

**PENGARUH APLIKASI KOMBINASI GEL KITOSAN DAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING RAJUNGAN
(PORTUNUS PELAGICUS) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS**
(Studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan)

TESIS



Oleh:

MACHIRAH

J035192001

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS PERIODONSIA

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

**PENGARUH APLIKASI KOMBINASI GEL KITOSAN DAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (PORTUNUS
PELAGICUS) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS**

(Studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan)

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:

MACHIRAH

J035192001

Pembimbing:

1. Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes
2. Prof. Dr. Burhanuddin Daeng Pasiga, drg., M.Kes

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

2022

**PENGARUH APLIKASI KOMBINASI GEL KITOSAN DAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (PORTUNUS
PELAGICUS) TERHADAP JUMLAH OSTEUBLAS**

(Studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan)

OLEH:

MACHIRAH

J035192001

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

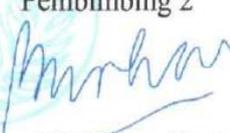
Makassar, 11 Oktober 2022

Pembimbing 1



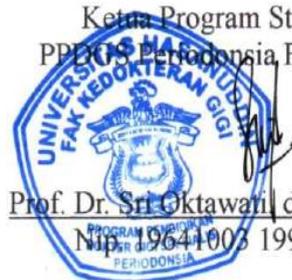
Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes
Nip. 19661229 199702 2 001

Pembimbing 2



Prof. Dr. Burhanuddin Daeng Pasiga, drg., M.Kes
Nip. 19551214 198603 1 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPKPS Periodonsia FKG-UNHAS



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

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**PENGARUH APLIKASI KOMBINASI GEL KITOSAN DAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (PORTUNUS
PELAGICUS) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS
(Studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan)**

OLEH:
MACHIRAH
J035192001

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

Makassar, 11 Oktober 2022

Pembimbing 1



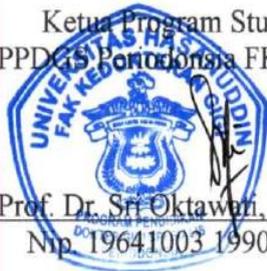
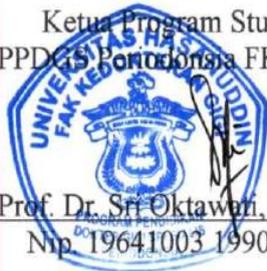
Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes
Nip. 19661229 199702 2 001

Pembimbing 2



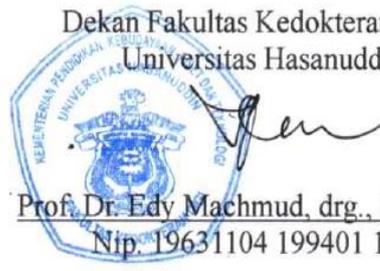
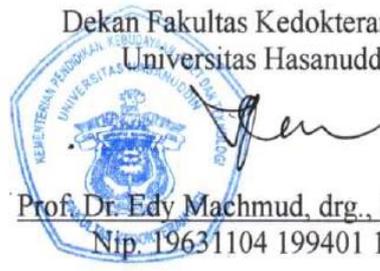
Prof. Dr. Burhanuddin Daeng Pasiga, drg., M.Kes
Nip. 19551214 198603 1 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPD-GS Portunonaja FKG-UNHAS

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

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin

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

TESIS
PENGARUH APLIKASI KOMBINASI GEL KITOSAN DAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (PORTUNUS
PELAGICUS) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS
(Studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan)

OLEH:
MACHIRAH
J035192001

Telah disetujui
Makassar, 11 Oktober 2022

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

Mengetahui
Konsentrasi Program Studi (KPS)
Perio(K) Periodontologi FKG-UNHAS

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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Machirah

Stambuk : J035192001

Program studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia

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

Makassar, 11 Oktober 2022

Yang menyatakan



Machirah

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim, Puji syukur kehadirat Allah SWT karena limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir yang berjudul **Pengaruh Aplikasi Kombinasi Gel Kitosan Dan Hidroksiapatit Dari Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*) Terhadap Jumlah Osteoblas (*studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan*)** sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan dokter gigi spesialis periodonsia fakultas kedokteran gigi Universitas Hasanuddin Makassar.

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

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, MSc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. **Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
3. **Prof. Dr. drg. Sri Oktawati, Sp. Perio(K)** sebagai Ketua Program Studi PPDGS Periodonsia
4. **Dr. drg Asdar Gani, M.Kes**, sebagai Pembimbing pertama yang selama ini telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan hingga selesainya penulisan tesis ini
5. **Prof. Dr. drg. Burhanuddin Daeng Pasiga, M.Kes**, sebagai pembimbing kedua yang selama ini sudah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan dan mendorong penulis menyelesaikan tesis ini
6. **Prof. Dr. drg. Hj Andi Mardiana Adam, MS., drg. Surijana Mappangara, M.Kes., Sp.Perio(K)** dan **Prof. Dr. drg. Sri**

Oktawati, Sp. Perio(K), sebagai tim penguji yang telah banyak memberikan masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini.

7. Seluruh staf pengajar pada program pendidikan dokter gigi spesialis yang telah memberikan ilmunya.
8. Staf Laboratorium Farmakologi Toksikologi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, yang membantu selama proses penelitian.
9. Ayahanda **M.Rusdy (alm)** dan ibunda **Nurhaedah** atas segala do'a, bimbingan dan dukungan dalam bentuk moril maupun materil.
10. Suami tercinta **Dr. Surianto, S.Kep.,Ns.,M.P.H** dan ke empat putraku tersayang (**F Four**) **Fathan Sakhi Zaidan, Faqih Syafi Zhafran, Fakhril Syafwan Zakir** dan **Fawwaz Shadiq Zaid** yang selalu setia mendukung dan memberikan semangat hingga selesainya pendidikan ini.
11. Kakandaku **Muhammad Jamal** dan **Muhammad Jamil** serta saudara-saudara iparku yang selalu memberikan motivasi dan doanya untuk keberhasilan penulis menempuh Pendidikan.
12. Senior **TITU** tersayang, khususnya **drg. Gustivanny Dwipa A, Sp.Perio** dan **drg. Dian Eka Satya, Sp.Perio** yang begitu banyak membantu selama proses penelitian.
13. Teman-teman seperjuangan **SIGMA**, drg. Muthmainnah, drg. Febrianty, drg. Nur Fitrah Abd Fatah, drg. Afriani, dan drg, Hatimurni atas segala dukungan dan perhatiannya hingga dapat terselesaikannya pendidikan spesialis ini bersama.
14. Junior Soju, Nemesix, Dextra, Venom dan Phoenix yang telah memberi semangat, dukungan dan bantuannya selama menempuh Pendidikan.
15. Seluruh staf dan karyawan bagian periodonsia dan RSGM Halimah dg. Sikati yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama menjalani pendidikan.

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 memberikan manfaat bagi pembaca dan masyarakat luas serta berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran gigi.

