

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol IV. No 3. Desember 2020

**PENGARUH PERENDAMAN LARUTAN KITOSAN SISIK IKAN HARUAN
 (*Channa striata*) TERHADAP PELEPASAN KALSIMUM PADA GIGI**

Muhammad Alfi Ghifari¹⁾, Deby Kania Tri Putri²⁾, Yuniar Elsa Dwinuria³⁾

¹⁾ Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

²⁾ Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

³⁾ Departemen Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

ABSTRACT

Background: Apart from being antibacterial, chitosan (*Channa striata*) fish scales solution can also be used to maintain tooth structure by reducing the solubility rate of hydroxyapatite or preventing demineralization of teeth in acidic conditions. **Objective:** To examine the effect of immersion of chitosan solution of scaled fish (*Channa striata*) 2,5% and 5% on the release of calcium (Ca) teeth. **Method:** Experimental study with a post-test only with control group design consisting of 3 treatment groups, namely negative control, a concentration of 2,5%, and 5% where each treatment after teeth were immersed in a solution of lactic acid with a pH 5,2 by reading the value of the release of tooth calcium released using atomic absorption spectrophotometry (AAS). **Results:** The concentrations of 2,5% and 5% were able to inhibit the release of calcium in the teeth. **Conclusion:** Chitosan scales chitosan (*Channa striata*) solution at a concentration of 2,5% has the best potential as a biomaterial in inhibiting demineralization.

Keywords: Acid, Calcium, Chitosan, Demineralization, Haruan.

ABSTRAK

Latar Belakang: Larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) selain bersifat sebagai antibakteri juga dapat digunakan untuk mempertahankan struktur gigi dengan mengurangi kecepatan kelarutan hidroksiapatit atau mencegah demineralisasi gigi dalam kondisi asam. **Tujuan:** Menguji pengaruh perendaman larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 2,5% dan 5% terhadap pelepasan kalsium (Ca) gigi. **Metode:** Metode eksperimental murni dengan *post test-only with control group design* terdiri dari 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, larutan kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 2,5%, dan 5% yang diberikan pada gigi yang direndam pada larutan asam laktat dengan pH 5,2 dengan pembacaan kadar pelepasan kalsium gigi yang terlepas menggunakan alat spektrofotometri serapan atom (SSA). **Hasil:** Pada konsentrasi 2,5% sudah mampu menghambat pelepasan kalsium pada gigi. **Kesimpulan :** Larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) konsentrasi 2,5% dan 5% berpotensi sebagai biomaterial dalam menghambat demineralisasi pada gigi.

Kata kunci : Asam, Demineralisasi, Haruan, Kalsium, Kitosan.

Korespondensi : Muhammad Alfi Ghifari; Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Veteran 128B Banjarmasin, Kalimantan Selatan.
 E-mail author : malfighifari@gmail.com

PENDAHULUAN

Karies merupakan penyakit rongga mulut yang sering ditemukan di masyarakat. Prevalensi karies terus meningkat terutama pada negara-negara berkembang. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018, angka prevalensi karies di Indonesia mencapai 88,8%.¹

Karies gigi merupakan manifestasi patologis dari jaringan gigi yang rusak disebabkan oleh asam organik yaitu asam laktat yang merupakan hasil produk sampingan fermentasi dari karbohidrat seperti sukrosa,

fruktosa, dan glukosa oleh bakteri dalam plak gigi.^{2,3} Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa strain bakteri *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) berperan penting sebagai bakteri dominan penyebab karies gigi. Hasil produksi asam tersebut mengakibatkan pH cairan di sekitar gigi menjadi rendah karena kenaikan konsentrasi ion hidrogen. Ion hidrogen ini mampu berdifusi pada seluruh pori-pori enamel dan dentin sehingga memicu demineralisasi salah satunya kalsium

