

**MODIFIKASI *PERIODONTAL DRESSING* DENGAN
PENAMBAHAN KITOSAN LIMBAH KEPALA UDANG
PUTIH (*Litopenaeus vannamei*) DALAM MEMPERCEPAT
PENYEMBUHAN LUKA. TINJAUAN SECARA HISTOLOGIS**



SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran gigi

OLEH

DEWIAYU SITI HARTINAH SYAMSIR DEWANG

J11114039

BAGIAN PERIODONSI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2017



LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Modifikasi *Periodontal Dressing* dengan Penambahan Kitosan Limbah Kepala Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka. Tinjauan secara Histologis.

Oleh : Dewiayu Siti Hartinah Syamsir Dewang

Telah Diperiksa dan Disahkan

Pada Tanggal 10 Mei 2017

Oleh :

Pembimbing



Dr. drg. Asdar Gani, M.Kes

NIP. 19661229 199702 1 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin



Dr. drg. Baharuddin Thalib, M.Kes., Sp. Pros

NIP. 19640814 199103 2 001



SURAT PERNYATAAN

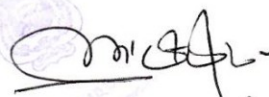
Dengan ini menyatakan mahasiswa yang tercantum dibawah ini :

Nama : Dewi Ayu Siti Hartinah Syamsir Dewang
NIM : J111 14 039
Judul : **“Modifikasi Periodontal Dressing dengan Penambahan
Kitosan Limbah Kepala Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*)
dalam Mempercepat Penyembuhan Luka. Tinjauan secara
Histologis”**

Menyatakan bahwa judul skripsi yang diajukan adalah judul yang baru dan tidak terdapat di Perpustakaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Makassar, 10 Mei 2017

Kordinator Perpustakaan FKG Unhas,



Amiruddin, S.Sos.
196611211992011003



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa karena hanya dengan berkat, kekuatan, kasih dan rahmat-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“Modifikasi *Periodontal Dressing* dengan Penambahan Kitosan Limbah Kepala Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka. Tinjauan secara Histologis”**. Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Selain itu skripsi ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan peneliti lainnya untuk menambah pengetahuan dalam bidang periodonsi.

Dalam penulisan skripsi ini terdapat banyak hambatan yang penulis hadapi, namun berkat dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga akhirnya, penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Orangtua penulis **Prof. Dr. Syamsir Dewang M. Eng. Sc** dan **Irna Nuryanti,SE** yang tiada hentinya membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini. Rasa terima kasih dan penghargaan yang terdalam dari lubuk hati, penulis berikan kepada mereka semua yang senantiasa telah memberikan bimbingan, dukungan dalam bentuk dana, didikan, nasihat, perhatian, semangat, motivasi dan cinta kasih yang tak ada habis-habisnya. Tak ada kata atau kalimat yang mampu mengespresikan rasa terima kasih ini.



2. **Dr. drg Baharuddin Thalib, M.Kes Sp.Pros**, selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **Dr. drg. Asdar Gani, M.Kes** selaku pembimbing skripsi dan pembimbing *Tanoto Student Research Award 2016* yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih atas bantuannya dari awal sampai akhir penulisan skripsi ini.
4. **Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa M.Si** selaku pembimbing *Tanoto Student Research Award 2016* yang telah banyak membantu dalam proses penelitian TSRA 2016.
5. **Dr. drg. Asmawati Amin M.Si** Selaku penasehat akademik yang senantiasa memberi dukungan, motivasi dan arahan kepada penulis dari awal masuk di FKG sampai akhir semester masa perkuliahan preklinik.
6. **Tanoto Foundation**, selaku pemberi dana hibah penelitian pada ajang *Tanoto Student Research Award 2016* dimana penulis gunakan sebagai skripsi, serta **Pak Molla** selaku dewan juri yang banyak memberikan masukan pada penelitian ini.
7. Seluruh teman tim *Tanoto Student Research Award 2016*, **Kak Emilia Utomo, Yunita Feby Ramadhany, Paramita Koriston, Ika Dwiylita**, serta **kak Fikha Dwisari** selaku mentor setia pendamping seluruh karya ilmiah penulis. Terimakasih banyak atas segala jeri payah dan usaha keras yang dilakukan selama 5 bulan pada penelitian tanoto sehingga penelitian ini

apat terlaksana dengan baik, hingga masuk 3 besar mewakili UNHAS di tingkat nasional.



8. **Dr. Wayan, Dr.Faisal, Dr. Zulfikar Djafar, Pak Edy Soekandarsi** atas bantuannya selama proses penelitian ini. Khususnya **Prof Dr. Randanan Bandaso, M.Sc, DFM, SpPA(K), SpF, Sp And** yang telah membantu pengamatan histologis pada penelitian ini.
9. Teman teman seperjuangan **Maya Masyita, Indah Ramadhani, Hani Afdaliah, Anita Amaliyah, Nabila Intania, dan kak Ikka** karena telah membantu banyak dalam penelitian ini, masukan kritik dan saran serta motivasi.
10. Segenap keluarga besar **Intrusi 2014**, khususnya kelompok 3 dan geng seperjuangan bagian periodonsi sejak maba hingga kuliah masa preklinik berakhir yang selalu mendukung dan memberi bantuan tiada habisnya.
11. Kepada semua pihak baik yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis dalam penulisan skripsi ini yang namanya tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis berharap kiranya Tuhan berkenan membalas segala kebaikan dari segala pihak yang telah bersedia membantu penulis. Akhirnya dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan agar kiranya tulisan ini dapat menjadi salah satu bahan pembelajaran dan peningkatan kualitas pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi ke depannya, juga dalam usaha peningkatan perbaikan kualitas kesehatan Gigi dan Mulut masyarakat. Aamiin

Makassar, 4 Mei 2017

Penulis



Modifikasi *Periodontal Dressing* dengan Penambahan Kitosan Limbah Kepala Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) dalam Mempercepat Penyembuhan Luka.

Tinjauan secara Histologis

Dewiyu Siti Hartinah Syamsir Dewang¹, Asdar Gani²

¹Mahasiswa Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

²Dosen Bagian Periodonsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit mulut kedua terbanyak di Indonesia adalah penyakit periodontal dengan prevalensi 96,58%. Salah satu bagian perawatan periodontal adalah bedah periodontal dengan pengaplikasian *periodontal dressing* sebagai perlindungan mekanis pasca bedah. Umumnya *periodontal dressing* hanya membantu penyembuhan dengan melindungi jaringan dan tidak memiliki sifat penyembuhan luka secara kuratif. Kitosan merupakan amino-polisakarida alami yang berpotensi tinggi dalam menyembuhkan luka, salah satunya terkandung dalam limbah eksoskeleton udang. Modifikasi *periodontal dressing* dengan kitosan dapat menjadi inovasi baru dalam mempercepat penyembuhan luka. **Tujuan:** (1) Membuat modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) (2) Mengetahui peningkatan PMN dan Fibroblast pada luka pasca bedah tikus putih (*Rattus norvegicus*). **Metode:** Penelitian ini adalah *experimental laboratories*, dengan rancangan *the post test only control group design*. Subjek penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih yang akan dibagi menjadi kelompok eksperimen dengan penambahan kitosan dan kontrol tanpa kitosan. Dilakukan insisi pada punggung, kemudian dibuat preparat jaringan, fibroblast serta PMN diamati dengan mikroskop. Penelitian ini menggunakan uji friedman, kruskall wallis dan mann whitney. **Hasil:** Pada pengamatan skor PMN dan Fibroblast kelompok eksperimen mengalami kenaikan yang signifikan ($P=0,030$) dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P=0,061$ untuk PMN dan $P=0,368$ untuk Fibroblast). Terjadi perbedaan yang bermakna antara kelompok eksperimen dan kelompok kontrol pada hari ke 3 ($P=0,040$) pada pengamatan skor PMN, dan terjadi perbedaan pada hari ke 7 ($P=0,046$) pada pengamatan skor Fibroblast. **Kesimpulan:** Modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan dari limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dapat meningkatkan penyembuhan luka, yaitu dengan pengamatan skor PMN dan skor Fibroblast pada luka pasca bedah tikus putih (*Rattus norvegicus*).



Kata Kunci : Kitosan, *Litopenaeus vannamei*, *periodontal dressing*, PMN, dan

Modification of Periodontal Dressing with the Addition of Chitosan from White Shrimp Exoskeleton Waste (*Litopenaus Vannamei*) in Accelerating Wound Healing. Histological review

Dewiayu Siti Hartinah Syamsir Dewang¹, Asdar Gani²

¹Dental Student, Dentistry Faculty of Hasanuddin University

²Supervisor of Periodontology Departement, Dentistry Faculty of Hasanuddin University

ABSTRACT

Background: The second most common oral diseases was periodontal disease with the prevalence of 95,58% for all age groups in Indonesia. One of periodontal treatment is periodontal surgery with periodontal dressing as mechanical protection in post-surgical treatment. Generally, periodontal dressings only assist healing process by protecting the tissue rather than providing healing factor and has no curative properties. Chitosan is a natural amino-polysaccharide which has high potential in wound healing that is contained in the waste of shrimp exoskeleton. The periodontal dressing modification with chitosan could be an innovation in accelerating wound healing. **Objective:** (1) To make modification of periodontal dressing with chitosan from the waste of white-shrimp exoskeleton (*Litopenaeus vannamei*) (2) To know the enhancement of PMN and Fibroblast in post-surgical wound of white rat (*Rattus norvegicus*). **Method:** This study was experimental laboratories, with the post test only control group design. The subjects of this study were 24 white rats that will be divided into experimental groups with the addition of chitosan and control without chitosan. Performed an incision on the back, then made preparations of tissue, Fibroblast and PMN observed with a microscope. This research uses friedman, kruskal wallis and mann whitney test. **Results:** In observation of PMN and Fibroblast scores, the experimental group experienced a significant enhancement ($P = 0.030$) compared with the control group ($P = 0.061$ for PMN and $P = 0.368$ for Fibroblast). There was a significant difference between experimental group and control group on day 3 ($P = 0,040$) on observation of PMN score, and there was difference on day 7 ($P = 0,046$) on observation of Fibroblast score. **Conclusion:** Modification of periodontal dressing with the addition of chitosan from white shrimp exoskeleton waste (*Litopenaeus vannamei*) can accelerate wound healing, ie by observation of PMN score and Fibroblast score on post-surgical wound of white rat (*Rattus norvegicus*).



s: Chitosan, *Litopenaeus vannamei*, Periodontal dressing, PMN, and
st

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 LATAR BELAKANG	1
1.2 RUMUSAN MASALAH	3
1.3 TUJUAN PENELITIAN	3
1.4 MANFAAT PENELITIAN.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
BEDAH PERIODONTAL	5
PERIODONTAL DRESSING	6
MEKANISME PENYEMBUHAN LUKA	9
UDANG PUTIH (<i>Litopenaus vannamei</i>).....	10
2.1.1 LIMBAH KULIT UDANG PUTIH	13
KITOSAN	14
2.1.2 MEKANISME KITOSAN DALAM MENYEMBUHKAN	
LUKA	15
MODIFIKASI PERIODONTAL DRESSING.....	16
BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP.....	18
3.1 KERANGKA TEORI DAN KONSEP	18
2 HIPOTESIS.....	19
METODE PENELITIAN	20
1 JENIS PENELITIAN	20



4.2 WAKTU DAN LOKASI PENELITIAN	20
4.3 SAMPEL PENELITIAN.....	20
4.4 KRITERIA SAMPEL	21
4.5 METODE PENGAMBILAN SAMPEL	21
4.6 VARIABEL PENELITIAN	21
4.7 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL	22
4.8 ALAT DAN BAHAN	23
4.9 PROSEDUR PENELITIAN	24
4.10 PENILAIAN PADA PENGAMATAN HISTOLOGIS	27
4.11 ANALISIS DATA	28
4.12 ALUR PENELITIAN.....	28
BAB V HASIL PENELITIAN	29
BAB VI PEMBAHASAN.....	35
BAB VII PENUTUP.....	40
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Periodontal Dressing	7
Gambar 2.2 Udang Vannamei.....	12
Lampiran Gambar	
Pemeriksaan secara klinis	47
Pemeriksaan histologis jaringan	48
Prosedur pembuatan	49
Pembedahan punggung tikus	51
Preparat jaringan	52



