EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)

TESIS

Oleh :

SHERLY ENDANG

J035191010

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI PERIODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
Memperoleh gelar Profesi Spesialis – 1 dalam bidang ilmu
Periodonsia Pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Oleh :

SHERLY ENDANG

J035191010

Pembimbing :

1. Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio (K)
2. Prof. Dr. drg. Muh. Harun Achmad, M.Kes., Sp.KGA (K)

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI PERIODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)

Oleh :

SHERLY ENDANG

J035191010

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

Makassar, 01 Maret 2022

Pembimbing I,	Pembimbing II,
Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio(K)	**Prof. Dr. drg. Muh. Harun Achmad, M.Kes.,Sp.KGA(K)**
Nip. 19750130 200812 2 002	**Nip. 19710523 200212 1 002**

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG UNHAS

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

PENGESAHAN UJIAN TESIS

EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)

Diajukan oleh

SHERLY ENDANG

J035191010

Telah disetujui

Makassar, 01 Maret 2022

Pembimbing I,	Pembimbing II,
Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp.Perio(K)	**Prof. Dr. drg. Muh. Harun Achmad, M.Kes.,Sp.KGA(K)**
Nip. 19750130 200812 2 002	**Nip. 19710523 200212 1 002**

Ketua Program Studi (KPS) PPDGS Periodonsia FKG UNHAS	Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp.Perio(K)	**Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)**
Nip. 19641003 199002 2 001	**Nip. 19730702 200112 1 001**

TESIS

EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)

Oleh :

SHERLY ENDANG

J035191010

Telah disetujui

Makassar, 01 Maret 2022

1. Penguji I : Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp. Perio (K) : .....
2. Penguji II : Prof.Dr.drg.Muh.Harun Achmad, M.Kes.,Sp.KGA(K) : .....
3. Penguji III : Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio (K) : .....
4. Penguji IV : drg. Surijana Mappangara, M.Kes.,Sp.Perio(K) : .....
5. Penguji V : Dr. drg. Asdar Gani, M. Kes. : .....

Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG UNHAS

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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sherly Endang

NIM : J035191010

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis ilmiah yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian 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, 01 Maret 2022

Sherly Endang

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala kasih dan penyertaanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul "**Efektivitas Kombinasi Kitosan Sisik Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Sulawesi Selatan dan Bovine Hidroksiapatit terhadap Jumlah Osteoblas pada Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*)"**.

Penulisan tesis ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Spesialis Periodonsia di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis (PPDGS) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis menyadari banyak hambatan dalam penyusunan tesis ini, namun berkat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A** sebagai Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes, Ph.D, Sp. BM (K)** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio (K)** sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia, sekaligus sebagai penguji I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, bimbingan, dukungan serta arahan selama penulis menempuh pendidikan di PPDGS Periodonsia.
4. **Prof. Dr. drg. Mardiana Andi Adam, MS** sebagai Penasehat Akademik

yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi demi kelancaran penyelesaian pendidikan di PPDGS Periodonsia.

5. **Dr. drg. Arni Irawaty Djais, Sp. Perio (K)** dan **Prof. Dr. drg. Muh. Harun Achmad, M.Kes., Sp. KGA (K)** sebagai pembimbing yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
6. **drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp. Perio (K)** dan **Dr. drg. Asdar Gani, M.Kes**, sebagai penguji II dan III yang telah banyak memberikan arahan, masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini.
7. **Prof. Dr. drg. Hasanuddin Thahir, M.Kes., Sp. Perio (K), drg. Supiaty, M.Kes** dan **drg. Dian Setiawati, Sp. Perio** sebagai dosen Departemen Periodonsia yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan dukungan selama proses pendidikan.
8. Klinik hewan La Costae, Laboratorium Biologi FMIPA UNM, Laboratorium Patologi Anotomi FK UNHAS dan Laboratorium Biokimia – Biomolekuler FK Universitas Brawijaya yang telah membantu proses penelitian ini.
9. Orang tuaku tercinta **Suparmo dan Lili Tumega** atas segala doa, bimbingan dan dukungan dalam bentuk moril maupun materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun dan selalu memberikan yang terbaik untuk anak-anaknya.
10. Mertua terkasih **Eklevina Umkeketony, S.Pd**, dan semua kakak ipar serta

keponakan atas segala dukungan doa dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan.

11. Suamiku tercinta **Rudolvo Wenno, S.T** dan anakku tercinta **Grizello Rafael Wenno** atas segala doa, semangat dan motivasi, serta selalu sabar dan setia mendampingi dan membimbing penulis selama masa pendidikan ini.
12. Adik-adikku tersayang **Selfiana Sari, S.Ked** dan **Billy Chandra** beserta istri dan anak atas segala dukungan doa dan semangat selama menjalani pendidikan.
13. Kakak Paula Bano yang sedang menempuh pendidikan di PPDGS Bedah Mulut, terima kasih buat dukungan doanya dan kita saling menyemangati selama masa pendidikan ini.
14. Kepada teman-teman seperjuangan **The Twelve (Titu)**, Vanny, Jenni, Ayu, kak Yayuk, kak Ave, kak Oda, kak Achi, kak Dian, kak Nir, kak Ija dan kak Yudin yang selalu membantu, mendukung dan memberi semangat selama menempuh pendidikan bersama.
15. Kepada junior Sigma, Soju, Nemesix dan Dextra yang telah memberi dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan.
16. Staf pegawai kak Bia dan Mirna, serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam segala hal kepada penulis dalam menyelesaikan penyusunan tesis ini. Penulis memohon maaf jika tidak dapat menyebutkan satu-persatu.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga penulisan tesis ini bermanfaat bagi pembaca dan masyarakat luas serta berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran gigi.

Makassar, 01 Maret 2022

drg. Sherly Endang

EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DAN BOVINE HIDROKSIAPATIT TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PENCABUTAN GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)

ABSTRAK

Latar belakang: Kitosan merupakan bahan alami turunan kitin terdesetilasi**,** yang bersifat antimikroba, biodegradibel, biokompatibel dan osteokonduktif. Saat ini sisik ikan telah banyak digunakan sebagai sumber kitosan karena memiliki kandungan kitin. Salah satunya adalah ikan bandeng (*Chanos chanos*) yang merupakan hasil perikanan unggulan di Sulawesi Selatan. Pasca pencabutan gigi akan terjadi penyembuhan jaringan lunak dan keras. Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggung jawab pada proses mineralisasi matriks tulang.

Bahan dan metode: Kitosan sisik ikan bandeng dibuat melalui proses deproteinase, demineralisasi dan deasitilasi. Sebanyak 27 ekor marmut dilakukan pencabutan gigi insisivus mandibula dan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu (1) kelompok perlakuan soket gigi diisi dengan kombinasi kitosan sisik bandeng dan bovine hidroksiapatit, (2) kontrol positif soket hanya diisi dengan bovine hidroksiapatit, (3) kontrol negatif soket diisi dengan gel plasebo. Pada hari ke-7, 14 dan 28 dilakukan *sacrificed* untuk pengambilan jaringan soket dan pemeriksaan histologi osteoblas. Analisis data dilakukan dengan uji *Shapiro* wilk, uji *Levene* dan ANOVA.

Hasil: Pada hari ke-7, 14 dan 28 terjadi peningkatan jumlah osteoblas yang signifikan ($p<0.05$) pada kelompok kombinasi kitosan sisik bandeng dan bovine hidroksiapatit dibandingkan dengan kelompok gel plasebo.