Makassar, 11 Oktober 2022

Machirah

**PENGARUH APLIKASI KOMBINASI GEL KITOSAN DAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING RAJUNGAN
(PORTUNUS PELAGICUS) TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS
(Studi in vivo pada defek femur tikus wistar jantan)**

ABSTRAK

Latar belakang: Proses penyembuhan tulang ditandai dengan peningkatan aktivitas osteoblas. Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggungjawab pada proses mineralisasi matriks tulang. Penggunaan bone graft untuk menstimulasi pembentukan jaringan tulang yang mengalami kerusakan melalui proses osteogenesis, osteoinduksi dan osteokonduksi. Kitosan dan hidroksiapatit graft dapat diproduksi dari limbah cangkang kepiting jenis rajungan (*Portunus pelagicus*). Kitosan mempunyai sifat osteokonduktifitas tinggi, pengaplikasian yang mudah dan biodegradasi bertahap untuk regenerasi tulang. Hidroksiapatit memiliki struktur kristal yang identic dengan tulang, serta bersifat biocompatible dan bioactive, sehingga sangat tepat digunakan sebagai bahan implant tulang. **Bahan dan metode:** Kitosan limbah cangkang kepiting rajungan dibuat melalui proses demineralisasi, deproteinase, dan deasetilasi. Hidroksiapatit dari limbah cangkang kepiting rajungan dengan cara mereaksikan precursor kalsium dan fosfat. Sebanyak 27 ekor tikus wistar dilakukan pembuatan defek pada tulang femur, dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok perlakuan, defek femur diisi dengan kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit cangkang kepiting rajungan, kelompok kontrol positif, defek diisi dengan bovine hidroksiapatit dan kelompok kontrol negatif defek diisi dengan gel placebo. Pada hari ke 7,14 dan 21 dilakukan sacrificed untuk pengambilang jaringan tulang femur dan pemeriksaan histologi osteoblas. Analisis data dilakukan dengan uji Shapiro wilk, uji Levene dan ANOVA. **Hasil dan diskusi:** pada hari ke 7, 14 dan 21 terjadi peningkatan jumlah osteoblas. Pada hari ke 7 dan 14 tidak ada perbedaan signifikan ketiga kelompok. Pada hari ke 21 menunjukkan ada perbedaan signifikan antara ketiga kelompok dengan nilai $p=0,009$. Kitosan mempunyai sifat biokonduktifitas dan hidroksiapatit bersifat biocompatibel dan bioactive sehingga kombinasi keduanya memiliki efek sinergis pada adhesi, diferensiasi dan pembentukan matriks ekstraseluler pada regenerasi tulang. **Kesimpulan:** Aplikasi kombinasi gel kitosan dan bubuk hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan dapat meningkatkan regenerasi tulang terlihat dari peningkatan jumlah osteoblas pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol.

Kata kunci: defek tulang, hidroksiapatit, kitosan, osteoblas, *Portunus pelagicus*

**THE EFFECT OF COMBINATION CHITOSAN GEL AND
HYDROXYPATITE FROM CRAB SHELLS WASTE (*Portunus Pelagicus*)
TOWARD AMOUNT OF OSTEOBLAST
(In vivo study on male Wistar femoral defects)**

ABSTRACT

Background: The bone healing process is characterized by increased osteoblast activity. Osteoblasts are bone-forming cells that are responsible for the mineralization of the bone matrix. The use of bone grafts stimulates the formation of damaged bone tissue through the processes of osteogenesis, osteoinduction, and osteoconduction. Chitosan and hydroxyapatite grafts can be produced from waste crab shells (*Portunus pelagicus*). Chitosan has high osteoconductivity, easy application, and gradual biodegradation for bone regeneration. Hydroxyapatite has a crystal structure that is identical to the bone, and is biocompatible and bioactive, making it very suitable to be used as a bone implant material.

Materials and methods: Crab shell waste chitosan is made through demineralization, deproteinized, and deacetylation processes. Hydroxyapatite from crab shell waste by reacting calcium and phosphate precursors. A total of 27 Wistar mice were made to make femoral defects, divided into three groups, namely the treatment group, the femoral defects were filled with a combination of chitosan gel and crab shell hydroxyapatite, the positive control group, the defects were filled with bovine hydroxyapatite and the negative control group the defects were filled with gel. placebo. On days 7,14 and 21, they were sacrificed for femoral bone tissue removal and osteoblast histology examination. Data analysis was performed by Shapiro Wilk test, Levene test, and ANOVA.

Results and discussion: on days 7, 14, and 21 there was an increase in the number of osteoblasts. On days 7 and 14 there was no significant difference between the three groups. On day 21, there was a significant difference between the three groups with a p-value = 0.009. Chitosan has conductivity properties and hydroxyapatite is biocompatible and bioactive so the combination of the two has a synergistic effect on adhesion, differentiation, and formation of extracellular matrix in bone regeneration.

Conclusion: The combination application of chitosan gel and hydroxyapatite powder from small crab shells can increase bone regeneration as seen from the increase in the number of osteoblasts in the treatment group compared to the control group.

Keywords: bone defects, hydroxyapatite, chitosan, osteoblasts, *Portunus pelagicus*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang.....	2
I.2 Rumusan Masalah.....	6
I.3 Tujuan Penelitian.....	6
I.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Histologi tulang	8
2.2 Bone graft.....	12
2.3 Kitosan	18
2.4 Hidroksiapatit.....	20
2.5 Cangkang kepiting rajungan (<i>Portunus pelagicus</i>).....	25
BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA	26
3.1 Kerangka Teori	28
3.2 Kerangka Konsep.....	29
3.3 Hipotesa	30
BAB IV. METODE PENELITIAN	31
4.1 Rancangan Penelitian	31
4.2 Lokasi dan waktu penelitian	31

4.3	Subjek Penelitian	32
4.4	Variabel penelitian dan defenisi operasional	33
4.5	Alat dan bahan penelitian.....	34
4.6	Prosedur penelitian.....	35
4.7	Pelaksanaan penelitian	41
4.8	Pengambilan jaringan dan pemeriksaan histologi.....	42
4.9	Etika penelitian	44
4.10	Analisa data.....	44
4.11	Alur penelitian	45
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		46
5.1	Uji Kandungan Bahan	46
5.2	Pemeriksaan osteoblas dan uji statistik.....	48
5.3	Pembahasan.....	54
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN		59
6.1	Kesimpulan	59
6.2	Saran	59
DAFTAR PUSTAKA		60
LAMPIRAN		67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema remodelling tulang.....	18
Gambar 2. Deasetilasi kitin menjadi kitosan.....	20
Gambar 3. Struktur kristal hexagonal hidroksiapatit	21
Gambar 4. Cangkang kepiting rajungan.....	25
Gambar 5. Spektrum infra merah kitosan	46
Gambar 6. Derajat kristalisasi XRD Hidroksiapatit.....	48
Gambar 7. Diagram perbandingan jumlah osteoblast masing-masing kelompok....	51
Gambar 8. Grafik perbandingan jumlah osteoblas masing-masing kelompok	51
Gambar 9. Diagram perbandingan rerata peningkatan osteoblas.....	52
Gambar 10. Hasil pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) dengan pembesaran 400x	53
Gambar 11. Hasil pemeriksaan histologis dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin(HE) dengan pembesaran 1000x	53

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sintesis penelitian	22
Tabel 2. Perbandingan serapan FTIR kitosan standar dan kitosan sampel.....	47
Tabel 3. Hasil uji one way ANOVA perbandingan rerata osteoblas	49
Tabel 4. Hasil uji Pos Hoc LSD perbedaan rerata osteoblast	50