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Produksi komoditas udang vannamei	11
Tabel 2 Komposisi kimia cangkang udang vannamei.....	13
Tabel 3 Kandungan kitin dari beberapa sumber	14
Tabel 4 Rata-rata jumlah skor PMN	30
Tabel 5 Hasil Uji Nonparametrik PMN	31
Tabel 6 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> PMN	32
Tabel 7 Rata-rata jumlah skor Fibroblast	33
Tabel 8 Hasil Uji Nonparametrik Fibroblast	34
Tabel 9 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> Fibroblast	35
Lampiran	
Tabel 10 Hasil pengamatan skor PMN	51
Tabel 11 Hasil pengamatan skor Fibroblast	51



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Penyakit periodontal merupakan penyakit rongga mulut yang diderita oleh hampir semua manusia di dunia dan mencapai angka 50% dari jumlah populasi orang dewasa (Kementerian Kesehatan, 2012). Di Indonesia, penyakit periodontal menduduki urutan kedua setelah karies, yaitu mencapai 96,58% (Tampubolon, 2005). Riset Kesehatan Daerah tahun 2007 mengenai masalah gigi dan mulut, menemukan bahwa prevalensi penyakit periodontal mencapai 23,5%. Sebanyak 19 provinsi mempunyai prevalensi masalah Gigi dan Mulut diatas prevalensi nasional. Penyakit periodontal adalah lesi rongga mulut yang menyebabkan daerah penyangga gigi kehilangan struktur kolagennya (Ireland, 2014). Apabila penyakit periodontal ini tidak dilakukan perawatan yang tepat, maka dapat menyebabkan kehilangan gigi (Takei dkk, 2015a).

Bedah periodontal merupakan salah satu perawatan korektif penyakit periodontal untuk mengeliminasi poket dengan cara kuretase gingival, gingivektomi (Takei dkk, 2015a), prosedur bedah flap periodontal (Takei dkk, 2015b), rekonturing tulang dan prosedur regenerasi periodontal (Takei dkk, 2015c). Penyakit pasca bedah sering mengakibatkan ketidaknyamanan cukup lama



sehingga menghambat aktivitas sehari-hari pasien selama masa penyembuhan. Oleh karena itu, klinisi harus berupaya untuk mempercepat proses penyembuhan sehingga intensitas dan durasi rasa sakit pada pasien pasca pembedahan dapat diminimalisir.

Pengaplikasian *periodontal dressing* pasca bedah periodontal ditujukan untuk memberi perlindungan mekanik pada luka bedah sehingga kemungkinan terjadinya infeksi dapat diminimalisir (Takei dkk, 2015b). Akan tetapi, *periodontal dressing* tidak memiliki efek terapeutik. Baer dkk menyatakan bahwa sebagian besar *periodontal dressing* memiliki efek antibakteri yang kecil, bahkan tidak berefek. *Periodontal dressing* hanya membantu penyembuhan dengan melindungi jaringan dan tidak memiliki kemampuan dalam menyembuhkan luka secara kuratif (Habiboallah, 2014). Oleh karena itu, dibutuhkan modifikasi *periodontal dressing* yang memiliki efek antibakteri dan antiinflamasi pasca bedah periodontal.

Kitosan adalah amino-polisakarida alami dengan struktur unik dan dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan medis dan industri. Kitosan berpotensi tinggi dalam menyembuhkan luka karena memiliki sifat antimikroba, biokompatibilitas, biodegradabilitas, non-toksik, dan hemostatik yang secara alami mempercepat pembentukan trombus dan memblokir ujung syaraf sehingga dapat mengurangi rasa sakit (Setya, 2008). Kitosan diperoleh melalui proses deasetilasi kitin, yang sumber utamanya didapatkan dari eksoskeleton hewan invertebrata laut

tersebut (Crustacea) seperti udang (Setya, 2008).



Udang merupakan komoditas sektor perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan menjadi komoditas unggulan. Salah satu jenis udang yang banyak dibudidayakan untuk keperluan ekspor adalah udang putih (*Litopenaeus vannamei*)(Ambarwati, 2009). Udang ini diekspor dalam keadaan beku. Dari proses pembekuan tersebut dihasilkan limbah berupa kepala dan kulit udang yang kurang dimanfaatkan dan cenderung menjadi limbah yang dapat menyebabkan terjadinya masalah lingkungan (Ambarwati, 2009). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) sebagai sumber kitosan alami yang digunakan untuk meningkatkan PMN dan fibroblast sebagai indikator dalam mempercepat proses penyembuhan luka pasca bedah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 RUMUSAN MASALAH

1.2.1 Bagaimana pengaruh modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan terhadap gambaran histologis pada luka pasca bedah?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 Tujuan Umum

Membuat modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) untuk mempercepat proses penyembuhan luka pasca bedah periodontal.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui peningkatan PMN dan Fibroblast pada luka pasca bedah tikus putih. (*Rattus norvegicus*).



1.4 MANFAAT PENELITIAN

- 1.4.1** Memberikan informasi ilmiah di bidang Periodonsia mengenai pengaruh modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) terhadap peningkatan PMN dan Fibroblast pada luka pasca bedah.
- 1.4.2** Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pemanfaatan limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) terhadap bidang Kedokteran Gigi dalam mempercepat penyembuhan luka pasca bedah.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 BEDAH PERIODONTAL

Bedah periodontal merupakan bagian dari terapi periodontal yang terdiri atas teknik untuk terapi poket periodontal dan untuk mengoreksi masalah morfologi, misalnya defek mukogingival, serta mengembalikan fungsi dan perlekatan pada keadaan normal (Caranza, 2015) Tujuan utama dari bedah periodontal yaitu untuk meningkatkan prognosis gigi dan/atau estetika (Caranza, 2015). Jenis-jenis bedah periodontal yaitu sebagai berikut:

a. Kuretase gingiva adalah tindakan bedah yang melibatkan pengerukan dinding dalam poket periodontal untuk menghilangkan jaringan lunak yang terinfeksi (Takei dkk, 2015a). Kuretase (scraping/pengerukan/pengkuretan) adalah membuang dinding poket yang mengalami granulasi/fibroblastikangioblastik dan inflamasi. Kuretase bertujuan untuk mempercepat penyembuhan karena enzim dan fagositosis bertugas mengambil jaringan nekrose yang tertinggal selama terjadi proses penyembuhan (Bakar, 2012).

b. Gingivektomi adalah tindakan amputasi pada dinding poket. Gingivektomi bertujuan untuk menghilangkan retensi bakteri pada dinding dalam poket.



Tindakan ini digunakan pada poket suprabony dan poket gingiva (Takei dkk, 2015a).

- c. Bedah flap adalah tindakan pemisahan gingiva atau mukosa dengan jaringan bawahnya. Tindakan ini dilakukan untuk menyediakan tampilan dan akses yang luas pada tulang dan bagian akar pada gigi untuk memaksimalkan proses *scaling* dan *root planing*. Flap juga memberikan ruang untuk pemindahan letak gingiva pada lokasi yang berbeda dengan keterlibatan mucogingival (Takei dkk, 2015b).

2.2 PERIODONTAL DRESSING

Periodontal dressing merupakan penghalang fisik yang ditempatkan di area bedah untuk melindungi jaringan yang sedang dalam tahap penyembuhan dari kekuatan dan tekanan yang dihasilkan selama proses pengunyahan serta untuk meningkatkan kenyamanan pasien selama adaptasi (Baghani, 2013). *Periodontal dressing* berguna untuk memberikan perlindungan pada luka, meningkatkan kenyamanan pasien, mencegah perdarahan setelah operasi dengan menjaga trombus yang terbentuk tetap ditempatnya dan menjaga area luka dari debris, serta membantu mengendalikan bentuk dari jaringan yang baru (Klokkevold dkk, 2015).





Gambar 2.1 *Periodontal dressing*

(Sumber: Klokkevold PP, Takei HH, Caranza FA. 2015. General Principles of Periodontal Surgery. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PP, Caranza FA, editor. Carranza's clinical periodontology, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders. P.525)

Periodontal dressing diaplikasikan pada sekitar servikal gigi dan jaringan disekitarnya untuk menutupi dan melindungi luka pasca bedah periodontal. Penggunaan *periodontal dressing* tidak memiliki ciri dalam mempercepat penyembuhan secara kuratif dan hanya membantu menyembuhkan dengan melindungi jaringannya (Klokkevold dkk, 2015). *Periodontal dressing* secara garis besar di kategorikan menjadi 3 tipe, yaitu:

1. Tipe 1

Periodontal dressing dengan *zinc oxide* dan *eugenol*, dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan bakteri berdasarkan pada sifat antiseptiknya (Rahul, 2015). *Zinc oxide eugenol dressing* tersedia dalam bentuk *powder* dan *liquid*. *Dressing* ini dibentuk dengan mencampurkan *powder* dan *liquid*. *Powder* mengandung *zinc oxide*, *tannic*, *rosin*, *kaolin*, *zincstearate*, *asbestos* dan *liquid* mengandung *eugenol*, *peanut oil*, dan *rosin* (Kale, 2014).

Zinc oxide adalah zat mengandung antiseptik dan dapat menghentikan pendarahan, menambah kekuatan, mempercepat reaksi dan menghasilkan produk yang lebih halus dan homogen (Kale, 2014), sedangkan *Eugenol*



dapat mengiritasi mukosa mulut, menyebabkan reaksi alergi dan nekrosis jaringan terutama pada tulang, serta sulit untuk dimanipulasi dan dihomogenisasi. Dalam konsentrasi yang besar eugenol bersifat toksik dan menghambat sel fibroblast dan osteoblast (Klokkevold, 2015).

Ketika seluruh komponen dari *zinc oxide* dicampurkan, terjadi proses *setting* hasil dari interaksi kimia antara *zinc oxide* dan eugenol membentuk *zinc eugenolate*. Karena banyak terdapat kerugian dari eugenol maka pada tahun 1950an dikembangkan *dressing non eugenol* (Rahul, 2015)

2. Tipe 2

Periodontal dressing yang mengandung *zinc oxide non-eugenol*. Salah satu contohnya yaitu *Coe-pak* yang terdiri dari *metallix oxide* dan asam lemak. Tersedia dari 2 pasta, pasta base yang mengandung *oils*, *rosin (petrolatum)*, asam lemak, *Chlorothymol*, *ethyl alcohol*, *zinc acetate*, dan pasta katalis yang mengandung *zinc oxide*, *oils*, *resins*, *sodium silicate*, dan *lorothidol*. Kelebihan dari *periodontal dressing* ini yaitu minimalnya iritasi terhadap membran mukosa, rasa lebih natural mudah dimanipulasi, dan bau lebih menyenangkan. Tipe ini tidak memiliki kandungan antibakteri sebaik eugenol dressing, tetapi sifat iritatifnya juga lebih rendah (Rahul, 2015).

3. Tipe 3

Periodontal dressing yang tidak mengandung *zinc oxide* maupun *eugenol*. Dressing tipe ini yaitu termasuk *cyanoacrylate dressing*, *light cure dressing*, *collagen dressing*. *Cyanoacrylate dressing* sangat berguna karena dapat mempercepat hemostatis oleh adanya kelembaban selama



polimerisasi. *Light cure* memungkinkan operator untuk mengendalikan waktu manipulasi karena baru akan setting apabila dibantu dengan cahaya tampak, sehingga. Sedangkan *collagen dressing* memiliki kelebihan yaitu aplikasi lebih mudah, non-immunogenik, non-pirogenik, bersifat *hypoallergenic* (Rahul, 2015).

