

**EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG  
(*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DENGAN  
HIDROKSIAPATIT TERHADAP EKSPRESI  
*BONE MORPHOGENETIC PROTEIN (BMP)-2* PADA TINDAKAN  
*SOCKET PRESERVATION***

**TESIS**



**Oleh :**

**SHINTA RAHMA MANSYUR**

**J035201001**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2022**

**EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG  
(*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DENGAN HIDROKSIAPATIT  
TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN* (BMP)-2  
PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION***

**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:**

**SHINTA RAHMA MANSYUR  
J035201001**

**Pembimbing:**

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

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI PERIODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2022**

**EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG  
(*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DENGAN HIDROKSIAPATIT  
TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN* (BMP)-2  
PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION***

OLEH:

**SHINTA RAHMA MANSYUR  
J035201001**

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

Makassar, 20 Oktober 2022

Pembimbing 1

Pembimbing 2

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

Nip. 19750130 200812 2 002

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

Nip. 19590901 198702 2 001

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

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

Nip. 19641003 199002 2 001

## PENGESAHAN UJIAN TESIS

# EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DENGAN HIDROKSIAPATIT TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN (BMP)-2* PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION*

OLEH:

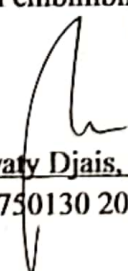
**SHINTA RAHMA MANSYUR**  
J035201001


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

Makassar, 20 Oktober 2022

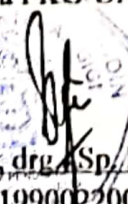
Pembimbing 1

Pembimbing 2


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

  
Surijana Mappangara, drg. M.Kes, Sp.Perio (K)  
Nip. 119590901 198702 2 001

Ketua Program Studi (KPS)  
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS

  
Prof. Dr. Sri Oktawati, drg, Sp. Perio (K)  
Nip. 196410031990022001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin

  
Prof. Dr. Edy Machmud, drg, Sp. Pros (K)  
Nip. 19631104 199401 1 001

# TESIS

## EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DENGAN HIDROKSIAPATIT TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN (BMP)-2* PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION*

OLEH:

SHINTA RAHMA MANSYUR

J035201001


Telah disetujui

Makassar, 20 Oktober 2022

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

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)  
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS

  
Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)  
Nip. 196410031990022001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Shinta Rahma Mansyur

NIM : J035201001

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 dan pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia memenuhi sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Oktober 2022



Shinta Rahma Mansyur

## KATA PENGANTAR



Segala Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul **“Efektivitas Kombinasi Kitosan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Sulawesi Selatan Dengan Hidroksiapatit Terhadap Ekspresi Bone Morphogenetic (BMP)-2 Pada Tindakan Socket Preservation”**.

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 bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan secara langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh karena, dengan segala kerendahan hati itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.**, sebagai Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. Dr. Edy Machmud, drg. Sp. Pros (K)**, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp. Perio (K)** sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia, sekaligus sebagai penguji II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, bimbingan, dukungan serta arahan selama penulis menempuh pendidikan di PPDGS Periodonsia.

4. **Dr. Asdar Gani, drg., M. Kes** sebagai Penasehat Akademik yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi demi kelancaran penyelesaian pendidikan di PPDGS Periodonsia.
5. **Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp. Perio (K)** dan **Surijana Mappangara, drg., M. Kes., Sp. Perio (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. **Prof. Dr. Mardiana Andi Adam, drg., MS** dan **Dian Setiawati, drg., Sp. Perio (K)** , sebagai penguji I 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 **Sitti Raodah Juanita Ramadhan, drg., Sp. Perio** sebagai dosen Departemen Periodonsia yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan dukungan selama proses pendidikan.
8. Klinik hewan La Costae, Laboratorium Biokimia Politeknik Pertanian Pangkep, Laboratorium Patologi Anatomi FK UNHAS, dan Laboratorium Biokimia – Biomolekuler FK Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian.
9. Orang tuaku tercinta Almarhum Ayahanda **Drs. H. Mansyur Sayang Sahude, Bsc** dan ibunda **Hj. Herawaty Andi Syamsuddin, SE** atas segala doa, yang tidak dapat tergantikan dengan apapun dan selalu memberikan yang terbaik untuk anak-anaknya.



10. Teristimewa Almarhum ibu mertua **Hj. Andi Nomba** yang telah memberikan doa, motivasi selama hidupnya. Meskipun beliau kalah oleh COVID, tetapi jasa beliau tidak akan hilang sampai akhir hayat.
11. Suamiku tercinta **Muhammad Yusri, ST** dan anak-anakku tersayang **Muh. Ghaissan Abdillah Ramadhan Yusri, Ghadizah Hanun Sabrina Yusri, dan Ghaizka Hanifah Almaira Yusri** atas segala doa, semangat dan motivasi, serta selalu sabar dan setia mendampingi dan membimbing penulis selama masa pendidikan ini.
12. Saudari-saudariku tersayang **Dian Octaviani Mansyur, ST., MM., Dewi Fitriani Mansyur, SE, Shinta Rahmi Mansyur, SE, dan Kiki Saraswati Mansyur, SH** dan saudara ipar serta kemenakan atas segala dukungan doa dan semangat selama menjalani pendidikan.
13. Kepada Angkatan **SOJU (SO7)**, teman seperjuangan suka dan duka Mamak Joy, anakku Firman, ummi Adha, ibu dosen Cici, ade Syta dan oppa Dante yang selalu membantu, mendukung, dan memberi semangat selama menempuh pendidikan .
14. Kepada senior Sigma dan adek adek junior Nemesix, Dextra, Phenom, Phoenix yang telah memberi dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan
15. **Para mamak Geng Anarchiest 99.** Ibu peri-O Misnova, Mimi kalapas, ibu hajja Novita, ibu manajer Sintha, ibu wadek tri, mamim nurhayati, teh Ayu, tante Murti, Uni Renny, ibu konsulen Wiwik, mommy Kimi Cici atas dukungan moril dan kekuatan tanpa batasnya selama penulis menjalani 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, 20 Oktober 2022

Shinta Rahma Mansyur

**EFEKTIVITAS KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN BANDENG  
(*Chanos chanos*) SULAWESI SELATAN DENGAN HIDROKSIAPATIT  
TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN* (BMP)-2  
PADA TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION***

**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. BMP-2 merupakan penginduksi kuat formasi tulang yang mendorong terjadinya diferensiasi sel fibroblas menjadi osteoblas dan kondroblas.

**Bahan dan Metode :** Kitosan sisik ikan bandeng dibuat melalui proses deproteinase, demineralisasi dan deasetilasi. 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 immunohistokimia untuk melihat ekspresi BMP-2. Analisis data dilakukan dengan uji *Shapiro wilk*, uji *Levene*, dan ANOVA.

**Hasil :** Pada hari ke-7, 14 dan 28 terjadi peningkatan jumlah ekspresi BMP-2 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. Penambahan kitosan sisik bandeng terhadap bone graft hidroksiapatit dapat meningkatkan ekspresi BMP-2 yang berperan besar dalam pembentukan dan maturasi jaringan untuk proses penyembuhan tulang.

**Kesimpulan :** Kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*chanos chanos*) dengan hidroksiapatit dapat meningkatkan ekspresi BMP-2 pada tindakan *socket preservation*.

**Kata Kunci :** Kitosan, BMP-2, Penyembuhan Luka, Pencabutan Gigi, *Socket Preservation*

**EFFECTIVENESS OF COMBINATION SOUTH SULAWESI MILKFISH  
SCALES (*Chanos chanos*) CHITOSAN WITH HYDROXYAPATITE ON  
BONE MORPHOGENETIC PROTEIN (BMP)-2 EXPRESSION IN  
SOCKET PRESERVATION PROCEDURE**

**ABSTRACT**

**Background** : Chitosan is a natural desethylated chitin derivative, 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 will occur. BMP-2 is a strong inducer of bone formation that promotes the differentiation of fibroblast cells into osteoblasts and chondroblasts.

**Materials and Methods** : Chitosan of milkfish scales was prepared through deproteinase, demineralization and deacetylation process. A total of 27 guinea pigs had their mandibular incisor teeth extracted and were divided into three groups, namely (1) treatment group with tooth sockets filled with a combination of milkfish scale chitosan and bovine hydroxyapatite, (2) positive control with sockets filled only with bovine hydroxyapatite, (3) negative control with sockets filled with placebo gel. On days 7, 14, and 28, the sockets were sacrificed for socket tissue collection and immunohistochemical examination for BMP-2 expression. Data analysis was performed with Shapiro wilk test, Levene test, and ANOVA.