Pembahasan: Kitosan dapat berperan sebagai *scaffold* karena sifatnya yang biokompatibel dan berdegradibel. Selain itu, kitosan juga bersifat hidrofilik sehingga mendukung adhesi dan proliferasi sel-sel osteogenik dan *mesenchymal stem cells* yang berdiferensiasi menjadi osteoblas mesenkimal yang berperan penting dalam proses pembentukan jaringan tulang.

Kesimpulan: Kombinasi kitosan sisik bandeng dan bovine hidroksiapatit efektif dalam meningkatkan jumlah osteoblas pada pencabutan gigi marmut.

Kata kunci: kitosan; osteoblas; pencabutan gigi; penyembuhan luka.

EFFECTIVENESS OF COMBINATION SOUTH SULAWESI MILK FISH (CHANOS CHANOS) CHITOSAN AND BOVINE HYDROXYAPATITE ON OSTEOBLAST OF GUINEA PIG (CAVIA COBAYA) TOOTH EXTRACTION

ABSTRACT

Background: Chitosan is a natural material derived from deacetylated chitin, which is antimicrobial, biodegradable, biocompatible and osteoconductive. Currently, fish scales have been widely used as a source of chitosan because they contain chitin. One of them is milkfish (Chanos chanos) which is a superior fishery product in South Sulawesi. After tooth extraction, soft and hard tissue healing occurs. Osteoblasts are bone-forming cells that are responsible for the mineralization of the bone matrix.

Materials and methods: Milkfish scale chitosan is made from deproteinase, demineralization and deacylation. Twenty-seven of guinea pigs had mandibular incisors extracted and divided into three groups, (1) the socket was filled with combination of milkfish scale chitosan and bovine hydroxyapatite, (2) bovine hydroxyapatite as a positive control, (3) placebo as a negative control. On the 7^{th}, 14^{th} and 28^{th} days was sacrificed for take of socket tissue and histological examination of osteoblasts. The data was analyzed using Shapiro Wilk test, Levene test and ANOVA.

Results: On days 7, 14 and 28 there was a significant increase of osteoblasts ($p<0.05$) in combination of milkfish scale chitosan and bovine hydroxyapatite compared to placebo group.

Discussion: Chitosan act as a scaffold because it is biocompatible and degradable. In addition, chitosan is also hydrophilic so that supports the adhesion and proliferation of osteogenic cells and mesenchymal stem cells that differentiate into mesenchymal osteoblasts which play an important role in the process of bone tissue formation.

Conclusion: The combination of milkfish scale chitosan and bovine hydroxyapatite was effective in increasing of osteoblasts in guinea pig tooth extraction.

Keywords: chitosan; osteoblasts; tooth extraction; wound healing.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i

HALAMAN PENGESAHAN..... ii

HALAMAN PERSETUJUAN..... iii

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS v

KATA PENGANTAR vi

ABSTRAK.....x

ABSTRACT..... xi

DAFTAR ISI..... xii

DAFTAR GAMBAR xv

DAFTAR TABEL..... xvi

DAFTAR LAMPIRAN..... xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah.....4

1.3 Tujuan Penelitian 4

1.4 Manfaat Penelitian 5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi.....6

2.1.1 Fase Hemostasis 7

2.1.2 Fase Inflamasi 8

2.1.3 Fase Proliferasi.....8

2.1.4 Fase Remodeling Tulang.....9
2.2 Osteoblas.....12
2.3 Bone Graft.....15
2.3.1 Mekanisme Biologis Terapi Bone Graft.....17
2.4 Kitosan.....18
2.5 Ikan Bandeng.....21
2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan bandeng.....22
2.5.2 Kandungan Ikan Bandeng.....23
2.5.3 Manfaat Ikan Bandeng di Bidang Kesehatan.....24
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESA
3.1 Kerangka Teori.....28
3.2 Deskripsi Kerangka Teori.....29
3.3 Kerangka Konsep.....30
3.4 Hipotesa.....31
BAB IV METODE PENELITIAN
4.1 Jenis dan Desain Penelitian.....32
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....32
4.3 Subjek Penelitian.....32
4.4 Variabel Penelitian.....34
4.5 Definisi Operasional.....34
4.6 Instrumen Pengambilan Data.....35
4.7 Metode Pengumpulan Data.....37
4.7.1 Pemeliharaan Hewan Coba.....37

4.7.2 Pembuatan Ekstrak Kitosan Sisik Ikan Bandeng 37
4.7.3 Perlakuan Hewan Coba 39
4.7.4 Pengambilan Preparat Jaringan dan Pemeriksaan Histologi 40
4.8 Etika Penelitian.....41
4.9 Analisa Data 41
4.10 Alur Penelitian.....42
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN
5.1 Hasil Penelitian.....43
5.2 Pembahasan 51
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN
6.1 Kesimpulan.....56
6.2 Saran 56
DAFTAR PUSTAKA 57
LAMPIRAN 65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase penyembuhan luka soket gigi yang diawali dengan bekuan darah dan berakhir dengan remodeling tulang 7

Gambar 2. Osteoblas pada permukaan ligamen periodontal tulang alveolar.....13

Gambar 3. Struktur molekul polimer kitosan.....19

Gambar 4. Morfologi ikan bandeng (*chanos chanos*).....22

Gambar 5. Diagram perbandingan osteoblas pada masing-masing kelompok pada hari ke-7, 14 dan 28 44

Gambar 6. Hasil pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) pada soket pencabutan gigi pada kelompok perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif hari ke 7, 14 dan 28 dengan pembesaran 200x 45

Gambar 7. Hasil pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) pada soket pencabutan gigi pada kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif hari ke-7, 14, dan 28 dengan perbesaran 1000x 46

Gambar 8. Diagram perbandingan jumlah osteoblas kelompok perlakuan, kontrol positif dan negatif pada hari ke 7 49

Gambar 9. Diagram perbandingan jumlah osteoblas kelompok perlakuan, kontrol positif dan negatif pada hari ke 14 50

Gambar 10. Diagram perbandingan jumlah osteoblas kelompok perlakuan, kontrol positif dan negatif pada hari ke 28 51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sintesis penelitian 24

Tabel 2. Perbandingan jumlah osteoblas pada setiap kelompok pada hari ke-7, 14 dan 28.....44

Tabel 3. Perbandingan jumlah osteoblas antara hari ke-7, 14, dan 28 pada setiap kelompok perlakuan.....47

Tabel 4. Rerata jumlah ekspresi osteoblas antar dua kelompok pada hari ke 7.....48

Tabel 5. Rerata jumlah ekspresi osteoblas antar dua kelompok pada hari ke 14...49

Tabel 6. Rerata jumlah ekspresi osteoblas antar dua kelompok pada hari ke 28...50

DAFTAR LAMPIRAN

1. Foto Pelaksanaan Penelitian.....65
2. Hasil *Print out* Analisis Data SPSS.....70
3. Surat Etik Penelitian.....88

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan hasil data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan tahun 2018, terdapat sebanyak 57,6% masyarakat Indonesia memiliki permasalahan kesehatan gigi dan mulut. Karies merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang paling banyak ditemukan dengan persentasi mencapai 45,3%, sedangkan pencabutan gigi menjadi perawatan yang paling sering dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut.[1] Tindakan pencabutan gigi akan menimbulkan trauma minimal dengan meninggalkan luka pada jaringan lunak dan jaringan keras soket gigi. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya penurunan dimensi tulang alveolar pada area edentulous baik secara bukolingual maupun apikokoronal sehingga dapat memperburuk stabilitas dan retensi dari gigi tiruan.[2]