DAFTAR SINGKATAN

MSC	: Mesenchymal Stem Cells
RANK	: Receptor Activator Of NFKB
RANKL	: Receptor Activator Of NFKB Ligand
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor α
IL-1 β	: Interleukin 1 β
GTR	: Guided Tissue Regeneration
GBR	: Guided Bone Regeneration
DFDDM	: Demineralization Freeze Dried Dentin Matrix
CaCO ₃	: Kalsium Karbonat
PPM	: Part Per Million
IL 1	: Interleukin 1
IL-6	: Interleukin 6
BMPS	: Bone Morphogenic Proteins
BMP2	: Bone Morphogenic Proteins 2
TGF B	: Transforming Growth Factor
IGF-I	: Insulin-Like Growth Factor
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
FGF	: Fibroblast Growth Factor
ALP	: Alkalin Fosfatase
PGE2	: Prostaglandin E
HA	: Hidroksiapatit
FTIR	: Fourier Transform Infra Red
XRD	: X-Ray Difraction

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih menjadi masalah yang dapat mempengaruhi kualitas hidup seseorang. Prevalensi dari periodontitis terutama di Indonesia masih terbilang tinggi. Data RISKESDAS 2018 menunjukkan persentase kasus periodontitis di Indonesia sebesar 74,1%.⁽¹⁾ Menurut Global Burden of Disease Study (2016), penyakit periodontal menempati urutan ke 11 yang paling banyak terjadi di dunia. prevalensi penyakit periodontal dilaporkan berkisar dari 20% sampai 50% di dunia. penyakit periodontal merupakan salah satu penyebab utama kehilangan gigi yang dapat mengurangi fungsi pengunyahan, estetika, kepercayaan diri, dan kualitas hidup. Terganggunya fungsi pengunyahan mempengaruhi asupan makanan, sehingga berdampak negatif terhadap nutrisi dan kesehatan umum pasien.⁽²⁾

Periodontitis merupakan penyakit kompleks multifaktorial dengan hasil pengobatan yang bervariasi. Periodontitis kronis merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi yang menyebabkan hilangnya ligament periodontal dan tulang. Beberapa spesies bakteri dalam rongga mulut yang diatur dalam biofilm dianggap sebagai salah satu faktor etiologik yang memicu reaksi inflamasi destruktif lokal yang menyebabkan poket periodontal.⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ Adanya poket yang tidak dirawat, dapat menyebabkan terjadinya resesi pada gingiva dan resorpsi tulang alveolar yang progresif. Kondisi seperti ini dapat menyebabkan keluarnya atau terlepasnya gigi dari soket.⁽³⁾⁽⁶⁾

Tulang merupakan jaringan dinamis yang senantiasa mengalami remodelling dan regenerasi sebagai respon terhadap perubahan metabolisme. sel yang paling berperan dalam pembentukan tulang adalah osteoblas. Osteoblas berasal dari mesenchymal stem cells (MSC), memainkan peran penting dalam pemeliharaan dan regenerasi massa tulang. Peran utama osteoblas adalah untuk mensintesis dan mensekresi berbagai protein yang terlibat dalam pembentukan tulang (Protein matriks ekstraseluler, sitokin, kolagen, dan *growth factor*) dan mineralisasi matriks ekstraseluler menjadi tulang. Fungsi dan aktivitas osteoblas dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk mekanisme transkripsi dan epigenetik, interaksi sel-sel, interaksi sel-matriks, dan proses inflamasi.⁽⁷⁾ Inflamasi menyebabkan sel osteoklas meningkat, RANK dan RANKL meningkat dikarenakan terjadinya peningkatan sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-1 β . Jika sel osteoklas meningkat, maka terjadi resorpsi tulang alveolar.⁽⁸⁾ Proses remodeling terjadi saat terjadi kerusakan tulang yang digambarkan dengan keseimbangan aktivitas sel osteoklas dan osteoblas. Osteoclast merupakan satu-satunya sel yang dapat meresorpsi tulang. Dan meningkatkan massa tulang dengan menstimulasi osteoblas dengan cara sekresi osteoid dan menghambat kemampuan osteoclast untuk merusak osseous tissue, sehingga terjadi proses bone repair.⁽⁹⁾

Proses penyembuhan lebih baik dipercepat untuk mengembalikan struktur dan fungsi normal dari bagian tubuh yang mengalami kerusakan, mengurangi rasa tidak nyaman dan memperkecil kemungkinan komplikasi lebih lanjut.⁽¹⁰⁾ Selama beberapa dekade terakhir, metode bedah yang digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang alveolar yaitu Guided tissue regeneration (GTR) dan Guided

bone regeneration (GBR). Prinsip Guided tissue regeneration (GTR) / Guided bone regeneration (GBR) yaitu penggunaan bone graft sebagai scaffold untuk menstimulasi pembentukan jaringan tulang yang mengalami kerusakan melalui proses osteogenesis, osteoinduksi dan osteokonduksi.⁽¹¹⁾

Bahan yang digunakan dalam *bone graft* dapat dibagi menjadi beberapa kategori utama, yaitu *autografts*, *allografts*, dan *xeno-grafts*. Biaya *bone graft* tergolong cukup mahal bagi para pasien yang kurang mampu.⁽¹²⁾ Pada saat ini banyak penelitian bone graft mengarah pada bahan-bahan yang berasal dari alam karena dianggap lebih sederhana, murah, dan kurang memberikan efek samping yang berbahaya. Beberapa penelitian yang menggunakan bone graft dari bahan alam antara lain dari kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*)⁽¹³⁾, Teripang Emas (*Stichopus hermanii*)⁽¹⁴⁾, Ikan gabus (*Channa striata*)⁽¹⁵⁾, *Demineralization Freeze Dried Dentin Matrix* (DFDDM) kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa olifera*)⁽¹⁶⁾ dan masih banyak lagi.

Kitosan mempunyai sifat osteokonduktifitas tinggi, pengaplikasian yang mudah dan biodegradasi bertahap untuk regenerasi tulang. Kitosan telah terbukti dapat meningkatkan regenerasi tulang pada kehilangan tulang alveolar, oleh karena itu, kitosan dianggap sebagai alternatif yang cocok untuk bone graft.⁽¹⁷⁾ Hidroksiapatit memiliki struktur kristal yang identik dengan tulang, serta bersifat biokompatibel dan bioaktif, sehingga sangat tepat digunakan sebagai bahan implan tulang. Sifat biokompatibel dari hidroksiapatit memiliki kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan tubuh dan tidak adanya penolakan oleh jaringan tubuh. Sifat bioaktif adalah dapat berikatan dengan jaringan tulang dan memberikan

respon biologis spesifik yaitu dapat menstimulasi sel osteoblas untuk membentuk jaringan tulang baru sehingga dapat membantu proses regenerasi tulang.⁽¹⁸⁾ Kombinasi kitosan dengan biomaterial lain dapat memiliki efek sinergis pada adhesi sel, diferensiasi sel dan pembentukan matriks ekstraseluler.⁽¹⁹⁾

Kitosan terkandung pada cangkang atau kulit dari berbagai biota laut. Misalnya pada cangkang kepiting, udang dan lobster yang merupakan sumber komersil utama kitin selama ini. Sebanyak 50-60% kitin terkandung pada cangkang kepiting, 42-57% pada cangkang udang dan 40% pada cumi-cumi serta kerrang 14-35%.⁽²⁰⁾ Berdasarkan hal ini, maka dikembangkanlah penelitian pemanfaatan kitosan pada cangkang kepiting.