2.3 MEKANISME PENYEMBUHAN LUKA

Proses penyembuhan luka berlangsung melalui serangkaian tahap yang saling bergantung, dimana komponen seluler dan matriks bertindak bersama-sama untuk membangun kembali integritas jaringan yang rusak dan menggantikan jaringan yang hilang (Setya, 2008)

Proses penyembuhan luka dapat dilihat dari reepitelisasi, jumlah leukosit polimorfonuklear, kepadatan serabut kolagen, dan angiogenesis. Secara histologis, tahapan penyembuhan luka, yaitu koagulum, jaringan granulasi, jaringan konektif, pertumbuhan tulang, dan perbaikan epitel. Tahap-tahap penyembuhan luka pada periodontitis terdiri dari fase inflamasi, fase reparatif, dan fase *remodeling*. Dalam fase-fase tersebut terjadi proses osteogenesis, osteoinduksi, osteokonduksi, dan angiogenesis (Somermn, 2007)

1. Fase Inflamasi

Pelepasan trombosit akan mengirimkan sinyal ke *host* untuk melepaskan makrofag untuk mengabsorpsi jaringan nekrotik sekaligus merangsang osteoklas. Faktor pertumbuhan akan dilepaskan dari area lokal untuk



membantu proses proliferasi dan diferensiasi sel osteoprogenitor seperti *Mesencymal Stem Cell* (MSC).

2. Fase Reparatif

MSC yang berdiferensiasi menjadi sel osteogenik mulai membentuk jaringan kalus. Fase ini membutuhkan protein kolagen dan non-kolagen seperti *bone morphogenetic protein* (BMP), *osteopontin* (OPN) dan *osteocalcin* (OCN). Kolagen bertugas menyediakan osteoid untuk biomineralisasi.

3. Fase *Remodeling*

Proses *remodeling* dipandu oleh ekspresi gen-gen tertentu dan protein. Sejumlah faktor gen seperti *macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF) dan *receptor activator of nuclear factor κ B* (RANK) dan ligannya (RANKL) terbukti berperan penting dalam menyeimbangkan aktivitas osteoblast dan osteoklas. Sementara itu, osteoklas dan osteoblas mensekresikan *matriks metalloproteinase* (MMP) yang akan melarutkan dan mendegradasi matriks organik dan mineral tulang.

2.4 UDANG PUTIH (*Litopenaeus vannamei*)

Udang adalah komoditas perikanan andalan Indonesia yang menjadi komoditas ekspor. Ada dua komoditas udang yang menjadi andalan yakni udang windu dan udang vannamei. Perkembangan komoditas udang vannamei cukup dalam beberapa tahun terakhir. Bahkan produksinya terus meningkat na lima tahun terakhir (Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, 2015).



Tabel 1. Produksi komoditas udang vannamei

Tahun produksi	Jumlah produksi (ton)
2010	206.578
2011	246.420
2012	251.763
2013	390.278
2014	411.729

Sumber: Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. 2015. Udang Vanname dan Udang Windu. Andalan Ekspor Indonesia. [internet] available from <http://djpb.kkp.go.id/> [diakses 1 Juni 2016]

Udang vannamei (*Litopenaeus vannameii*) berasal dari daerah subtropis pantai barat Amerika, mulai dari Teluk California di Mexico bagian utara sampai ke pantai barat Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Kosta Rika di Amerika Tengah hingga ke Peru di Amerika Selatan. Udang vannamei resmi diizinkan masuk ke Indonesia melalui SK Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. 41/2001, dimana produksi udang windu menurun sejak 1996 akibat serangan penyakit dan penurunan kualitas lingkungan. Pemerintah kemudian melakukan kajian pada komoditas udang laut jenis lain yang dapat menambah produksi udang selain udang windu di Indonesia. Posisi Indonesia yang terletak di garis khatulistiwa dengan musim hujan dan kemarau yang tetap, menyebabkan Indonesia mampu memproduksi udang vannamei sepanjang tahun. Produksi tersebut disesuaikan dengan kondisi dan karakteristik lahan masing-masing (WWF Indonesia, 2014).

Udang ini berwarna putih dan bentuk tubuhnya bercorak agak kebiruan sehingga sering disebut udang putih (Ambarwati, 2009). Udang vannamei

masuk genus *Penaeus* dan subgenus *Litopenaeus*.



Berikut merupakan taksonomi dari udang vannamei:

Kingdom : Animalia
Subkingdom : Metazoa
Filum : Arthropoda
Subfilum : Crustacea
Kelas : Malacostraca
Subkelas : Eumalacostraca
Superordo : Eucarida
Ordo : Decapoda
Subordo : Dendrobrachiata
Infraordo : Penaeidea
Superfamili : Penaeioidea
Famili : Penaeidae
Genus : Litopenaeus
Spesies : Litopenaeus vannamei Boone.

(Haliman dan Adijaya, 2005).



Gambar 2.2 Udang Vannamei (Sumber: <http://google.com>)



Komposisi kimia cangkang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) meliputi kadar air, abu, lemak, protein, dan karbohidrat (Tabel 2). Komposisi kimia cangkang udang vannamei ditentukan dengan analisis proksimat. (Suptijah, 2011)

Tabel 2. Komposisi kimia cangkang udang vannamei

Parameter Nilai	(%bb)
Kadar air	15,04
Kadar abu	18,02
Kadar protein	34,69
Kadar Lemak	0,57
Kadar Karbohidrat	31,75

Sumber: Suptijah P, Jacoeb AM, Rachmania D. 2011. Karakterisasi Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*; 14(2): 78-84

2.4.1 LIMBAH KULIT UDANG PUTIH (*Litopenaus vannamei*)

Menurut Badan Pusat Statistik 2015, berat bersih ekspor udang Indonesia pada tahun 2010-2014 yaitu sebesar 113 937,0 ton (2010), 119 828,4 ton (2011), 122 898,8 ton (2012), 126 986,9 ton (2013) dan 148 519,4 ton (2014). Semakin besar produksi udang, semakin besar pula limbah yang dihasilkan dari produksi udang tersebut.

Limbah udang dapat diperoleh dari industri pengolahan udang beku dan industri kerupuk udang. Limbah udang tersebut pada umumnya terdiri dari bagian kepala, kulit dengan jumlah yang cukup besar (36-47%) dari keseluruhan produk. Dengan demikian, jumlah bagian yang terbuang dari usaha pengolahan udang cukup tinggi (Abun, 2009). Ada peluang besar dalam inovasi pengolahan limbah kulit udang yang berbasis bioindustri dan kebutuhan medis pada limbah udang tersebut.



Limbah cangkang dan kepala udang memiliki kadar kitin dalam berkisar 13-40% dan bila diproses menjadi kitosan menghasilkan yield kitosan 15%-20% (Abun, 2009)

2.5 KITOSAN

Kitosan merupakan biopolimer yang diturunkan dari kitin, yaitu suatu senyawa yang banyak ditemukan pada eksoskeleton crustacea laut seperti udang, kepiting, dan lobster, serangga, serta dinding sel fungi. Kitosan adalah polisakarida yang terdiri dari glucosamine dan unit *N-acetyl-glucosamine* yang dihubungkan oleh ikatan β -(1-4) *glycosidic* (Kim, 2008). Kitosan diperoleh melalui proses termokimiawi yaitu deproteinisasi, demineralisasi, dekolorisasi, dan deasetilasi (Setya, 2008) dengan pemutusan gugus asetil (CH₃-CO) pada kitin, melalui proses deasetilasi tersebut (Irwan dkk, 2009). Kitosan memiliki banyak keuntungan dalam bidang medis, terutama dalam penyembuhan luka karena memiliki sifat biokompatibilitas, biodegradabilitas, non-toksik, antimikrobal, serta berfungsi sebagai hemostat, yang secara alami mempercepat pembentukan trombus dan memblokir ujung syaraf, sehingga dapat mengurangi rasa sakit (Kim, 2014).

Tabel 3. Kandungan kitin dari beberapa sumber

Jenis	Kandungan Kitin(%)
Golongan <i>Crustacea</i> (berdasarkan berat kering)	
Kepiting Biru	14
Kepiting Merah	13-18
Lobster : <i>Neprhos</i>	69,8
<i>Nomarus</i>	69,1
Udang : <i>Pandanus borealis</i>	17,0
<i>Crangon crangon</i>	17,8



<i>Penaus monodon</i>	40,4
<i>Litopenaus vannamei</i>	36,37
<i>Procamborus clarkia</i>	13,2
Golongan <i>Insecta</i> (berdasarkan berat bahan organik pada kulit udang)	
Kecoak	35
Kumbang	27-35
Belalang	20
Ulat Sutra	33,7
Golongan <i>Mollusca</i>	
Cangkang	6,1
Kulit Kerang	3,6
Rangka dalam cumi cumi	41
Golongan mikroorganisme (berdasarkan berat kering dari dinding sel)	
<i>Aspergillus niger</i>	42
<i>Penicillium notatum</i>	18,5
<i>P. chrysogenum</i>	20,1
<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	2,9

Sumber: Synowiecki, J., Al-Khateb, NA. Production and Some New Application of Chitin and Its Derivates. *Critical Reviews in Food Sciences* 2003; 43(2): 145-171

2.5.1 Mekanisme Kitosan dalam menyembuhkan luka

Kitosan dan turunannya dapat mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan fungsi sel-sel inflamasi, seperti leukosit polimorfonuklear (PMN), makrofag, dan fibroblast atau osteoblast (Santos et al, 2007). Kitosan ditemukan dapat bereaksi dengan *basicfibroblast growth factor* (bFGF) dalam meningkatkan kecepatan penyembuhan (Wiegand et al, 2010). Okamoto et al membuktikan bahwa kelompok kitosan menginduksi pelepasan PDGF-AB dan TGFβ1 dari trombosit dan berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Terdapat juga studi yang menyatakan bahwa kitosan dapat meningkatkan kekuatan tarik (tensile strength) luka. (Wiegand et al, 2010).



Peran lain kitosan dalam penyembuhan luka yaitu dengan menyediakan matriks non-protein untuk regenerasi jaringan secara 3-D. Kitosan juga menstimulasi proliferasi sel dan pengaturan histoarsitektural jaringan. Kitosan dapat berdepolimerisasi secara berkala dan melepaskan N-asetil-b-D-glukosamino, yang kemudian menginisiasi proliferasi fibroblast dan membantu pengaturan deposit kolagen dan menstimulasi peningkatan sintesis asam hialuronik alami pada daerah luka. Ini membantu mempercepat penyembuhan luka dan mencegah pembentukan jaringan parut, sehingga proses penyembuhan luka menjadi cepat dengan penambahan kitosan dalam *periodontal dressing* (Mercy, 2012)

2.6 MODIFIKASI *PERIODONTAL DRESSING*

Sampai saat ini terdapat beberapa peneliti yang melakukan penelitian mengenai modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan zat tertentu untuk meningkatkan penyembuhan pasca bedah, seperti penambahan nanopartikel perak (Habiboallah, 2014), ekstrak teh hijau (Pradita, 2013), ekstrak benih kakao (Izzuddin, 2015). Nanopartikel perak terbukti mempercepat penyembuhan luka dengan signifikan, namun didapatkan melalui proses panjang dan kompleks dan harga yang cenderung mahal (Habiboallah, 2014). Penambahan Ekstrak teh hijau pada *periodontal dressing* juga dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas dalam proses penyembuhan luka pasca

ukaan gingiva kelinci (Pradita, 2013), namun belum berfokus pada urangan rasa nyeri pasca bedah periodontal. Begitu pula penambahan