**Results** : On days 7, 14 and 28 there was a significant increase in the amount of BMP-2 expression ( $p < 0.05$ ) in the combination group of milkfish scale chitosan and bovine hydroxyapatite compared to the placebo gel group.

**Discussion** : Chitosan can act as a scaffold due to its biocompatible and degradable properties. The addition of milkfish scale chitosan to hydroxyapatite bone graft can increase the expression of BMP-2 which plays a major role in tissue formation and maturation for the bone healing process.

**Conclusion** : The combination of milkfish scale chitosan (*chanos chanos*) with hydroxyapatite can increase BMP-2 expression in socket preservation.

**Keywords** : Chitosan, BMP-2, Wound Healing, Tooth Extraction, Socket Preservation

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>ABSTRAK</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.3.1 Tujuan Umum .....	7
1.3.2 Tujuan Khusus .....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	8
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	9
2.1 Pencabutan Gigi .....	9
2.1.1 Perubahan Histologis .....	9
2.1.2 Perubahan Dimensi Tulang .....	17
2.2 Bone Morphogenetic Protein (BMP) .....	18
2.3 Socket Preservation .....	23
2.4 Bone Graft .....	26
2.5 Kitosan .....	31
2.6 Ikan Bandeng .....	34
2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Bandeng .....	34
2.6.2 Kandungan Ikan Bandeng .....	35

2.6.3. Manfaat Ikan Bandeng di Bidang Kesehatan .....	36
<b>BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA....</b>	<b>41</b>
3.1 Kerangka Teori .....	41
3.2 Kerangka Konsep .....	43
3.3 Hipotesa .....	44
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>45</b>
4.1 Desain Penelitian .....	45
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian .....	45
4.2.1 Lokasi Penelitian .....	45
4.2.2 Waktu Penelitian .....	45
4.3 Subjek Penelitian .....	45
4.3.1 Kriteria Subjek Penelitian .....	45
4.3.2 Jumlah Subjek Penelitian .....	46
4.4 Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional .....	47
4.4.1 Variabel Penelitian .....	47
4.4.2 Defenisi Operasional .....	47
4.5 Alat dan Bahan Penelitian .....	48
4.5.1 Alat Penelitian .....	48
4.5.2 Bahan Penelitian .....	49
4.6 Metode Penelitian .....	49
4.6.1 Persiapan Penelitian .....	49
4.6.2 Pelaksanaan Penelitian .....	52
4.7 Analisa Data .....	53
4.8 Etika Penelitian .....	54
4.9 Alur Penelitian .....	55
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>56</b>
5.1 Hasil Penelitian .....	56
5.2 Pembahasan .....	65
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>71</b>
6.1 Kesimpulan .....	71
6.2 Saran .....	71

**DAFTAR PUSTAKA ..... 72**

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Fase penyembuhan luka soket gigi yang diawali dengan hemostasis dan berakhir dengan remodeling tulang.....	10
Gambar 2	Tahapan remodeling tulang. Diagram skematis menunjukkan fase yang berbeda dari remodeling tulang : aktivasi, resorpsi, pembalikan, pembentukan, dan mineralisasi.....	17
Gambar 3	Morfologi ikan bandeng (chanos chanos).....	35
Gambar 4	Diagram perbandingan jumlah ekspresi BMP-2 pada masing-masing kelompok perlakuan pada hari ke 7, 14, dan 28.....	58
Gambar 5	Diagram perbandingan ekspresi BMP-2 berdasarkan hari perlakuan pada setiap kelompok perlakuan .....	60
Gambar 6	Diagram perbandingan ekspresi BMP-2 kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif pada hari ke 7 .....	61
Gambar 7	Diagram perbandingan rerata ekspresi BMP-2 kelompok perlakuan, kontrol positif dan negatif pada hari ke-14 .....	62
Gambar 8	Diagram perbandingan rerata ekspresi BMP-2 kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif pada hari ke 28 .....	63
Gambar 9	Hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHC) dengan pewarnaan antibodi monoklonal (MoAb) anti BMP-2 pada soket pencabutan gigi pada kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif hari ke-7, 14, dan 28 dengan pembesaran 400x .....	64
Gambar 10	Hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHC) dengan pewarnaan antibodi monoklonal (MoAb) anti BMP-2 pada soket pencabutan gigi pada kelompok perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif hari ke-7, 14, dan 28 dengan perbesaran 1000x .....	64



## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Fungsi Bone Morphogenetic Protein.....	21
Tabel 2 Sintesis penelitian .....	37
Tabel 3 Perbandingan rerata ekspresi BMP-2 setiap kelompok perlakuan pada hari ke-7, 14, dan 28 .....	57
Tabel 4 Perbandingan rerata ekspresi BMP-2 antara hari ke-7, 14, dan 28 pada setiap kelompok perlakuan .....	59
Tabel 5 Rerata ekspresi BMP-2 antar dua kelompok pada hari ke-7 .....	60
Tabel 6 Rerata ekspresi BMP-2 antar dua kelompok pada hari ke-14 .....	61
Tabel 7 Rerata ekspresi BMP-2 antar dua kelompok pada hari ke-28 .....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Etik Penelitian .....	81
Lampiran 2 Preparasi Sampel Sisik Ikan Bandeng .....	82
Lampiran 3 Proses Pembuatan Sisik Ikan Bandeng Menjadi Kitosan .....	82
Lampiran 4 Perlakuan Hewan Coba .....	83
Lampiran 5 Pengambilan Jaringan Tulang .....	83
Lampiran 6 Pembuatan Slide .....	84
Lampiran 7 Analisa Data .....	84

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Berdasarkan hasil penelitian Departemen Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Kementerian Kesehatan pada tahun 2018, sebanyak 57,6 persen populasi Indonesia mengalami masalah kesehatan mulut yang dapat mempengaruhi kualitas hidup. Hasil riset tersebut menyebutkan bahwa keluhan gusi bengkak dan/atau bisul (abses) dialami oleh 14% penduduk Indonesia. *The Global Burden of Disease Study 2016* menyebutkan penyakit pada periodontal menjadi urutan ke-11 penyakit yang paling banyak terjadi di dunia.<sup>1</sup>

Pencabutan gigi terutama disebabkan oleh karies dan penyakit periodontal. Penelitian oleh Pasarelli dkk menemukan bahwa 52,2% kehilangan gigi disebabkan oleh karies; sementara 35,7% karena penyakit periodontal, 6,9% masalah endodontik, 2,9% indikasi prostetik, dan 2,3% akibat kegagalan perawatan sebelumnya.<sup>2</sup> Setelah pencabutan gigi, terjadi sekitar 30% kehilangan *ridge* alveolar akibat resorpsi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa, selama tiga bulan pasca pencabutan gigi, dua pertiga jaringan keras dan lunak akan mengalami resorpsi. Sebagian besar kehilangan tulang ini terjadi pada enam bulan pertama setelah pencabutan gigi. Setelah itu, peningkatan kecepatan resorpsi rata-rata sebesar 0,5-1% setiap tahunnya.<sup>3</sup> Diperkirakan terdapat kehilangan lebar tulang alveolar hingga 50% dalam kurun waktu 12 bulan setelah pencabutan gigi. Kehilangan tulang alveolar ini

akan mempengaruhi stabilitas, retensi, dan dukungan protesa gigi serta penempatan implan gigi, sehingga menyebabkan berkurangnya kenyamanan pada pasien. Waktu terbaik untuk mempersiapkan *ridge alveolar* adalah pada saat pencabutan gigi<sup>4</sup>, yaitu dengan melakukan prosedur *socket preservation*. Pemakaian bahan *graft* di dalam soket pencabutan gigi diharapkan dapat memperlambat proses resorpsi dinding soket serta meregenerasi jaringan lunak dan keras.<sup>5-8</sup>

