepiting laut dan memiliki jenis yang cukup beragam, mulai dari Rajungan biasa, karang, angin, batik, hijau, dan masih banyak lagi. Dalam sebuah penelitian disebutkan bahwa binatang ini di Indonesia memiliki 1.400 jenis dan setiap jenisnya memiliki keunikan tersendiri. Seperti disebutkan sebelumnya, Rajungan hanya hidup di laut atau pada air asin.(Y, 2016)



Gambar 6. Rajungan (*Portunus pelagicus*) (Y, 2016)

## 2. Pemanfaatan limbah Rajungan

Rajungan (*Portunus pelagicus*) termasuk hewan dasar pemakan daging yang tergolong dalam family *portunidae*. Saat ini Rajungan merupakan komoditas ekspor unggulan hasil perikanan Indonesia, khususnya untuk ekspor ke Jepang, Uni Eropa, dan Amerika Serikat. Meningkatnya permintaan ekspor berefek pada volume produksi Rajungan yang terus bertambah. Peningkatan

produksi tentunya diikuti dengan peningkatan jumlah limbah yang dihasilkan, baik limbah padat berupa cangkang atau kulit dan limbah cair berupa air rebusan dimana cangkang merupakan salah satu limbah padat dari pengolahan kepiting (Rajungan). (Hidayat, 2016; Y, 2016)

Menurut Multazam (2002), dalam satu ekor Rajungan menghasilkan limbah proses yang terdiri dari 57% cangkang, 3% *body reject*, dan air rebusan 20%. Rajungan dengan bobot 100-350 gram menghasilkan limbah cangkang Rajungan antara 51-150 gram. Hal ini menunjukkan bahwa bobot cangkang Rajungan mengisi kurang lebih 50% atau setengah dari bobot tubuh Rajungan. Jika produksi Rajungan mencapai 600 kg/hari menghasilkan daging Rajungan 250 kg sedangkan 350 kg berupa limbah padat berupa capit dan cangkang. Peningkatan limbah cangkang Rajungan akan berdampak terhadap pencemaran lingkungan apabila tidak ditangani. Pemanfaatan limbah cangkang Rajungan merupakan solusi dalam menanggulangi masalah pencemaran lingkungan dan juga merupakan salah satu upaya untuk mengurangi volume limbah yang terus bertambah. (Y, 2016)

Limbah potensial tersebut selama ini belum dimanfaatkan secara optimal, padahal sebagian besar limbah potensial ini adalah sumber mineral penting seperti kalsium dan fosfor yang dibutuhkan oleh tubuh. Kalsium adalah salah satu makro mineral yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah lebih dari 100 mg per hari. Kebutuhan mineral ini untuk manusia di segala kelompok umur sangat tinggi, untuk ukuran masyarakat Indonesia sekarang ini asupan tiap hari yang direkomendasikan pada anak di bawah 10 tahun adalah 500 mg/hari, remaja 1000 mg/hari dan wanita hamil sebesar 1150 mg/hari, sedangkan untuk orang dewasa memerlukan kalsium sebanyak 800 mg/hari. (Y, 2016)

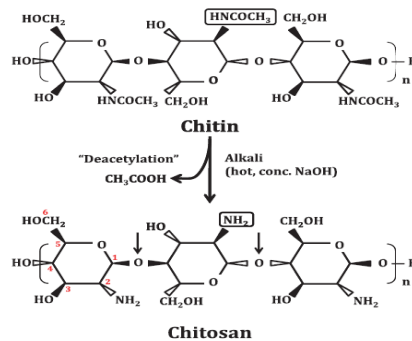
#### **1.2.6. Kitosan**

Di bidang pangan, kitin dan kitosan digunakan sebagai penjernih jus, pembentukan film, produksi senyawa perisa, pengawet anti mikroba. Penurunan kolesterol dan trigliserida terjadi karena adanya pengikatan lemak oleh kitosan sehingga banyak digunakan sebagai suplemen diet. Untuk kosmetik, kitosan digunakan sebagai campuran produk-produk perawatan rambut dan kulit. Karena memiliki permeabilitas oksigen yang tinggi maka kitosan banyak digunakan untuk lensa kontak. Untuk pertanian, kitosan dimanfaatkan sebagai flokulan untuk menghilangkan logam berat dan kontaminan lain dari limbah cair. Saat ini aplikasinya termasuk ke dalam pengolahan sampah baik sampah kertas, sisa buangan logam berat, dan sampah radioaktif. (Rochima, 2014)