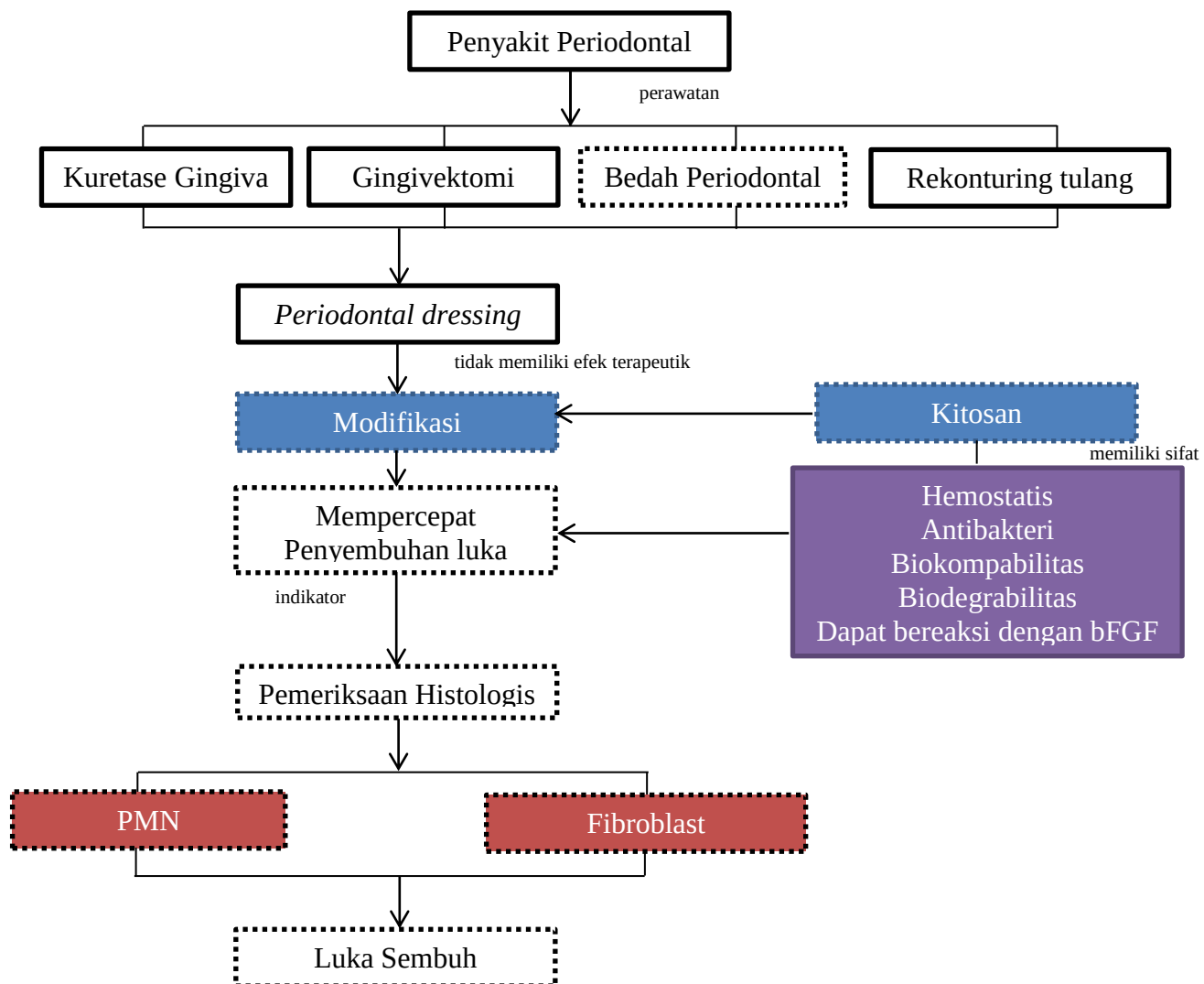
ekstrak kulit buah kakao pada *periodontal dressing* mampu meningkatkan kepadatan kolagen pada luka gingiva kelinci dengan presentase penambahan ekstrak yang paling efektif adalah 10% (Izzuddin, 2015), namun belum berfokus pada pengurangan rasa nyeri.



BAB III

KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

3.1 KERANGKA TEORI DAN KONSEP



 Variabel Bebas
 Variabel Akibat
 Variabel Antara

 Variabel yang tidak diteliti
 Variabel yang diteliti

3.2 HIPOTESIS

Terjadi peningkatan PMN dan Fibroblast sebagai indikator penyembuhan luka insisi pada kelompok eksperimen modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol *periodontal dressing* tanpa penambahan kitosan.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 JENIS DAN RANCANGAN PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories*, dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*.

4.2 WAKTU DAN LOKASI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Zoologi Fakultas MIPA, Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi UNHAS, Laboratorium Patologi Anatomi Klinik Patologi Anatomi Prof Dr. Randanan, serta Laboratorium Balai Penelitian Veteriner Maros pada bulan Agustus - Desember 2016

4.3 SAMPEL

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diperoleh dari Pasar Hobby Toddopuli. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus yang akan dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan.



4.4 KRITERIA SAMPEL

Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan
2. Berbadan sehat
3. Berumur 3-4 bulan
4. Memiliki berat badan 250-300gr.

Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang tidak mau makan
2. Tidak dapat beradaptasi dengan lingkungannya.

4.5 METODE PENGAMBILAN SAMPEL

Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *Simple Random Sampling*.

4.6 VARIABEL PENELITIAN

1. **Variabel bebas:** Kitosan limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*)
2. **Variabel akibat:** PMN dan Fibroblast
3. **Variabel kendali:** Hewan model (tikus putih *Rattus novargicus*) jenis kelamin, berat badan, usia, makan, dan lingkungan kandang tikus.
4. **Variabel random:** Metode bedah dan pengaplikasian modifikasi *periodontal dressing*; Metode pengambilan preparat jaringan



5. **Variabel antara:** Hemostatis, antibakteri, biokompabilitas, biodegradabilitas, kitosan dapat bereaksi dengan bFGF

4.7 DEFINISI OPERASIONAL VARIABEL

1. Kitosan berasal dari proses deasetilasi kitin dari hewan bercangkang keras seperti udang, pada penelitian ini kitosan berasal dari limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*)
2. PMN dan Fibroblast sebagai indikator penyembuhan luka didapatkan dengan metode *grading score* dari PMN dan Fibroblast. Akan diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.
3. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih *Rattus novargicus* dengan jenis kelamin jantan, berat 250-300gr, usia 3-4 bulan, akan diberi makan secara ad libitum.
4. Metode bedah yaitu melakukan insisi pada punggung tikus. Metode pengambilan preparat jaringan yaitu dengan mengambil jaringan kulit punggung sesuai hari dekapitasi (3,5,7 hari)
5. Hemostatis, antibakteri, biokompabilitas, biodegradabilitas, kitosan dapat bereaksi dengan bFGF merupakan sifat sifat yang dimiliki kitosan sehingga *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan akan mempercepat penyembuhan luka



4.8 ALAT DAN BAHAN

- 4.7.1** Persiapan hewan model menggunakan timbangan, tikus putih (*Rattus norvegicus*) 250-300gr sebanyak 24 ekor, kandang, dan makanannya.
- 4.7.2** Ekstraksi kitosan dari limbah kulit udang putih, menggunakan limbah kulit udang putih (*Litopenaeus vannamei*) sebanyak 200 gr, aquadest, HCl 3%, NaOH 4% dan NaOH 60%, kertas saring, kertas pH, nihidrin, gelas kimia, erlenmeyer, corong, gelas piala, labu semprot, batang pengaduk, oven, blender.
- 4.7.3** Gel kitosan dan modifikasi *periodontal dressing* menggunakan serbuk kitosan, CH₃COOH 1%, gliserol 50%, rosin, zinc oxide, hydrogenated fat, glass plate, semen spatula, kertas pH.
- 4.7.4** Pembedahan dilakukan menggunakan kuret, blade, anestetikum lidocain, spoit, kapas, NaCl 0,9%, H₂O₂ 3%, absorbent paper, tweezer, alat OD, tray sekat, providine iodine.
- 4.7.5** Pengambilan preparat jaringan, diperlukan hematoksin eosin sebagai pengecatan jaringan dan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.

4.9 PROSEDUR PENELITIAN

4.8.1 Persiapan hewan model

Penimbangan berat badan hewan model agar sesuai dengan kriteria sampel (250-300g) dan dimasukkan kedalam kandang. Seluruh sampel akan dibagi dalam 3 kelompok yang nantinya akan ditempatkan dalam



3 kandang. Makanan diberikan secara *ad libitum*. Makanan dan minuman diberikan dalam wadah kecil dan diberi 3 kali sehari yaitu pada setiap pagi, siang, dan malam. Hewan percobaan diadaptasikan selama 1 minggu untuk mendapatkan kesehatan umum yang baik serta penyesuaian terhadap lingkungan. Sebelum hari uji, tikus dipuaskan semalam dengan tetap diberikan air.

4.8.2 Ekstraksi kitosan dari limbah kulit udang putih (*Litopenaeus vannamei*)

1. Proses Penyiapan Sampel

Dicuci limbah udang dengan air sambil dibersihkan. Limbah udang dibiarkan dalam kantong plastik pada suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam. Selanjutnya, kulit udang dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C kemudian dihaluskan menggunakan blender kering.

2. Proses Isolasi Kitin dari Kulit Udang

Proses isolasi kitin dilakukan dalam beberapa tahap. Tahap pertama adalah demineralisasi, dilakukan dengan merendam kulit udang dalam larutan asam klorida 3% pada suhu kamar selama 16 jam. Selanjutnya residu dicuci dan direndam dalam air suling hingga pH netral. Tahap kedua adalah deproteinisasi, dilakukan dengan merendam kulit udang dengan larutan natrium hidroksida 4% pada suhu kamar selama 20 jam.

3. Proses Pembentukan dan Pemurnian Kitosan



Residu limbah kulit udang dicuci dengan air suling hingga pH netral. Kemudian dilakukan proses deasetilasi dengan merendam kulit udang pada larutan natrium hidroksida 60% pada suhu 65°C selama 20 jam. Residu kemudian dicuci hingga pH netral dengan air suling. Setelah itu, kitosan yang telah diperoleh dikeringkan pada suhu 65°C. Kemudian dilakukan uji Nihidrin, sebesar 0,1g kitosan disemprotkan larutan nihidrin kemudian didiamkan selama 5 menit.

4.8.3 Pembuatan Modifikasi *Periodontal Dressing*

Pembuatan periodontal dressing dilakukan berdasarkan formula Baer terdiri dari: pembuatan base (mencampur rosin sebanyak 28,5g dan zinc oxide sebanyak 21,5 g) dan pembuatan pasta (mencampur hydrogenated fat sebanyak 47,5g dan zinc oxide sebanyak 2,5g). (Pradita, 2013)

Untuk kelompok kontrol formula yang diberikan yaitu campuran base dan pasta dengan perbandingan 1:1 dan tidak ditambahkan serbuk kitosan. Pada kelompok eksperimen periodontal dressing dimodifikasi dengan serbuk kitosan, dengan perbandingan base, pasta dan serbuk kitosan 1:1:1.

4.8.4 Pembedahan Hewan Model dan Pengaplikasian Modifikasi *Periodontal Dressing*

Dua puluh empat ekor tikus dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan eksperimental. Setiap kelompok kemudian dibagi menjadi

3 sub kelompok berdasarkan waktu pengambilan jaringan yaitu sesudah hari ke-3, 5, dan 7, sehingga jumlah sampel pada masing-masing sub kelompok adalah 4 ekor tikus. Pengelompokan sampel dilakukan secara simple random sampling. Masing-masing tikus pada setiap kelompok dianestesi menggunakan lidocain. Rambut pada daerah operasi dicukur terlebih dahulu, kemudian dilakukan desinfeksi dengan povidine iodine, selanjutnya dilakukan insisi sepanjang 5mm dengan kedalaman kurang lebih 3mm pada kulit (mencapai subkutan) disekitar tulang belakang tikus. Luka insisi kemudian dibersihkan dengan larutan H₂O₂ 3% dan NaCl 0,9%. *Periodontal dressing* yang telah disiapkan, diaplikasikan pada daerah luka insisi tersebut. Luka pada kelompok eksperimen ditutup dengan *periodontal dressing* yang mengandung kitosan sedangkan pada kelompok kontrol ditutup dengan periodontal dressing tanpa kitosan. Untuk meningkatkan retensi, *periodontal dressing* ditutup dengan perban. Pengambilan jaringan untuk observasi PMN dan Fibroblast dilakukan pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 setelah perlakuan. (Pradita, 2013)

4.8.5 Pengambilan Preparat Jaringan

Setiap kelompok perlakuan dibagi menjadi 3 sub kelompok sesuai dengan hari dekapitasi, yaitu pada hari ke-3,5,7. Jaringan luka dibuat preparat histologis dan dilakukan pengecatan dengan hematoxilin eosin untuk mengamati PMN dan fibroblast diamati dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x.