Indonesia mempunyai potensi besar untuk produksi Kepiting. Kepiting adalah komoditas andalan dari sektor perikanan yang umumnya diekspor dalam bentuk beku. Potensi produksi kepiting di Indonesia dari tahun ke tahun terus meningkat. Indonesia sampai dengan saat ini sebagai negara pengeksport kepiting terbesar untuk pasar international (kabar bisnis 2014). Distribusi produksi berasal dari Perairan Selat Makassar, Laut Flores, dan Teluk Bone. Kabupaten yang termasuk lima besar produsen kepiting rajungan adalah Wajo 34,0 %, Bone 23,6 %, Pangkep 17.4%, Maros 13% dan Jeneponto 5,7%.⁽²¹⁾ Pabrik pembekuan kepiting (cold storage), mengolah kepiting untuk eksport dalam bentuk kepiting beku daging.⁽²²⁾ Limbah dari pengolahan kepiting rajungan ini sebagian besar berupa cangkang 70-80% sering dibuang atau hanya digunakan sebagai campuran pakan ternak, perasa pembuatan kerupuk dan terasi. Bila limbah ini dibiarkan maka akan menyebabkan pencemaran lingkungan dan membahayakan kesehatan manusia.⁽²³⁾

Secara umum, cangkang kulit kepiting mengandung protein (15,60% - 23,90%), kalsium karbonat (53,70% - 78,40%) dan kitin (18,70% - 32,20%). Berdasarkan kandungan tersebut seyogyanya limbah cangkang kepiting tidak hanya digunakan sebatas itu saja, sebab limbah tersebut sumber potensial yang bisa dikembangkan sebagai bahan *bone graft*.⁽²³⁾ Limbah yang sering diteliti sebagai sumber kalsium tertinggi adalah cangkang telur ayam. Cangkang telur ayam mengandung kalsium dalam bentuk kalsium karbonat (CaCO₃) sebagai komposisi penyusun utama sebanyak 94%.⁽²⁴⁾ Pada penelitian ini, digunakan cangkang kepiting rajungan dikarenakan ada dua bahan yang diekstrak pada cangkang tersebut yaitu kitosan dan hidroksiapatit.

Menurut penelitian Chien dkk kitosan dari cangkang kepiting menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap bakteri patogen gram positif dan negatif dengan zona hambat 11,4-26,8 mm serta menunjukkan efek antiproliferasi sedang pada sel IMR 32 dan Hep G2 yang mempercepat penyembuhan luka.⁽²⁵⁾

Penelitian ini sejalan dengan penelitian Gani dkk dimana pemberian kitosan 3% memberikan efek antibakteri yang maksimal dan mempercepat penyembuhan luka.⁽²⁶⁾ Oleh karena itu, kitosan terbukti memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, dan mempercepat penyembuhan luka.^{(27),(28),(24)} Kandungan kalsium karbonat pada cangkang kepiting rajungan dapat diubah menjadi hidroksiapatit. Penelitian yang dilakukan Kamadjaja dkk, kandungan hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan pada konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, dan 25 ppm diklasifikasikan sebagai material bioaktif dan memiliki biokompatibilitas yang baik.⁽³⁰⁾ Penelitian yang dilakukan Shavandi dkk, kombinasi kitosan dan hidroksiapatit memiliki ukuran

pori scaffold berkisar antara 90-220 m dan memiliki porositas 70–80% menunjukkan bahwa kombinasi kitosan dan hidroksiapatit memiliki sifat fisik dan biologis berupa osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis, sehingga dapat menjadi biomaterial yang menjanjikan untuk regenerasi jaringan tulang ketika digunakan sebagai *bone graft*.⁽³¹⁾

Penelitian yang dilakukan oleh Gani dkk (2021) yang melihat efektifitas kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan terhadap peningkatan BMP2 dan IL1. Dari hasil penelitian tersebut terlihat bahwa kombinasi bahan tersebut menunjukkan penghambatan produksi sitokin proinflamasi IL-1 dan peningkatan BMP-2 yang merupakan penanda aksi bone graft sebagai regenerasi jaringan.⁽³²⁾ Dalam penelitian ini digunakan ekstrak kitosan dan hidroksiapatit dari bahan yang sama yaitu dari limbah cangkang kepiting rajungan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektifitas kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari limbah cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) sebagai *bonegraft* terhadap jumlah osteoblas pada proses regenerasi tulang.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari limbah cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dapat meningkatkan jumlah osteoblas pada proses regenerasi tulang?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat pengaruh kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari limbah cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam meningkatkan jumlah osteoblas.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Untuk melihat jumlah osteoblas setelah aplikasi kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*), hidroksiapatit bovine (BATAN) dan gel placebo pada hari ke 7, 14 dan 21.
- Untuk melihat apakah ada perbedaan jumlah osteoblas pada ketiga kelompok perlakuan tersebut.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi cangkang kepiting rajungan pada bidang periodonsia

1.4.2 Menjadi pertimbangan dalam perawatan regenerasi tulang khususnya tulang alveolar sebagai bahan *bone graft*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 HISTOLOGI TULANG ALVEOLAR

Tulang alveolar merupakan jaringan ikat yang termineralisasi yang terdiri atas:

a. Matrik tulang

Matrik tulang ini terdiri dari komponen organik, non-organik dan air.⁽³³⁾

- Non organik

Kalsium dan fosfor ditemukan lebih banyak daripada bikarbonat, sitrat, magnesium, potassium, dan sodium. Bentuk mineralnya adalah hidroksiapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ berbentuk kristalit.

- Organik

90% komponen material organik tampak sebagai kolagen tipe 1. Substansi dasar mengandung proteoglikan dan sejumlah kecil protein lain seperti osteocalcin, osteonectin dan osteopontin.

Secara makroskopis tulang dibedakan menjadi dua macam yaitu tulang spongiosa (cancellous) dan tulang kompakta (cortical). Tulang spons terdiri dari lamella yang tersusun satu sama lain membentuk trabekula. Kanal nutrient dijumpai pada tulang spons. Kanal ini berisi pembuluh darah dan saraf. Tulang spons terdiri dari osteosit di interior dan osteoblas atau osteoklas di permukaan trabekula. Tulang kortikal menutupi tulang spons dan dibentuk oleh tulang berlamella. Tulang berlamella ini memiliki lacuna yang tersusun dalam lingkaran konsentrik disekeliling

kanal sentra yang disebut system havers. Pada septum interdental terdapat lubang kanal of Zukerkandl dan pada septum interradicular terdapat kanal of hirschfel tempat arteri interdental dan interradicular, vena, pembuluh getah bening dan saraf.⁽³³⁾

b. Sel tulang

Tulang dewasa dan yang sedang berkembang mengandung empat jenis sel berbeda: sel osteogenic (osteoprogenitor), osteoblas, osteosit dan osteoklas. Osteoprogenitor ialah sel-sel induk pluripotent yang belum berdiferensiasi, berasal dari jaringan ikat mesenkim. Sel ini biasanya ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, pada endosteum dan dalam saluran vascular dari tulang kompakta. Terdapat 4 jenis sel tulang yaitu:

- Osteoprogenitor

Terdapat dua jenis sel osteoprogenitor yaitu preosteoblas yang memiliki sedikit retikulum endoplasma dan akan menghasilkan osteoblas dan preosteoklas yang mengandung lebih banyak mitokondria dan ribosom bebas menghasilkan osteoklas.⁽³⁴⁾

- Osteosit

Osteosit ialah matriks tulang yang belum mengapur baru dibentuk dan tidak mengandung mineral. Secara mikroskopis osteosit tidak melekat langsung pada matriks sekitarnya, terpisah dari dinding

lacuna dan kanalikuli daerah amorf tipis. Daerah ini berfungsi sebagai medium pertukaran metabolit.⁽³⁵⁾

- Osteoklas

Osteoklas ialah sel multinuclear besar yang terdapat di sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, remodeling dan perbaikan tulang. Osteoklas ini sering terdapat di dalam sebuah lekuk dangkal pada tulang yang teresorpsi atau terkikis secara enzimatik yang disebut lacuna Howship. Osteoklas yang mula-mula berda di dalam tulang berasal dari precursor mirip monosit. Sel-sel ini terlibat mengeluarkan kolagenasi dan enzim proteolitik lain yang meyebabkan matriks tulang melepaskan bagian substansi dasar yang mengapur. Sesudah proses resorpsi rampung, osteoklas menghilang mungkin berdegenerasi menjadi sel asalnya.⁽³⁵⁾

- Osteoblas

Osteoblas merupakan sel-sel pemicu pembentukan tulang yang membuat tulang baru untuk mengisi lubang yang dibuat oleh osteoklas.⁽³⁵⁾ Osteoblas diturunkan dari prekursor yang dihasilkan dari sumsum tulang. Progenitor osteoblas ali tidak hanya dari progenitor di sumsum, akan tetapi juga bersumber dari sel perisit dan mesenkimal yang menempel pada lapisan endotel pembuluh darah. Osteoblas mempunyai rerata umur hidup sekitar 3 minggu. Osteoblas yang berdiferensiasi penuh memproduksi dan menyekresi protein untuk matriks tulang. Produk utama tulang bentukan osteoblas adalah

kolagen tipe 1. Proses ekstraseluler lebih jauh akan menutupi osteoid dan selapis sel osteoblas.⁽³⁶⁾

Osteoblas berasal dari jaringan mesenkim, merupakan sel utama dalam pembentukan tulang.⁽³⁷⁾ Osteoblas mensintesis dan mensekresikan matriks ekstraselular tulang termasuk kolagen tipe 1, osteokalsin, osteopontin, osteonektin, alkaline fosfatase, proteoglikan dan *growth factors*. Banyak faktor yang dapat memengaruhi perkembangan osteoblas dari sel progenitor mesenkimal pada ligament periodontal, antara lain *bone morphogenetic proteins* (BMPs), *transforming growth factor* (TGF- β I dan II), *insulin-like growth factor* (IGF-I dan II), *platelet-derived growth factor* (PDGF), dan *fibroblast growth factor* (FGF).⁽³⁸⁾

Osteoblas memiliki peran penting untuk deposisi matriks tulang dan untuk regulasi osteoklas, mononuklear dan berakhir dengan diferensiasi sel yang sangat spesifik. Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggung jawab terhadap proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensintesis kolagen tipe I serta melepaskan kalsium, magnesium, dan ion fosfat. Selama perkembangan dan maturasi, osteoblas mengekspresikan gen-gen yang spesifik. Osteoblas tidak pernah tampak atau berfungsi secara individual, tetapi selalu dalam kelompok sel kuboid di sepanjang permukaan sel. Osteoblas yang matang akan mensekresi osteoid, kolagen tipe I, faktor pertumbuhan, dan alkaline fosfatase.^(14,36)

Proses pembentukan osteoblas melalui tiga proses yaitu produksi (proliferasi), maturasi matriks osteoid, kemudian dilanjutkan dengan mineralisasi. Selama proliferasi beberapa protein matriks ekstraseluler (*procollagen I*, TGF β , dan fibronektin) dapat dideteksi. Fase maturasi matriks ditandai dengan adanya ekspresi *alkalin fosfatase* (ALP). Deposisi kalsium dapat divisualisasikan menggunakan metode pewarnaan.⁽³⁹⁾

Pembentukan osteoblas dapat berlangsung secara independent tanpa memerlukan interaksi dengan progenitor osteoklas. Sebaliknya, pembentukan osteoklas membutuhkan interaksi yang kompleks dengan progenitor osteoblas, dimana diferensiasi *colony formation unit granulosit-makrofag* menjadi osteoklas tidak dapat berlangsung tanpa adanya interaksi seluler komponen sel-sel stroma yang memproduksi osteoblas.⁽⁴⁰⁾

2.2 BONE GRAFT

Graft adalah suatu bagian jaringan yang diambil dari satu 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. *Bone graft* adalah pilihan yang banyak digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang periodontal. Dengan *bone graft* diharapkan ada perbaikan klinis pada tulang periodontal, hal ini lebih baik bila

dibandingkan dengan cara pembedahan biasa tanpa penambahan bahan graft. Tujuan dari *bone grafting* adalah mengurangi kedalaman poket periodontal, peningkatan pelekatan secara klinik, pengisian tulang di daerah defek dan regenerasi tulang baru, sementum dan ligamen periodontal.^(40,41)

Bone graft wajib bersifat biokompatibel, aman, memiliki karakteristik permukaan yang ideal, penanganan dan geometri yang sesuai dan sifat mekanis yang baik.⁽⁴³⁾ Bahan graft yang ideal harus memiliki sifat mekanis sebagai berikut:

1. Osteokonduksi

Osteokonduksi adalah efek fisik dari matriks graft yang membentuk scaffold yang membantu sel-sel luar untuk penetrasi bahan graft dan membentuk tulang baru. Sifat osteokonduksi dimana matriks bone graft membentuk rangka untuk membentuk tulang baru. Osteokonduksi memberikan dimensi dari scaffold untuk osteoblas, memfasilitasi vaskularisasi dan memberikan tempat migrasi dari sel-sel host dengan aktivitas osteogenic. Osteokonduksi memacu pertumbuhan tulang secara aposisi dari tulang sekitarnya.⁽⁴⁴⁾

2. Osteoinduksi

Osteoinduksi merangsang sel-sel osteoprogenitor untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas yang kemudian mulai pembentukan tulang baru. Mediator sel osteoinduktif adalah bone morphogenetic proteins (BMPs)⁽⁴⁵⁾. Material cangkok tulang yang osteokonduksi dan osteoinduksi tidak hanya berfungsi sebagai perancah untuk osteoblas

tapi juga akan memicu pembentukan osteoblas baru, secara teoritis mempromosikan integrasi graft yang lebih cepat. ^(43,44)

3. Osteogenesis

Osteogenesis adalah proses sel-sel pembentuk tulang yang berkontribusi untuk menjadi remodeling dan hanya bisa didapatkan dari autograft. Osteogenesis terjadi ketika osteoblas yang berasal dari bahan cangkok tulang baru Bersama pertumbuhan tulang yang dihasilkan melalui dua mekanisme lainnya.⁽⁴⁵⁾