Kriteria penting yang harus dipenuhi oleh *bone graft* adalah dapat diterima tubuh atau biokompatibel dan menguntungkan pada proses osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis tulang. Osteokonduktif dan osteoinduktif adalah fase terpenting untuk biomaterial *reasonable* guna mendorong dan mengarahkan formasi pertumbuhan jaringan.<sup>9</sup> Salah satu bahan *graft* yang dapat digunakan pada *socket preservation* adalah hidroksiapatit. Hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) merupakan mineral inorganik yang membentuk 70% tulang. Hidroksiapatit yang berasal dari tulang sapi telah lama diteliti karena mempunyai struktur dan morfologi yang menyerupai tulang manusia. Sifat hidroksiapatit yang biokompatibel, bioaktif, dan osteokonduktif, sehingga sering dimanfaatkan untuk regenerasi jaringan keras, tetapi hidroksiapatit memiliki kekurangan, yaitu bersifat rapuh dan relatif sulit diresorpsi oleh tubuh.<sup>10,11</sup> Sebagai upaya untuk meningkatkan sifat biokompatibel hidroksiapatit, beberapa penelitian menggunakan kombinasi kitosan dan hidroksiapatit dengan tujuan mengimbangi sifat mekanis

hidroksiapatit yang lemah dan meningkatkan bioaktivitas serta perlekatan biomaterial pada tulang.<sup>12-14</sup>

Kitosan merupakan polisakarida linear, semi-kristalin alami yang merupakan turunan N-deasetilasi chitin, terdiri atas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-b-d-glucan (n-asetil d-glukosamin) dan  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxyb-d-glucan (d-glukosamin). Kitosan bersifat biodegradasi, yaitu dapat diuraikan oleh lisosim atau *chitinase* menjadi residu non-toksik. Kecepatan penguraian kitosan dipengaruhi oleh Derajat Deasetilasi (DDA). Semakin tinggi DDA, maka semakin banyak muatan positif yang dapat menambah interaksi antara sel dan kitosan, sehingga meningkatkan biokompabilitasnya.<sup>15-18</sup> Penelitian tentang kitosan telah banyak dilakukan dalam bidang biomedis, bedah, dan regenerasi jaringan karena sifat biokompabilitas, biodegradasi, dan adhesinya dengan mukosa. Kitosan dapat dimanfaatkan sebagai terapi genetik (*drug / gene delivery*), *wound dressing*, bahan regenerasi jaringan lunak dan keras, agen hemostasis, agen hipokolestolemik, agen anti thrombogenik, biomaterial regenerasi tulang, dan agen antimikroba.<sup>19-22</sup> Meskipun demikian, kitosan memiliki beberapa kekurangan, antara lain solubilitas air yang rendah pada pH netral atau tinggi dan sifat mekanis yang rendah.<sup>12,23,24</sup> Saat ini kitosan telah dikombinasikan dengan bahan polimer atau bahan alami lainnya, biomaterial, atau molekul bioaktif dengan tujuan untuk meningkatkan resistensi mekanik, absorpsi protein, dan biomineralisasi protein.<sup>19,24-27</sup>

Beberapa penelitian yang menggunakan kombinasi kitosan dan bahan lain membuktikan adanya pengaruh positif terhadap pembentukan tulang.

Penelitian oleh Maryani dkk<sup>28</sup> menyebutkan bahwa terdapat peningkatan jumlah osteoblas yang signifikan pada kelompok kombinasi *Platelet Rich Plasma* (PRP) dan gel kitosan dibandingkan kelompok PRP, gel kitosan, dan povidone iodine 14 hari setelah pencabutan gigi tikus Wistar. Sementara, penelitian lain oleh Danilchenko dkk<sup>29</sup> juga menunjukkan pembentukan jaringan tulang karena adanya peningkatan sifat osteokonduktif pada kombinasi bahan hidroksiapatit dan kitosan. Kitosan sebagai turunan dari kitin, dapat diekstraksi dari berbagai jenis hasil perikanan misalnya kerang, kepiting, udang, maupun sisik ikan.

Perikanan merupakan salah satu sektor unggulan Sulawesi Selatan. Hasil produksi perikanan yang menjadi unggulan antara lain rumput laut, udang windu, udang vanamei, dan ikan bandeng.<sup>30</sup> Data menunjukkan pada tahun 2016, produksi ikan bandeng Sulawesi Selatan mencapai 139.123 ton dan tercatat sebagai produsen terbesar kedua nasional.<sup>31</sup> Selanjutnya, pada tahun 2019, Sulawesi Selatan memiliki produksi bandeng sebesar 184.186 ton. Bahkan pada tahun 2020 selama pandemi COVID-19, target produksi bandeng diperkirakan mencapai 196.953 ton.<sup>32</sup> Sementara itu, data *Food and Agriculture Organization* PBB, menyebutkan Indonesia merupakan produsen ikan bandeng kedua tertinggi di dunia sejak tahun 2005. Sehingga, pada tahun 2011, Indonesia mampu menjadi produsen bandeng terbesar di dunia dengan kontribusi sebesar 52,4%.<sup>33,34</sup>

Ikan bandeng telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku utama pada bidang industri maupun rumah tangga. Berdasarkan perhitungan Balai Riset

Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBRP2B), umumnya bagian sisik pada tubuh ikan mencapai 12,4% dari berat ikan.<sup>35</sup> Namun sayangnya, sisik ikan sering dianggap tidak memiliki nilai sehingga seringkali menyebabkan pencemaran limbah dengan berbagai padatan tersuspensi.<sup>36</sup> Sisik ikan mengandung senyawa kimia seperti protein organik (41-84%), dan sisanya merupakan residu mineral dan garam inorganik. Sisik ikan mengandung proksimat, kalsium, kitin, alkaloid, steroid, saponin, dan fenol.<sup>37,38</sup> Kandungan kitin sisik ikan ini dapat diekstraksi menjadi senyawa kitosan, dimana kandungan kitosan dalam ikan bandeng dapat mencapai 37,4% setelah dehidrasi.<sup>39</sup>

Aktivitas regenerasi tulang dari kombinasi kitosan dan hidroksiapatit dapat diamati pada prosedur *socket preservation*, yang bertujuan untuk mempertahankan tulang alveolar yang adekuat setelah pencabutan gigi. Selama ini kitosan yang digunakan merupakan sediaan yang berasal dari kepiting atau udang. Tetapi, penelitian mengenai bagaimana efek kitosan dari sisik ikan bandeng dan kombinasi dengan hidroksiapatit *bovine xenograft* terhadap regenerasi tulang masih belum banyak dilakukan.<sup>40</sup>

Pada regenerasi tulang, proses remodeling tulang selain dipengaruhi oleh faktor sistemik, juga oleh faktor lokal. Beberapa polipeptida yang dihasilkan baik oleh tulang itu sendiri maupun oleh jaringan ekstraosesus lain dapat bekerja sebagai modulator fungsi seluler, pertumbuhan, diferensiasi dan proliferasi sel-sel tulang, diantaranya adalah *Insulin Growth Factor*(IGF) -I dan II, *Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), *Bone Morphogenetic Protein*

(BMP), *Platelet Derivative Growth Factor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Endothelial Growth Factor* (EGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF), *Macrophage-Colony Stimulating Factor* (M-CSF), dan *Tumor Necrotizing Factor* (TNF).<sup>41</sup>

*Bone Morphogenetic Protein* (BMP) adalah bagian dari *superfamily Transforming Growth Factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), merupakan asam polipeptida multifungsional yang sebagian besar disintesis dan disekresikan oleh osteoblas. BMP-2 merupakan penginduksi kuat formasi tulang yang mendorong terjadinya diferensiasi sel fibroblas menjadi osteoblas dan kondroblas. Saat ini terdapat lebih dari 20 sub tipe BMP yang telah diidentifikasi, diantaranya BMP-2 sebagai faktor pengatur penting dalam osteogenesis. BMP-2 merupakan faktor pertumbuhan polipeptida yang mengandung 396 asam amino, yang fungsinya menginduksi sel mesenkim yang tidak terdiferensiasi ke dalam tulang rawan dan jaringan tulang. BMP-2 dapat menyediakan dasar untuk kontruksi tulang pada suatu rekayasa jaringan, dan mampu menginduksi diferensiasi osteoblas yang berperan untuk mensintesis matriks tulang baru. Keberadaan BMP-2 merupakan salah satu tanda terjadinya proses osteogenesis.<sup>7,42</sup>

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk meneliti efektivitas kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit *xenograft bovine* terhadap ekspresi BMP-2 pada prosedur *socket preservation*.



## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit efektif dalam meningkatkan ekspresi BMP-2 pada tindakan *socket preservation*?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk melihat efektivitas kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit terhadap ekspresi BMP-2 pada tindakan *socket preservation*.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk melihat ekspresi BMP-2 pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi bahan kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit *xenograft bovine* pada hari ke-7, 14, dan 28.
2. Untuk melihat ekspresi BMP-2 pada soket pencabutan gigi marmut setelah aplikasi hidroksiapatit *xenograft bovine* pada hari ke-7, 14, dan 28.
3. Untuk melihat perbedaan ekspresi BMP-2 antara kelompok kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit, kelompok hidroksiapatit *xenograft bovine*, dan kelompok kontrol negatif pada hari ke-7, 14, dan 28.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

- a. Memberikan kontribusi pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit pada bidang periodontal.
- b. Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*) dengan hidroksiapatit terhadap ekspresi BMP-2.
- c. Memberikan informasi tentang pemanfaatan sisik ikan bandeng (*Chanos chanos*), sebagai salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai bahan regenerasi tulang, khususnya pada *socket preservation*.
- d. Melalui penelitian ini, sisik ikan bandeng dapat menjadi alternatif dalam pemilihan bahan graft yang murah, mudah diperoleh, dan efektif untuk regenerasi jaringan tulang alveolar pasca pencabutan gigi.
- e. Dapat digunakan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya mengenai penggunaan kitosan sisik ikan bandeng dalam meregenerasi tulang.

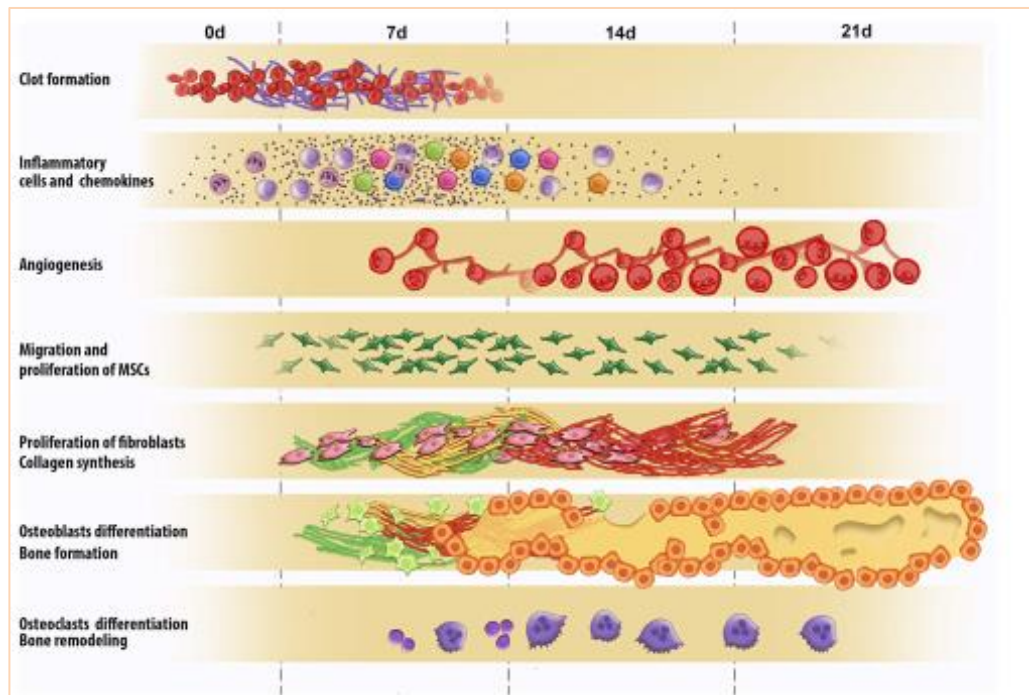
## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Pencabutan Gigi**

##### **2.1.1. Perubahan Histologis**

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 *remodelling* tulang (Gambar 1).<sup>43,44</sup> Secara fisiologis proses penyembuhan soket dapat dibagi menjadi empat fase berurutan yang saling tumpang tindih, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi/remodeling.<sup>44,45</sup>



**Gambar 1.** Fase penyembuhan luka soket gigi yang diawali dengan hemostasis dan berakhir dengan remodeling tulang.<sup>43</sup>

### A. Fase Hemostasis

Segera setelah terjadi luka, trombosit akan menempel pada luka dan menjadi aktif, melepaskan sinyal kimiawi untuk meningkatkan pembekuan darah dan mengaktifasi 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- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ), *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.<sup>45-47</sup>

## **B. Fase Inflamasi**

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya cedera hingga hari ke-5. Fase ini didominasi oleh sel neutrofil atau *polymorphonuclear neutrophilic* (PMN) untuk melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda asing. Pada keadaan normal jumlah neutrofil akan menurun, selanjutnya proses fagositosis diikuti oleh makrofag. Keberadaan sel makrofag meningkatkan aktivitas osteoklas yang akan mengikis permukaan dinding soket. Makrofag mengeluarkan sitokin proinflamasi, anti inflamasi dan faktor pertumbuhan seperti TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , 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.<sup>43,48</sup>

## **C. Fase Proliferasi**

Fase proliferasi dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu fibroplasia dan pembentukan *woven bone*, dan ditandai dengan pembentukan jaringan yang intens dan cepat. Fibroplasia melibatkan deposisi cepat

dari matriks sementara. Terjadi migrasi dan proliferasi fibroblast yang intens, serta peningkatan sintesis kolagen dan protein matriks ekstraseluler lainnya. Data histologis mengungkapkan bahwa selama minggu pertama penyembuhan, soket ekstraksi diliputi dengan jaringan granulasi kaya sel menggantikan bekuan darah awal yang mengalami nekrosis koagulatif. Aktivasi awal TGF- $\beta$ 1 dan FGF-2 memodulasi aktivasi dan proliferasi fibroblastik, menentukan sintesis dan maturasi matriks ekstraseluler dan organisasi jaringan granulasi. Pada saat yang sama, terdapat peningkatan ekspresi komponen utama dari matriks ekstraseluler, seperti kolagen tipe I yang dikodekan oleh gen COL1A1 dan COL1A2 pada fase penyembuhan awal, paralel dengan ekspresi tinggi dari enzim yang bertanggung jawab untuk *remodelling* matriks ekstraseluler, khususnya metaloproteinase matriks (MMP), terutama MMP-2 dan MMP-9, yang memodulasi pergerakan populasi sel inflamasi serta proses angiogenik.<sup>1,2,45,49,50</sup> Terjadi penetrasi pembuluh darah dan sel-sel pembentuk tulang pada matriks sementara. Proyeksi *woven bone* terlihat sekitar pembuluh darah. Akhirnya, proyeksi sepenuhnya mengelilingi pembuluh darah dan osteon primer terbentuk.<sup>3</sup>

#### **D. Fase Modeling dan Remodeling Tulang**

Modeling tulang didefinisikan sebagai perubahan bentuk dan arsitektur tulang, sedangkan remodeling tulang didefinisikan sebagai perubahan tanpa disertai perubahan bentuk dan arsitektur tulang.<sup>3</sup> Fase ini juga biasa disebut sebagai fase maturasi dan terjadi pada hari ke-21

hingga 1 tahun. Sel utama yang berperan penting pada fase ini adalah osteoblas dan osteoklas.<sup>48</sup> 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.<sup>3,44</sup>

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).<sup>51,52</sup> 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 pada permukaan bukal dan lingual. Akan tetapi karena sisi lingual lebih lebar

sehingga peningkatan kehilangan tulang vertikal pada sisi bukal lebih kecil.<sup>45</sup>

Proses remodeling tulang merupakan suatu siklus yang meliputi tahapan yang kompleks yaitu: <sup>41,51,53</sup>

#### 1. Fase Aktivasi (*Activation phase*).

Fenomena pertama yang terjadi adalah aktivasi permukaan tulang sebelum resorpsi, melalui retraksi sel-sel lapisan tulang (osteoblas dewasa memanjang yang ada di permukaan endosteal) dan menghancurkan membran endosteal melalui aksi kolagenase. Tahap "aktivasi" awal melibatkan perekrutan dan aktivasi prekursor osteoklas monosit-makrofag mononuklear dari sirkulasi, menghasilkan interaksi sel-sel prekursor osteoklas dan osteoblas. Proses ini mengarah pada diferensiasi, migrasi, dan fusi dari osteoklas berinti banyak yang besar. Sel-sel ini menempel pada permukaan tulang yang termineralisasi dan memulai resorpsi dengan sekresi ion hidrogen dan enzim lisosom, terutama cathepsin K, yang dapat menurunkan semua komponen matriks tulang, termasuk kolagen, pada pH rendah

#### 2. Fase Resorpsi (*Resorption phase*).

Osteoklas kemudian mulai melarutkan matriks mineral dan menguraikan matriks osteoid. Proses ini diselesaikan oleh makrofag dan memungkinkan pelepasan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam matriks, yang secara fundamental mengubah *transforming*



*growth factor-β* (TGF-β), *platelet-derived growth factor* (PDGF), dan *insulin-like growth factor* I dan II (IGF-I dan II). Resorpsi osteoklastik menghasilkan rongga dengan *scallop* tidak teratur pada permukaan tulang trabekuler, yang disebut *lacunae Howship*, atau kanal Haversian silinder di tulang kortikal. Resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas hanya membutuhkan waktu sekitar 2-4 minggu selama setiap siklus *remodeling*.