4.10 PENILAIAN PADA PENGAMATAN HISTOLOGIS

4.9.1 PMN

Penilaian PMN diukur dengan metode kriteria skor yang sudah ditentukan sebagai berikut (Gupta, 2015):

Skor +1: terjadi peningkatan PMN yang kurang

Skor +2: terjadi peningkatan PMN yang sedang

Skor +3: terjadi peningkatan PMN yang banyak

4.9.2 Fibroblast

Penilaian Fibroblast diukur dengan metode kriteria skor yang sudah ditentukan sebagai berikut (Gupta, 2015):

Skor +1: terjadi peningkatan Fibroblast yang kurang

Skor +2: terjadi peningkatan Fibroblast yang sedang

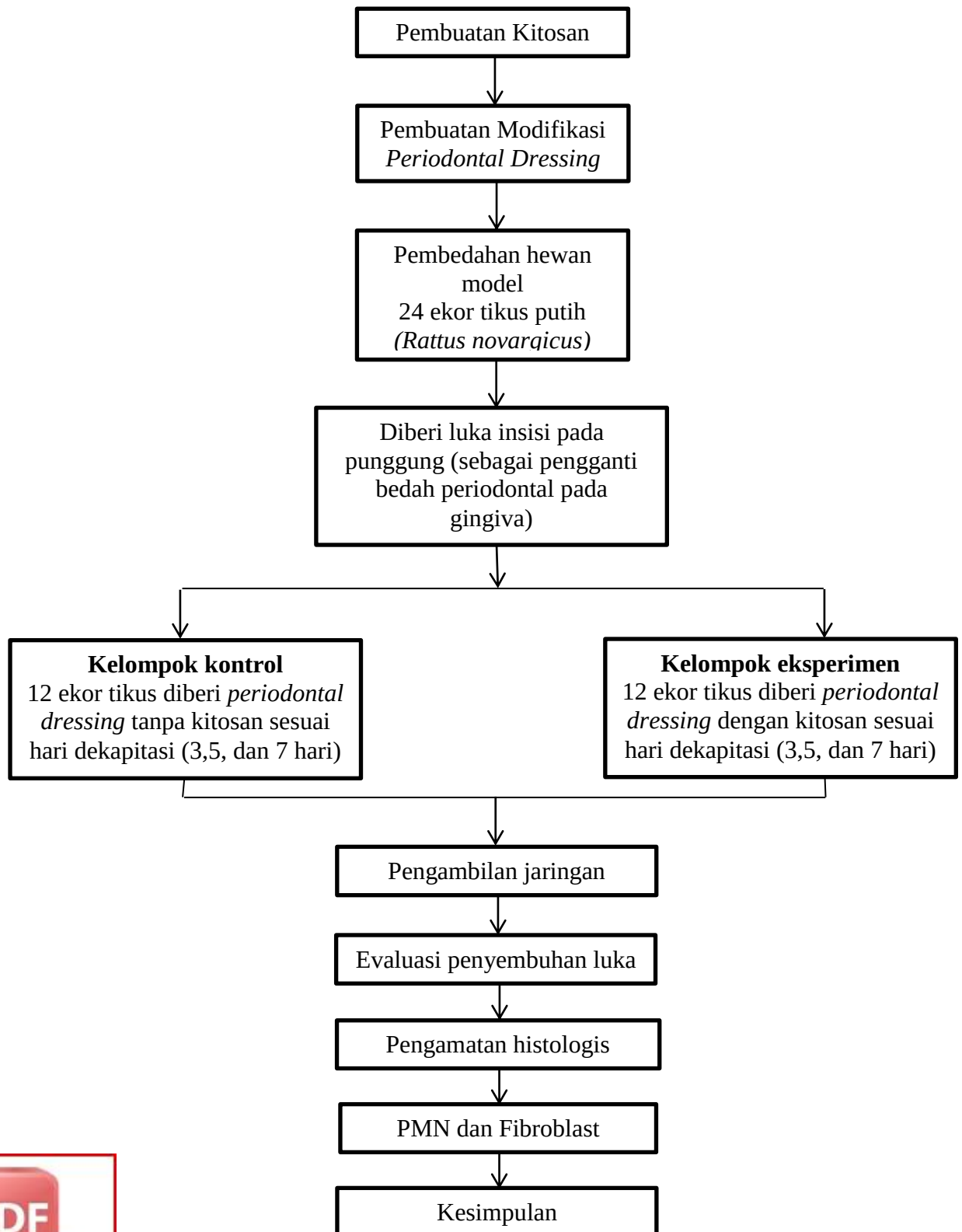
Skor +3: terjadi peningkatan Fibroblast yang banyak

4.11 ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah data ordinal, sehingga data di uji dengan menggunakan uji statistik non-parametrik yaitu Friedman, Wilcoxon, *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* menggunakan *SPSS 24 for windows*.



4.12 ALUR PENELITIAN



BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan keterangan lolos etik dengan nomor : 952/H04.8.4.5.31/PP36-KOMETIK/2016 dan nomor register UH16080647 pada tanggal 26 Agustus 2016.

5.1 PEMERIKSAAN PMN

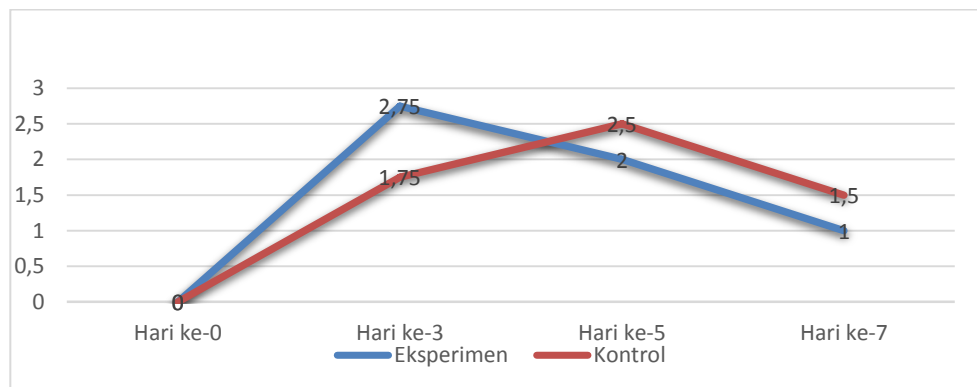
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, jumlah rata-rata skor PMN pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dapat dilihat pada tabel 4 berikut:

Tabel 4 Rata-rata jumlah skor PMN			
Pengamatan	Hari ke-3 ($\bar{X} \pm SD$)	Hari ke-5 ($\bar{X} \pm SD$)	Hari ke-7 ($\bar{X} \pm SD$)
Eksperimen	2,75 $\pm$ 0,5	2,00 $\pm$ 0,81	1,00 $\pm$ 0
Kontrol	1,75 $\pm$ 0,5	2,50 $\pm$ 0,57	1,50 $\pm$ 0,77

Berdasarkan data rata-rata jumlah skor PMN dari tabel diatas, menunjukkan pada setiap hari pengamatan (hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7) kelompok eksperimen terdapat penurunan skor PMN dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Perbandingan rata-rata skor PMN dari setiap kelompok pada masing masing hari pengamat dapat dilihat pada grafik 1.





Grafik 1 Rerata Skor PMN

Data yang diperoleh dilakukan uji statistik non-parametrik Friedman yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan skor PMN masing masing hari pada setiap kelompok didapatkan nilai $p=0,030$ untuk kelompok eksperimen dan $p=0,061$ untuk kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan data pada setiap hari ke 3, 5 dan 7 kelompok eksperimen mengalami kenaikan yang signifikan, sedangkan pada kelompok kontrol tidak mengalami kenaikan yang signifikan. Kemudian dilanjutkan uji Wilcoxon yang merupakan uji beda lanjut untuk mengetahui lebih jelas adanya perbedaan lanjut dari masing masing hari.

Tabel 5. Hasil Uji Nonparametrik PMN

Dependent Variable	(I) Hari3_7	(J) Hari3_7	Sig ^a	Sig ^b
Eksperimen	hari ke 3	hari ke 5	,083	,030*
		hari ke 7	,059	
	hari ke 5	hari ke 3	,083	
		hari ke 7	,102	
	hari ke 7	hari ke 3	,059	
		hari ke 5	,102	
ontrol	hari ke 3	hari ke 5	,083	,061
		hari ke 7	,317	
	hari ke 5	hari ke 3	,083	
		hari ke 7	,102	

hari ke 7	hari ke 3	,317
	hari ke 5	,102

*. The mean difference is significant at the 0.05 level

^a Wilcoxon test

^b Friedman test

Uji selanjutnya yaitu *Kruskal-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan skor PMN dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada masing masing hari. Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $P < 0,05$ yaitu 0,016. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan terhadap data kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan pada hari keberapa maka uji statistik kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Berdasarkan uji Mann Whitney menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($P < 0,05$) pada pengamatan PMN pada hari ke-3 antara kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. (Tabel 6)

Tabel 6 Hasil Uji Mann Whitney PMN

	KP1H3	KP2H3	KP1H5	KP2H5	KP1H7	KP2H7
KP1H3		.040*	.155	.495	.011*	.032*
KP2H3			.617	.096*	.040*	.495
KP1H 5				.343	.046*	.343
KP2H 5					.013*	.061*
KP1H 7						.127
KP2H 7						

*. The mean difference is significant at the 0.05 level

Keterangan :

KP1H3 : Kelompok Eksperimen Hari ke-3

KP1H5 : Kelompok Eksperimen Hari ke-5

KP1H7 : Kelompok Eksperimen Hari ke-7

KP2H3 : Kelompok Kontrol Hari ke-3

KP2H5 : Kelompok Kontrol Hari ke-5

KP2H7 : Kelompok Kontrol Hari ke-7



5.2 PEMERIKSAAN FIBROBLAST

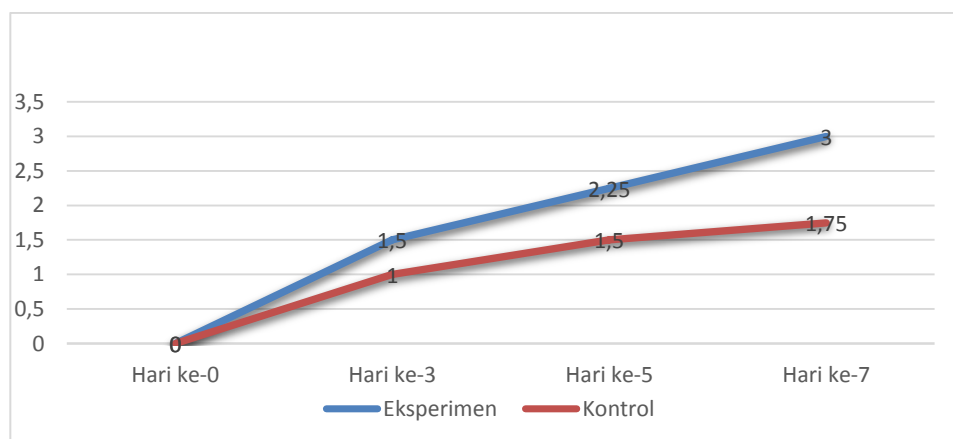
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, jumlah rata-rata skor Fibroblast pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dapat dilihat pada tabel 7 berikut:

Tabel 7 Rata-rata jumlah skor Fibroblast

Pengamatan	Hari ke-3 (X±SD)	Hari ke-5 (X±SD)	Hari ke-7 (X±SD)
Eksperimen	1,50±0,5	2,25±0,5	3±0
Kontrol	1,00±0	1,50±0,57	1,75±0,95

Berdasarkan data rata-rata jumlah skor Fibroblast dari tabel diatas, menunjukkan pada setiap hari pengamatan (hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7) kelompok eksperimen terdapat peningkatan jumlah fibroblast dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Perbandingan rata-rata skor fibroblast dari setiap kelompok pada masing masing hari pengamat dapat dilihat pada grafik 2.