Kitosan merupakan salah satu bentuk polimer biodegradable yang berkembang sebagai bahan medikamen pada penanganan penyembuhan luka serta bahan okulasi pada rekayasa jaringan menurut penelitian saat ini. (Maryani et al., 2018) Chitosan atau  $\beta$ -(1-4) $\beta$ -D-glukosamin merupakan turunan dari chitin yang diekstraksi dari cangkang kerang, kepiting, dan jamur setelah tahap deasetilasi kimia dimana kitosan sifat osteoinduktif,



biokompatibilitas tinggi, biodegradabilitas, bioadhesi, antibakteri antiinflamasi, dan mempercepat penyembuhan luka.(Gani et al., 2022; Maryani et al., n.d.) Chitosan memiliki kemampuan dalam menginduksi proliferasi pertumbuhan sel tulang, antimikroba, antioksidan, antitumor, dan simulasi faktor pertumbuhan sehingga kitosan sering dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan perancah dan cangkok tulang. Chitosan yang telah terdegradasi melekat pada permukaan sel dan meningkatkan aktivitas regenerasi jaringan. Chitosan yang terurai akan mengaktifkan faktor pertumbuhan untuk proses penyembuhan luka dan regenerasi tulang alveolar. Faktor pertumbuhan akan menstimulasi sel osteoprogenitor yang berdiferensiasi menjadi sel osteoblas. Osteoblas akan mensintesis dan mensekresikan matriks organik sebagai penanda terjadinya proses remineralisasi serta regenerasi tulang. Adapun matriks organik yang disekresikan adalah kolagen tipe I, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, RANKL, OPG, proteoglikan, dan protase laten.(Maryani et al., n.d.)



Gambar 7. Struktur Kimia Kitin dan Kitosan.(Huldani, 2012)

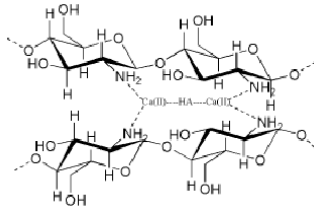
Kitosan adalah kitin yang telah dihilangkan gugus asetilnya menyisakan gugus amina bebas yaitu Beta-(1,4)-N-asetil-D-glukosamin dan Beta-(1,4)-D-glukosamin.("3707-6701-1-SM," n.d.) Pada dasarnya sintesis kitosan sangat dipengaruhi oleh kondisi operasional pembuatan. Hal ini dikarenakan kondisi operasional seperti suhu mempengaruhi terhadap derajat deasetilasi yang berlanjut menentukan jumlah gugus amina bebas dalam rantai polimer kitosan. Selain gugus amina bebas, kitosan juga memiliki gugus hidroksil. (Huldani, 2012) Menurut Burrows et al., Yen et al., dan Matheis et al., cangkang kulit golongan hewan kepiting termasuk didalamnya Rajungan mengandung kitin yang dapat dikonversi menjadi kitosan melalui reaksi deasetilasi.(Azizi et al., 2020)

Tabel 1. Sifat Fisikokimia dan Biologis dari Kitosan(Rahmitasari, 2016)