yang merupakan komponen utama dalam struktur anorganik gigi.⁴

Proses demineralisasi pada siklus normal ini diikuti oleh proses remineralisasi. Demineralisasi mulai terjadi ketika pH kurang dari 5,5 dan pH rongga mulut setelah makan berkisar 5,2-5,5 dan akan kembali normal setelah 20-30 menit diikuti proses remineralisasi.⁵ Namun, jika siklus demineralisasi dan remineralisasi tidak seimbang dari waktu ke waktu maka proses karies akan terus berjalan.⁶ Berbagai metode telah dikembangkan untuk mencegah demineralisasi enamel gigi. Fluoridasi topikal dan sistemik merupakan metode yang terbukti dapat meningkatkan daya tahan enamel terhadap demineralisasi. Namun, jika fluor digunakan secara berlebihan dapat terjadi fluorosis pada gigi sehingga metode pencegahan demineralisasi yang paling efektif yaitu dengan mengurangi penetrasi asam pada gigi.⁶

Studi terbaru dalam kedokteran gigi berfokus pada penggunaan bahan alami seperti kitosan. Kitosan tidak beracun, biokompatibel, dan dapat terurai secara hayati. Kitosan merupakan turunan polisakarida linear kitin yang dapat disintesis dari berbagai organisme yang salah satunya terdapat pada sel dibawah lapisan dermis dari sisik ikan. Di sisi lain, masyarakat Kalimantan Selatan gemar mengonsumsi ikan haruan (*Channa striata*). Kebutuhan akan konsumsi ikan haruan (*Channa striata*) yang tinggi pada akhirnya akan menyisakan limbah sisik ikan yang berpotensi mencemarkan lingkungan sehingga perlu pemanfaatan salah satunya dengan mengolahnya menjadi kitosan.^{7,8}

Penelitian kitosan dari sisik ikan haruan (*Channa striata*) sudah mulai dilakukan seperti pada penelitian Putri yang melakukan karakteristik kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan derajat deasetilasi 85,25% dan Widyaningrum tahun 2019 yang menguji aktivitas antibakteri larutan kitosan dari sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan derajat deasetilasi 85,25% didapatkan efektif membunuh *Staphylococcus aureus*.^{9,10} Selain bersifat sebagai antibakteri, kitosan juga dapat digunakan untuk mempertahankan struktur gigi dengan mengurangi kecepatan keluaran hidroksiapatit dalam kondisi asam. Berdasarkan penelitian Suriya tahun 2018, pada pelarutan kitosan buatan pabrik dengan derajat deasetilasi >90% terbukti mampu menghambat peluruhan kalsium pada gigi sehingga peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan derajat deasetilasi 85,25% pada konsentrasi 2,5% dan 5% terhadap pelepasan kalsium pada gigi.⁶

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *posttest only with control group design* yang terdiri dari 3 perlakuan dengan jumlah pengulangan setiap perlakuan sebanyak 5 kali. Penelitian dilakukan dari bulan Januari-April 2020 setelah mendapatkan izin penelitian dan kelaikan etik

oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat No.045/KEPKG-FKGULM/EC/1/2020.

Alat dan Bahan

Sisik ikan haruan yang sudah dicuci bersih, NaOH 4%, HCl 1% (1-2 N), NaOH 50%, aquades, asam asetat 1%, larutan fisiologis (NaCl), I₂KI 1%, H₂SO₄ 1 N, 15 gigi premolar 1 atau premolar 2 rahang atas (bebas karies dan fraktur), cat kuku, larutan asam laktat pH 5,2, neraca digital, alat gelas (labu Erlenmeyer, beaker glass), *shaker*, tabung *sentrifuge*, pH meter, blender, oven, mikromotor, *low speed handpiece* tipe *straight*, dan *separating disc*, dan alat spektrofotometri serapan atom (SSA).¹⁰

Pembuatan Kitosan Sisik Ikan Haruan

Prosedur penelitian ini dimulai dengan pembuatan kitosan dari sisik ikan haruan. Sisik ikan haruan dibersihkan dan dikeringkan lalu dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi bubuk.¹⁰

Isolasi Kitin

Deproteinasi. Proses deproteinasi dilakukan untuk menghilangkan kandungan protein dalam sisik. Sisik yang telah dihancurkan dimasukkan ke dalam gelas beaker kemudian direndam dalam natrium hidroksida (NaOH) yang mendidih (4% b/v) selama 1 jam. Selanjutnya, pH dinetralkan dan isolat dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam dengan suhu 50°C.¹⁰

