

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN SERBUK KITOSAN
DAN KOMBINASI GEL KITOSAN DENGAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING
RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*) SEBAGAI
BONEGRAFT TERHADAP EKSPRESI BMP-2 PADA
TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION*
(*Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut Jantan*)**

TESIS



**Oleh
UMMI SALMIAH SARI
J035202003**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN SERBUK KITOSAN DAN
KOMBINASI GEL KITOSAN DENGAN
HIDROKSIAPATIT DARI CANGKANG KEPITING
RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*) SEBAGAI
BONEGRAFT TERHADAP EKSPRESI BMP-2 PADA
SOCKET PRESERVATION
(Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut 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:

UMMI SALMIAH SARI
J035202003

Pembimbing:

- 1 . DR. Ami Irawaty Djais, drg., Sp. Perio(K)
- 2 . Prof. Dr. Burhanuddin dg.Pasiga, drg., M.Kes

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI PERIODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2023

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN SERBUK KITOSAN DAN
KOMBINASI GEL KITOSAN DENGAN HIDROKSIAPATIT DARI
CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*)
SEBAGAI *BONEGRAFT* TERHADAP EKSPRESI BMP-2 PADA
SOCKET PRESERVATION
(*Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut Jantan*)**

OLEH:

**UMMI SALMIAH SARI
J035202003**

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

Makassar, 10 November 2023

Pembimbing 1

Pembimbing 2

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

Prof. Dr. Burhanuddin dg. Pasiga, drg., M.Kes
NIP. 19551214 198603 1 001

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

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN SERBUK KITOSAN DAN
KOMBINASI GEL KITOSAN DENGAN HIDROKSIAPATIT DARI
CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*)
SEBAGAI *BONEGRAFT* TERHADAP EKSPRESI BMP-2 PADA
SOCKET PRESERVATION
(Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut Jantan)**

OLEH:

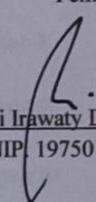
**UMMI SALMIAH SARI
J035202003**

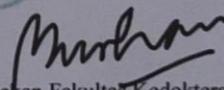
Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, 10 November 2023

Pembimbing 1

Pembimbing 2


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


Prof. Dr. Burhanuddin dg.Pasiga, drg., M.Kes
NIP. 19551214 198603 1 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Periodonsia FKG-UNHAS


Prof. Dr. Sri Oktawat, drg., Sp. Perio (K)
NIP. 19641003 199002 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



Irnan Susanto, drg., M.Med.Ed., Ph.D
NIP. 198110215 200801 1 009

TESIS

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN SERBUK KITOSAN DAN
KOMBINASI GEL KITOSAN DENGAN HIDROKSIAPATIT DARI
CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*)
SEBAGAI *BONEGRAFT* TERHADAP EKSPRESI BMP-2 PADA
SOCKET PRESERVATION
(*Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut Jantan*)**

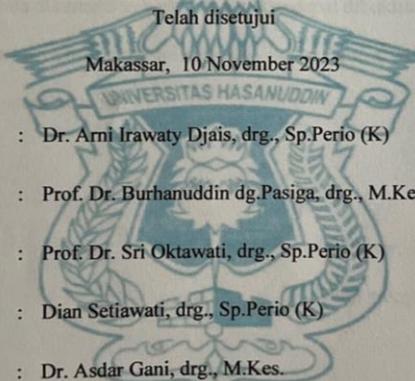
OLEH:

UMMI SALMIAH SARI

J035202003

Telah disetujui

Makassar, 10 November 2023

- 
1. Pembimbing I : Dr. Arni Irawaty Djais, drg., Sp.Perio (K)
2. Pembimbing II : Prof. Dr. Burhanuddin dg.Pasiga, drg., M.Kes
3. Penguji I : Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
4. Penguji II : Dian Setiawati, drg., Sp.Perio (K)
5. Penguji III : Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes.

[Handwritten signatures and initials]

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

[Signature]
Prof. Dr. Sri Oktawati, drg., Sp.Perio (K)
NIP. 19641003199002 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ummi Salmiah Sari

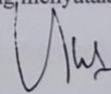
Stambuk : J035202003

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, 10 November 2023

Yang menyatakan



Ummi Salmiah Sari



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim. Dengan memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala berkah dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir pada waktunya yang berjudul **“Efektifitas Pemberian Serbuk Kitosan Dan Kombinasi Gel Kitosan Dengan Hidroksiapatit Dari Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*) Sebagai Bonegraft Terhadap Ekspresi Bmp-2 Pada Socket Preservation (Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut Jantan)”** sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam proses penelitian dan penulisan ini banyak mendapat bimbingan, arahan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis menyampaikan banyak terima kasih, penghargaan dan rasa hormat saya kepada bapak, ibu, dan kerabat yaitu:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.**, sebagai Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **Irfan Sugianto, drg. M.Med. Ed., Ph.D**, 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 I yang telah meluangkan waktu

untuk memberikan ilmu, bimbingan, dukungan serta arahan selama penulis menempuh pendidikan di PPDGS Periodonsia.

4. **Prof. Dr. A. Mardiana Adam, drg., M.S.**, 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 **Prof. Dr. Burhanuddin dg. Pasiga, drg., M.Kes.** sebagai pembimbing I dan II yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
6. **Dian Setiawati, drg., Sp.Perio (K)** dan **Dr. Asdar Gani, drg., M.Kes.** sebagai penguji II dan III yang telah banyak memberikan arahan, masukan dan koreksi dalam proses perbaikan tesis ini.
7. **Supiaty, drg., 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. Laboratorium Biokimia Politani Politeknik Negeri Pangkep, Laboratorium Terpadu Departemen Kimia Fak. MIPA UNHAS, Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Pendidikan Unhas dan Laboratorium Biokimia – Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu dalam proses penelitian.
9. Kepada drh. Sri sebagai tim dokter hewan yang telah membantu selesainya penelitian ini di Doc pet klinik hewan.

10. Saudara – saudariku, adik iparku, dan ponakan-ponakanku tersayang yang tidak dapat saya sebutkan namanya satu persatu, selalu memberikan doa dan semangat selamat menjalani pendidikan.
11. Teman seperjuangan dalam menyelesaikan penelitian ini, **drg. Aisyah Bella Azzanjani** dan **drg. Sulfadliana**, terimakasih atas pengertian, bantuan dan kesabarannya selama penelitian berlangsung.
12. Kepada teman-teman, saudara seperjuanganku **NEMESIX** selama kurang lebih 3 tahun baik dalam suka dan duka , Bundaku **Aisyah Bella Azzanjani (Abel)** , kakakku **Rachmawati Dian Puspita Sari (K’Ai)**, Mommyku **Patrisia Seroja Ningrum) K’Oja)**, Mamahku kakak **Sulfadliana (nanna)**, ade’ bungsuku **Laetitita Evangeline Ana Tukan (Jelin)** yang selalu membantu, mendukung, dan memberi semangat selama menempuh pendidikan Bersama-sama.
13. Kepada senior Titu, Sigma, SO7 dan adek adek junior Dextra, Venom, Phoenix, Falcon, Vision yang telah memberi dukungan dan semangat selama menempuh pendidikan.
14. Kak **Bia, Mirna**, dan semua staf pegawai di RSGM Kande Unhas dan FKG Unhas 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.