Sifat Fisikokimia Kitosan	Sifat Biologis Kitosan
1. Berat molekul 104 Da 2. Memiliki tiga jenis gugus fungsional reaktif yaitu sebuah gugus amino serta gugus hidroksil primer dan sekunder 3. Memiliki titik leleh ketika dipanaskan 4. Hampir semua larutan asam dapat melarutkan kitosan; yang paling sering digunakan adalah asam format dan asam asetat. 5. Densitas muatan yang tinggi pada pH <6,5 6. Viskositas, tinggi ke rendah	1. Biocompatible dan biodegradable 2. Haemostatik, bakteriostatik, dan fungistatic 3. Antitumor 4. Aman dan tidak toksik 5. Dapat mengikat sel-sel mamalia secara agresif 6. Memiliki efek dalam meregenerasi jaringan ikat gusi

Kitosan adalah polisakarida yang terdiri dari glukosamin dan unit N acetylglucosamine. Kitosan merupakan kitin yang berasal dari polimer yang dihasilkan oleh deasetilasi kitin. Banyak aplikasi biomedis dilakukan dengan bahan kitosan, yaitu seperti penyembuhan luka, pencangkokan kulit, homeostatis, hemodialysis, pencegahan plak gigi, kontrol hipertensi, dan kontrol kolesterol. Kitosan mempunyai sifat osteokonduktifitas tinggi, pengaplikasian yang mudah dan biodegradasi bertahap yang membuat bibit yang bagus untuk regenerasi tulang. Kitosan telah terbukti dapat meningkatkan regenerasi tulang pada dental bone loss. Oleh karena itu, kitosan dianggap sebagai alternatif yang cocok untuk bone graft. Kombinasi kitosan dengan biomaterial lain dapat memiliki efek sinergis pada adhesi sel, diferensiasi sel dan pembentukan matriks ekstraseluler. (Salim et al., 2015)

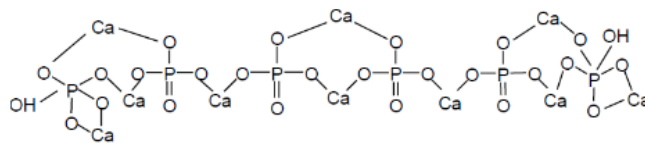
Sifat mekanik komposit kitosan/hidroksiapatit memainkan peranan penting dalam teknik jaringan tulang. Ikatan hidrogen intramolekuler dan interaksi antara kitosan dan hidroksiapatit berkontribusi pada sifat mekaniknya. Interaksi yang mungkin antara gugus NH<sub>2</sub> dan gugus OH primer dan sekunder dari kitosan dengan Ca<sup>2+</sup> dari Hap (ikatan koordinasi logam). Interaksi ini yang mungkin bertanggung jawab pada kekuatan mekanik yang lebih tinggi dari komposit dibandingkan dengan kitosan dan hidroksiapatit sendiri. Kuat tekan telah menjadi parameter yang digunakan secara luas untuk kekuatan mekanik dari scaffold berpori. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)



Gambar 8. Interaksi kimia antara kitosan-hidroksiapatit (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)

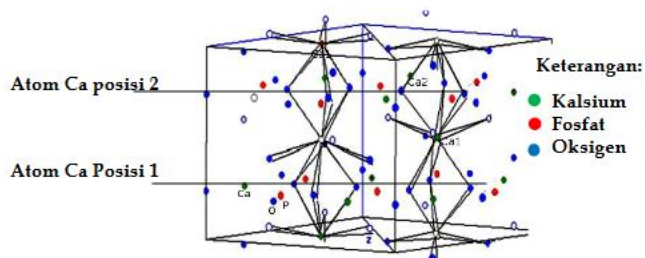
### 1.2.7. Hidroksiapatit (HA)

Hidroksiapatit adalah suatu senyawa kalsium fosfat yang mengandung hidroksida. Hidroksiapatit merupakan anggota dari mineral apatit dan mempunyai rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Kalsium fosfat telah banyak digunakan pada bidang medis dalam bentuk serbuk, padat, blok berpori, dan berbagai komposit. Hidroksiapatit memiliki rasio Ca/P yaitu 1,67. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)



Gambar 9. Rumus Kimia Hidroksiapatit. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)