Soket preservasi merupakan suatu prosedur menempatkan bahan graft ke soket gigi yang bertujuan untuk pemeliharaan kontur jaringan lunak dan keras sehingga mengoptimalkan fungsi estetik dan fungsional dari tulang alveolar.[3,4] Salah satu bahan graft yang dapat digunakan adalah hidroksiapatit. Hidroksiapatit $Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6$ merupakan mineral inorganik yang membentuk 70% tulang, berasal dari tulang sapi yang telah banyak diteliti memiliki struktur dan morfologi yang mirip dengan tulang manusia. Hidroksiapatit memiliki sifat bioaktif, biokompatibel, osteokonduktif dan osteointegrasi. Namun bahan ini memiliki sifat

mekanis yang cukup buruk yang menyebabkan lambatnya resorpsi partikel dalam tubuh. Kitosan merupakan salah satu bahan alami yang diketahui dapat mengurangi sifat mekanis dari hidroksiapatit.[5–7]

Beberapa penelitian tentang kombinasi kitosan dan hidroksiapatit juga telah dilakukan. Menurut Danilchenko dkk (2011) kombinasi bahan hidroksiapatit/kitosan pada defek tulang tibia tikus menunjukkan sifat osteokonduktif yang baik, dimana setelah 24 hari terdapat pembentukan jaringan tulang yang menggantikan seluruh komposit hidroksiapatit/kitosan.[8] Vaca dkk (2017) menunjukkan adanya aktivitas fibroblas, pembentukan kolagen dan osteoblas tanpa adanya inflamasi pada pasien periodontitis setelah pemberian kombinasi kitosan dan hidroksiapatit sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan tulang alveolar.[9]

Kitosan merupakan bahan alami turunan kitin yang terdesetilasi. Secara kimia kitosan adalah polisakarida yang terdiri dari N-asetilglukosamin dan kopolimer glukosamin, yang memiliki sifat antimikroba, hemostatik, biodegradibel dan biokompatibel, serta kemampuan osteointegrasi dan osteokonduktif dapat merangsang pembentukan osteoblas dan menurunkan aktifitas osteoklas dengan cara menghambat aktifitas interleukin-6 (IL-6).[10–12] Sumber utama kitosan berasal dari kitin yang dapat diperoleh dari dinding sel jamur, eksoskleton krustasea, dan serangga. Saat ini telah banyak dilakukan penelitian pembuatan kitosan yang berasal dari sisik ikan karena memiliki kandungan kitin.[13–16]

Ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan salah satu hasil perikanan unggulan dan terbesar kedua nasional di Sulawesi Selatan yang mencapai 139.123 ton pada tahun 2016.[17] Pada tahun 2019, Sulawesi Selatan memiliki produksi ikan bandeng sebanyak 184.186 ton dan ditargetkan akan tetap meningkat mencapai 196.953 ton pada tahun 2020.[18] Semakin meningkatnya produksi ikan bandeng ini maka limbah sisik yang dihasilkan akan semakin besar pula. Djais dkk (2020) telah memanfaatkan limbah sisik bandeng sebagai sumber kitosan, dimana mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan patogen penyebab penyakit periodontal.[19] Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Dewi dkk (2019) juga menunjukkan bahwa kitosan sisik bandeng memiliki aktivitas antimikroba patogen oral *Candida albicans*.[20]

Pasca pencabutan gigi akan terjadi proses penyembuhan jaringan lunak dan jaringan keras, mulai dari fase inflamasi, fase proliferasi dan *remodeling* tulang. Segera setelah pencabutan gigi, akan terjadi perdarahan yang mengawali respon mediator inflamasi dan menghasilkan bekuan darah yang menutupi soket gigi yang terbuka. Fase inflamasi ini berlangsung sejak terjadinya luka hingga hari ketiga. Tiga hingga lima hari setelah pencabutan, akan terjadi degenerasi fibrin dan pembentukan jaringan granulasi yang mengandung pembuluh darah, fibroblas, dan sel inflamasi kronis. Dalam waktu tujuh hari, terjadi proliferasi sel osteoblas serta terbentuknya *woven bone* dimulai dari bagian tepi soket.[21–23] Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggung jawab pada proses mineralisasi matriks tulang. Sel ini dihasilkan dari *mesenchymal stem cells*

(MSCs), yang berperan penting dalam pemeliharaan dan regenerasi massa tulang, penentuan kualitas tulang, dan fungsi sistem kerangka tulang. Peran utama osteoblas adalah untuk mensintesis dan mengeluarkan berbagai protein yang terlibat di dalam pembentukan tulang (protein matriks ekstraseluler, sitokin, kolagen, dan faktor pertumbuhan) dan mengubah matriks ekstraseluler menjadi tulang melalui mineralisasi.[24,25]

Berdasarkan uraian di atas, penelitian tentang penggunaan kitosan yang berasal dari sisik ikan bandeng belum pernah dilakukan untuk merangsang pembentukan tulang pada pencabutan gigi. Oleh karena itu penulis tertarik untuk mengetahui efektivitas kombinasi kitosan sisik bandeng dan bovine hidroksiapatit terhadap jumlah osteoblas pada pembentukan tulang pasca pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dan bovine hidroksiapatit efektif dalam meningkatkan jumlah osteoblas pada pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

   Diketahui adanya efektivitas kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) sebagai bahan alternatif regenerasi tulang alveolar.

2. Tujuan khusus

   Diketahui adanya peningkatan jumlah osteoblas pada hari ke 7, 14, 28 pasca pemberian kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dan bovine hidroksiapatit pada pencabutan gigi marmut (*Cavia cobaya*).