Berdasarkan sumbernya bone graft terbagi atas 4 jenis yaitu autograft, allograft, xenograft dan alloplast. Pencangkokan tulang autologous (autogenous) melibatkan penggunaan tulang yang diperoleh dari individu yang sama yang menerima cangkokan. Tulang autogenous adalah yang paling disukai karena mengurangi resiko penolakan graft karena cangkok berasal dari tubuh pasien sendiri. Autograft ini kebanyakan diperoleh dari krista iliaka yang dianggap sebagai standar emas karena menyediakan perancah untuk pertumbuhan tulang, mengandung sel tulang hidup sebagai osteogenesis, dan mengandung faktor pertumbuhan yang merangsang osteoinduksi. Namun, karena unsur seluler tidak selalu bertahan hidup dari transplantasi, manfaat klinisnya tidak dijamin. Selain itu, kekurangan dari autograft adalah memperpanjang prosedur pembedahan yakni diperlukannya penambahan lokasi bedah yang pada dasarnya menambahkan lokasi potensial lain untuk komplikasi dan komplikasi pasca-operasi, jumlah graft mungkin tidak mencukupi, atau bentuknya tidak sesuai.⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁷⁾

Allograft diambil dari tulang orang lain yang disumbangkan sehingga dapat digunakan untuk orang yang hidup yang membutuhkannya, ini biasanya bersumber dari bank tulang. Xenograft berasal dari spesies lain selain manusia, seperti sapi. Xenograft biasanya hanya didistribusikan sebagai matriks kalsifikasi. Cangkok alloplasti dapat dibuat dari hidroksiapatit, mineral alami yang juga merupakan komponen mineral utama tulang, yang mungkin terbuat dari kaca bioaktif. Hidroksiapatit adalah bone graft sintetis, yang paling banyak digunakan sekarang di antara sintetis lainnya karena osteokonduksi, kekerasan dan penerimaannya oleh tulang.⁽⁴⁵⁾

Mekanisme Kerja Bone Graft

1. Fase Inflamasi

Proses pembentukan tulang baru diawali oleh fase inflamasi. Fase ini melibatkan trombosit dalam proses pembekuan darah dan sel polimorfonuklear (PMN), makrofag, serta limfosit. Sel-sel inflamasi akan memfagosit jaringan nekrotik dan melepaskan sitokin seperti interleukin 1 (IL-1) dan IL-6, tumor necrosis factor alpha (TNF-a) dan PGE2. Sitokin tersebut berfungsi untuk menarik sel progenitor yang dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas, sel endotelial, dan osteoklas. Infiltrasi sel-sel tersebut menimbulkan jaringan granulasi, menstimulasi angiogenesis serta migrasi sel-sel mesenkimal agar area yang mengalami fraktur atau luka mendapat suplai oksigen dan nutrisi

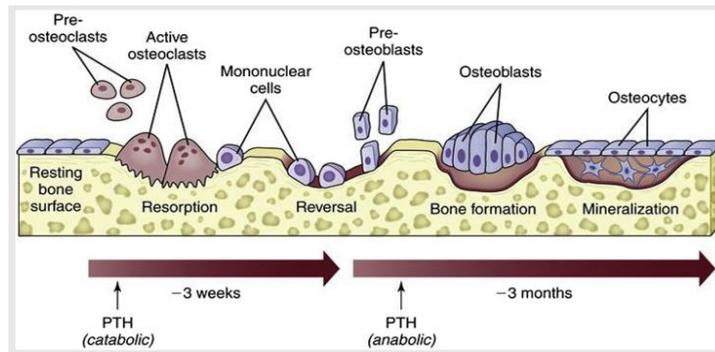
dengan baik. Fase inflamasi berlangsung antara minggu pertama sampai minggu ke-2.⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾

2. Fase Reparasi

Fase reparasi yang dimulai dalam beberapa hari setelah fraktur atau luka dan tumpang tindih dengan fase inflamasi. Pada fase ini, lingkungan lokal yang bersifat asam dan hipoksia selama fase inflamasi berangsur-angsur menjadi netral dan sedikit basa untuk memungkinkan mineralisasi tulang. Bone graft akan merangsang pertumbuhan tulang dengan cara menginduksi dan menjadi media bagi sel-sel punca dan osteoblas untuk melekat, hidup dan berkembang dengan baik di dalam defek tulang. Setelah itu, luka akan distabilisasi oleh kartilago (soft callus) yang nantinya akan menjadi tulang (hard callus). Fase ini berlangsung dalam hitungan beberapa bulan. Selama fase reparatif yaitu terjadi diferensiasi dari sel mesenkim pluripotensial menjadi fibroblast, chondroblast, dan osteoblas. Chondroblast dan fibroblast akan menginvasi daerah hematoma fraktur dan kemudian membawa matriks pada daerah luka. Pada minggu ke-4 hingga minggu ke-6 akan terbentuk soft callus yang tersusun dari jaringan fibrous dan kartilago. Sel osteoblas akan membantu proses mineralisasi soft callus dengan cara mensekresi matriks (kolagen tipe I) yang nantinya akan menjadi hard callus atau woven bone. Pada fase ini, tulang masih imatur dimana tulang masih lemah terhadap tekanan.⁽⁴⁸⁾

3. Fase Remodelling

Fase terakhir dalam proses pembentukan tulang baru adalah fase remodeling. Fase remodeling berfungsi untuk memperbaiki bentuk, struktur, serta sifat-sifat mekanis tulang dan berlangsung selama beberapa bulan sampai bertahun-tahun. Proses remodeling merupakan dua tahapan aktivitas seluler yang terjadi secara siklik yaitu resorpsi tulang lama oleh osteoklas dan formasi tulang baru oleh osteoblas.⁽⁴⁰⁾ Pada fase ini, aktifitas osteoblas dan osteoclast merubah tulang imatur menjadi matur, membentuk lamella menjadi lebih terorganisir agar woven bone yang susunannya tidak beraturan menjadi lebih beraturan dan menjadikan daerah fraktur menjadi lebih stabil.⁴ Osteoblas menghasilkan bone morphogenetic protein (BMP), antara lain BMP-2, BMP-7, dan perubahan faktor β dengan Insulin-Like Growth Factor, (IGF-I dan IGF-II), Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), Fibroblastic Growth Factors (FGF), TGF- β , interleukin I dan PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) dan osteoid yang sebagian terdiri dari kolagen tipe-I untuk proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi osteosit dan matriks tulang. Setelah itu, terjadi pembentukan medullary canal dan pembentukan permukaan tulang baru.⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾



Gambar 1. Skema remodeling tulang. Dimulai dengan apoptosis osteosit dan perekrutan pre-osteoklas yang dimediasi RANKL, diikuti oleh osteoklastogenesis. Osteoklas menyerap tulang (Fase resorpsi) sehingga memungkinkan pelepasan faktor dalam matriks tulang, yang merekrut osteoblas di daerah yang diserap kembali. Setelah direkrut, osteoblas menghasilkan matriks tulang baru, dan mendorong mineralisasi

(Sumber: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(19\)32475-6/pdf](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(19)32475-6/pdf))