Pada saat yang berbahagia ini, saya ingin menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua yang sangat saya sayangi dan cintai **Ayahku H.Basri Selle** dan **Ibuku Hj. Ommiha**, untuk semua cinta, kasih sayang,

pengorbanan dan doa demi kesehatan, keselamatan, kelancaran, dan kesuksesan selama saya menjalani Pendidikan ini, Ayah mertua **Ahmad Pandu** dan ibu mertua **Hj. Aisyah** atas segala doa dan dukungannya, dan juga kepada **Suamiku** tercinta **Rahmat Ahmad, Spd, MPd** dan **Ke 2 anakku** yang tersayang **Qindi Warasalama Rahmat dan Qois Waldansumange Rahmat**, terima kasih atas dukungan dan pengertiaannya selama Ibu menempuh pendidikan.

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

Makassar, 10 November 2023

Ummi Salmiah Sari

**EFEKTIFITAS PEMBERIAN SERBUK KITOSAN DAN
KOMBINASI GEL KITOSAN DENGAN HIDROKSIAPATIT DARI
CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*Portunus Pelagicus*)
SEBAGAI BONE GRAFT TERHADAP EKSPRESI BMP-2 PADA
TINDAKAN *SOCKET PRESERVATION*
(*Studi in vivo pada soket pencabutan gigi marmut Jantan*)**

Abstrak

Pendahuluan : Pencabutan gigi merupakan perawatan yang paling terakhir diterapkan pada kerusakan gigi yang parah yang menyebabkan defek tulang sehingga menyebabkan resorpsi tulang alveolar dan jaringan lunak disekitarnya. Resorpsi tulang alveolar setelah pencabutan gigi dapat dicegah dengan metode yang disebut *socket preservation* dengan menggunakan bahan graft. Bone graft merupakan salah satu bahan kedokteran gigi yang mampu meregenerasi tulang karena sifatnya yang osteokonduksi, osteoinduksi dan osteogenesis. Penggunaan bahan alam saat ini berkembang pesat di bidang kedokteran gigi untuk menjadi *bonegraft*. Jumlah kandungan kalsium karbonat yang tinggi pada cangkang kepiting menjadi potensi penggunaan limbah cangkang kepiting dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kitosan dan hidroksiapatit yang bisa dimanfaatkan sebagai pengganti tulang. Kitosan memiliki sifat biokompatibel serta memiliki kemampuan osteointegrasi dan osteokonduktif yang tinggi untuk merangsang pembentukan osteoblast dan menurunkan aktifitas osteoklas sehingga cocok digunakan sebagai regenerasi tulang sebagai alternatif bone graft apabila terjadi kerusakan pada tulang alveolar pasca pencabutan gigi. Hidroksiapatit memiliki struktur kristal yang identic dengan tulang, Sifat hidroksiapatit yang biokompatibel, bioaktif, dan osteokonduktif, sehingga sering dimanfaatkan untuk regenerasi jaringan keras. **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 36 ekor marmut jantan dilakukan pencabutan gigi insisivus mandibula , dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok perlakuan soket diisi menggunakan Gel kitosan + Hidroksiapatit, dan Serbuk kitosan, kelompok kontrol positif, diberi HA Batan, dan kelompok kontrol negatif gel placebo. Pada hari ke 7,14 dan 21 dilakukan sacrificed untuk pengambilang jaringan rahang mandibula marmot yang sudah dipotong dan pemeriksaan imunohistokimia untuk mengetahui ekspresi BMP-2. Analisis data dilakukan dengan uji Shapiro wilk, ANOVA dan uji Post hoc LSD. **Hasil dan diskusi:** pada hari ke 7, 14 dan 21 terjadi peningkatan ekspresi BMP-2. **Kesimpulan:** serbuk kitosan maupun kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) terbukti efektif meningkatkan ekspresi BMP-2 pada tindakan *socket preservation*, dan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada peningkatan ekspresi BMP-2 antar kelompok perlakuan serbuk kitosan dan kelompok kontrol positif pada semua hari pemeriksaan. **Kata kunci:** *Socket preservation*, hidroksiapatit, kitosan, BMP-2, *Portunus pelagicus*

**EFFECTIVENESS OF ADMINISTRATION OF CHITOSAN POWDER AND COMBINATION OF CHITOSAN GEL WITH HYDROXYAPATITE FROM CRAB (*Portunus Pelagicus*) SHELLS AS BONE GRAFT ON BMP-2 EXPRESSION IN SOCKET PRESERVATION ACTION
(In vivo study on male guinea pig tooth extraction sockets)**

Abstract

Introduction: Tooth extraction is the last treatment applied to severe tooth decay that causes bone defects, causing resorption of the alveolar bone and surrounding soft tissue. Alveolar bone resorption after tooth extraction can be prevented by a method called socket preservation using graft material. Bone graft is a dental material that is capable of regenerating bone because of its osteoconduction, osteoinduction and osteogenesis properties. The use of natural materials is currently growing rapidly in the field of dentistry to make bone grafts. The high amount of calcium carbonate content in crab shells means that crab shell waste can be used as a basic material for making chitosan and hydroxyapatite which can be used as a bone substitute. Chitosan has biocompatible properties and has high osteointegration and osteoconductive capabilities to stimulate osteoblast formation and reduce osteoclast activity, making it suitable for use as bone regeneration as an alternative to bone graft if damage occurs to the alveolar bone after tooth extraction. Hydroxyapatite has a crystal structure that is identical to bone. The properties of hydroxyapatite are biocompatible, bioactive and osteoconductive, so it is often used for hard tissue regeneration. **Materials and methods:** Chitosan from crab shell waste is made through demineralization, deproteinase and deacetylation processes. Hydroxyapatite from crab shell waste by reacting with calcium and phosphate precursors. A total of 36 male guinea pigs had their mandibular incisors removed, divided into four groups, namely the socket treatment group filled using Chitosan + Hydroxyapatite Gel, and Chitosan Powder, the positive control group, given Batan HA, and the negative control group with placebo gel. On days 7, 14 and 21, sacrifice was carried out to remove the excised guinea pig mandible tissue and immunohistochemical examination to determine BMP-2 expression. Data analysis was carried out using the Shapiro Wilk test, Levene test and ANOVA. **Results and discussion:** on days 7, 14 and 21 there was an increase in BMP-2 expression. On days 7 and 14 there were significant differences between the four groups. **Conclusion:** chitosan powder or a combination of chitosan gel and hydroxyapatite from the shells of small crabs (*Portunus pelagicus*) were proven to be effective in increasing BMP-2 expression in socket preservation procedures, and there was no significant difference in increasing BMP-2 expression between the chitosan powder treatment group and the positive control group in all inspection days
Key words: Socket preservation, hydroxyapatite, chitosan, BMP-2, *Portunus pelagicus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS AKHIR.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I.....	15
PENDAHULUAN.....	18
I.1 Latar Belakang.....	18
I.2 Rumusan Masalah.....	24
I.3.1 Tujuan Umum.....	24
I.3.2 Tujuan Khusus.....	24
I.4 Manfaat Penelitian.....	25
BAB II.....	26
TINJAUAN PUSTAKA.....	26
II.1 Tulang Alveolar.....	26
II.2 Pencabutan gigi.....	27
II.3 <i>Socket Preservation</i>	33
II.4 <i>Bone Graft</i>	34
II.5 BMP-2.....	36
II.6 Kitosan.....	39
II.7 Cangkang Kepiting Rajungan (<i>PORTUNUS PELAGICUS</i>).....	49
BAB III.....	52
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	52
III. Kerangka Teori.....	52
III. 2 Kerangka Konsep.....	53