Hidroksiapatit merupakan komponen utama tulang yang terdiri dari ion  $\text{Ca}^{2+}$  yang dikelilingi oleh  $\text{PO}_4^{3-}$  dan ion  $\text{OH}^-$ . Terdapat dua struktur kristal berbeda yang dijumpai pada hidroksiapatit yaitu monoklinik dan heksagonal. Pada umumnya, hidroksiapatit yang disintesis memiliki struktur kristal heksagonal. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)



Gambar 10. Struktur Hidroksiapatit (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)

Hidroksiapatit memiliki sifat fisik, mekanik, kimia, dan biologi. Secara fisik, hidroksiapatit merupakan biokeramik bioaktif. Menurut Pane (2004), biokeramik ialah keramik yang secara inovatif yang dipergunakan untuk memperbaiki dan merekonstruksi bagian tubuh yang terkena penyakit atau cacat. Secara fisik, permukaan hidroksiapatit bersifat bioaktif sehingga dapat melekat pada jaringan dan mampu menahan beban di atasnya. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)

Secara kimiawi, hidroksiapatit larut dalam pelarut asam tetapi tidak larut dalam pelarut basa dan sedikit terlarut dalam air destilasi. Kelarutan hidroksiapatit dalam air meningkat dengan adanya penambahan elektrolit dan akan mengalami perubahan dengan adanya asam amino, protein, dan enzim. Hidroksiapatit stabil pada pH di atas 4,2. Secara biologis, hidroksiapatit memiliki sifat biokompatibel dan bioaktif. Sifat ini memungkinkan jaringan sekitar untuk tumbuh ke sekitar implan sehingga ikatan dengan jaringan lebih baik. Keuntungan hidroksiapatit yang lain adalah konduktivitas listrik dan termal rendah. Hidroksiapatit bersifat osteokonduktif artinya bahan ini dapat merangsang pembentukan tulang bila diletakan didekat jaringan yang mengandung tulang. Hidroksiapatit memiliki kemampuan bertahan terhadap korosi dan kemampuan bertahan terhadap perubahan dilingkungan tubuh. (Cahyaningrum and Herdyastuti, 2017)

Penelitian yang dilakukan oleh Shavandi et al. menunjukkan bahwa kombinasi kitosan dan hidroksiapatit memiliki ukuran pori scaffold berkisar antara 90–220 $\mu$ m dan memiliki porositas 70–80%, menunjukkan bahwa kombinasi kitosan dan hidroksiapatit memiliki sifat fisik dan biologis berupa osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis. Sehingga dapat menjadi biomaterial yang menjanjikan untuk regenerasi jaringan tulang bila digunakan sebagai bone graft. Penambahan kitosan ke dalam HA diharapkan dapat meningkatkan efektivitas HA dalam komponen pengikat bioaktif dan mengurangi kerapuhan HA. (Gani et al., 2022) Hidroksiapatit terbukti biokompatibel dan ditoleransi dengan sangat baik oleh jaringan mulut manusia, memiliki kemampuan osteokonduktif, dan telah terbukti merangsang diferensiasi osteoblas dan pembentukan tulang. (Gani et al., 2022; Nandar, 2018)

### 1.2.8. Tabel sintesis penelitian

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai kitosan maupun kombinasi kitosan-hidroksiapatit dapat dilihat pada tabel di bawah.