Grafik 2 Rerata Skor Fibroblast

Data yang diperoleh dilakukan uji statistik non-parametrik Friedman yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan skor Fibroblast masing masing hari pada setiap kelompok didapatkan nilai $p=0,030$ untuk

kelompok eksperimen dan $p=0,368$ untuk kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan data pada setiap hari ke 3, 5 dan 7 kelompok eksperimen mengalami kenaikan yang signifikan, sedangkan pada kelompok kontrol tidak mengalami kenaikan yang signifikan. Kemudian dilanjutkan uji Wilcoxon yang merupakan uji beda lanjut untuk mengetahui lebih jelas adanya perbedaan lanjut dari masing masing hari.

Tabel 8. Hasil Uji Nonparametrik Fibroblast

Dependent Variable	(I) Hari3_7	(J) Hari3_7	Sig ^a	Sig ^b
Eksperimen	hari ke 3	hari ke 5	,083	,030*
		hari ke 7	,063	
	hari ke 5	hari ke 3	,083	
		hari ke 7	,083	
	hari ke 7	hari ke 3	,063	
		hari ke 5	,083	
Kontrol	hari ke 3	hari ke 5	,157	,368
		hari ke 7	,180	
	hari ke 5	hari ke 3	,157	
		hari ke 7	,705	
	hari ke 7	hari ke 3	,180	
		hari ke 5	,705	

*, The mean difference is significant at the 0.05 level

^a Wilcoxon test

^b Friedman test

Uji selanjutnya yaitu *Kruskal-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan skor Fibroblast dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada masing masing hari. Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan $p < 0,05$ yaitu 0,027. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan terhadap data kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Untuk mengetahui



perbedaan pada hari keberapa maka uji statistik kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Berdasarkan uji Mann Whitney menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($P < 0,05$) pada pengamatan Fibroblast pada hari ke-7 antara kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. (Tabel 9)

Tabel 9 Hasil Uji Mann Whitney PMN

	KP1H3	KP2H3	KP1H5	KP2H5	KP1H7	KP2H7
KP1H3		.127	.096	1.000	.121	.752
KP2H3			.011*	.127	.028*	.131
KP1H 5				.096	.592	.350
KP2H 5					.121	.752
KP1H 7						.046*
KP2H 7						

*. The mean difference is significant at the 0.05 level

Keterangan :

KP1H3 : Kelompok Eksperimen Hari ke-3

KP1H5 : Kelompok Eksperimen Hari ke-5

KP1H7 : Kelompok Eksperimen Hari ke-7

KP2H3 : Kelompok Kontrol Hari ke-3

KP2H5 : Kelompok Kontrol Hari ke-5

KP2H7 : Kelompok Kontrol Hari ke-7

BAB VI

PEMBAHASAN

Proses penyembuhan luka dapat dilihat dari jumlah sel fibroblast, proses re-epitelisasi, kepadatan serabut kolagen, jumlah leukosit polimorfonuklear, dan angiogenesis (Somermn, 2007). Tahap-tahap penyembuhan luka terdiri dari fase inflamasi, fase reparatif, dan fase *remodeling*. Proses penyembuhan luka berlangsung melalui serangkaian tahap yang saling bergantung, dimana komponen seluler dan matriks bertindak bersama-sama untuk membangun kembali integritas jaringan yang rusak dan menggantikan jaringan yang hilang (Setya, 2008).

Penyembuhan luka pada seluruh jaringan pasca terjadinya luka mempunyai pola yang sama, tetapi memiliki beragam modifikasi penyembuhan. Hal tersebut sangat dipengaruhi oleh dari faktor-faktor intrinsik dan ekstrinsik yang meliputi beberapa tahap. Penyembuhan luka pasca insisi berlangsung melalui beberapa tahapan biologis yang kompleks. Proses penyembuhan luka pasca insisi dapat diamati secara tampilan klinis, yaitu dengan terlihatnya jaringan parut yang menutup pada daerah luka, sedangkan secara histologis dapat melihat jaringan mikro yang terlibat dalam penyembuhan luka untuk mengetahui proliferasi selnya (Pradita, 2013).

es penyembuhan luka melibatkan berbagai sitokin, sel darah, matriks
uler dan sel parenkim untuk membersihkan jejas, kemudian membangun



dasar (*scaffolding*) secara progresif (Wiegand, 2010). Fase inflamasi akan merangkai proses biologi yang diawali dengan *platelet-induced hemostasis*, diikuti oleh influks sel-sel inflamasi dan fibroblast untuk menuju area luka, angiogenesis, serta proliferasi sel-sel untuk rekonstruksi jaringan (Mercy, 2012).

Tahap penyembuhan luka yang diawali dengan fase inflamasi yang ditandai dengan munculnya sel PMN yang berfungsi sebagai penghasil osteopontin. Osteopontin memegang peran penting dalam menyediakan matriks organik tambahan yang akan mengalami mineralisasi, deposisi, dan maturasi hingga menuju fase akhir penyembuhan luka (Azuma, 2014). Pada fase ini, kitosan akan merangsang makrofag menuju daerah defek untuk memfagositosis sel-sel yang mengalami defek serta menstimulasi osteoklas. Untuk menyediakan vaskularisasi dan asupan nutrisi pada area penyembuhan, kolagen menginisiasi proses angiogenesis dengan cara memicu migrasi dan proliferasi sel endotel secara langsung dari pembuluh kapiler sumsum tulang, dan secara tidak langsung dari pembuluh kapiler jaringan yang mengalami luka (Santos, 2007).

Hasil penelitian yang dilakukan, terlihat bahwa rata-rata skoring sel PMN pada kelompok eksperimen meningkat dibandingkan kelompok eksperimen. Hal ini menunjukkan bahwa kitosan pada *periodontal dressing* mampu meningkatkan jumlah sel PMN pada hari ke-3 pasca terjadinya luka dibandingkan dengan *periodontal dressing* tanpa kitosan yang terlihat signifikan pada hari ke-3.

Semakin cepat waktu yang digunakan dalam meningkatkan jumlah sel PMN,

semakin cepat proses terbentuknya sel fibroblast dan osteopontin dalam penyembuhan luka.



Pada fase proliferasi ditandai dengan berproliferasinya sel fibroblast pada daerah luka. Sel fibroblast merupakan jaringan ikat yang aktif sebagai respon tubuh terhadap luka dengan berproliferasi dan terjadi peningkatan fibrinogenesis, sehingga sel fibroblast menjadi indikator utama dalam proses penyembuhan luka. Sel fibroblast juga berperan dalam sintesis kolagen dan matriks yang berperan dalam degradasi kolagen, sehingga menghasilkan suatu perubahan bentuk serabut utama yang padat, konstan dan terjadi proses regenerasi sel sebagai perbaikan jaringan pada daerah yang mengalami defek (Kong, 2010). Pada penyembuhan luka, sel fibroblast muncul pada 2-3 hari pasca terjadinya luka yang berperan dalam sintesis kolagen dan fibronectin dalam mempercepat penyembuhan luka (Kartono, 2014).

Hasil penelitian yang dilakukan, terlihat bahwa rata-rata skoring sel fibroblast pada kelompok eksperimen meningkat dibandingkan kelompok eksperimen. Hal ini menunjukkan kitosan pada *periodontal dressing* mampu meningkatkan jumlah sel fibroblast pasca terjadinya luka dibandingkan dengan *periodontal dressing* tanpa kitosan yang terlihat signifikan pada hari ke-7 dan memiliki pengaruh yang bermakna terhadap peningkatan jumlah sel fibroblast dibandingkan *periodontal dressing* tanpa kitosan.

Keberadaan kitosan dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast yang bertanggung jawab terhadap produksi fibronectin dan pembentukan serabut kolagen. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Putri (2015), menyatakan bahwa

kitosan yang diaplikasikan setiap hari pada daerah yang luka akan
ini penebalan epitel secara klinis terlihat dari daerah luka yang menutup



dengan sempurna maupun secara histologis terlihat peningkatan jumlah sel fibroblasnya.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Chandra (2014), menyatakan bahwa pemberian nanochitosan topikal pada daerah yang luka memiliki pengaruh yang bermakna dalam penyembuhan luka. Hal ini disebabkan oleh kandungan kitosan mampu menginduksi pelepasan PDGF-AB dan TGF β 1 dari trombosit dan berperan penting dalam proses penyembuhan luka. Selain itu, beberapa hasil penelitian yang mendukung bahwa kitosan dapat meningkatkan kekuatan tarik (*tensile strength*) luka dengan terbentuknya asam hialuronik pasca terjadinya luka (Chandra, 2014).

Kemampuan kitosan dari limbah kepala udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dalam meningkatkan rata-rata jumlah PMN dan Fibroblast pada kelompok eksperimen disebabkan oleh adanya efek antiinflamasi dari kitosan yang bekerja dengan cara menghambat pelepasan asam arakhidonat dan pelepasan enzim lisosom dari membran dengan memblok jalur siklooksigenase. Kemampuan kitosan dalam menghambat enzim siklooksigenase dan lipoksigenase pada inflamasi, mengakibatkan produksi prostaglandin dan leukotrin dapat berkurang. Penekanan prostaglandin dan leukotrin sebagai mediator inflamasi dapat menyebabkan berkurangnya nyeri dalam pembengkakan, mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal, sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun. Selanjutnya reaksi inflamasi akan berlangsung

gkat dan dapat segera memasuki tahap penyembuhan yang selanjutnya, e proliferasi. Selain itu kemampuan proliferasi dari TGF β menjadi tidak



terhambat. TGF β berfungsi meningkatkan migrasi dan proliferasi sel fibroblas pada daerah luka (Azuma, 2014).



BAB VII

PENUTUP

7.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa

1. Pada pengamatan skor PMN kelompok eksperimen modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan mengalami kenaikan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa penambahan kitosan. Terjadi perbedaan yang bermakna antara kelompok eksperimen dan kelompok kontrol pada hari ke 3.
2. Pada pengamatan skor Fibroblast kelompok eksperimen modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan mengalami kenaikan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa penambahan kitosan. Terjadi perbedaan yang bermakna antara kelompok eksperimen dan kelompok kontrol pada hari ke 7.
3. Modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan dari limbah kepala udang putih (*Litopenaus vannamei*) dapat meningkatkan penyembuhan luka, yaitu dengan pengamatan skor PMN dan skor Fibroblast pada luka pasca bedah tikus putih (*Rattus norvegicus*).



7.2 SARAN

Saran untuk penelitian yang selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang persentase yang paling efektif untuk meningkatkan kecepatan penyembuhan pada modifikasi *periodontal dressing* dengan penambahan kitosan.



DAFTAR PUSTAKA

- Abun. 2009. *Pengolahan Limbah Udang Windu Secara Kimiawi Dengan NaOH dan H₂SO₄ Terhadap Protein dan Mineral Terlarut*. Jatinangor: Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Ambarwati, D., Widjanarko, SB., Rukmi, WD. 2009. *Pemanfaatan Limbah Kepala Udang Vannamei dalam Bentuk Serbuk Flavor Udang*. P.4-5
- Azuma, K., Ifuku, S, Osaki, T., Okamoto, Y., 2014. Minami, S. Preparation and Biomedical Applications of Chitin and Chitosan Nanofibers. *J. Biomed. Nanotechnology*; 10: 2891–2920
- Badan Pusat Statistik. 2015. *Statistik Indonesia: Statistical Yearbook of Indonesia 2015*. Indonesia: Badan Pusat Statistik. Hal. 529.
- Baghani, Z., Kадkhodazadeh, M. 2013. Periodontal Dressing: A Review Article. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect*; 7(4): 183-191.
- Bakar, A. 2012, *Kedokteran Gigi Klinis*. ed.2, Yogyakarta, Quantum Sinergis Media. Hal.110-112
- Chandra IA. 2014. Pemberian Gel Nanochitosan PRP Topikal Menurunkan Ekspresi MMP-1 dan Meningkatkan Jumlah Kolagen Pada Jaringan Luka Tikus Wistar [Tesis]. Program Pascasarjana: Universitas Udayana. Hal. 68-70.
- Caranza, FA., Takei, HH. 2015. Phase II Periodontal Therapy. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PP, Caranza FA, editor. *Carranza's clinical periodontology*, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders. Hal.511
- Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. 2015. Udang Vanname dan Udang Windu. Andalan Ekspor Indonesia. [internet] available from <http://djpb.kkp.go.id/> [diakses 1 Juni 2016]
- Gupta, A., Kumar, P. 2015. Assessment of The Histological State of Healing Wound. *Plast Aesthet Res*; 2: 239-42
- Habiboallah, G. 2014. Enhancement of Gingival Wound Healing by Local Application of Silver Nanoparticles Periodontal Dressing Following Surgery: A Histological Assessment In Animal Model. *Modern Research in Inflammation*; 3: 128-138.
- Hasil Riskesdas 2007 Kementrian Kesehatan
- Riskesdas 2013 Kementrian Kesehatan



Putri. 2010. Potensi Khitosan sebagai Antibakteri penyebab periodontitis. *Jurnal UI Untuk Bangsa Seri Kesehatan, Sains, dan Teknologi*. Vol. 1. 12-24.