### 3. Fase Pembalikan (*Reversal phase*)

Selama fase pembalikan, resorpsi tulang bertransisi ke pembentukan tulang. Pada akhir resorpsi tulang, rongga resorpsi berisi berbagai sel mononuklear, termasuk monosit, osteosit yang dilepaskan dari matriks tulang, dan preosteoblas, yang direkrut untuk memulai pembentukan tulang baru. Sinyal kopling yang menghubungkan akhir resorpsi tulang ke awal pembentukan tulang masih belum diketahui, tetapi kandidat sinyal kopling yang diusulkan termasuk faktor-faktor yang diturunkan dari matriks tulang seperti TGF-β/3, IGF-1, IGF-2, *Bone Morphogenetic Protein* (BMP), PDGF, atau faktor pertumbuhan fibroblas.

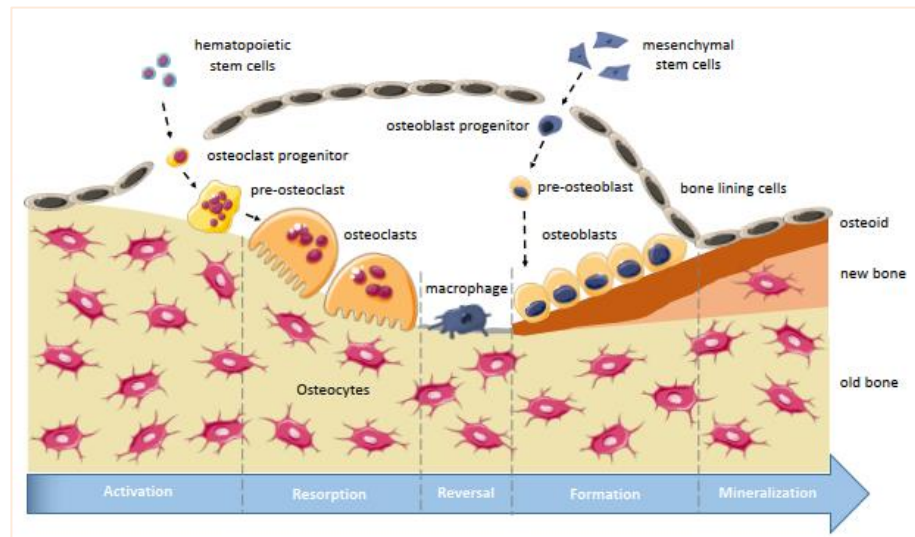
### 4. Fase Pembentukan (*Formation phase*).

Setelah osteoklas meresorpsi rongga tulang, mereka terlepas dari permukaan tulang dan digantikan oleh sel-sel dari garis keturunan osteoblas yang pada gilirannya memulai pembentukan tulang. Fenomena pengelompokan preosteoblas dihasilkan dan ditarik oleh

faktor pertumbuhan yang dibebaskan dari matriks yang bertindak sebagai kemotaktik dan sebagai tambahan merangsang proliferasinya. Preosteoblas mensintesis zat *cementing* di mana jaringan baru melekat dan mengekspresikan *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) yang bertanggung jawab untuk diferensiasi. Beberapa hari kemudian, osteoblas yang telah berdiferensiasi mensintesis matriks osteoid yang mengisi area berlubang (rongga resorpsi). Osteoblas yang tersisa terus mensintesis tulang sampai mereka akhirnya berhenti dan berubah menjadi sel lapisan “diam” yang sepenuhnya menutupi permukaan tulang yang baru terbentuk dan terhubung dengan osteosit dalam matriks tulang melalui jaringan kanalikuli.

#### 5. Fase Mineralisasi (*mineralization phase*)

Prosesnya dimulai 30 hari setelah pengendapan osteoid, berakhir pada 90 hari di trabekuler dan pada 130 hari di tulang kortikal. Ketika siklus selesai, jumlah tulang yang terbentuk harus sama dengan jumlah tulang yang diserap kembali



**Gambar 2.** Tahapan *remodeling tulang*. Diagram skematis menunjukkan fase yang berbeda dari remodeling tulang : aktivasi, resorpsi, pembalikan, pembentukan, dan mineralisasi.<sup>54</sup>

### 2.1.2. Perubahan Dimensi Tulang

Perubahan dimensi *ridge* alveolar pasca pencabutan gigi telah dilaporkan pada beberapa penelitian dengan beragam metodologi berbeda, antara lain parameter klinis, model cetakan, dan pemeriksaan radiografis. Setelah pencabutan gigi, tulang alveolar akan mengalami penyusutan baik secara vertikal maupun horisontal. Kecepatan resorpsi tulang alveolar lebih cepat terjadi pada enam bulan pertama setelah pencabutan gigi, dan berlanjut rata-rata 0,5-1,0 % per tahun selama masa kehidupan. Tinggi tulang pada soket pencabutan tidak akan mencapai tinggi tulang koronal sebelum pencabutan, dan resorpsi horisontal terjadi lebih banyak pada daerah molar dibandingkan daerah premolar.<sup>3,55,56</sup> Schropp dkk memperkirakan terjadi perubahan dua pertiga jaringan keras dan lunak pada tiga bulan pertama. Sekitar 50%

lebar tulang krestal mengalami resorpsi dalam periode 12 bulan, dimana dua pertiganya terjadi pada dua belas minggu pertama. Daerah premolar mengalami kehilangan lebar alveolar sebanyak 45%, dimana 28,4% terjadi dalam 12 minggu pertama.<sup>54</sup> Sebuah tinjauan sistematis melaporkan bahwa resorpsi tulang alveolar secara horisontal (29-63%) lebih banyak daripada kehilangan tulang vertikal (11-22%) pada bulan ke enam.<sup>53</sup>

Pada akhir proses penyembuhan soket pencabutan, terdapat penutupan permukaan soket dengan jaringan lunak dan/atau pembentukan tulang dalam soket yang terlihat melalui pemeriksaan radiografis. Waktu yang dibutuhkan untuk penyembuhan soket pencabutan secara total bervariasi antar individu. Soket menutup sekitar 10-20 minggu, pembentukan tulang secara radiografis terlihat sekitar 3-6 bulan setelah pencabutan. Perubahan dimensi pada soket pencabutan paling banyak terjadi selama tiga bulan pertama, tetapi reorganisasi jaringan keras pada tulang alveolar dapat berlanjut hingga satu tahun. Penyembuhan soket pencabutan bergantung pada faktor-faktor biologis antar individu, ukuran soket alveolar, dan trauma yang terjadi saat pencabutan gigi.<sup>3</sup>

## **2.2. *Bone Morphogenetic Protein (BMP)***

Selama bertahun-tahun kehadiran rekayasa jaringan telah dilihat sebagai alternatif yang menjanjikan untuk standar perawatan saat ini dan berpotensi dapat menghindari banyak keterbatasan yang dihadapi dengan

cangkok autogenous konvensional yang melibatkan prosedur bedah tambahan. Rekayasa jaringan menggunakan sel prekursor pasien sendiri, matriks, dan faktor pertumbuhan untuk meregenerasi jaringan yang hilang. Sejak awal penelitian di bidang rekayasa jaringan, regenerasi tulang telah mendapat lebih banyak perhatian, karena tulang adalah salah satu jaringan dengan potensi regenerasi tertinggi dalam tubuh manusia. Regenerasi tulang dapat dianggap sebagai rekapitulasi perkembangan tulang embrionik karena tulang sembuh melalui pembentukan tulang baru alih-alih pembentukan jaringan parut. Proses penyembuhan atau regenerasi tulang ini melibatkan jaringan molekuler yang rumit termasuk *Bone Morphogenetic Protein* (BMP).<sup>57,58</sup>