III.3 Hipotesis.....	55
BAB IV	56
METODE PENELITIAN	56
IV.1 Rancangan Penelitian.....	56
IV.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	56
IV.1.2 Waktu penelitian	56
IV.3 Subjek Penelitian.....	57
IV.3.2 Jumlah sampel.....	57
IV.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	58
IV.4.2 Definisi Operasional	59
IV.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	60
IV.5.2 Bahan penelitian.....	60
IV.6 Prosedur Penelitian	61
IV.6.2 Persiapan Sediaan	62
IV.6.3 Pelaksanaan Penelitian.....	66
IV.7 Analisa Data.....	685
IV.8 Etika Penelitian	695
IV.9 Alur Penelitian	55
BAB V.....	56
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	56
V.1 Uji Kandungan Bahan	56
V.1.1 Uji FTIR.....	56
V.1.2 Uji XRD.....	57
V.2 Hasil Pemeriksaan BMP-2 dan Uji Statistik	58
V.2.1 Pembahasan.....	66
BAB VI	73
KESIMPULAN DAN SARAN.....	73
VI.1 Kesimpulan	73
VI.2 Saran	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN.....	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase Penyembuhan luka.....	14
Gambar 2. Fase Remodeling tulang.....	19
Gambar 3. Gambaran Deaselitisasi kitin.....	29
Gambar 4. Kepiting rajungan.....	36
Gambar 5. Cangkang kepiting rajungan.....	36
Gambar 6. Spektrum infra merah kitosan Portunus pelagicus dan Spektrum infra.....	57
merah kitosan standar	
Gambar 7. Derajat Kristalisasi X-Ray Diffraction.....	59
Gambar 8. Diagram batang dan diagram garis ekspresi BMP-2.....	64
Gambar 9. Hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHC) BMP2 pembesaran 400.....	66
Gambar 10. Hasil pemeriksaan imunohistokimia (IHC) BMP2 pembesaran 1000.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tabel sintesa penelitian.....	30
Tabel 2 . Perbandingan serapan FTIR kitosan standar dan kitosan sampel.....	58
Tabel 3. Hasil uji t rerata ekspresi BMP-2.....	59
Tabel 4. Hasil Uji one way ANOVA perbandingan rerata ekspresi BMP-2	60
Tabel 5. Hasil uji Post Hoc LSD Perbedaan rerata ekspresi BMP-2	61

DAFTAR SINGKATAN

BMPs	:	Bone Morphogenic Proteins
BMP2	:	Bone Morphogenic Proteins 2
IGF	:	Insulin Growth Factor
TGF- β	:	Transforming Growth Factor
FGF	:	Fibroblas Growth Factor
EGF	:	Epidermal Growth Factor
WNTs	:	Wingless And Int-1
CaCO ₃	:	Calcium Carbonat
CaO	:	Calcium Oxide
WSM	:	Water Soluble Matrix
β -TCP	:	β -tricalcium phosphate
ALP	:	Alkaline Phosphatase
BSP	:	Bone Sialoprotein
OC	:	Osteocalcin
CEJ	:	Cemento Enamel Junction
AC	:	Alveolar Crest
RGD	:	Arg-Gly-Asp.
PDGF	:	Platelet-Derived Growth Factor
AAC	:	Amorphous Calcium Carbonat
MSC	:	Mesenchymal Stem Cells
M-CSF	:	Macrophage colony-stimulating factor
RANKL	:	Receptor activator of NFkB ligand
RANK	:	Receptor activator of NFkB
OPG	:	Osteoprotegerin
TNF α	:	Tumor Necrosis Factor α
IL-1:	:	Interleukin 1
IL-6	:	Interleukin 6
HA	:	Hidroksiapatit
C	:	Citosan
GTR	:	Guided Tissue Regeneration
GBR	:	Guided Bone Regeneration
DFDDM	:	Demineralization Freeze Dried Dentin Matrix
CaCO ₃	:	Kalsium Karbonat
PPM	:	Part Per Million
FTIR	:	Fourier Transform Infra Red
XRD	:	X-Ray Difraction

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 oleh Kementerian Kesehatan Indonesia masalah kesehatan gigi dan mulut mencatat proporsi masalah sebesar 57,6%. Di Indonesia penyakit periodontal menduduki urutan ke dua setelah karies gigi, penyakit utama yang masih merupakan masalah di masyarakat $\pm 70\%$ dan sebesar 4-5 % penduduk menderita penyakit periodontal lanjut yang menyebabkan kegoyangan dan kehilangan gigi.¹ Penyakit periodontal merupakan salah satu penyebab utama kehilangan gigi yang dapat mengurangi fungsi pengunyahan, estetika, kepercayaan diri, dan kualitas hidup.²

Pencabutan gigi merupakan perawatan yang paling terakhir diterapkan pada kerusakan gigi yang parah yang menyebabkan defek tulang sehingga menyebabkan resorpsi tulang alveolar dan jaringan lunak disekitarnya.³ Setelah pencabutan gigi soket alveolar mengalami penyusutan dimensi ridge pada proses penyembuhan soket.⁴ Young-Kyun Kim et al, pada penelitiannya menjelaskan dalam 1 tahun setelah ekstraksi, rata-rata 50% dari lebar ridge berkurang. Jumlah rata-rata kehilangan tulang alveolar adalah antara 5-7 mm, dan 2/3 dari kehilangan tulang ini terjadi dalam 3 bulan pertama dan menunjukkan pola yang sama di semua area rongga mulut.⁵ Beberapa studi menunjukkan bahwa selama tiga bulan setelah pencabutan gigi, dua pertiga jaringan keras dan lunak mengalami resorpsi. Sebagian besar kehilangan tulang terjadi dalam enam bulan pertama

setelah pencabutan gigi dan kemungkinan kecepatan resorpsi meningkat rata-rata 0,5-1% setiap tahun dan diperkirakan kehilangan lebar tulang alveolar hingga 50% dalam 12 bulan setelah ekstraksi.⁶ Resorpsi tulang alveolar setelah pencabutan gigi dapat dicegah dengan metode yang disebut *socket preservation*.³

Socket preservation merupakan prosedur pada soket gigi dengan memasukkan bahan graft yang bertujuan mencegah resorpsi tulang alveolar, mempertahankan volume tulang dan struktur tulang sehingga dapat berfungsi optimal dan memiliki estetik yang baik.⁷ *Bone graft* dapat membantu regenerasi tulang melalui tiga metode yaitu osteoinduktif, osteokonduktif, dan osteogenesis.⁴

Berbagai macam bahan *bonegraft* dapat digunakan dalam penatalaksanaan *socket preservation*. Penggunaan bahan alam saat ini berkembang pesat di bidang kedokteran gigi untuk menjadi *bonegraft*. Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai bahan *bone graft* adalah kitosan dan hidroksiapatit.⁸ 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.^{9,10} Sebagai upaya untuk meningkatkan sifat

biokompatibel hidroksiapatit, beberapa penelitian menggunakan kitosan dan hidroksiapatit dengan tujuan mengimbangi sifat mekanis hidroksiapatit yang lemah dan meningkatkan bioaktivitas serta perlekatan biomaterial pada tulang.¹¹⁻¹³

Kitosan adalah polisakarida alami turunan N-deasetilasi kitin dan polisakarida semikristalin yang terdiri dari unit glukosamin dan N-asetil glukosamin dalam ikatan β -(1-4)-asetamida-2-deoksi-D-glukopiranol. Sumber utama kitosan adalah kitin yang dapat berasal dari dinding sel jamur, eksoskeleton krustasea, dan serangga.^{14,15} Kitin dapat diubah menjadi kitosan melalui proses deasetilasi menggunakan basa kuat.⁸ Kitosan memiliki sifat biokompatibel serta memiliki kemampuan osteointegrasi dan osteokonduktif yang tinggi untuk merangsang pembentukan osteoblast dan menurunkan aktifitas osteoklas sehingga cocok digunakan sebagai regenerasi tulang sebagai alternatif bone graft apabila terjadi kerusakan pada tulang alveolar pasca pencabutan gigi.¹⁶

Penelitian tentang kitosan dan hidroksiapatit telah banyak dilakukan dalam bidang biomedis, bedah, dan regenerasi jaringan karena sifat biokompabilitas, biodegradasi, dan adhesinya dengan mukosa.