1.4 Manfaat Penelitian

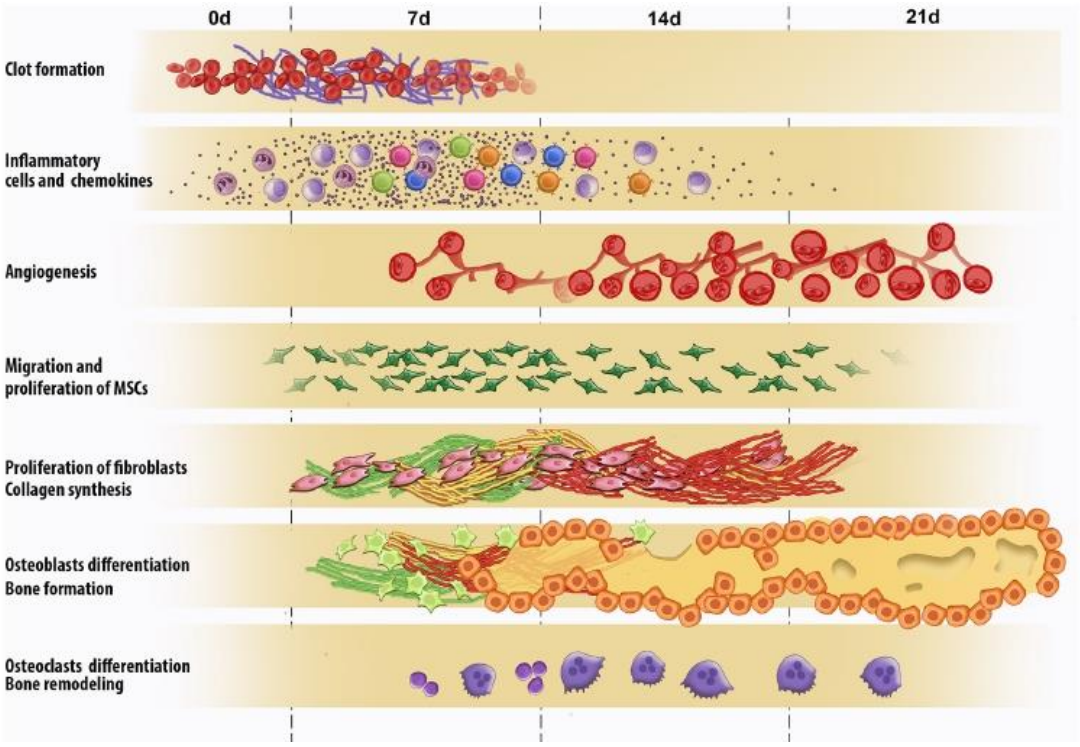
1. Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) sebagai alternatif bahan regenerasi tulang alveolar pasca pencabutan gigi.
2. Memberikan informasi secara ilmiah mengenai suatu bahan alami yang dapat ditambahkan pada hidroksiapatit sebagai bahan regenerasi tulang alveolar seperti pada kasus soket preservasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan yang dapat menimbulkan trauma minimal dengan meninggalkan luka pada soket gigi. Proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi memiliki prinsip yang sama dengan penyembuhan luka pada umumnya. Penyembuhan luka merupakan suatu proses biologis memperbaiki atau mengganti jaringan fungsional yang rusak akibat cedera. Proses ini melibatkan inflamasi dan penyembuhan tulang yang secara berurutan melewati beberapa tahapan, ditandai dengan adanya bekuan darah, migrasi dan proliferasi *mesenchymal stem cells*, pembentukan jaringan granulasi, infiltrat inflamasi, angiogenesis, proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen yang berakhir dengan remodeling tulang (Gambar 1).[26] Secara fisiologis dibagi menjadi 4 fase, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling tulang.[21,27]



Gambar 1. Fase penyembuhan luka soket gigi yang diawali dengan bekuan darah dan berakhir dengan remodeling tulang. (Sumber: Vieira AE, Repeke CE, Barros S De, Junior F, Colavite PM, Biguetti CC, et al. Intramembranous Bone Healing Process Subsequent to Tooth Extraction in Mice : Histomorphometric and Molecular Characterization. 2015;1–22)

2.1.1 Fase Hemostasis

Segera setelah terjadi luka, trombosit akan menempel pada luka dan menjadi aktif, melepaskan sinyal kimiawi untuk meningkatkan pembekuan darah dan mengaktivasi fibrin. Trombosit saling mengikat satu sama lain dan bekuan di pembuluh darah akan mengontrol perdarahan. Fase ini juga dikenal sebagai fase koagulasi. Aktivasi trombosit selama hemostasis melepaskan sejumlah sitokin (misalnya kemokin dan interleukin) dan faktor pertumbuhan (misalnya *tumor necrosis factor* α (TNF-α), *transforming growth factor β* (TGF-β), *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan faktor individu seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF), dan

connective tissue growth factor (CTGF) yang mampu memodulasi proses seluler selanjutnya (migrasi sel, proliferasi, dan diferensiasi) yang penting untuk mendorong angiogenesis dan regenerasi tulang.[28–30]

2.1.2 Fase Inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya cedera hingga hari ke-5. Fase ini didominasi oleh sel neutrofil atau *polymor-phonuclear neutrophilic* (PMN) untuk melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda asing. Dalam keadaan normal jumlah neutrofil akan menurun, selanjutnya proses fagositosis diikuti oleh makrofag. Adanya sel makrofag meningkatkan aktivitas osteoklas yang akan mengikis permukaan dinding soket. Makrofag mengeluarkan sitokin proinflamasi, anti inflamasi dan faktor pertumbuhan seperti TNF-α, TGF-β, interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), proteinase (enzim kolagenase), matriks metaloproteinase (MMPs) dan prostaglandin E2 (PGE2) yang mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa, menstimulasi pergerakan, diferensiasi dan proliferasi sel untuk pemulihan jaringan yang rusak.[21,31]

2.1.3 Fase Proliferasi

Fase proliferasi dibagi menjadi 2 bagian yaitu fibroplasia dan pembentukan tulang immatur (*woven bone)*, yang dimulai dari hari ke-3 hingga ke-14, ditandai dengan matriks yang didominasi oleh trombosit dan jaringan granulasi (pembuluh darah baru, fibroblas, dan makrofag). Setelah pembentukan jaringan terjadi, migrasi dan proliferasi sel endotel menurun, kelebihan sel akan menjadi apoptosis.

Selama proses angiogenesis, sel keratinosit berproliferasi dan bermigrasi untuk membentuk epitel yang menutupi area luka. Pada fase ini, makrofag menghasilkan faktor pertumbuhan PDGF, FGF dan TGF-β yang menginduksi proliferasi fibroblas, bermigrasi, dan menghasilkan matriks ekstraseluler (kolagen, serat elastin dan serat retikuler) yang akan mengisi ruang luka dan menyediakan jalur untuk migrasi sel keratinosit dan osteoblas. Kemudian fibroblas akan mendegradasi matriks fibrin dan diganti dengan glikosaminoglikan (GAG). Dalam waktu 7 hari, mulai terbentuk *woven bone* dari osteoblas dan matriks tulang. Penelitian Lunardhi dkk[23] (2019) menunjukkan bahwa pada hari ke-7 terjadi peningkatan jumlah fibroblas dan osteoblas dibandingkan hari ke-3 setelah pemberian kombinasi ekstrak propolis dan bovine bonegraft pada soket ekstraksi. Sularsih[32] (2012) juga mengamati peningkatan jumlah sel osteoblas pada sepertiga apikal soket gigi tikus terjadi pada hari ke-7 dan 14 dan menurut Rostiny dkk[33] (2016) pada hari ke 28 terjadi peningkatan osteoblas dan penurunan osteoklas. W*oven bone* dapat diidentifikasi pada soket gigi di minggu ke-2 dan berada di luka selama beberapa minggu. *Woven bone* adalah jenis tulang sementara tanpa kekuatan sehingga akan diganti dengan jenis tulang yang matang (*lamellar bone* dan *bone marrow*).[27,28,31,34]

2.1.4 Fase Remodeling Tulang

Fase ini biasa disebut dengan fase maturasi, terjadi pada hari ke-21 hingga 1 tahun. Sel utama yang berperan penting pada fase ini adalah osteoblas dan osteoklas.[35] 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.[26,34]

Remodeling tulang merupakan proses yang sangat kompleks dimana tulang tua diganti dengan tulang baru, dengan siklus yang terdiri dari tiga fase yaitu inisiasi resorpsi tulang oleh osteoklas, transisi (periode reversal) dari resorpsi ke pembentukan tulang baru, dan pembentukan tulang oleh osteoblas. Proses ini terjadi karena tindakan terkoordinasi dari osteoklas, osteoblas, osteosit, dan sel lapisan tulang yang bersama-sama membentuk struktur anatomi sementara yang disebut *basic multicellular unit* (BMU).[36] Adapun faktor-faktor yang memodulasi aktivitas osteoblas dan osteoklas antara lain seperti *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF), *receptor activator of nuclear factor kappa B* (RANK), *receptor activator of nuclear factor kappa B ligand* (RANKL) dan osteoprotegerin (OPG). Prosesnya dimulai oleh osteoklas, lapisan pada dinding soket melalui struktur trabekuler marginal dari *woven bone*. Modeling didistribusikan dengan cara yang sama antara permukaan bukal dan lingual. Akan tetapi karena sisi lingual lebih lebar sehingga peningkatan kehilangan tulang vertikal pada sisi bukal lebih kecil.[30] Siklus remodeling tulang melibatkan beberapa tahap yaitu *quiescent*, aktivasi, resorpsi, reversal, formasi dan terminasi.[35,37,38]