- Ireland, R. 2014. *Kamus Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC. Hal.418
- Irwan, Pirman, dan Haris. Karakterisasi Fisiokimia dan Fungsional Khitosan yang Diperoleh dari Limbah Cangkang Udang Windu (*Penaeus Monodon*). SNTKI: Makassar: Politeknik Negeri Ujung Pandang; 2009. Hal. 1-4
- Izzuddin, AF., Nurkesuma, A. 2015. The Potential of Cocoa (*Theobroma cacao L.*) Pods Extract In Periodontal Dressing To Rabbit Gingival Wound Healing. *Scientific Cooperations Medical Workshops*; 1(2): P. 1-16.
- Kale, T., Dani, N., Patenge, T. 2014. Periodontal Dressing. *Journal of Dental and Medical Sciences(IOSR-JDMS)*; 3(13): 94-96
- Kartono, GS., Widyastuti, Setiawan, HW. 2014. Biokompatibilitas Hidroksiapatit Graft dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) terhadap Kultur Sel Fibroblas. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. Februari. 8(1): 1-8
- Kementerian Kesehatan RI. *Pedoman Usaha Kesehatan Gigi Sekolah (UKGS)*. Indonesia: Kementrian Kesehatan RI. 2012. Hal.5.
- Kim, IY. Chitosan and Its Derivatives for Tissue Engineering Applications. *Biotechnology Advances*, 2008; Vol.26: 1-21.
- Kim, SK. 2014. *Chitin and Chitosan Derivatives: Advances in Drug Discovery and Developments*. Florida: CRC Press. Hal. 245
- Klokkevold, PP., Takei, HH., Caranza, FA. 2015. General Principles of Periodontal Surgery. In: Newman, MG., Takei, HH., Klokkevold, PP., Caranza, FA, editor. *Carranza's clinical periodontology*, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders. P.525
- Kong, M., Chen, X., Xing, K., Park H. 2010. Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A State of The Art Review. *Int. J. Food Microbiology*.144: 51–63.
- Mercy, HP., Halim, AS., Hussein, AR. 2012 Chitosan Derivates as Hemostatic Agent: Their Role in Tissue Regeneration. *Journal of TESMA*; 1(1): 38-46
- Nandya, Maduratna, E., Augustina, EF. 2012. The Periodontal Health Status on Type 2 Diabetes Mellitus Patients Compared with Non-Diabetes Mellitus Patients based on Gpi. *Periodontic Journal*; 4(2): 45-55.
- Pradita, AU., Dhartono, AP., Ramadhany, CA. 2013. Periodontal Dressing-Containing Green Tea Epigallocatechin Gallate Increases Fibroblasts Number in Gingival Artificial Wound Model. *Journal of Dentistry Indonesia*; 20(3): 68-77.
- ., Hansa, J., Kanya, J. 2015. To Pack or Not To Pack: The Current Status Periodontal Dressings. *J Appl Biomater Funct Mater*; 13(2): 73 - 86.



- Santos, TC., Marques, AP., Silva, SS. 2007. In Vitro Evaluation of The Behaviour of Human Polymorphonuclear Neutrophils In Direct Contact with Chitosan-Based Membranes. *J Biotechnol*;132(2):218–26.
- Setya, M. Efek Khitosan terhadap Kultur Galur Sel HSC-4 Dan HAT-7 secara In-Vitro. Jakarta: Kedokteran Gigi Universitas Indonesia; 2008. P. 2-9.
- Somermn, MJ., Ko, CC., An, KN. 2007. Motion and Bone Generation. *Engineering of Functional Skeletal Tissues*: 111-4.
- Suptijah P, Jacob AM, Rachmania D. 2011. Karakterisasi Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*; 14(2): 78-84
- Synowiecki J, Al-Khateb NA. Production and Some New Application of Chitin and Its Derivates. *Critical Reviews in Food Sciences* 2003; 43(2): 145-71
- Takei HH, Caranza FA, Shin K. 2015a. Gingival Surgical Techniques. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PP, Caranza FA, editor. *Carranza's Clinical Periodontology*, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders; Hal.544
- Takei HH, Caranza FA. 2015b. The Periodontal Flap. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PP, Caranza FA, editor. *Carranza's Clinical Periodontology*, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders;. Hal.551.
- Takei HH, Nevins ML, Cochran DL, Caranza FA, Reynolds MA. 2015c. Reconstructive Periodontal Surgery. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PP, Caranza FA, editor. *Carranza's Clinical Periodontology*, 12th ed. Missouri: Elsevier Saunders;. Hal.578-583
- Tampubolon NS. 2005. Dampak Karies Gigi dan Penyakit Periodontal terhadap Kualitas Hidup [Penguahan Guru Besar]. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Wiegand, C., Winter, D., Hipler, UC. 2010. Molecular-Weight-Dependent Toxic Effects of Chitosans on the Human Keratinocyte Cell Line HaCaT. *Skin Pharmacol Physiol*; 23(3):164–70.
- WWF Indonesia. 2014. *BUDIDAYA UDANG VANNAMEI: Tambak Semi Intensif dengan Tambak Semi Intensif dengan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL)*. Seri Panduan Perikanan Skala Kecil. Jakarta: Penerbit WWF-Indonesia. Hal. 2

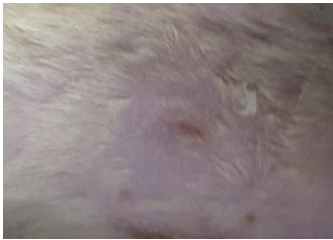


LAMPIRAN

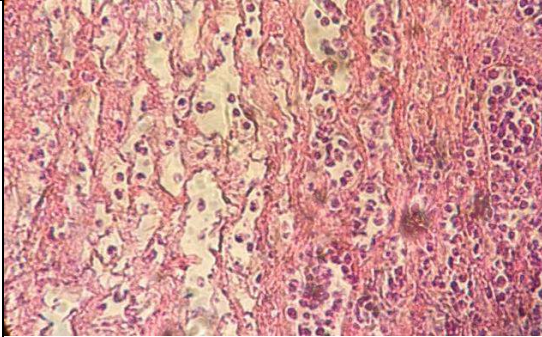
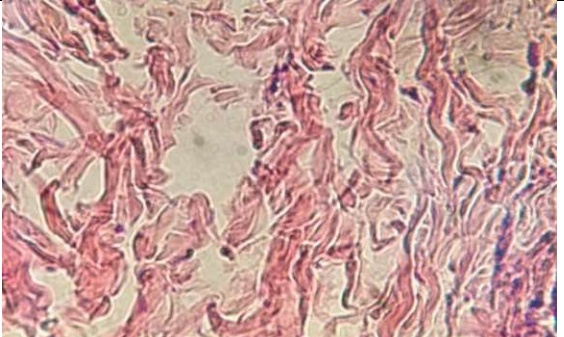
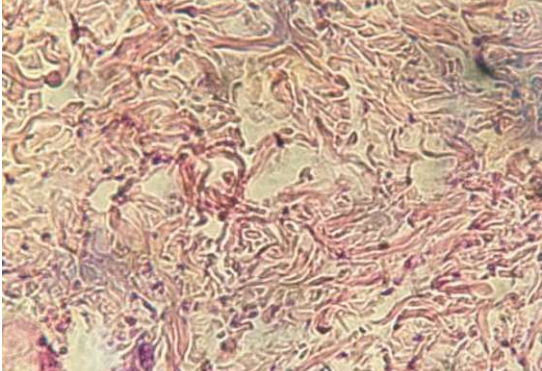
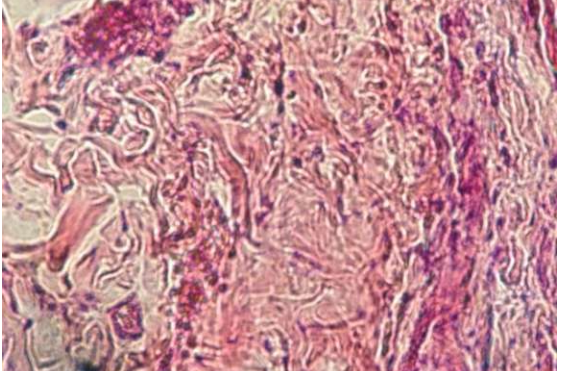
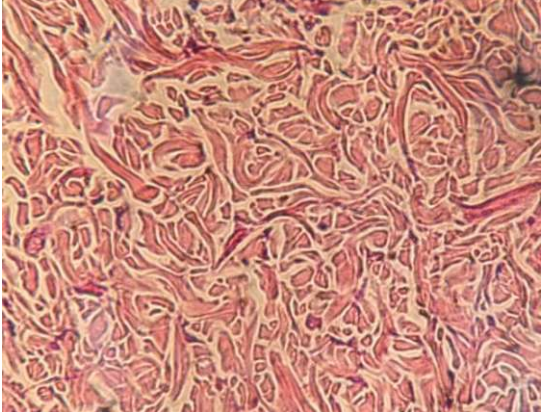
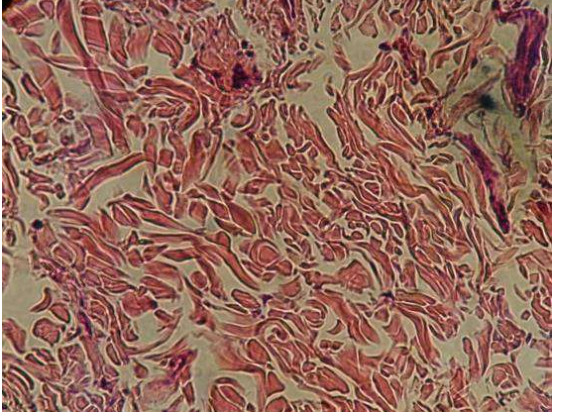


1. LAMPIRAN GAMBAR

Pemeriksaan secara klinis

Hari	Eksperimen	Kontrol
3		
5		
7		

Pemeriksaan Histologis Jaringan

Hari	Eksperimen	Kontrol
3		
5		
7		



Prosedur Pembuatan

Pembuatan Kitosan



Proses demineralisasi



Proses deproteinisasi



Proses deasetilasi



Pengeringan Kitosan



Serbuk Kitosan

Pembuatan Gel Kitosan



Dilautkan kitosan dalam asam asetat
menggunakan homogenizer



Dimasukkan gliserol, lalu
dihomogenkan dengan homogenizer



Pembuatan Modifikasi *Periodontal dressing*



Alat dan Bahan Pembedahan punggung tikus



Pembedahan punggung tikus



Preparat Jaringan



2. LAMPIRAN HASIL PENGAMATAN

TABEL 10. HASIL PENGAMATAN SKOR PMN

Kelompok	Hari 3	Hari 5	Hari 7
Eksperimen			
1	3	2	1
2	2	1	1
3	3	3	1
4	3	1	1
Kontrol			
1	2	3	2
2	2	3	1
3	2	2	2
4	1	2	1