2.3 KITOSAN

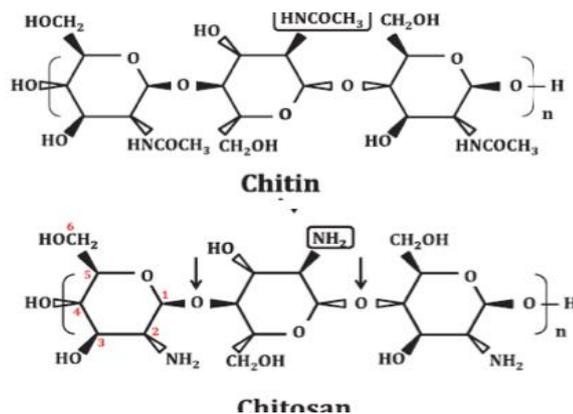
Kitosan pertama kali ditemukan oleh Rouget pada tahun 1985. Kitosan atau poly- β -1,4- glucosamine adalah biopolimer alami yang terdapat di alam setelah selulosa yang memiliki rantai linier dengan rumus struktur $(C_6H_{11}NO_4)_n$. Kitosan merupakan deasetilasi kitin yang diperoleh secara alami dan merupakan polisakarida yang bersifat biokompatibel dan banyak ditemukan pada eksoskeleton berbagai kelas invertebrata, termasuk krustasea. Krustasea adalah hewan yang termasuk ke dalam filum arthropoda atau hewan beruas-ruas. Krustasea memiliki eksoskeleton yang keras dan dari kitin yang berlendir. Beberapa hewan yang termasuk krustasea adalah lobster, udang, dan kepiting atau rajungan.⁽⁵⁰⁾

Kitin disintesis dengan cara menghilangkan dua komponen besar yaitu protein dan mineral. Penghilangan protein melalui deproteinasi, penghilangan mineral berupa kalsium karbonat melalui demineralisasi, selain itu juga

sejumlah kecil pigmen dihilangkan melalui dekolorisasi⁽⁵¹⁾ Dua metode sintesis yang telah dilakukan untuk menghasilkan kitin murni yaitu secara enzimatik dan kimiawi. Metode enzimatik menggunakan enzim dari bakteri sedangkan secara kimiawi dengan penambahan senyawa asam dan basa.⁽⁵²⁾

Deproteinisasi secara kimiawi yang telah dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia antara lain NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, NaHSO₃, CaHSO₃, Na₃PO₄ dan Na₂S. NaOH merupakan senyawa kimia yang paling banyak digunakan dengan rentang konsentrasi 0,125-5 M. Mineral dihilangkan dengan cara pengasaman menggunakan HCl. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO₂ berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan dengan cangkang terdeproteinasi.⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾ Kitin yang diperoleh dapat diubah menjadi kitosan dengan cara merubah gugus asetamida (-NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (-NH₂). Kemurnian kitosan sangat ditentukan oleh derajat deasetilasi, semakin banyak gugus asetil yang dapat dihilangkan maka semakin tinggi nilai derajat deasetilasinya.⁽⁵⁴⁾

Kitosan memberikan efek antiinflamasi dengan menghambat ekspresi protein prostaglandin E₂ dan siklooksigenase-2 dan melemahkan sitokin faktor nekrosis tumor proinflamasi- α dan interleukin-1 β , serta meningkatkan ekspresi sitokin antiinflamasi interleukin-10.⁽⁵⁵⁾



Gambar 2. Deasetilasi Kitin Menjadi Kitosan (Patihul,2019 Majalah Farmasetika, 5 (1) 2020, 32-38 DOI: <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v5i1.23804>)

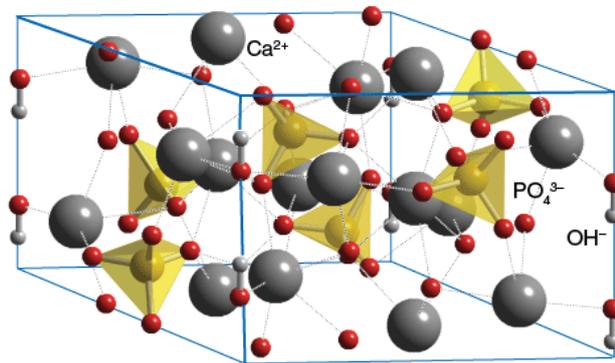
Gupta dkk melaporkan bahwa kitosan efektif dalam mempercepat penyembuhan luka dan osteogenesis awal pada soket pasca ekstraksi.⁽⁵⁶⁾ Kitosan juga berpotensi tinggi sebagai bahan perancah karena sifat biokompatibelnya, terdegradasi dengan pembentukan jaringan, tanpa reaksi inflamasi dan alergi, porositas yang memadai, dan produk degradasi yang rendah. Kitosan bersifat hidrofilik sehingga mendukung adhesi dan proliferasi sel.⁽⁵⁷⁾

Dalam beberapa penelitian *in vitro*, kitosan telah terbukti meningkatkan adhesi dan proliferasi sel osteogenik dan sel punca mesenkim. Gupta dkk yang menunjukkan bahwa penggunaan kitosan pada soket gigi menunjukkan peningkatan osteoblas dan kolagen yang signifikan, serta penurunan jumlah osteoklas sehingga dapat mendukung pembentukan tulang pada soket.⁽⁵⁶⁾

2.4 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) dengan formula kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ adalah satu keramik yang memiliki sifat biokompatibilitas yang bagus, karena secara

kimia dan fisika kandungan mineralnya sama dengan tulang dan gigi pada manusia.⁽¹⁵⁾ Hidroksiapatit adalah keramik bioaktif yang sudah luas penggunaannya dalam aplikasi medis antara lain untuk reparasi tulang yang mengalami kerusakan, pelapisan logam protesa (implan) untuk meningkatkan sifat biologi dan mekanik dan juga sebagai media penghantaran obat (drug delivery). Secara termodinamik hidroksiapatit sangat stabil pada pH, temperatur dan komposisi fisiologi fluida.⁽⁵⁸⁾



Gambar 2: struktur kristal hexagonal Hidroksiapatit. Sumber: <https://www.chemtube3d.com/sshydroxyapatite/>

Kristal hidroksiapatit mempunyai ukuran yang sama dengan kristal hidroksi apatit tulang, yaitu berkisar 20 – 50 nm. Hidroksiapatit memiliki struktur kristal heksagonal dengan dimensi selnya $a = b = 9,42 \text{ \AA}$ dan $c = 6,88 \text{ \AA}$ ($1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$). Secara stokiometri Ca/P hidroksiapatit memiliki ratio 1,67 dan secara kimia sama dengan mineral tulang manusia. Hidroksiapatit adalah komponen anorganik utama penyusun jaringan tulang. Adanya kesamaan struktur kimia dengan mineral jaringan tulang manusia, maka hidroksiapatit sintetik menunjukkan daya afinitasnya dengan baik yaitu dapat berikatan secara kimiawi dengan tulang.⁽⁵⁹⁾

HA merupakan material utama penyusun tulang dan gigi dan merupakan senyawa kalsium fosfat yang paling stabil. Rumus kimia HA adalah $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dengan rasio molar Ca/P sebesar 1,67. Kelebihan HA adalah berpori, bioaktif, biokompatibel, dan tidak korosif. Pembuatan HA dapat dilakukan menggunakan sumber-sumber kalsium sintetis dan alami. Sumber kalsium sintetis yang umumnya digunakan untuk sintesis HA adalah CaO , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCO_3 , dan CaCl_2 . Sumber kalsium alami yang digunakan untuk sintesis HA umumnya mempunyai kadar kalsium yang tinggi diantaranya, gypsum alam, tulang sapi, cangkang telur ayam ras dan ayam kampung, cangkang kerang rangga, dan cangkang kepiting. Sintesis HA dari bahan alami lebih baik karena bahan tersebut dapat meningkatkan sifat bioaktif dan biokompatibel.⁽¹⁸⁾