1. Tahap *quiescent* merupakan fase istirahat yang menggambarkan tulang dalam keadaan tidak aktif sebelum proses remodeling.
2. Tahap aktivasi: pada tahap ini terjadi aktivasi permukaan tulang sebelum resorpsi, melalui retraksi sel-sel lapisan tulang (osteoblas matang memanjang di permukaan endosteal). Permukaan termineralisasi akan menarik sirkulasi osteoklas yang berasal dari pembuluh di sekitarnya.
3. Tahap resorpsi: berlangsung sekitar 2 minggu dimana osteoklas melarutkan matriks mineral dan menguraikan matriks osteoid. Proses ini diselesaikan oleh makrofag dan melepaskan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam matriks, seperti *transforming growht factor* beta (TGF-β), *platelet derived growth factor* (PDGF), dan *insulin-like growth factor* I and II (IGF-I dan II).
4. Tahap reversal: berlangsung dalam waktu 4 sampai 5 minggu. Pada tahap ini resorpsi tulang beralih ke formasi, terjadi dua peristiwa penting yaitu permukaan tulang yang baru diserap disiapkan untuk deposisi matriks tulang baru dan terjadi pensinyalan lebih lanjut resorpsi ke formasi untuk memastikan tidak ada kehilangan tulang. Persiapan permukaan tulang dilakukan oleh sel-sel turunan osteoblas yang menghilangkan matriks kolagen yang tidak termineralisasi, dan matriks mineralisasi non-kolagen.
5. Tahap formasi: Pembentukan tulang membutuhkan waktu 4 sampai 6 bulan. Osteoblas mensintesis matriks protein baru untuk mengisi rongga yang ditinggalkan oleh osteoklas. Osteoid adalah matriks tulang baru yang terdiri dari protein seperti kolagen tipe I. Sebagai matriks tulang baru secara bertahap termineralisasi membentuk tulang baru. Osteoblas terus berlanjut

membentuk tulang baru sampai berubah menjadi sel lapisan istirahat yang benar-benar menutupi permukaan tulang yang baru terbentuk.

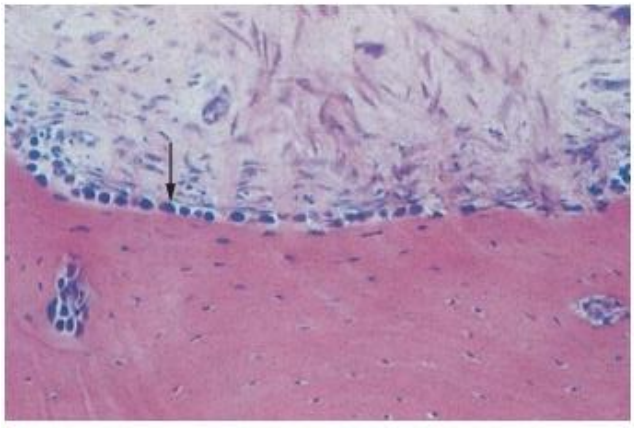
6. Mineralisasi: fase terakhir yang dimulai sekitar 30 hari setelah pembentukan osteoid. Pada tulang trabekuler proses ini berakhir 90 hari setelah deposisi osteoid, sedangkan pada tulang kortikal berakhir pada 130 hari. Kemudian mineralisasi tulang akan memasuki fase istirahat dan jumlah tulang yang terbentuk kembali sama dengan jumlah yang diserap.

2.2 Osteoblas

Osteoblas adalah sel pembentuk tulang yang mengekspresikan reseptor hormon paratiroid dan berperan penting dalam remodeling tulang, melibatkan ekspresi faktor osteoklastogenik, produksi protein matriks tulang, dan mineralisasi tulang. Sel osteoblas terdiri dari populasi sel termasuk osteoblas imatur dan penghasil matriks yang berdiferensiasi dan mature. Osteoblas berkembang dari mesenchymal stem cells (MSCs) yang memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi adiposit, miosit, kondrosit di bawah pengaturan faktor transkripsi regulasi. Diferensiasi osteoblas dikendalikan oleh faktor transkripsi RUNX2 (*runt-related transcription factor 2*, yang dikenal sebagai CBFA1 (*core-binding factor A1*). Osteoblas aktif dalam sintesis dan sekresi matriks protein untuk mempertahankan dan membentuk tulang baru dan membantu proses kalsifikasi. Setelah mineralisasi matriks, sel-sel osteoblas yang matang sepenuhnya menjadi osteosit, dan tertanam dalam matriks yang mengelilingi sel.[39,40]

Osteoblas merupakan sel berinti tunggal yang umumnya terdapat pada permukaan luar tulang maupun permukaan dalam tulang. Osteoblas selalu dijumpai berkelompok sekitar 100-400 sel sepanjang permukaan tulang (periosteum, endosteum, permukaan trabekula) (Gambar 2). Bila osteoblas aktif menyintesis matriks, sel ini berbentuk kuboid sampai silindris dengan sitoplasma basofilik. Bila aktivitas sintesisnya menurun, sel tersebut menjadi gepeng (*bone lining sel)* dan sifat basofilik pada sitoplasmanya akan berkurang, osteoblas aktif dalam mewakili sebagian besar tulang pipih yang melapisi sel-sel kedua di endosteum dan periosteum. Pada saat berlangsungnya pembentukan tulang terdapat beberapa tahapan yang berada di bawah kontrol osteoblas yaitu:[41–43]

1. Sintesis dan pemprosesan kolagen tipe I di intraseluler
2. Mensekresi serabut kolagen ke ektraseluler
3. Pembentukan mikro fibril, fibril dan akhirnya menjadi fiber dari kolagen
4. Maturasi serabut kolagen agar dapat terjadi penimbunan kristal *hidroksiapatit*



Gambar 2. Osteoblas pada permukaan ligamen periodontal tulang alveolar (tanda panah). (Sumber: Berkovitz BK., Holland GR, Moxham B. Oral Anatomy, Histology and Embryology. 4th ed. Elsevier; 2008)

Osteoblas menghasilkan tulang melalui sintesis dan sekresi kolagen tipe I, yang menyusun lebih dari 90% protein matriks tulang. Hal ini terjadi dengan beberapa jenis tipe minor dari kolagen, proteoglikan, fibronektin dan protein tulang tertentu, seperti osteopontin, tulang sialoprotein dan osteokalsin, menjadi osteoid tak termineralisasi tempat osteoblas berada. Mineralisasi dicapai dengan pelepasan lokal fosfat, yang dihasilkan oleh fosfatase dari turunan osteoblas, yang berikatan dengan vesikula matriks dalam osteoid. Bersama dengan kalsium yang berada di cairan ekstraseluler, akan menghasilkan nukleasi dan pertumbuhan kristal hidroksiapatit [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$]. Kandungan matriks organik terhadap mineral (pada tulang kortikal manusia dewasa sekitar 60% mineral, 20% bahan organik, 20% air) sangat penting untuk memastikan keseimbangan yang tepat antara kekakuan dan fleksibilitas kerangka tulang.[44]