TABEL 11. HASIL PENGAMATAN SKOR FIBROBLAST

Kelompok	Hari 3	Hari 5	Hari 7
Eksperimen			
1	2	2	3
2	1	2	3
3	2	3	3
4	1	2	3
Kontrol			
1	1	1	3
2	1	1	1
3	1	2	2
4	1	2	1



3. LAMPIRAN ANALISIS SPSS

Friedman Fibroblast

Ranks

	Mean Rank
Fibroblas_Eksperimen_Hari_7	2,88
Fibroblas_Eksperimen_Hari_5	2,00
Fibroblas_Eksperimen_Hari_3	1,13

Test Statistics^a

N	4
Chi-Square	7,000
Df	2
Asymp. Sig.	,030

a. Friedman Test

Ranks

	Mean Rank
Fibroblas_Kontrol_Hari_3	1,50
Fibroblas_Kontrol_Hari_5	2,25
Fibroblas_Kontrol_Hari_7	2,25

Test Statistics^a

N	4
Chi-Square	2,000
Df	2
Asymp. Sig.	,368

a. Friedman Test



PMN

Ranks

	Mean Rank
PMN_Eksperimen_Hari_3	2,88
PMN_Eksperimen_Hari_5	2,00
PMN_Eksperimen_Hari_7	1,13

Test Statistics^a

N	4
Chi-Square	7,000
Df	2
Asymp. Sig.	,030

a. Friedman Test

Ranks

	Mean Rank
PMN_Kontrol_Hari_3	1,75
PMN_Kontrol_Hari_5	2,75
PMN_Kontrol_Hari_7	1,50

Test Statistics^a

N	4
Chi-Square	5,600
Df	2
Asymp. Sig.	,061

a. Friedman Test



Wilcoxon

PMN

		Ranks		
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
PMN_Eksperimen_Hari_5 -	Negative Ranks	3 ^a	2,00	6,00
PMN_Eksperimen_Hari_3	Positive Ranks	0 ^b	,00	,00
	Ties	1 ^c		
	Total	4		
PMN_Eksperimen_Hari_7 -	Negative Ranks	4 ^d	2,50	10,00
PMN_Eksperimen_Hari_3	Positive Ranks	0 ^e	,00	,00
	Ties	0 ^f		
	Total	4		
PMN_Eksperimen_Hari_7 -	Negative Ranks	3 ^g	2,00	6,00
PMN_Eksperimen_Hari_5	Positive Ranks	0 ^h	,00	,00
	Ties	1 ⁱ		
	Total	4		
PMN_Kontrol_Hari_5 -	Negative Ranks	0 ^j	,00	,00
PMN_Kontrol_Hari_3	Positive Ranks	3 ^k	2,00	6,00
	Ties	1 ^l		
	Total	4		
PMN_Kontrol_Hari_7 -	Negative Ranks	1 ^m	1,00	1,00
PMN_Kontrol_Hari_3	Positive Ranks	0 ⁿ	,00	,00
	Ties	3 ^o		



	Total	4		
PMN_Kontrol_Hari_7 -	Negative Ranks	3 ^p	2,00	6,00
PMN_Kontrol_Hari_5	Positive Ranks	0 ^q	,00	,00
	Ties	1 ^r		
	Total	4		

- a. PMN_Eksperimen_Hari_5 < PMN_Eksperimen_Hari_3
- b. PMN_Eksperimen_Hari_5 > PMN_Eksperimen_Hari_3
- c. PMN_Eksperimen_Hari_5 = PMN_Eksperimen_Hari_3
- d. PMN_Eksperimen_Hari_7 < PMN_Eksperimen_Hari_3
- e. PMN_Eksperimen_Hari_7 > PMN_Eksperimen_Hari_3
- f. PMN_Eksperimen_Hari_7 = PMN_Eksperimen_Hari_3
- g. PMN_Eksperimen_Hari_7 < PMN_Eksperimen_Hari_5
- h. PMN_Eksperimen_Hari_7 > PMN_Eksperimen_Hari_5
- i. PMN_Eksperimen_Hari_7 = PMN_Eksperimen_Hari_5
- j. PMN_Kontrol_Hari_5 < PMN_Kontrol_Hari_3
- k. PMN_Kontrol_Hari_5 > PMN_Kontrol_Hari_3
- l. PMN_Kontrol_Hari_5 = PMN_Kontrol_Hari_3
- m. PMN_Kontrol_Hari_7 < PMN_Kontrol_Hari_3
- n. PMN_Kontrol_Hari_7 > PMN_Kontrol_Hari_3
- o. PMN_Kontrol_Hari_7 = PMN_Kontrol_Hari_3
- p. PMN_Kontrol_Hari_7 < PMN_Kontrol_Hari_5
- q. PMN_Kontrol_Hari_7 > PMN_Kontrol_Hari_5
- r. PMN_Kontrol_Hari_7 = PMN_Kontrol_Hari_5



Test Statistics^a

	PMN_Eksperimen_Hari_5 - PMN_Eksperimen_Hari_3	PMN_Eksperimen_Hari_7 - PMN_Eksperimen_Hari_3	PMN_Eksperimen_Hari_7 - PMN_Eksperimen_Hari_5	PMN_Kontrol_Hari_5 - PMN_Kontrol_Hari_3	PMN_Kontrol_Hari_7 - PMN_Kontrol_Hari_3	PMN_Kontrol_Hari_7 - PMN_Kontrol_Hari_5
Z	-1,732 ^b	-1,890 ^b	-1,633 ^b	-1,732 ^c	-1,000 ^b	-1,633 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083	,059	,102	,083	,317	,102

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

c. Based on negative ranks.

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Fibroblas_Eksperimen_Hari_5 -	Negative Ranks	0 ^a	,00	,00
	Positive Ranks	3 ^b	2,00	6,00
Fibroblas_Eksperimen_Hari_3	Ties	1 ^c		
	Total	4		
Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 -	Negative Ranks	0 ^d	,00	,00
	Positive Ranks	4 ^e	2,50	10,00
Fibroblas_Eksperimen_Hari_3	Ties	0 ^f		
	Total	4		
Fibroblas_Eksperimen_Hari_5 -	Negative Ranks	0 ^g	,00	,00
	Positive Ranks	3 ^h	2,00	6,00



Fibroblas_Eksperimen_Hari_5	Ties	1 ⁱ		
	Total	4		
Fibroblas_Kontrol_Hari_5 -	Negative Ranks	0 ^j	,00	,00
Fibroblas_Kontrol_Hari_3	Positive Ranks	2 ^k	1,50	3,00
	Ties	2 ^l		
	Total	4		
Fibroblas_Kontrol_Hari_7 -	Negative Ranks	0 ^m	,00	,00
Fibroblas_Kontrol_Hari_3	Positive Ranks	2 ⁿ	1,50	3,00
	Ties	2 ^o		
	Total	4		
Fibroblas_Kontrol_Hari_7 -	Negative Ranks	2 ^p	2,00	4,00
Fibroblas_Kontrol_Hari_5	Positive Ranks	2 ^q	3,00	6,00
	Ties	0 ^r		
	Total	4		

- Fibroblas_Eksperimen_Hari_5 < Fibroblas_Eksperimen_Hari_3
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_5 > Fibroblas_Eksperimen_Hari_3
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_5 = Fibroblas_Eksperimen_Hari_3
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 < Fibroblas_Eksperimen_Hari_3
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 > Fibroblas_Eksperimen_Hari_3
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 = Fibroblas_Eksperimen_Hari_3
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 < Fibroblas_Eksperimen_Hari_5
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 > Fibroblas_Eksperimen_Hari_5
- Fibroblas_Eksperimen_Hari_7 = Fibroblas_Eksperimen_Hari_5
- Fibroblas_Kontrol_Hari_5 < Fibroblas_Kontrol_Hari_3



- k. Fibroblas_Kontrol_Hari_5 > Fibroblas_Kontrol_Hari_3
- l. Fibroblas_Kontrol_Hari_5 = Fibroblas_Kontrol_Hari_3
- m. Fibroblas_Kontrol_Hari_7 < Fibroblas_Kontrol_Hari_3
- n. Fibroblas_Kontrol_Hari_7 > Fibroblas_Kontrol_Hari_3
- o. Fibroblas_Kontrol_Hari_7 = Fibroblas_Kontrol_Hari_3
- p. Fibroblas_Kontrol_Hari_7 < Fibroblas_Kontrol_Hari_5
- q. Fibroblas_Kontrol_Hari_7 > Fibroblas_Kontrol_Hari_5
- r. Fibroblas_Kontrol_Hari_7 = Fibroblas_Kontrol_Hari_5

Test Statistics^a

	Fibroblas_Eksper imen_Hari_5 - Fibroblas_Eksper imen_Hari_3	Fibroblas_Ekspe rimen_Hari_7 - Fibroblas_Ekspe rimen_Hari_3	Fibroblas_Ekspe rimen_Hari_7 - Fibroblas_Ekspe rimen_Hari_5	Fibroblas_Kontro l_Hari_5 - Fibroblas_Kontro l_Hari_3	Fibroblas_Kontro l_Hari_7 - Fibroblas_Kontro l_Hari_3	Fibroblas_Kontro l_Hari_7 - Fibroblas_Kontro l_Hari_5
Z	-1,732 ^b	-1,857 ^b	-1,732 ^b	-1,414 ^b	-1,342 ^b	-,378 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083	,063	,083	,157	,180	,705

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on negative ranks.



Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	Hari	N	Mean Rank
fibroblas	ke-3 Eksperimen	4	10,25
	ke-5 Eksperimen	4	16,75
	ke-7 Eksperimen	4	20,25
	ke-3 Kontrol	4	5,50
	ke-5 Kontrol	4	10,25
	ke-7 Kontrol	4	12,00
	Total	24	
pmn	ke-3 Eksperimen	4	19,50
	ke-5 Eksperimen	4	13,25
	ke-7 Eksperimen	4	4,50
	ke-3 Kontrol	4	11,25
	ke-5 Kontrol	4	17,50
	ke-7 Kontrol	4	9,00
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	fibroblas	pmn
Chi-Square	12,682	13,907
Df	5	5
Asymp. Sig.	,027	,016

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Hari



Mann-Whitney Test

Ranks				
	Hari	N	Mean Rank	Sum of Ranks
fibroblas	ke-3 Eksperimen	4	5,50	22,00
	ke-3 Kontrol	4	3,50	14,00
	Total	8		
pmn	ke-3 Eksperimen	4	6,13	24,50
	ke-3 Kontrol	4	2,88	11,50
	Total	8		

Test Statistics^a

	fibroblas	Pmn
Mann-Whitney U	4,000	1,500
Wilcoxon W	14,000	11,500
Z	-1,528	-2,055
Asymp. Sig. (2-tailed)	,127	,040
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 ^b	,057 ^b

a. Grouping Variable: Hari

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	Hari	N	Mean Rank	Sum of Ranks
fibroblas	ke-5 Eksperimen	4	5,75	23,00
	ke-5 Kontrol	4	3,25	13,00
	Total	8		
pmn	ke-5 Eksperimen	4	3,75	15,00
	ke-5 Kontrol	4	5,25	21,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	fibroblas	Pmn
Mann-Whitney U	3,000	5,000
Wilcoxon W	13,000	15,000
Z	-1,667	-,949
Asymp. Sig. (2-tailed)	,096	,343
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 ^b	,486 ^b

a. Grouping Variable: Hari

b. Not corrected for ties.



Ranks				
	Hari	N	Mean Rank	Sum of Ranks
fibroblas	ke-7 Eksperimen	4	6,00	24,00
	ke-7 Kontrol	4	3,00	12,00
	Total	8		
pmn	ke-7 Eksperimen	4	3,50	14,00
	ke-7 Kontrol	4	5,50	22,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	fibroblas	PMN
Mann-Whitney U	2,000	4,000
Wilcoxon W	12,000	14,000
Z	-2,000	-1,528
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046	,127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 ^b	,343 ^b

a. Grouping Variable: Hari

b. Not corrected for ties.