Pada penelitian yang dilakukan Shavandi, dkk (2016) yang mengkombinasikan kitosan dan hidroksiapatit dengan ukuran pori scaffold berkisar antara 90-220 μ m dan memiliki porositas 70–80% menunjukkan kombinasi ini 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*.¹⁷

Cornejo F.V (2017) dalam penelitiannya, aplikasi CH/HAP menghasilkan pertumbuhan tulang alveolar rata-rata 5,77mm. Tingkat mobilitas gigi awalnya 2,44mm dan pada akhir penelitian menjadi 0,8mm dengan perbedaan yang signifikan. Kepadatan tulang di daerah yang terkena periodontitis mirip dengan kepadatan tulang yang berdekatan dengannya.¹⁸ 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.¹⁹

Indonesia memiliki kawasan perairan yang sangat luas dan merupakan salah satu negara pengekspor komoditas rajungan. Komoditas rajungan tersebut diekspor dalam bentuk beku, dimana bagian kepala dan cangkang dipisahkan yang pada akhirnya menyisakan limbah cangkang yang berpotensi mencemarkan lingkungan.²⁰ Kepiting rajungan adalah komoditas ekspor unggulan hasil perikanan. Bagi masyarakat Sulawesi Selatan, rasanya tak asing dengan kepiting rajungan. Ini karena hewan yang memiliki nama latin *portunus pelagicus* ini telah menjadi makanan populer dan bernilai ekonomis penting serta menjadi komoditas ekspor Indonesia. 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%.²⁰ Meningkatnya permintaan ekspor berdampak pada volume rajungan yang terus naik. Peningkatan produksi akan diikuti dengan peningkatan jumlah limbah yang dihasilkan. 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.²¹

Pemanfaatan limbah cangkang rajungan merupakan solusi dalam menanggulangi masalah pencemaran lingkungan dan memberikan nilai tambah bagi limbah cangkang rajungan tersebut. Limbah cangkang rajungan masih mengandung senyawa kimia cukup banyak diantaranya mengandung protein (15,60% - 23,90%), kalsium karbonat (53,70% - 78,40%) dan kitin (18,70% - 32,20%) (Focher, dkk., 1992). Jumlah kandungan kalsium karbonat yang tinggi pada cangkang kepiting menjadi potensi penggunaan limbah cangkang kepiting dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kitosan dan hidroksiapatit yang bisa dimanfaatkan sebagai pengganti tulang.²² Pada penelitian ini, digunakan cangkang kepiting rajungan dikarenakan ada dua bahan yang diekstrak pada cangkang tersebut yaitu kitosan dan hidroksiapatit.

Pada regenerasi tulang, proses *remodelling* 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 IGF (Insulin Growth Factor) -I dan II, TGF- β (Transforming Growth Factor- β), BMP (Bone Morphogenetic Factor), PDGF (Platelet Derivative Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), EGF (Endothelial Growth Factor), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), GM-CSF (Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor), M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor), dan TNF (Tumor Necrotizing Factor).²³

Bone morphogenetic protein (BMP) adalah bagian dari *superfamily* transforming growth factor- β yang merupakan asam polipeptida multifungsional yang sebagian besar disintesis dan disekresikan oleh osteoblas. Saat ini terdapat lebih dari 20 sub tipe BMP telah diidentifikasi, diantaranya BMP-2 yang merupakan 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.²³ Keberadaan BMP-2 merupakan salah satu tanda terjadinya proses osteokonduksi pada regenerasi tulang.

Berdasarkan uraian di atas, dalam penelitian ini digunakan ekstrak

kitosan dan hidroksiapatit dari bahan yang sama yaitu dari limbah cangkang kepiting rajungan. maka penulis tertarik untuk meneliti efektivitas pemberian serbuk kitosan dan gel kitosan ditambahkan hidroksiapatit *bonegraft* dari bahan limbah cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) pada tindakan *Socket Preservation* terhadap ekspresi BMP-2.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian serbuk kitosan dan kombinasi gel kitosan dengan hidroksiapatit dari cangkang kepiting rajungan (*portunus pelagicus*) sebagai *bonegraft* pada tindakan *socket preservation* dapat meningkatkan ekspresi BMP-2 ?

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Untuk melihat efektivitas pemberian serbuk kitosan dan kombinasi gel kitosan dengan hidroksiapatit dari limbah cangkang kepiting rajungan (*portunus pelagicus*) terhadap ekspresi BMP-2 pada tindakan *socket preservation*

I.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk melihat ekspresi BMP-2 setelah pemberian serbuk kitosan dan kombinasi gel kitosan dengan hidroksiapatit dari

limbah cangkang kepiting rajungan (*portunus pelagicus*) sebagai *bone graft* pada hari ke 7, 14 dan 21.

2. Untuk melihat apakah terdapat perbedaan ekspresi BMP-2 pada keempat kelompok perlakuan tersebut.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat pengembangan ilmu

1. Menambah pengetahuan ilmiah tentang potensi limbah cangkang kepiting rajungan (*portunus pelagicus*) pada bidang periodonsia.
2. Menjadi bahan alternatif dalam terapi regenerasi jaringan periodontal sebagai bahan cangkok tulang.

Manfaat Praktis

1. Diharapkan penelitian ini bisa memberikan kontribusi dengan ditemukannya produk *xenograft* alternatif yang berasal dari bahan alami seperti limbah cangkang kepiting rajungan (*portunus pelagicus*) yang dapat digunakan secara klinis pada pasien di bidang kedokteran gigi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tulang Alveolar

Tulang alveolar adalah bagian dari mandibula dan maksila yang menyangga gigi sehingga membentuk prosesus alveolaris. Tulang alveolar terdiri dari 23% jaringan mineralisasi (bahan inorganic) dan 37% adalah matriks organik yang terutama terdiri dari kolagen dan 40% adalah air. Bagian inorganic terdiri dari kristal hidroksiapatit (utama), kalsium phosphorus, hidroksil, sitrat, karbonat dan *traces of sodium, magnesium, fluoride*. Prosesus alveolaris terbagi menjadi dua yaitu tulang alveolar sebenarnya (*Alveolar Proper Bone*) dan tulang pendukung (*Alveolar Supporting Bone*). Tulang alveolar fungsinya adalah membentuk dan mendukung soket gigi (*alveoli*). Tulang alveolar terbentuk ketika gigi erupsi dengan tujuan memberikan tempat perlekatan sementum pada *periodontal ligament*. Tulang alveolar menghilang secara bertahap setelah ekstraksi gigi.²⁴ Kehilangan tulang alveolar dihubungkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah pencabutan gigi yang dapat mengakibatkan deformitas tulang, termasuk penurunan tinggi dan lebar dari *ridge*.^{25,26}

Tulang alveolar dengan cepat mengalami resorpsi residual *ridge* setelah pencabutan gigi. Oleh karena itu untuk mengatasi hal tersebut dilakukan socket preservation setelah pencabutan gigi untuk memaksimalkan pembentukan tulang di dalam soket. Hal ini biasanya dilakukan segera setelah pencabutan gigi atau ditunda selama beberapa waktu dari 6-8 minggu karena beberapa alasan seperti adanya infeksi akut.