Pembentukan tulang osteoblas berdiferensiasi dari sel osteoprogenitor di periosteum dan endosteum, serta menutupi permukaan matriks tulang yang ada. Osteoblas mensekresikan osteoid yang mengandung kolagen tipe I, proteoglikan dan molekul lain, serta matriks vesikel. Sebagai osteoid mengalami kalsifikasi, mengeras, dan merangkap osteoblas, sel-sel ini berdiferensiasi lebih lanjut sebagai osteosit, yang menempati lakuna dikelilingi oleh matriks tulang. Apalagi sebagian besar, osteoklas multi inti, yang dihasilkan oleh fusi monosit dari darah, berada pada permukaan tulang dan mengikis matriks tulang selama remodeling.[42]

2.3 Bone Graft

Bone graft adalah bahan yang diambil dari suatu tempat yang ditransplantasikan untuk menggantikan tulang yang rusak atau hilang. Bahan bone graft harus memiliki sifat biokompatibilitas, osteogenesis, osteoinduksi, osteokonduksi. Karakteristik ideal yang dimiliki bone graft antara lain tidak toksik, tidak antigenik, tahan terhadap infeksi, tidak ada resorpsi akar atau ankilosis, kuat dan lentur, mudah diadaptasikan, siap dan tersedia secara memadai, merangsang perlekatan baru dan mampu memicu osteogenesis, sementogenesis dan pembentukan ligamen periodontal fungsional.[45,46] Secara umum bone graft dapat digolongkan menjadi 4 yaitu sebagai berikut:[46–48]

1. Autograft

   Autograft merupakan bahan yang diambil dari bagian anatomi dan ditransplantasikan ke bagian lain dalam individu yang sama, biasa disebut dengan bone graft autologus. Graft ini dianggap sebagai gold standar karena memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenik, serta dapat berintegrasi ke tulang inang dengan lebih cepat dan lengkap.[48]

2. Allograft

   Jaringan tulang yang diambil dari satu individu dan ditransplantasikan ke individu lain yang satu spesies. Allograft dapat bersifat imunogenik dan menunjukkan tingkat kegagalan yang lebih tinggi, disebabkan oleh aktivasi antigen major histocompatibility complex (MHC).[47]

3. Xenograft

Graft yang berasal dari spesies yang berbeda selain manusia, seperti sapi, babi dan karang. Ketiga sumber ini dapat menghasilkan produk yang biokompatibel dan secara struktural mirip dengan tulang manusia. Xenograft bersifat osteokonduktif, mudah diperoleh dan bebas dari resiko transmisi penyakit. Namun graft ini memiliki kekurangan sifat mekanik yang cukup buruk sehingga menyebabkan resorpsi partikel yang lambat**.**[6,7] Terdapat beberapa jenis xenograft antara lain seperti anorganic *bovine derived bone xenograft* (BDX), *anorganic porcine derived bone xenograft*, dan *coralline calcium carbonate*.[46]

Salah satu bahan BDX adalah *bovine hydroxiapatite* (BHA) yang mirip dengan tulang kanselus manusia, baik dari segi kristalin maupun struktur morfologi, memilki sifat biokompatibel dan osteokonduktif. Namun, bahan graft ini memiliki kekurangan tidak osteoinduktif serta tingkat dan mekanisme resorpsinya lambat. Sartori dkk dalam studi follow up 10 tahun, melaporkan resorpsi BHA yang lambat tetapi prosesnya berkelanjutan. Mereka menemukan bahwa laju resorpsi 3,6% per tahun untuk 2 tahun pertama dan kemudian menurun secara konsisten dalam 8 tahun berikutnya, dengan nilai rata-rata 0,58% per bulan.[49] Shirmohammadi dkk (2014) melaporkan bahwa anorganic bovine bone (BioOss) dan sintetik nanokristalin hidroksiapatit (Ostim) bermanfaat dalam augmentasi sinus maksila, namun dalam hal ini Ostim yang lebih banyak menghasilkan tulang baru dalam waktu singkat dibandingkan BioOss.[6]

4. Alloplast

Graft yang berasal dari bahan sintetik inorganik yang biokompatibel. Yang termasuk dalam jenis alloplast adalah Polimer *Polymethylmethacrylate and Polyhydroxylethylmethacrylate (PMMA-PHEMA)*, Demineralized Dentin Matrix (DDM), hidroksiapatit (HA), Calcium Phosphate Cement (CPC), *β-Tricalcium Phosphate* (TCP), *Calcium Sullfate, Bioactive Glasses (BG), Oily CaOH2 Suspension, Porous Titanium Granules*.[50]

2.3.1 Mekanisme Biologis Terapi Bone Graft

Suatu bone graft dapat berperan sebagai *scaffold* untuk memfasilitasi pembentukan tulang dan mempercepat penyembuhan luka, serta dapat diserap secara biologis dan tidak memiliki reaksi antigen-antibodi. Mekanisme biologis yang dimiliki bahan bone graft antara lain yaitu osteokonduktif, osteoinduktif dan osteogenesis. Bahan graft minimal memiliki 2 sifat biologis tersebut.[51,52]

1. Osteokonduktif

Osteokonduktif terjadi ketika bone graft berfungsi sebagai *scaffold* untuk pertumbuhan tulang baru yang didukung oleh tulang asli. Osteoblas dari defek margin yang sedang digraft menggunakan bahan bone graft sebagai kerangka untuk menyebarkan dan menghasilkan tulang baru. Osteokonduktif merupakan proses di mana *scaffold* yang ditanamkan secara pasif memicu pertumbuhan kapiler host, jaringan perivaskular, dan sel induk mesenkim.

2. Osteoinduktif

Melibatkan stimulasi sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi kondroblas dan osteoblas dan kemudian memulai pembentukan tulang baru. Jenis mediator sel osteoinduktif yang paling penting adalah *bone morphogenetic proteins* (BMP). Bahan bone graft yang osteokonduktif dan osteoinduktif tidak hanya berfungsi sebagai *scaffold* untuk osteoblas tetapi juga akan memicu pembentukan osteoblas baru, meningkatkan integrasi yang lebih cepat pada graft.

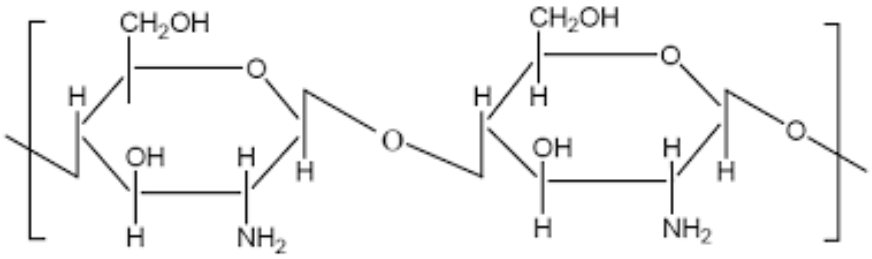
3. Osteogenesis

Osteogenesis merupakan pembentukan tulang baru oleh sel sel osteoprogenitor donor yang berasal dari host atau bone graft. Sel yang terlibat dalam proses ini termasuk MSCs, osteoblas dan osteosit. Hanya bahan autograft yang terlibat dalam proses ini karena memiliki sel sel osteoblas dan prekursornya.