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

Tabel 1. Sintesis penelitian

No	Author, Tahun	Metode	Hasil
1	Shavandi A, 2016 ⁽³¹⁾	Penelitian kuantitatif dengan analisa Kruskall Wallis dan Mann whitney	Tes viabilitas sel dengan sel osteoblas menunjukkan bahwa bio-safon yang dihasilkan dari kitosan iradiasi tidak beracun, dan biokompatibel, yang berpotensi untuk aplikasi rekayasa jaringan tulang di bidang biomedis
2	Kamadjaja, 2019 ⁽³⁰⁾	Penelitian kuantitatif dengan Analisa Oneway	Bubuk graft hidroksiapatit dari <i>Portunus pelagicus</i> memiliki sifat biokompatibel pada kultur

		Anova and Post-hoc Tukey HSD	sel HGF (sel fibroblast gingiva manusia) dan pada konsentrasi terendah 25 ppm memiliki patibilitas biokom yang optimal dibandingkan dengan dua konsentrasi lainnya.
3	Dahlan A, 2020 ⁽⁶⁰⁾	Penelitian kuantitatif dengan analisa Kolmogrov Smirnov, Levene test, one way ANOVA, and Tukey HSD test.	Gel hidroksiapatit dari aplikasi cangkang kepiting (<i>Portunus pelagicus</i>) menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam kepadatan serat kolagen, Jumlah serat kolagen meningkat secara substansial hingga 28 hari setelah ekstraksi. sifat osteokonduktif dari hidroksiapatit cangkang kepiting mampu menginduksi dan merangsang sel punca dan osteoblas untuk berkembang biak dan membedakan proses pembentukan tulang atau regenerasi tulang yang baru.
4	Danielchenko, 2011 ⁽⁶¹⁾	Penelitian kuantitatif Histomorphologi studi.	Kitosan/hidroksiapatit berpori menunjukkan sifat osteokonduktif yang baik. Studi histomorfologi menunjukkan bahwa kitosan/hidroksiapatit berpori mengalami biodegradasi hampir sempurna. Aplikasi kitosan/hidroksiapatit membentuk jaringan tulang yang baru di dalam defek tulang tikus pada hari ke-24 implantasi. Penelitian ini menunjukkan kitosan/hidroksiapatit berpotensi sebagai bahan bonegraft dibidang ortopedi dan stomatologi.
5	Thien Han W.W, 2009 ⁽⁶²⁾	Penelitian kuantitatif dengan analisa one	Penelitian ini menjelaskan penilaian komparatif dari hubungan struktur dan proses

		way ANOVA	<p>dari kitosan-nHA tiga dimensi. Kitosan-nHA biodegradable tiga dimensi dicirikan oleh sifat mekanik, fisikokimia dan biologis yang unggul dibandingkan kitosan murni untuk rekayasa jaringan tulang. Respons biologis yang menguntungkan dari pra-osteoblas (MC 3T3-E1)) pada nanokomposit bertujuan peningkatan adhesi sel, proliferasi yang lebih tinggi dan morfologi yang menyebar dengan baik. Pada penelitian ini memperlihatkan bahwa kitosan-nHA merupakan material scaffold yang potensial untuk regenerasi tulang.</p>
6	Djais AI, 2022 ⁽⁶³⁾	Penelitian kuantitatif dengan analisa, one way ANOVA, and Tukey HSD test.	<p>Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan dari sisik bandeng menghambat produksi sitokin pro-inflamasi TNF- dan IL-6. Kitosan dari sisik bandeng meningkatkan dampak anti-inflamasi dengan menurunkan tingkat IL-6 awal, memperpendek proses peradangan, dan mempercepat tahap proliferasi dan remodeling.</p>
7	Gani A, 2022 ⁽³²⁾	Penelitian kuantitatif dengan Analisa Oneway Anova	<p>Terdapat perbedaan signifikan tingkat ekspresi IL-1 dan BMP2 antara kelompok kitosan/hidroksiapatit, kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke 7, 14, dan 21. Kelompok yang ditambahkan dengan kombinasi gel kitosan dan HA menunjukkan penurunan ekspresi IL-1 yang lebih cepat</p>

			dibandingkan kelompok kontrol. Ekspresi BMP-2 meningkat dalam kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sehingga kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit menghambat produksi sitokin proinflamasi dan meningkatkan produksi BMP-2.
8	Cornejo F.V, 2017 ⁽⁶⁴⁾	Penelitian kuantitatif dengan analisa uji Tes U-Mann Whitney	aplikasi CH/HAP menghasilkan pertumbuhan tulang alveolar rata-rat 5,77mm. Tingkat mobilitas gigi awalnya 2,44mm dan pada akhir penelitian menjadi 0,8mm dengan perbedaan yang signifikan. Kepadatan tulang didaerah yang terkena periodontitis mirip dengan kepadatan tulang yang berdekatan dengannya.

2.5 CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*)



Gambar 4: Cangkang kepiting rajungan. Sumber: [https://news.detik.com/berita-jawa-barat/d-3931295/menengoKontrol negatifnasib-pemburu-cangkang-rajungan-di-cirebon](https://news.detik.com/berita-jawa-barat/d-3931295/menengoKontrol%20negatifnasib-pemburu-cangkang-rajungan-di-cirebon)

Rajungan (*Portunus pelagicus*) Rajungan adalah salah satu anggota filum crustacea yang memiliki tubuh beruas-ruas. Dilihat dari sistematikanya menurut Gerdenia (2006), rajungan termasuk ke dalam:

Kelas : Crustasea
Sub Kelas : Malacostraca
Ordo : Decapoda
Sub Ordo : Reptantia
Famili : Portunidae
Genus : Portunus
Spesies : *Portunus pelagicus*

Kepiting rajungan mengandung protein yang penting untuk membangun dan memelihara otot. Kepiting mengandung asam lemak omega-3, vitamin B12, dan selenium tingkat tinggi. Nutrisi ini penting untuk meningkatkan kesehatan umum sambil membantu mencegah berbagai kondisi kronis. Dengan demikian, nutrisi yang terkandung dalam kepiting dapat membantu kesehatan manusia. Banyak nutrisi yang ditemukan dalam kepiting, termasuk vitamin B12 dan folat, membantu mengurangi risiko anemia defisiensi vitamin. Tingginya kadar asam lemak omega 3 dapat menurunkan resiko demensia dan penyakit Alzheimer. Kepiting punya banyak kandungan nutrisi yang sama dengan makanan laut lainnya. Namun lebih rendah kadar merkurnya dibanding dengan ikan marlin, ikan todak, kerapu, dan tuna.⁽⁶⁵⁾

Cangkang Rajungan merupakan bagian terkeras dari semua komponen rajungan dan selama ini baru dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau pupuk

organik mengingat kandungan mineral, terutama kandungan kalsiumnya cukup tinggi. Cangkang rajungan mengandung kitin, protein, CaCO_3 serta sedikit MgCO_3 dan pigmen astaxanthin. Secara umum cangkang kepiting mengandung protein (15,6%-23,9%), kalsium karbonat (53,7%-78,4%) dan kitin (18,7%-32,2%). Berdasarkan kandungan tersebut cangkang kepiting dapat diteliti dan dikembangkan manfaatnya dalam berbagai bidang.⁽⁶⁵⁾