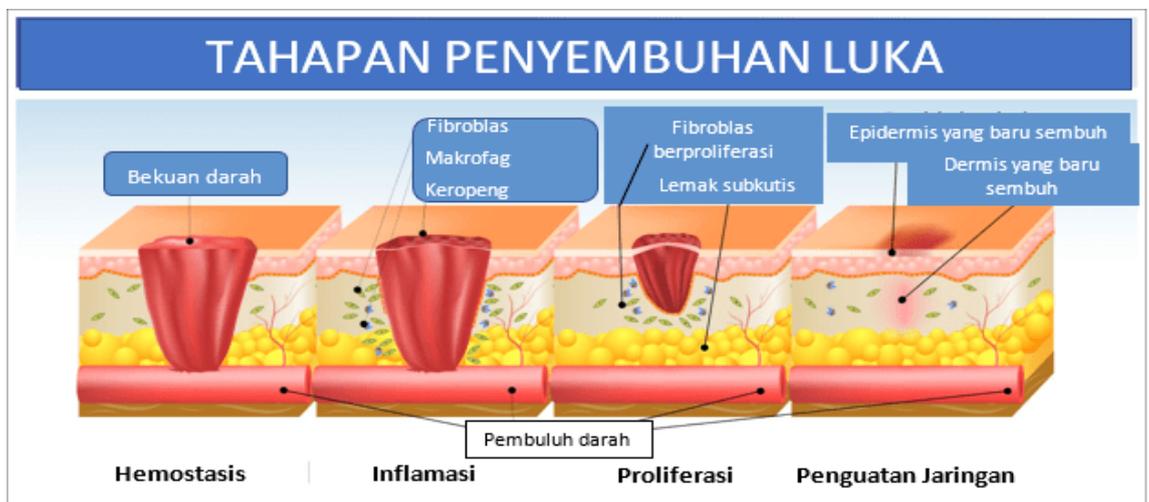
Sebuah studi baru-baru ini melaporkan bahwa setelah 6-8 minggu setelah pencabutan gigi, alveolar ridge mengalami perubahan dimensi yang minimal.²⁶

II.2 Pencabutan gigi

Pencabutan gigi adalah prosedur umum yang dilakukan oleh dokter gigi. Pencabutan gigi berarti mencabut gigi dari tulang alveolar yang akan menyebabkan luka pada jaringan keras (tulang alveolar) dan lunak (gingiva dan jaringan periodontal).²⁷ Akibat dari pencabutan gigi adalah rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah disekitar gigi sehingga dapat memicu terjadinya inflamasi, epitelisasi, fibroplasia, dan remodelling, sehingga menyebabkan volume tulang tidak memadai untuk persiapan penempatan protesa diposisi yang benar serta dapat mengganggu estetik. Oleh karena itu, beberapa tahun terakhir disarankan untuk mengisi soket bekas pencabutan gigi dengan bahan biomaterial dan melakukan rekonstruksi tulang segera setelah pencabutan gigi.^{28,29}

Pencabutan gigi adalah praktik umum dalam kedokteran gigi. Prosedur ini dapat menyebabkan trauma minimal dengan meninggalkan luka pada soket gigi. Proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi memiliki prinsip yang sama dengan penyembuhan luka pada umumnya.³⁰ 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 yang 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).^{31,32} 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.^{32,33}



Gambar 1. Fase penyembuhan luka soket gigi yang diawali dengan hemostasis dan berakhir dengan remodeling tulang. *Sumber:* <https://www.biodermis.com/what-are-the-stages-of-wound-healing-s/221.html>

A. Fase Hemostasis (Pembekuan darah)

Fase Hemostasi terjadi segera setelah luka terbentuk, trombosit akan menempel pada luka dan menjadi aktif, melepaskan sinyal kimiawi untuk meningkatkan pembekuan darah dan mengaktifasi fibrin. Pada beberapa detik atau menit pertama, darah akan menggumpal dan membeku. Pembekuan darah ini menjadi hasil akhir dari proses rumit yang melibatkan banyak sekali

senyawa dalam darah dan keping darah (trombosit). Trombosit saling mengikat satu sama lain dan bekuan di pembuluh darah akan mengontrol perdarahan. Fase ini juga dikenal sebagai fase koagulasi. Aktivasi trombosit selama hemostasis melepaskan sejumlah sitokin (misalnya kemokin dan interleukin) dan faktor pertumbuhan (misalnya *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *transforming growth factor- β* (TGF- β), *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan faktor individu seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF), dan *connective tissue growth factor* (CTGF) yang mampu memodulasi proses seluler selanjutnya (migrasi sel, proliferasi, dan diferensiasi) yang penting untuk mendorong angiogenesis dan regenerasi tulang.³²⁻³⁵

B. Fase Inflamasi (Peradangan)

Fase inflamasi dimulai dari terbentuknya luka 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- α , TGF- β , interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), proteinase (enzim kolagenase), matriks metaloproteinase (MMPs) dan prostaglandin-E2 (PGE2) yang mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa, menstimulasi pergerakan, diferensiasi dan proliferasi sel untuk pemulihan jaringan yang rusak.^{31,36}

C. Fase Proliferasi (Pembentukan jaringan baru)

Dalam fase proliferasi, terbentuk lapisan epitel yang menutupi luka. Pada fase proliferasi dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu fibroplasia dan pembentukan *woven bone*, dan ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi yaitu jaringan yang kaya akan pembuluh darah (berwarna pink hingga merah) dan tepian luka akan terlihat tertarik ke tengah. 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- β 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.^{32,37,38}

D. Fase Modeling dan Remodeling Tulang (Pematangan)

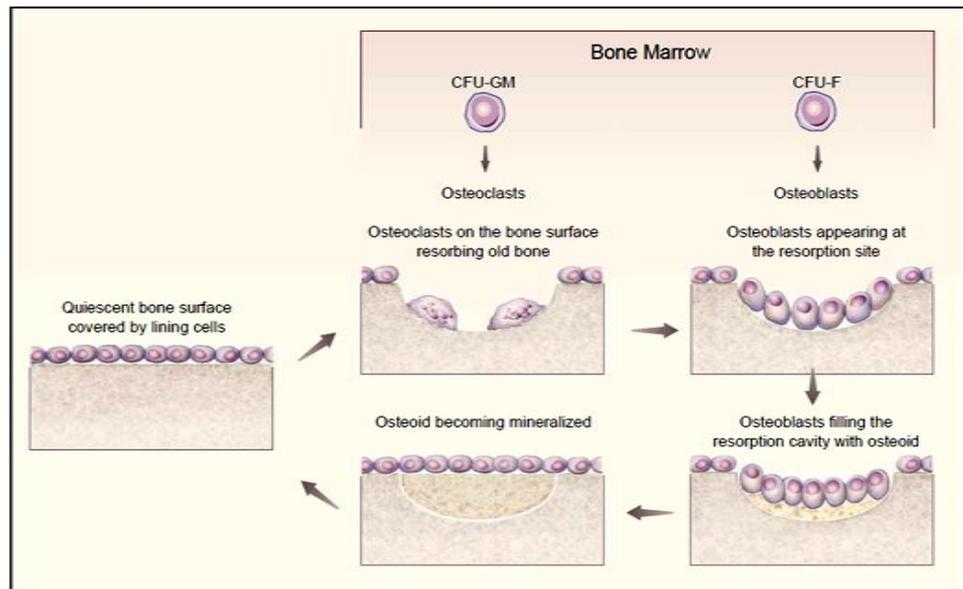
Pada fase ini, luka mengalami tahap akhir penyembuhan. Modeling tulang didefinisikan sebagai perubahan bentuk dan arsitektur tulang, sedangkan remodeling tulang didefinisikan sebagai perubahan tanpa disertai perubahan bentuk dan arsitektur tulang.³¹ Fase ini juga biasa disebut sebagai fase maturase/ fase pematangan dan terjadi pada hari ke-21 hingga 1 tahun. Sel utama yang berperan penting pada fase ini adalah osteoblas dan osteoklas.³¹ 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.^{31,32}