2.4 Kitosan

Kitosan pertama kali ditemukan oleh Rouget pada tahun 1859 ketika kitin diberi perlakuan dengan larutan kalium hidroksida panas dan pada tahun 1894 Gilson membenarkan bahwa kitin memiliki kandungan glukosamin dan kemudian Hopper-Seyler menyebutnya dengan nama kitosan. Kitosan adalah polisakarida alami turunan N-deasetilasi kitin dan polisakarida semikristalin yang terdiri dari unit glukosamin dan N-asetil glukosamin dalam ikatan β-(1-4) 2-asetamida-2-deoksi-D-glukopiranol (Gambar 3). Sumber utama kitosan adalah kitin yang dapat berasal dari dinding sel jamur, eksoskleton krustasea, dan serangga. Kitin adalah polisakarida putih, keras, tidak elastis, dan nitrogene, bersifat hidrofobik dan tidak

larut dalam air dan sebagian besar pelarut organik. Oleh karena sifat kelarutan kitin yang buruk sehingga penggunaannya terbatas. Jika kandungan unit glukosamin lebih dari 50%, polimer ini dapat dikatakan sebagai kitosan dan jumlah dari unit glukosamin ditentukan dari derajat deasitilasi (DDA).[53–56]



Gambar 3. Struktur molekul polimer kitosan (Sumber: M K. Chitosan-Properties and Applications in Dentistry. Adv Tissue Eng Regen Med Open Access. 2017;2(4):205–11.)

Kitosan memiliki komposisi hidrogen (5,83%), karbon (40,30%), dan nitrogen (6,35%) dan bersifat tidak toksik, antibakteri, biodegradibel, biokompatibel, serta bioaktivitas sehingga dapat dikombinasikan dengan berbagai bahan bioaktif untuk osteokonduktivitas. Kitosan dapat digunakan sebagai obat, pengantar *growth factor* dan sebagai bahan *scaffold* untuk regenerasi tulang.[10,56,57] Pada penggunaannya, kitosan lebih mudah dimodifikasi daripada kitin dan bersifat hidrofilik sehingga mendukung adhesi dan proliferasi sel.[55,58] Akan tetapi kitosan juga memiliki kekurangan seperti larut dalam asam dengan pH dibawah 6,0 dan sifat mekanis yang rendah. Oleh karena itu, saat ini banyak penelitian yang melakukan modifikasi permukaan kitosan atau mengkombinasikan kitosan dengan bahan anorganik bioaktif (hidroksiapatit, trikalsium fosfat) atau polimer sintetis (poli (vinil alkohol) dan poli (etilen glikol)) dan polimer alami (kolagen) dengan tujuan meningkatkan resistensi mekanik, absorpsi protein, dan

biomineralisasi.[12,59,60] Menurut Gaihre dkk (2018) nanopowder biokeramik yang ditambahkan ke dalam kitosan meningkatkan kekuatan mekanis, proliferasi sel, dan penyebaran sel pada scaffold kitosan.[61] Selain itu, Danilchenko dkk (2011) juga menunjukkan pembentukan jaringan tulang karena sifat osteokonduktif yang meningkat pada kombinasi bahan hidroksiapatit dan kitosan.[8]

Proses utama pembuatan kitosan meliputi 3 tahap yaitu demineralisasi (menghilangkan kandungan mineral), deproteinasi (menghilangkan protein), dan deasetilasi (menghilangkan gugus asetil). Kitosan memiliki polimer dengan berat molekul tinggi, berkisar dari 300 hingga lebih dari 1000 kDa dengan derajat deasitilasi dari 30%-95% tergantung dari sumber dan pemprosesannya. Derajat deasetilasi kitosan menunjukkan adanya jumlah gugus amino di sepanjang rantai, dihitung sebagai rasio d-glukosamin dan n-asetil d-glukosamin. Derajat deasetilasi dan berat molekul memiliki pengaruh yang kuat terhadap sifat fisikokimia dan sifat kitosan lain seperti kristalinitas, kelarutan, dan degradasi.[55,56,58,62]

Penggunaan biopolimer kitosan dapat diproses dalam berbagai bentuk seperti larutan, gel, pasta, campuran, spons, membran, tablet, dan butiran mikro. Dalam bentuk gel, kitosan dapat menjaga kelembapan luka dan memiliki efek mendinginkan yang dapat mengurangi rasa nyeri. Beberapa studi menunjukkan bahwa gel kitosan dengan derajat asetilisasi 80%-84% dan berat molekul 150-252 kDa paling optimal dalam meningkatkan regenerasi tulang. Sularsih (2012) telah melaporkan penggunaan gel kitosan dengan konsentrasi 1 % dan 2% memiliki kemampuan untuk menstimulasi pembentukan osteoblas pada pencabutan gigi tikus wistar pada hari ke 7 dan 14.[32,56,63]

Mekanisme kitosan sebagai akselerator penyembuhan luka dengan mengaktivasi dan memodulasi fungsi sel-sel inflamasi seperti neutrofil, makrofag, fibroblas dan sel endotel serta meningkatkan pembentukan dan organisasi jaringan granulasi. Kitosan juga sebagai biopolimer dimetabolisme oleh enzim tertentu seperti lisozim sehingga dapat terurai dan dapat berperan sebagai *tissue engineering scaffold* karena memiliki kemiripan struktural dengan glikosaminoglikan. Kitosan akan meningkatkan adhesi dan proliferasi sel-sel osteogenik dan *mesenchymal stem cells* (MSCs). Sel mesenkim yang berdiferensiasi menjadi osteoblas mesenkimal berperan penting dalam proses pembentukan jaringan tulang melalui *intramembranous ossification*. Sel osteoblas mesenkimal akan mensekresikan kolagen yang membentuk jaringan tulang muda atau *woven bone.* Jaringan tersebut berfungsi sebagai *scaffold* untuk deposisi kolagen dalam membentuk jaringan tulang yang lebih matur.[26,54,58,64]

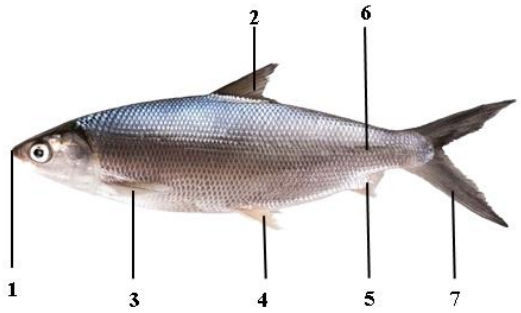
2.5 Ikan Bandeng

Ikan bandeng (*chanos-chanos*) merupakan spesies akuakultur penting di negara-negara Asia. Di Indonesia, ikan ini menjadi salah satu komoditas strategis untuk memenuhi kebutuhan protein yang relatif murah, khususnya di Sulawesi Selatan yang tersebar hampir di seluruh kabupaten. Ikan bandeng merupakan ikan asli air laut yang dikenal sebagai petualang ulung karena juga dapat hidup di air payau (tambak) maupun air tawar. Bandeng digolongkan dalam hewan herbivora pemakan tumbuh-tumbuhan ataupun plankton.[16,65,66]

2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Bandeng

Ikan bandeng adalah jenis ikan yang secara taksonomi termasuk dalam spesies *Chanos chanos*, Froskal, yang hidup di perairan tropis Indo Pasifik. Menurut sudrajat (2008) ikan bandeng memiliki taksonomi dan klasifikasi seperti phylum *Chordata*, Subphylum vertebrata, klas *Osteichthyes*, ordo *Gonorynchiformes*, family *Chanidae*, genus *Chanos*, spesies *chanos chanos*, nama dagang milkfish dan nama lokal bolu, muloh, ikan garam.[65,67]