Pada tahun 1938, Levander menemukan bahwa jaringan mesenkim yang mengelilingi bahan cangkok bertanggung jawab atas regenerasi tulang. Lacroix pada tahun 1945 menamakan zat ini sebagai osteogenin. Urist dkk. pada tahun 1965, melakukan percobaan inovatif dan dengan hasil yang sangat menjanjikan, di mana jaringan otot ditanamkan pada kaki kelinci dalam matriks tulang terdeminalisasi. Setelah tiga minggu diamati terlihat pembentukan tulang ektopik. Hal ini memunculkan hipotesis baru pembentukan tulang melalui autoinduksi, di mana zat penginduksi dari dalam sel penginduksi bekerja pada sel yang diinduksi sehingga menyebabkannya berdiferensiasi menjadi sel osteoprogenitor atau sel kondroprogenitor. Urist menamakan zat penginduksi tulang ini sebagai, "BMP".<sup>59,60</sup>

*Bone morphogenetic protein* (BMP) merupakan bagian dari *family* protein, yang awalnya diidentifikasi dan dikarakterisasi berdasarkan kemampuan baru mereka untuk menginduksi tulang rawan dan pembentukan tulang di situs ekstraskletal ektopik secara *in vivo*. Baru-baru ini, beberapa anggota *family* protein ini telah dikloning, diekspresikan dalam sel mamalia, dan dikarakterisasi. Anggota ini termasuk BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7 (juga disebut sebagai *osteogenic protein* (OP)-1) dan OP-2. Semua BMP mengandung tujuh karakteristik sistein yang sangat terkonservasi dalam bagian terminal karboksilnya dan termasuk dalam *superfamily transforming growth factor- $\beta$* , yang meliputi TGF- $\beta$ s, aktinin, inhibin, dan zat penghambat Mullerian. Anggota *superfamily* TGF- $\beta$  multifungsi, misalnya TGF- $\beta$ s diketahui terlibat dalam regulasi berbagai fenomena biologis seperti proliferasi sel, diferensiasi sel, angiogenesis, imunosupresi, peradangan, perbaikan jaringan, dan embriogenesis. Ekspresi gen BMP telah diamati di berbagai jaringan termasuk ginjal, otak, dan kulit. Semakin banyak bukti menunjukkan peran regulasi untuk BMP dalam perkembangan embrio, menunjukkan bahwa *family* protein BMP mungkin memiliki efek biologis yang jauh lebih luas yang tidak hanya terkait dengan pembentukan tulang. Meskipun demikian, fungsi fisiologis yang tepat dan mekanisme kerja BMP sebagian besar masih belum diketahui.<sup>61</sup>

Secara tradisional BMP dianggap terlokalisasi pada tulang tetapi penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa BMP diekspresikan di sebagian besar jaringan dan sepanjang perkembangan embrio. Beberapa anggota *family*

BMP juga telah dipetakan ke lokus kromosom yang berbeda: BMP 2 (Kromosom 20), BMP 3 (Kromosom 4), BMP 4 (Kromosom 14), BMP 6 (Kromosom 6), BMP 7 (Kromosom 20), BMP 8 (Kromosom 1), dan BMP 15 (kromosom X).<sup>57</sup> Pada tulang, BMP diproduksi oleh sel osteoprogenitor, osteoblas, *chondrocytes*, dan platelet. Setelah dilepas, matriks ekstraseluler menjadi tempat penyimpanan sementara BMP. Efek regulasi dari BMP bergantung pada tipe sel target, tahap diferensiasi, konsentrasi lokal BMP itu sendiri, dan interaksi dengan protein yang disekresi lainnya. BMP menginduksi sekuensial pembentukan chondrogenesis, osteogenesis, angiogenesis, dan kontrol sintesis matriks ekstraseluler.<sup>62</sup> Secara umum fungsi BMP adalah mengatur berbagai aktivitas mesenkim/osteoblas seperti: kemotaksis, perlekatan sel (fibronectin), replikasi sel (mitosis), diferensiasi osteoblas, aktivitas alkalin fosfatase serta sintesis/mineralisasi osteokalsin. Anggota *superfamily* ini dapat memberikan efek penghambat atau stimulasi pada sel, tergantung pada tahap diferensiasi seluler di mana mereka mulai bekerja.<sup>63</sup> Fungsi *family* BMP dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Fungsi Bone Morphogenetic Protein<sup>64</sup>

<b>BMP</b>	<b>Fungsi</b>
BMP-2	Osteoinduksi, diferensiasi osteoblas, dan apoptosis
BMP-3	BMP paling melimpah di tulang, menghambat osteogenesis
BMP-4	Perkembangan osteoinduktif, paru-paru, dan mata
BMP-5	Kondrogenesis
BMP-6	Perkembangan osteoblas, kondrogenesis
BMP-7 (OP-1)	Perkembangan osteogenesis ginjal dan mata
BMP-8 (OP-1)	Osteoinduktif

BMP-9	Sistem saraf, sistem retikuloendotelial hati, hepatogenesis
BMP-10	Perkembangan jantung
BMP-11 (GDF-8)	Pola mesodermal dan jaringan saraf myostatin
BMP-12 (GDF-7)	Menginduksi pembentukan jaringan tendon-iliaka
BMP-13 (GDF-6)	Menginduksi pembentukan jaringan tendon-iliaka
BMP-14 (GDF-5)	Menginduksi tendon dan ligamen - seperti pembentukan jaringan
BMP-15	Memodifikasi aktivitas hormon perangsang folikel

BMP-2 dianggap sebagai pengatur positif terpenting dari proliferasi dan diferensiasi kondrosit selama pembentukan tulang endokondral, sedangkan BMP-12 bertindak sebagai pengatur negatif kondrogenesis.<sup>65</sup> BMP-2 berperan dalam pembentukan jaringan tulang secara langsung melalui osifikasi intramembran melalui diferensiasi sel mesenkim menjadi osteoblas. Osifikasi intramembran merupakan proses pembentukan jaringan tulang langsung dari sel progenitor tanpa didahului oleh tahapan pembentukan jaringan tulang rawan. Mandibula adalah tulang yang terbentuk melalui osifikasi intramembran. Pembentukan dimulai dengan adanya sel mesenkim di area perbaikan tulang alveolar. Daerah tulang yang akan diperbaiki mengalami vaskularisasi dan sel-sel mesenkim berdiferensiasi menjadi sel-sel osteoprogenitor. Sel osteoprogenitor sitoplasma mengalami perubahan dari eosinofilik menjadi basofilik, perubahan juga terjadi pada badan Golgi yang menjadi lebih jernih, perubahan ini terjadi pada proses diferensiasi menjadi osteoblas yang mensekresi jaringan kolagen, sialoprotein tulang, osteokalsin, dan komponen matriks tulang/osteoid.<sup>66</sup>



Implantasi *purified*-BMP rekombinan dengan matriks kolagen tulang di situs subkutan pada tikus telah terbukti menginduksi urutan kejadian seluler yang mengarah pada pembentukan tulang baru dengan semua elemennya. BMP yang ditanamkan memicu reaksi biologis di mana *stem cell* dirangsang untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi kondrosit. Proses bio transformatif ini memakan waktu sekitar 5 sampai 7 hari, setelah itu terjadi invasi kapiler. Kondrosit yang berdiferensiasi mengalami proses hipertrofi dan kalsifikasi, dan osteoblas muncul di tempat implan. Oleh karena itu pembentukan tulang baru terlihat pada 9-12 hari, sementara remodeling, pembentukan *ossicles*, dan pembentukan tulang terjadi pada 14-21 hari berikutnya. Proses biologis yang serupa dengan osifikasi endokondral yang terjadi secara fisiologis dan osifikasi intramembran dimana sel-sel progenitor pluripoten secara langsung berdiferensiasi menjadi osteoblas telah terlihat dengan BMP dalam studi *in vitro*. Namun, efek ini hanya dapat dilihat pada konsentrasi BMP yang lebih tinggi.<sup>60</sup>

Selain itu, analisis detail mengenai ekspresi anggota TGF- $\beta$  superfamily menyatakan bahwa ekspresi BMP-2 terjadi paling awal (hari pertama setelah fraktur) yang akan terus meningkat sampai mencapai puncaknya pada hari ke-21. Keberadaan BMP-2 akan mempercepat penyembuhan tulang, meningkatkan mineralisasi, remodeling, dan kekakuan biomekanikal.<sup>62</sup>

### **2.3. *Socket Preservation***

Tulang alveolar merupakan bagian dari maksila dan mandibula yang membentuk dan menopang soket gigi. Tulang alveolar terbentuk saat gigi

erupsi melalui proses osifikasi tulang untuk memberikan perlekatan pada ligamentum periodontal. Kehilangan tulang alveolar dihubungkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah pencabutan gigi yang dapat mengakibatkan deformitas tulang, termasuk penurunan tinggi dan lebar dari *ridge* sisa.<sup>67,68</sup>