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).^{39,40} 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.³²

Proses remodeling merupakan dua tahapan aktivitas seluler yang terjadi secara siklik, yakni resorpsi tulang lama oleh osteoklas dan formasi tulang baru oleh osteoblas. Pertama-tama, osteoklas akan melakukan resorpsi melalui proses asidifikasi dan digesti proteolitik. Segera setelah osteoklas meninggalkan daerah resorpsi, osteoblas menginvasi area tersebut dan memulai proses formasi

dengan cara mensekresi osteoid (matriks kolagen dan protein lain) yang kemudian mengalami mineralisasi (Gambar 2).⁴¹



Gambar 2. Skema proses remodeling tulang. Dalam siklus ini, aktivitas yang konstan dalam diferensiasi osteoblas dan osteoklas dari sel-sel progenitornya merupakan tahap esensial dalam menjaga keseimbangan antara resorpsi tulang lama dan formasi tulang baru. Sumber: Epstein, 1995. Available from: URL: <http://content.nejm.org/cgi/reprint/332/5/305.pdf>

II.3 Socket Preservation

Socket preservation merupakan prosedur pada soket gigi dengan memasukkan bahan graft yang bertujuan mencegah resorpsi tulang alveolar, mempertahankan volume tulang dan struktur tulang sehingga dapat berfungsi optimal dan memiliki estetik yang baik. Bahan graft yang dapat digunakan dalam *Socket Preservation* harus memiliki sifat osteokonduktif, osteoinduktif, dan osteogenesis.⁷

Socket preservation berupaya mencegah terjadinya resorpsi tulang dengan memasukkan bahan bone graft ke dalam soket segera setelah proses pencabutan gigi. Dengan prosedur ini, gusi ditarik kembali, gigi dicabut,

kemudian bahan bone graft ditempatkan di dalam soket gigi, setelah itu ditutup dengan membran penghalang, dan dijahit. Kira-kira 30 hari setelah prosedur *socket preservation*, membran penghalang bisa diangkat, atau menyerap ke dalam tubuh, dan terbentuklah selubung tulang dengan gingiva baru.⁴²

Ada beberapa bahan yang bisa digunakan untuk bahan socket preservation yaitu autograft, allograft, xenograft, dan alloplastic graft.^{5,6}

II.4 Bone Graft

Bone graft atau cangkok tulang disebut sebagai gold standart terapi tulang. Dikenal dengan istilah *bone graft* atau bahan cangkok tulang 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.⁴²

Kriteria penting yang harus dipenuhi oleh bone graft adalah dapat diterima tubuh atau biocompatible dan menguntungkan pada proses osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis tulang.⁴³

1. Osteogenik, yaitu suatu proses pembentukan tulang baru yang mengandung sel progenitor pada *scaffold bone graft* sehingga dapat mendeposisi matriks tulang yang baru.

2. Osteoinduktif, yaitu proses peningkatan pembentukan tulang dengan pengumpulan *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) dari jaringan host dan dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas dewasa untuk pembentukan tulang.
3. Osteokonduktif, yaitu suatu tahap ketika bahan *bone graft* berperan sebagai *scaffold* dan dapat memfasilitasi pertumbuhan jaringan secara tiga dimensi.⁴⁴

Karakteristik ideal lainnya dari bahan *bone graft* adalah non-toksik, non-antigenik, resisten terhadap infeksi, tidak menyebabkan resorpsi akar atau ankilosis, kuat dan kaku, mudah didapatkan, keterlibatan prosedur bedah yang minimal, menstimulasi perlekatan baru yang dapat memicu osteogenesis, sementogenesis serta pembentukan ligamen periodontal yang fungsional.⁴⁵

Berdasarkan sumbernya, *bone graft* terbagi atas 4 jenis, yaitu *autograft*, *allograft*, *xenograft*, dan *alloplast*:

1. Autograft

Autograft merupakan bahan yang diambil dari bagian anatomi dan ditransplantasikan ke bagian lain dalam orang 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.⁴⁶

2. Allograft

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

3. Xenograft

Xenograft merupakan jenis bone graft yang berasal dari spesies lain selain manusia seperti sapi dan digunakan sebagai matriks terkalsifikasi.

4. Alloplastic grafts

Jenis graft ini dibuat dari hidroksiapatit, mineral alami (komponen mineral utama tulang). Hidroksiapatit adalah *bone graft* sintesis yang paling banyak digunakan karena sifat osteokonduksi, kekerasan dan penerimaannya oleh tubuh.⁴⁸

II.5 BMP-2

Kehadiran rekayasa jaringan selama bertahun-tahun ini telah dilihat sebagai alternatif yang menjanjikan untuk standar perawatan saat ini dan berpotensi menghindari banyaknya keterbatasan dari bahan 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 molekul yang rumit termasuk *Bone Morphogenetic Protein (BMP)*.⁴⁹

Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) adalah sekelompok molekul pensinyalan yang termasuk dalam superfamili protein Transforming Growth Factor- β (TGF- β). Awalnya ditemukan karena kemampuannya menginduksi pembentukan tulang, BMP sekarang diketahui memainkan peran penting dalam semua sistem organ.⁵⁰

Proses osteoinduktif tulang dan demineralisasi graft matriks tulang juga berkaitan dengan BMP. Oleh karena itu BMP dapat digunakan dalam merekonstruksi jaringan tulang karena mampu mendorong migrasi, proliferasi dan diferensiasi mesenchymal stem sel menjadi osteoblast sehingga pembentukan tulang terjadi. Beberapa penelitian menemukan bahwa morfogenik protein berhasil merekonstruksi defek rahang dan defek yang luas pada wajah.^{51,52} Pada tulang, BMPs 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.⁵³

BMP-2 dianggap sebagai pengatur positif terpenting dari proliferasi dan diferensiasi kondrosit selama pembentukan tulang endokondral, sedangkan BMP 12 bertindak sebagai pengatur negatif kondrogenesis.⁵⁴ BMP juga berperan dalam proses pemodelan dan remodeling tulang. BMP bersama dengan factor pertumbuhan lainnya diproduksi dalam matriks tulang pembentuk dan dimasukkan ke dalam matriks tulang, yang berfungsi sebagai reservoir. Selama remodeling tulang, BMP yang tergabung dalam matriks tulang dibebaskan oleh lingkungan asam yang diciptakan oleh osteoklas dan mempengaruhi resorpsi tulang yang ada dan deposisi tulang baru.⁵⁵