Ikan bandeng memilik tubuh yang panjang dan ramping, padat, pipih dan oval, serta ditutupi oleh sisik dengan jari-jari yang lunak. Sirip ekor panjang dan bercagak, jumlah sirip punggung antara 13-17, sirip dada 6-7 buah, sirip perut 11-12 buah, sirip anal 9-11, jumlah sisik pada gurat sisi sekitar 75-80 keping (Gambar 4). Warna tubuhnya putih keperak-perakan dengan punggung kehitaman.[65,67]



Gambar 4. Morfologi ikan bandeng (*chanos chanos*). (Sumber: Indonesia SN. Ikan Bandeng (chanos chanos, Forskal). Jakarta; 2013)

Keterangan :

1. Mulut
2. Sirip punggung (*dorsal fin*)
3. Sirip dada (*pectoral fin*)

4. Sirip perut (*ventral fin*)
5. Sirip anal (*anal fin*)
6. Gurat sisi (*linea lateralis*)
7. Sirip ekor (*caudal fin*)

2.5.2 Kandungan Ikan Bandeng

Ikan bandeng memiliki zat gizi utama seperti protein, lemak, vitamin dan mineral. Kandungan gizi pada setiap ikan akan berbeda tergantung dari faktor internal dan eksternal. Faktor internal berupa spesies ikan, jenis kelamin, umur dan fase reproduksi pada ikan, sedangkan faktor eksternal berupa lingkungan hidup ikan seperti habitat, ketersediaan pakan dan kualitas perairan tempat ikan hidup. Ikan bandeng merupakan ikan yang tinggi akan protein (20-24%), lemak, asam amino, asam lemak, mineral dan vitamin dengan rendemen daging sekitar 12% (air tawar) dan 50.8% (air payau). Komposisi asam amino tertinggi yaitu glutamat, sedangkan asam lemak tidak jenuh tertinggi oleat 31-32%, serta kandungan mineral makro Ca, Mg, Na dan K, mineral mikro Fe, Zn, Cu, Mn dan vitamin A, B1 dan B12.[68,69]

Sisik ikan mengandung komposisi kimia yang terdiri dari proksimat, kalsium, kitin, alkaloid, steroid, fenol hidrokuinon, air, protein, lemak, karbohidrat, dan abu.[70] Yogaswari telah merangkum komposisi proksimat sisik ikan secara umum dalam persen berat badan, yakni kitin (0,4-3,7), air (30,0-36,8), abu (18,7-26,3), lemak (0,1-1,0), protein (29,8-40,9), karbohidrat (2,0-5,7), dan kalsium (5,0-8,6). Namun komposisi kimia sisik ikan bervariasi tergantung dari

jenis ikan. Kandungan kitosan yang terdapat pada ikan bandeng, yang diperoleh dari kitin, dapat mencapai 37,4% setelah dehidrasi.[13,71]

2.5.3 Manfaat Ikan Bandeng di Bidang Kesehatan

Beberapa penelitian ikan bandeng telah dilakukan di bidang kesehatan, terutama tentang manfaat tulang bandeng yang mengandung kalsium, fosfor dan protein dapat digunakan untuk pencegahan osteoporosis dan berpotensi sebagai agen remineralisasi alami pada gigi.[72,73] Selain itu, sisik ikan bandeng yang memilki kandungan kitin juga telah dibuktikan menjadi bahan kitosan yang memiliki aktivitas antimikroba *Candida albicans*[20] serta efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia coli serta bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan salah satu patogen penyebab penyakit periodontal.[19] Menurut Chen (2018) kolagen peptida yang diekstraksi dari sisik ikan bandeng juga memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi dengan mengurangi aktivitas lipoksigenase dan radikal oksida nitrat.[74]

Berikut ini adalah beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai penggunaan sisik ikan bandeng sebagai sumber kitosan:

Tabel 1. Sintesis penelitian

No.	Penulis	Tahun	Judul	Kesimpulan
1	Djais et al[19]	2020	Antibacterial Chitosan of Milkfish Scales (Chanos Chanos) On bacteria Prophyromonas	Gel kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *Agregatibacter actinomycetemcomitans*

			Gingivalis & Agregatibacter Actinomycetemcomitans	dan *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan salah satu patogen penyebab penyakit periodontal. Semakin besar konsentrasi gel kitosan, maka daya hambat terhadap bakteri *Agregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis* juga akan besar.
2	Susanti dkk[75]	2020	Pembuatan kitosan dari limbah sisik ikan	- Pembuatan kitosan dari sisik ikan meliputi tiga tahap proses, yaitu tahap de-proteinasi, tahap de-mineralisasi dan tahap de-asetilasi. - Semakin besar konsentrasi larutan NaOH, dan semakin lama proses ekstraksi, maka semakin kecil massa kitosan yang dihasilkan. - Semakin besar konsentrasi larutan NaOH, dan semakin lama proses ekstraksi, maka semakin besar nilai derajat deasetilasinya.

3	Ilmiyah et al[76]	2020	Characterization of Chitosan Nanoparticles from Milkfish Scales as an Alternative Preservatives of Fresh Pangas Catfish (*Pangasius hypopthalmus*)	Hasil SEM-EDX ukuran partikel kitosan memiliki kadar air yang cukup tinggi >10%. Kadar abunya berkisar antar 3,9% sampai 1%. Kadar protein kitosan nanopartikel sudah sesuai standar mutu kitosan yaitu <0,03%. Sedangkan uji ALT, kitosan nanopartikel bisa menekan jumlah bakteri dalam waktu 3 hari.
4	Dewi et al[20]	2019	Antimicrobial Activity of Chitosan from Milkfish Scales (Chanos chanos) on the Oral Pathogen Candida Albicans.[20]	Kitosan sisik bandeng memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang diberikan, daya hambatnya semakin besar. Konsentrasi 1,5% dan 2% termasuk dalam kategori daya hambat kuat dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans.*

5	Khaira et al[77]	2017	Perbandingan Efektifitas Chitosan Sisik Ikan Bandeng Dengan Gentamisin Terhadap Perkembangan Escherichia Coli	Larutan kitosan menunjukkan tingkat efektifitas yang cukup tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri E. coli pada konsentrasi 0,25% dengan rata-rata zona hambat terhadap E. coli yaitu 10,5mm. Kitosan konsentrasi 0,25% masih di bawah kemampuan antibiotik gentamisin yang menunjukkan tingkat zona hambat lebih tinggi yaitu dengan rata-rata zona hambat terhadap E. coli sebesar 13,4 mm.
6	Aziz dkk[16]	2017	Pemanfaatan Ekstrak Kitosan dari Limbah Sisik Ikan Bandeng di Selat Makassar pada pembuatan Bioplastik Ramah Lingkungan	Kandungan kitin pada sisik ikan dapat diisolasi melalui beberapa tahapan yang sistematis sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber kitosan.
7	Bangngalino dkk[15]	2017	Pemanfaatan sisik ikan bandeng sebagai bahan baku kitosan dengan metode sonikasi dan aplikasinya untuk pengawet makanan	Sisik ikan bandeng dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan kitin dan kitosan. Kitosan yang diperoleh dari sisik ikan bandeng memiliki rendamen 12,5%, kadar air 7,49%, kadar abu 1,15%, derajat deasetilasi 81,56% dan viskositas 3,06 cp. Kitosan sisik ikan bandeng, dapat digunakan sebagai bahan pengawet makanan dan memperpanjang umur simpan bakso pada suhu ruang.