Socket preservation adalah semua prosedur yang dilakukan pada saat pencabutan untuk meminimalkan resorpsi *ridge* eksternal dan pembentukan tulang dalam memaksimalkan soket, yang bertujuan mempertahankan dan mempertahankan dimensi *ridge* alveolar setelah pencabutan gigi.<sup>69</sup> Ketika gigi dicabut, tulang alveolar atau bagian tulang rahang yang menahan gigi di mulut, tidak lagi menerima rangsangan yang diperlukan, sehingga mengalami kerusakan atau penyusutan. Tanpa intervensi (penyembuhan alami), hasil dari sembilan penelitian menunjukkan hilangnya lebar *ridge* yang signifikan (-2,6 hingga 4,6 mm), dan hasil dari lima penelitian menunjukkan hilangnya tinggi *ridge* tulang yang signifikan secara statistik (-0,55 hingga 3,3 mm). Sebaliknya, tidak terlihat penurunan yang signifikan pada tinggi *ridge* dari *baseline* dengan intervensi preservasi soket tertentu.<sup>6,70</sup>

Pertimbangan untuk melakukan preservasi soket alveolar segera setelah pencabutan gigi, antara lain :

1. Untuk menstabilkan koagulum di dalam soket dan menghindari kemungkinan pengurangan volume jaringan keras yang diperlukan untuk regenerasi tulang. Meskipun resorpsi tulang vertikal dapat diharapkan sebagai bagian dari pola fisiologis penyembuhan tulang setelah

pencabutan gigi, pada sebagian besar kasus, tidak ditemukan adanya pengurangan dimensi vertikal *ridge* alveolar yang terjadi 9 bulan setelah pencabutan gigi.

2. Alasan lain untuk menempatkan cangkok ke dalam soket ekstraksi adalah menyediakan *scaffold* pertumbuhan ke dalam komponen seluler dan vaskular untuk membentuk tulang baru dengan kualitas dan kuantitas yang dapat diterima.<sup>6,42</sup>

Beberapa teknik dapat digunakan untuk preservasi soket dan meminimalkan kehilangan tulang setelah pencabutan gigi. Profilaksis alveolar *ridge* segera setelah pencabutan gigi yaitu preservasi proses alveolar dengan cara<sup>71</sup> :

1. Retensi akar yang dirawat secara endodontik (paling diterima secara fisiologis)
2. *Guided bone regeneration*
3. Penempatan *immediate* implan
4. Penggunaan analog akar.

Pada prosedur *guided bone regeneration*, metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan kecepatan pembentukan tulang dan menambah volume tulang antara lain :

1. Osteoinduksi, dengan menggunakan faktor pertumbuhan yang sesuai;
2. Osteokonduksi, dengan menggunakan bahan graft yang berfungsi sebagai *scaffold* untuk pertumbuhan tulang baru

3. Distraksi osteogenesis, fraktur diinduksi melalui pembedahan dan fragmen tulang kemudian ditarik secara perlahan
4. *Guided tissue regeneration*, yang memungkinkan ruang dipertahankan oleh membran penghalang untuk diisi dengan tulang baru.<sup>72</sup>

Semua bahan atau teknik yang dapat memaksimalkan volume tulang dan jaringan lunak pasca pencabutan memiliki potensi untuk meningkatkan hasil perawatan. *Ridge preservation* atau *socket preservation* melibatkan penempatan bahan *graft* ke dalam soket pencabutan.<sup>67</sup> Berdasarkan konsep ini, *socket preservation* seringkali dilakukan dengan cara *guided bone regeneration* yaitu dengan menggunakan membran, baik *resorbable* maupun *non-resorbable*, kombinasi *bone graft* dengan atau tanpa membran, atau dengan penggunaan molekul bioaktif untuk regenerasi tulang pada daerah soket.<sup>72-74</sup>

#### **2.4. *Bone Graft***

Bahan cangkok tulang atau yang dikenal dengan istilah *bone graft* adalah suatu bagian jaringan yang diambil dari suatu tempat dan ditransplantasikan ke tempat lain, baik pada individu yang sama maupun yang berlainan. Tujuannya adalah untuk memperbaiki suatu cacat yang disebabkan oleh penyakit, kecelakaan, atau anomali pertumbuhan dan perkembangan. Pada kerusakan tulang yang disebabkan oleh penyakit periodontal, penambahan bahan *graft* terbukti lebih baik dibandingkan dengan metode *open flap debridement* saja. Tujuan dari *bone grafting* adalah mengurangi kedalaman poket, peningkatan perlekatan klinis,

pengisian tulang di daerah defek dan regenerasi tulang baru, semnetum dan ligamentum periodontal sehingga diharapkan akar gigi dapat terdukung dengan baik.<sup>75</sup>

*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.<sup>76-81</sup>

#### 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 Protein* (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 *mesenchymal stem cell* (MSC), osteoblas, dan osteosit. Hanya bahan autograft yang terlibat dalam proses ini karena memiliki sel sel osteoblas dan prekursornya.

Secara umum *bone graft* dapat digolongkan menjadi 4 yaitu sebagai berikut :<sup>81-84</sup>

#### 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 *host* dengan lebih cepat dan lengkap.<sup>83</sup>

#### 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).<sup>82</sup>

### 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.<sup>85</sup> Terdapat beberapa jenis xenograft antara lain seperti *anorganic bovine derived bone xenograft (BDX)*, *anorganic porcine derived bone xenograft*, dan *coralline calcium carbonate*.<sup>83</sup> Penggunaan sumber xenograft dalam bidang periodontal telah dilakukan oleh Hasanuddin<sup>83</sup> dkk yang meneliti bagaimana pengaruh penggunaan xenograft tulang ikan gabus terhadap ekspresi osteocalcin (OCN) yang menunjukkan terdapat peningkatan ekspresi OCN setelah pemakaian bahan *graft* tersebut.

#### **Hidroksiapatit (HA)**

Salah satu bahan BDX adalah *bovine hydroxiapatite (BHA)* yang mirip dengan tulang kanselus manusia, baik dari segi kristalin maupun struktur morfologi, memiliki sifat biokompatibel, dan osteokonduktif. Namun, bahan *graft* ini memiliki kekurangan tidak osteoinduktif serta tingkat dan mekanisme resorpsinya lambat. Sartori dkk dalam penelitian *follow up* 10 tahun, melaporkan resorpsi BHA yang lambat tetapi prosesnya berkelanjutan. Hasil penelitian tersebut 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.<sup>81</sup> 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*.<sup>80</sup>

*Bovine hydroxiapatite* (BHA) diperoleh dari proses pengeringan beku. Bahan diambil dari tulang sapi, kemudian semua komponen organik diekstraksi (deproteinisasi). *Bovine hydroxiapatite* (BHA) telah melalui serangkaian uji biokompatibilitas, mikrostruktur, dan uji komposisi. Penelitian lebih lanjut oleh Kotobuki dkk menjelaskan bahwa lingkungan mikro HA dapat menyediakan ion kalsium dan ion alkalin bagi osteoblas, menyebabkan mineralisasi mesenkim ekstraseluler dan mensekresi ATPase. Proses ini juga dapat mengaktifasi osteoblas dan membentuk jaringan tulang. Permukaan HA mendukung adhesi, pertumbuhan, dan diferensiasi sel osteoblas, dan tulang baru didepositkan oleh substitusi dari tulang vital yang berdekatan. *Scaffold* HA juga dapat berfungsi sebagai sarana pengiriman sitokin dengan kapasitas untuk mengikat dan mengonsentrasikan BMP secara *in vivo*.<sup>10</sup> Penelitian oleh Malianawati dkk<sup>9</sup> untuk melihat ekspresi BMP-2 dengan menggunakan kombinasi *hydroxyapatite xenograft* dan *hydroxyapatite bone graft* pada soket preservasi, menunjukkan bahwa ekspresi BMP-2



pada *hydroxyapatite tooth-derived bone graft* material lebih banyak dibanding kelompok kontrol karena mikroporitas HA menyebabkan perluasan area penyerapan *growth factor* (BMP-2). Penambahan kitosan ke dalam BHA diharapkan dapat meningkatkan efektivitas BHA dalam mengikat komponen bioaktif dan mengurangi kerapuhan BHA.<sup>12-14</sup>