Bowers dkk menjelaskan penggunaan BMP pertama kalinya yang berhasil untuk regenerasi periodontal. Mereka melaporkan tentang protein induktif tulang, osteogenin, yang diisolasi dari tulang panjang manusia dan menyarankan bahwa osteogenin yang dikombinasikan dengan matriks yang diisolasi dari tulang dapat menjanjikan sebagai bahan graft tulang. Faktor mirip amelogenin dan faktor pertumbuhan dan BMP menunjukkan efek pleotrofik pada stimulasi beberapa peristiwa penting yang diperlukan untuk regenerasi jaringan, termasuk sintesis DNA, kemotaksis, diferensiasi, dan sintesis matriks.⁵⁶ Beberapa tes telah dilakukan, menunjukkan keefektifan BMP-2 untuk mengoreksi defek intra-tulang, supra-alveolar, furkasi, dan fenestrasi.^{54,57}

Analisis ekspresi anggota TGF- β 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.⁵⁸

II.6 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit adalah suatu mineral kalsium fosfat keramik yang terdiri atas kalsium (Ca) dan fosfat (P) dan biasanya berasal dari rangka sejenis binatang karang, yang organiknya telah didekomposisi sehingga yang tertinggal hanya kalsium karbonatnya, dan bahan inilah yang akan di ubah menjadi hidroksiapatit. Sumber hidroksiapatit Sebagian besar terkandung dari tulang pada vertebrata yang telah tumbuh dewasa dan memiliki susunan molekul teratur (kristal) dan menempati fibril-fibril kolagen.⁵⁹ 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.¹⁸

Hidroksiapatit (HA) adalah bahan alloplastik yang umum digunakan sebagai pengganti cangkok tulang/bone graft karena memiliki sifat bioaktif yaitu *osteoconduction*. Keuntungan menggunakan HA sebagai bioceramic atau biomaterial dibandingkan dengan bioceramics lainnya adalah kemiripannya dengan komponen anorganik tulang dan gigi. Hidroksiapatit secara kimiawi adalah $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ tetapi sering

ditulis sebagai $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. HA sangat biokompatibel dan tidak menimbulkan respon inflamasi.⁴² Struktur kristal hidroksiapatit dapat berupa monoklinik atau heksagonal. Struktur hidroksiapatit monoklinik diperoleh hanya pada kondisi murni dengan komposisi stoikiometrik, dengan rasio Ca/P adalah 1.67. Struktur heksagonal umumnya diperoleh dari sintesis hidroksiapatit yang tidak stoikiometrik. Semakin rendah nilai rasio molar Ca/P maka semakin bersifat asam dan makin mudah larut senyawa kalsium ortofosfat tersebut.⁶⁰

Mikroarsitektur hidroksiapatit yang berporous dapat mempercepat proses vaskularisasi, membentuk ikatan yang kuat antar tulang yang merupakan faktor penting dalam proses osteointegrasi dan menjadi media perlekatan untuk mesenchymal stem cell dan osteoblast untuk hidup dan berproliferasi dengan baik di dalam tulang yang rusak sehingga dapat meningkatkan proses regenerasi tulang.

Meskipun hidroksiapatit memiliki sifat bioaktif dan osteokonduktif yang menguntungkan dalam menghasilkan pembentukan tulang yang cepat di tubuh inang/host dan fiksasi yang kuat secara biologis ke dalam jaringan tulang, namun ternyata HA memiliki kekuatan mekanik yang rendah dan mudah rapuh yang merupakan kekurangan HA sehingga untuk penerapannya di area bantalan beban tidak dianjurkan.⁴²

II.7 Kitosan

Kitosan merupakan senyawa yang didapatkan dari proses

deasetilasi kitin, yang umumnya banyak terdapat pada eksoskeleton artropoda seperti pada famili krustasea yaitu kepiting, rajungan, udang dan lobster. Selain pada famili krustasea, kitin juga terdapat pada jenis hewan lain yaitu famili moluska yang merupakan alternatif sumber kitosan yang cukup melimpah terutama di Indonesia. Beberapa fungsi kitosan dapat ditemukan dalam aplikasi biomedis, seperti biokompatibel, biodegradabel, dan sisa degradasinya tidak menghasilkan reaksi inflamasi atau produk degradasi toksik (produk penguraiannya tidak beracun, nonkarsinogenik, dan nonimunogenik).

30

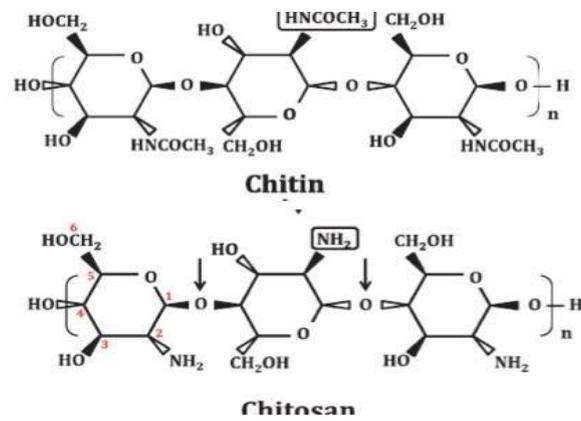
Kitin sebagai sumber kitosan, merupakan polisakarida yang paling melimpah secara alami setelah selulosa. Kitosan dapat diperoleh dengan metode ekstraksi kimia termasuk deproteinisasi, demineralisasi, dan deasetilasi kitin. Kitosan memiliki komposisi karbon (40,30%), nitrogen (6,35%), dan hidrogen (5,83%), dan tidak beracun, dapat terurai secara hayati, biokompatibel, antibakteri, bioaktivitas dan dapat digunakan dalam berbagai bentuk larutan, gel, serbuk, pasta, campuran, spons, membran, tablet, dan butiran mikro tergantung pada aplikasi.^{30,61} Dengan kandungan CaCO_3 yang besar, cangkang kepiting dapat digunakan sebagai prekursor CaO pada sintesis hidroksiapatit. CaO dapat diperoleh dengan mengkalsinasi kalsium karbonat yang terdapat dalam kandungan limbah cangkang kepiting. Proses kalsinasi merupakan proses penguraian atau dekomposisi senyawa kalsium karbonat (CaCO_3) menjadi senyawa

kalsium oksida (CaO) melalui pemanasan pada suhu tinggi (Watkinson, 2007). Adapun reaksi kimia pada proses kalsinasi yaitu : $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2$ ²¹.

Kitin disintesis dengan menghilangkan dua komponen utama yaitu protein dan mineral. Penghilangan protein melalui deproteinasi, penghilangan mineral berupa kalsium karbonat melalui demineralisasi, selain itu juga sejumlah kecil pigmen dihilangkan melalui dekolorisasi. 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.^{62,63}

Deproteinasi secara kimiawi yang telah dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia antara lain NaOH, Na_2CO_3 , NaHCO_3 , KOH, K_2CO_3 , Ca(OH)_2 , Na_2SO_3 , NaHSO_3 , CaHSO_3 , Na_3PO_4 dan Na_2S . 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 CO_2 berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan dengan cangkang terdeproteinasi. Kitin yang diperoleh dapat diubah menjadi kitosan dengan cara merubah gugusasetamida ($-\text{NHCOCH}_3$) pada kitin menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$). Kemurnian kitosan sangat ditentukan oleh derajat deasetilasi, semakin banyak gugus asetil yang dapat dihilangkan maka

semakin tinggi nilai derajat deasetilasinya.⁶²



Gambar 3. Deasetilasi Kitin Menjadi Kitosan (Patihul,2019
Majalah Farmasetika, 5(1) 2020, 32-38 DOI:
<https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v5i1.23804>)

Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengenai kitosan dan hidroksiapatit sebagai sumber