**Tabel 2. Sintesis Penelitian**

No.	Author, Tahun	Metode	Hasil
1.	Shavandi A, 2016 (Kamadjaja et al., 2021)	Penelitian kuantitatif dengan analisa Kruskal Wallis dan Mann whitney	Tes viabilitas sel dengan sel osteoblas menunjukkan bahwa bio-safon yang dihasilkan dari kitosan iradiasi tidak beracun, dan biokompatibel, yang berpotensi untuk aplikasi rekayasa jaringan tulang di bidang biomedis
2.	Kamadjaja, 2019(Kamadjaja et al., 2019)	Penelitian kuantitatif dengan Analisa Oneway Anova and Post-hoc Tukey HSD	Bubuk graft hidroksiapatit dari <i>Portunus pelagicus</i> memiliki sifat biokompatibel pada kultur sel HGF (sel fibroblast gingiva manusia) dan pada konsentrasi terendah 25 ppm memiliki patibilitas biokom yang optimal dibandingkan dengan dua konsentrasi lainnya.
3.	Dahlan A, 2020 (Kamadjaja et al., 2021)	Penelitian kuantitatif dengan analisa Kolmogrov Smirnov, Levene test, one way ANOVA, and Tukey HSD test.	Gel hidroksiapatit dari aplikasi cangkang kepiting ( <i>Portunus pelagicus</i> ) menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam kepadatan serat kolagen, Jumlah serat kolagen meningkat secara substansial hingga 28 hari setelah ekstraksi. sifat osteokonduktif dari hidroksiapatit cangkang kepiting mampu menginduksi dan merangsang sel punca dan osteoblas untuk berkembang biak dan membedakan proses pembentukan tulang atau regenerasi tulang yang baru.
4.	Djais Al, 2022 (Djais et al., 2022)	Penelitian kuantitatif dengan analisa, one way ANOVA, and Tukey HSD test.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan dari sisik bandeng menghambat produksi sitokin pro-inflamasi TNF- dan IL-6. Kitosan dari sisik bandeng meningkatkan dampak anti-inflamasi dengan menurunkan tingkat IL-6 awal, memperpendek proses peradangan, dan mempercepat tahap proliferasi dan remodeling
5.	Gani A, 2022(Gani et al., 2022)	Penelitian kuantitatif dengan Analisa Oneway Anova	Terdapat perbedaan signifikan tingkat ekspresi IL-1 dan BMP2 antara kelompok kitosan/hidroksiapatit, kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke 7, 14, dan 21. Kelompok yang ditambahkan dengan kombinasi gel kitosan dan HA menunjukkan penurunan ekspresi IL-1 yang lebih cepat dibandingkan kelompok kontrol. Ekspresi BMP-2 meningkat dalam kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

			Sehingga kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit menghambat produksi sitokin proinflamasi dan meningkatkan produksi BMP-2.
6.	Cornejo F.V, 2017 (Cornejo et al., 2017)	Penelitian kuantitatif dengan analisa uji Tes U-Mann Whitney	aplikasi CH/HAP menghasilkan pertumbuhan tulang alveolar rata-rat 5,77mm. Tingkat mobilitas gigi awalnya 2,44mm dan pada akhir penelitian menjadi 0,8mm dengan perbedaan yang signifikan. Kepadatan tulang di daerah yang terkena periodontitis mirip dengan kepadatan tulang yang berdekatan dengannya.

### 1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah pemberian kombinasi hidrogel kitosan dengan hidroksiapatit dari Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*) sebagai *bonegraft* pada tindakan *socket preservation* mampu mempengaruhi RANKL terhadap regenerasi tulang?

### 1.4 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan umum

Untuk melihat pengaruh kombinasi bahan hydrogel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*) sebagai *bone graft* dalam proses penyembuhan luka, mengontrol inflamasi, dan meregenerasi jaringan tulang pada prosedur *socket preservation* dilihat dari ekspresi RANKL.

#### 1.3.2. Tujuan khusus

1. Mempelajari proses pengolahan cangkang Kepiting Rajungan dalam menghasilkan bahan baku berupa kitosan dalam bentuk sediaan hydrogel dan hidroksiapatit dalam bentuk bubuk
2. Menilai pengaruh kombinasi bahan hydrogel kitosan dan bubuk hidroksiapatit sebagai *bone graft* terhadap regenerasi jaringan periodontal pada hewan coba
3. Menilai regenerasi jaringan periodontal melalui indikator ekspresi *Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand* (RANKL)

### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi cangkang Kepiting Rajungan pada Bidang Periodonsia
2. Menjadi pertimbangan dalam perawatan regenerasi jaringan periodontal sebagai bahan cangkok tulang
3. Menyediakan bahan baku *bonegraft* dengan harga terjangkau