#### 4. Alloplast

*Graft* yang berasal dari bahan sintetik inorganik yang biokompatibel. Yang termasuk dalam jenis alloplast adalah Polimer *Polymethylmethacrylate and Polyhydroxyethylmethacrylate (PMMA-PHEMA)*, *Demineralized Dentin Matrix (DDM)*, hidroksiapatit (HA), *Calcium Phosphate Cement (CPC)*,  *$\beta$ -Tricalcium Phosphate (TCP)*, *Calcium Sulfate*, *Bioactive Glasses (BG)*, *Oily CaOH<sub>2</sub> Suspension*, *Porous Titanium Granules*.<sup>86</sup>

### 2.5. 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  $\beta$ -(1-4)2-asetamida-2-deoksi-D-glukopiranol. Sumber utama kitosan adalah kitin yang dapat berasal dari dinding sel jamur, eksoskeleton 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 deasetilasi (DDA).<sup>15,17,21,22</sup>

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.<sup>15,82,87</sup> Pada penggunaannya, kitosan lebih mudah dimodifikasi daripada kitin dan bersifat hidrofilik sehingga mendukung adhesi dan proliferasi sel.<sup>17,84</sup> 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 sintesis (poli (vinil alkohol) dan poli (etilen glikol)) dan polimer alami (kolagen) dengan tujuan meningkatkan resistensi mekanik, absorpsi protein, dan biomineralisasi.<sup>16,23,24</sup> Menurut Gaihe dkk (2018) nanopowder biokeramik yang ditambahkan ke dalam kitosan meningkatkan kekuatan mekanis, proliferasi sel, dan penyebaran sel pada *scaffold* kitosan.<sup>25</sup> Selain itu, Danilchenko dkk (2011)

juga menunjukkan pembentukan jaringan tulang karena sifat osteokonduktif yang meningkat pada kombinasi bahan hidroksiapatit dan kitosan.<sup>29</sup>

Proses utama pembuatan kitosan meliputi tiga 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 deasetilasi dari 30%-95% tergantung dari sumber dan pemrosesannya. 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.<sup>15,17,84,85</sup>

Pemanfaatan biopolimer kitosan dapat diolah dalam berbagai bentuk seperti larutan, gel, pasta, campuran, spons, membran, tablet, dan butiran mikro. Dalam sediaan gel, kitosan dapat menjaga kelembapan luka dan memiliki efek mendinginkan yang dapat mengurangi rasa nyeri. Beberapa penelitian menunjukkan gel kitosan dengan derajat asetilisasi 80%-84% dan berat molekul 150-252 kDa paling optimal dalam meningkatkan regenerasi tulang. Pada tahun 2012, Sularsih 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.<sup>15,88,89</sup>

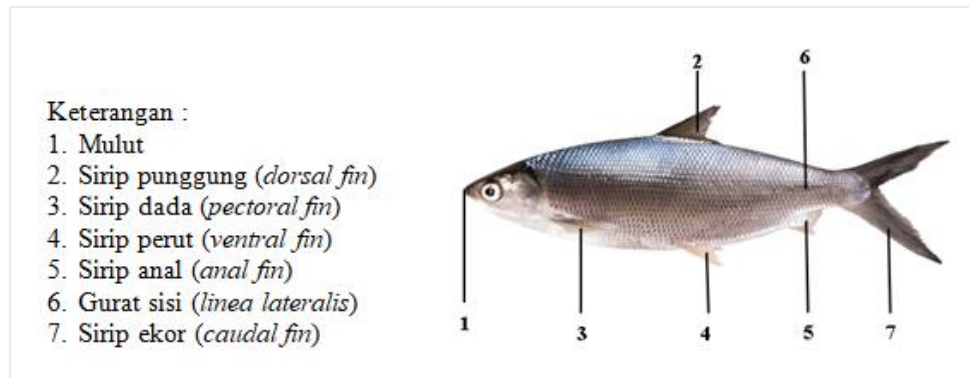
## 2.6. Ikan Bandeng

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.<sup>38,90,91</sup>

### 2.6.1. 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. Sudrajat (2008) menyebutkan 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.<sup>90</sup>

Ikan bandeng memiliki 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 3). Warna tubuhnya putih keperak-perakan dengan punggung kehitaman.<sup>90</sup>



**Gambar 3.** Morfologi ikan bandeng (*chanos chanos*)<sup>90</sup>

### 2.6.2. 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.<sup>92,93</sup>

Sisik ikan mengandung komposisi kimia yang terdiri dari proksimat, kalsium, kitin, alkaloid, steroid, fenol hidrokuinon, air,

protein, lemak, karbohidrat, dan abu.(37) 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.<sup>39,94</sup>

### **2.6.3. 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.<sup>95,96</sup> Selain itu, sisik ikan bandeng yang memiliki kandungan kitin juga telah dibuktikan menjadi bahan kitosan yang memiliki aktivitas antimikroba *Candida albicans*<sup>97</sup> serta efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* serta bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan salah satu patogen penyebab penyakit periodontal.<sup>40</sup> 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.<sup>98</sup> Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai

penggunaan sisik ikan bandeng sebagai sumber kitosan ditunjukkan pada tabel 2.

**Tabel 2.** Sintesis penelitian

No	Penulis	Tahun	Judul	Kesimpulan
1	Djais et al <sup>40</sup>	2020	Antibacterial Chitosan of Milkfish Scales (Chanos Chanos) On bacteria Prophyromonas Gingivalis & Agregatibacter Actinomycetemcomitans	Gel kitosan sisik ikan bandeng ( <i>Chanos chanos</i> ) memiliki daya hambat terhadap bakteri <i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i> dan <i>Porphyromonas gingivalis</i> yang merupakan salah satu patogen penyebab penyakit periodontal. Semakin besar konsentrasi gel kitosan, maka daya hambat terhadap bakteri <i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i> dan <i>Porphyromonas gingivalis</i> juga akan besar.
2	Susanti dkk <sup>99</sup>	2020	Pembuatan kitosan dari limbah sisik ikan	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pembuatan kitosan dari sisik ikan meliputi tiga tahap proses, yaitu tahap de-proteinasi, tahap de-mineralisasi dan tahap de-asetilasi.</li> <li>- Semakin besar konsentrasi larutan NaOH, dan semakin lama proses ekstraksi, maka semakin kecil massa kitosan yang dihasilkan.</li> <li>- Semakin besar konsentrasi larutan NaOH, dan semakin lama proses ekstraksi, maka semakin besar</li> </ul>

				nilai derajat deasetilasinya.
3	Ilmiyah et al <sup>100</sup>	2020	Characterization of Chitosan Nanoparticles from Milkfish Scales as an Alternative Preservatives of Fresh Pangas Catfish ( <i>Pangasius hypophthalmus</i> )	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 <sup>95</sup>	2019	Antimicrobial Activity of Chitosan from Milkfish Scales ( <i>Chanos chanos</i> ) on the Oral Pathogen <i>Candida Albicans</i> .	Kitosan sisik bandeng memiliki aktivitas antimikroba terhadap <i>Candida albicans</i> . Semakin tinggi konsentrasi kitosan yang diberikan, daya hambatnya semakin besar. Konsentrasi 1,5% dan 2% termasuk dalam kategori daya hambat kuat dalam menghambat pertumbuhan <i>Candida albicans</i> .



5	Khairi et al <sup>20</sup>	2017	Perbandingan Efektifitas Chitosan Sisik Ikan Bandeng Dengan Gentamisin Terhadap Perkembangan <i>Escherichia Coli</i>	Larutan kitosan menunjukkan tingkat efektifitas yang cukup tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i> pada konsentrasi 0,25% dengan rata-rata zona hambat terhadap <i>E. coli</i> 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 <i>E. coli</i> sebesar 13,4 mm.
6	Aziz dkk <sup>38</sup>	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 <sup>101</sup>	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.

8	Djais et al <sup>102</sup>	2022	South Sulawesi Milkfish ( <i>Chanos Chanos</i> ) Scale Waste as a New Anti-inflammatory Material in Socket Preservation	Kitosan dari sisik bandeng dapat menghambat produksi sitokin pro-inflamasi TNF dan IL-6. Namun, karena ini adalah produk baru, proses deasetilasi yang lebih efisien harus diselidiki, sehingga kitosan dapat mempertahankan berat molekulnya yang tinggi tetapi asetilasinya lebih sedikit. Hal ini dapat meningkatkan dampak anti-inflamasi dengan menurunkan kadar IL-6 awal, memperpendek proses peradangan, dan mempercepat tahap proliferasi dan remodeling.
---	----------------------------	------	---	--