Tabel 1. Sintesis penelitian

No	Judul dan Publikasi	Penulis	Tahun	Tujuan	Metode Dan Parameter Klinis	Hasil
1	Characterization and in vivo evaluation of chitosan-hydroxyapatite bone scaffolds made by one step coprecipitation method	Danielchenko. ⁶⁴	2011	Penelitian ini menunjukkan kitosan/hidroksiapatit berpotensi sebagai bahan bonegraft dibidang ortopedi dan stomatologi.	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.
2	Bio-scaffolds produced from irradiated squid pen and crab chitosan and hydroxyapatite for bone-tissue engineering .	Shavandi, et.al ¹⁶	2016	Penelitian ini mengembangkan bio-scaffold menggunakan kitosan dan hidroksiapatit dari cangkang kepiting. Untuk regenerasi jaringan tulang	Scaffold disiapkan pada dua suhu pembekuan yang berbeda (-20 C dan -80C) diikuti oleh liofilisasi. XRD, SEM, TEM,	Hasil ini menunjukkan bahwa sifat fisik dan biologis kombinasi kitosan dan hidroksiapatit memiliki sifat osteokonduksi, osteoinduksi, dan osteogenesis, sehingga dapat menjadi biomaterial yang menjanjikan untuk regenerasi jaringan tulang.

					dan CT: ukuran pori scaffold berkisar antara 90 hingga 220 m dan memiliki porositas 70-80%.	
3	Evaluation of osteogenic properties after application of hydroxyapatite-based shells of <i>Portunus pelagicus</i> .	Dahlan A, et.al ⁶⁵	2020	Penelitian ini bertujuan untuk melihat peningkatan jumlah serat kolagen bila menggunakan gel hidroksiapatit dari aplikasi cangkang kepiting (<i>Portunus pelagicus</i>)	Penelitian kuantitatif dengan analisis 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	Pilot Study Using a Chitosan-Hydroxyapatite Implant for Guided Alveolar Bone Growth in Patients with Chronic Periodontitis	Cornejo F.V ¹⁷	2017.	aplikasi CH/HAP menghasilkan pertumbuhan tulang alveolar rata-rata 5,77mm.	Penelitian kuantitatif dengan analisa uji Tes U-Mann Whitney	aplikasi CH/HAP menghasilkan pertumbuhan tulang alveolar rata-rata 5,77mm. Tingkat mobilitas gigi awalnya 2,44mm dan padaakhir penelitian menjadi 0,8mm dengan perbedaan yang signifikan. Kepadatan tulang didaerah yang terkena periodontitis mirip dengan kepadatan tulang yang berdekatan dengannya.
5	South Sulawesi Milkfish (Chanos Chanos) Scale Waste as a New Anti-inflammatory Material in Socket Preservation	Djais AI, ⁶⁶	2022	menghambat produksi sitokin proinflamasi TNF dan IL-6	Penelitian kuantitatif dengan analisa, one way ANOVA, and Tukey HSD test.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan dari sisik bandeng menghambat produksisitokin 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.

6	Effectiveness of Combination of Chitosan Gel and Hydroxyapatite from Crabs Shells (<i>Portunus pelagicus</i>) waste as Bonegraft on Periodontal network Regeneration	Gani, Asdar et al ⁶⁷	2022 60	menurunkan IL-1, suatu sitokin pro-inflamasi, sehingga senyawa ini dapat mencegah inflamasi dan meningkatkan BMP-2.	Uji statistik dilanjutkan dengan uji ANOVA dan uji Post Hoc LSD	Penelitian ini menemukan bahwa penambahan kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit pada defek femur tikus wistar dapat menurunkan IL-1, suatu sitokin pro-inflamasi, sehingga senyawa ini dapat mencegah inflamasi dan meningkatkan BMP-2.
7	Efektivitas kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (<i>Chanos chanos</i>) dengan hidroksiapatit <i>xenograft bovine</i> terhadap ekspresi BMP-2 pada prosedur <i>socket preservation</i>	Shinta Rahma ⁶⁸	2022	Ekspresi BMP-2 antara sembilan kelompok dan pengolahan data menggunakan uji ANOVA yang memperlihatkan nilai yang signifikan	Melihat ekspresi BMP-2	Kombinasi kitosan sisik ikan bandeng (<i>chanos chanos</i>) dengan hidroksiapatit dapat meningkatkan ekspresi BMP-2 pada tindakan <i>socket preservation</i> . Kombinasi sisik ikan bandeng dan <i>bonegraft</i> dapat meningkatkan ekspresi BMP-2 lebih banyak bila dibandingkan dengan gel plasebo pada daerah soket pencabutan gigi <i>Cavia Cobaya</i> .

8	Pengaruh Aplikasi Kombinasi Gel Kitosan Dan Hidroksiapatit Dari Cangkang Kepiting Rajungan (Portunus Pelagicus) Terhadap Jumlah Osteoblas	Machirah ⁶⁹	2022	uji ANOVA yang menunjukkan jumlah osteoblas pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Jumlah osteoblas tertinggi berada pada kelompok perlakuan	Melihat jumlah osteoblas	Berdasarkan hasil penelitian bahwa kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit cangkang kepiting rajungan (Portunus pelagicus) meningkatkan pertumbuhan sel-sel osteoblas dalam regenerasi jaringan.
---	---	------------------------	------	---	--------------------------	---

II.8 CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*PORTUNUS PELAGICUS*)

Rajungan adalah nama sekelompok kepiting dari beberapa marga anggota suku Portunidae. Jenis-jenis kepiting ini dapat berenang dan sepenuhnya hidup di laut. Kepiting rajungan (*Portunus Pelagicus*) merupakan salah satu produk perikanan di Indonesia yang memiliki nilai ekspor cukup tinggi. Di samping dagingnya yang lezat, kulit atau cangkang rajungan pun dapat diekspor dalam bentuk kering sebagai sumber kitin, kitosan dan karotenoid yang dimanfaatkan oleh berbagai industri sebagai bahan baku obat, kosmetika, pangan, dan lain-lain, gambar 4 . Berdasarkan kandungan cangkang kepiting, cangkang kulit kepiting mengandung protein (15,60% - 23,90%), kalsium karbonat (53,70% - 78,40%) dan kitin (18,70% - 32,20%) (Focher, dkk., 1992).^{18,70}

Pemanfaatan limbah cangkang rajungan dapat mengurangi potensi cemaran lingkungan dan dapat membuat nilai tambah bagi limbah cangkang rajungan tersebut. Limbah cangkang rajungan masih mengandung senyawa kimia cukup banyak, diantaranya protein 30-40%, mineral (CaCO_3) 30-50%, dan kitin 20-30%. Cangkang rajungan mengandung kitin yang berpotensi untuk dikembangkan, dimana kitin tersebut dapat diolah kembali menjadi kitosan. Kitin merupakan polimer berantai lurus tersusun atas residu N-asetil glukosamina melalui ikatan β -(1, 4). Kitin dapat diubah menjadi kitosan melalui proses deasetilasi menggunakan basa kuat.⁸ Jumlah kandungan kalsium karbonat yang tinggi pada cangkang kepiting menjadi potensi penggunaan limbah

cangkang kepiting dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kitosan dan hidroksiapatit yang bisa dimanfaatkan sebagai pengganti tulang.²²



Gambar 4: kepiting rajungan *Sumber*
<https://www.dictio.id/t/apa-yang-anda-ketahui-tentang-rajungan-atau-swimming-crabs/74214>



Gambar 5: Cangkang kepiting rajungan. *Sumber:*
<https://news.detik.com/berita-jawa-barat/d-3931295/menengok-nasib-pemburu-cangkang-rajungan>