Demineralisasi. Proses demineralisasi dilakukan untuk menghilangkan kandungan mineral (terutama kalsium karbonat) dalam sisik ikan. Hasil dari deproteinasi dimasukkan dalam 1% HCl dengan perbandingan sampel dan HCl adalah 1:4 dan waktu perendaman selama 24 jam. Campuran itu kemudian dinetralkan menggunakan air suling dan dikeringkan dalam oven selama 24 jam dengan suhu 50°C.¹⁰

Uji Kitin. Hasil sampel diuji terlebih dahulu untuk mendeteksi keberadaan kitin menggunakan reaksi warna *Van Wesseling*. Serbuk sisik ikan Haruan direaksikan dengan larutan I₂-KI 1% untuk membuat perubahan warna serbuk menjadi cokelat. Setiap perubahan warna bubuk menjadi ungu setelah penambahan bubuk H₂SO₄ murni menunjukkan hasil positif dari kitin.¹⁰

Deasetilasi. Prosedur selanjutnya adalah deasetilasi untuk menghasilkan kitosan. Serbuk kitin sisik ikan haruan dicampur dengan 50% NaOH kemudian direbus pada suhu 80° C selama 2 jam di atas *hot plate* setelah itu pH dinetralkan. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam pada suhu 50°C. Kitosan yang diperoleh dari hasil deasetilasi dalam bentuk serbuk berwarna putih krem memiliki derajat deasetilasi sebesar 85,25% dan nilai kadar abu sebesar 0,45%.¹⁰

Perendaman dan Pembacaan Pelepasan Kalsium

Larutan kitosan sisik ikan haruan 2,5% dan 5% dibuat dengan cara melarutkan kitosan sisik ikan haruan kedalam asam asetat 1% (w/v) dengan masing-masing hasil larutan dengan volume 10 ml.¹¹

Gigi dipotong antara mahkota dengan akar menggunakan *separating disc*. Mahkota gigi pada bagian bekas pemotongan dilapisi dengan cat kuku.⁶ Mahkota gigi direndam selama 30 menit sesuai lama waktu terjadinya pH kritis 5,2 dalam rongga mulut setelah makan yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok A sebagai kontrol negatif yaitu mahkota gigi direndam dalam larutan asam laktat pH 5,2, kelompok B direndam dalam larutan asam laktat pH 5,2 ditambahkan 10 ml larutan kitosan sisik ikan haruan 2,5%, kelompok C direndam dalam larutan asam laktat pH 5,2 ditambahkan 10 ml larutan kitosan sisik ikan haruan 5%. Tiap kelompok direndam pada *beaker glass*. Setelah direndam gigi diambil dari media perendaman.

Media perendaman kemudian dilakukan pengukuran kadar pelepasan kalsium dengan menggunakan alat Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang spesifik 422,7 nm dan tingkat sensitivitas $\geq 0,001$ ppm.

HASIL

Hasil penelitian uji kadar kalsium (Ca) yang terlepas pada gigi premolar rahang atas setelah dilakukan perendaman diperoleh nilai rata-rata yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rerata (*mean*) dan Standar Deviasi Pelepasan Kadar Kalsium (Ca) pada Gigi setelah Dilakukan Perendaman

Kelompok Perlakuan	N	Mean \pm Standar Deviasi
Kelompok A	5	0,29 \pm 0,04 ppm
Kelompok B	5	0,00 \pm 0,00* ppm
Kelompok C	5	0,00 \pm 0,00* ppm

Keterangan :

* Tidak terdeteksi

N= Jumlah sampel

Kelompok A = Gigi premolar rahang atas direndam dalam larutan asam laktat pH 5,2

Kelompok B = Gigi premolar rahang atas direndam dalam larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 2,5% dan larutan asam laktat pH 5,2.

Kelompok C = Gigi premolar rahang atas direndam dalam larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 5% dan larutan asam laktat pH 5,2.

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa rata-rata tertinggi nilai kadar kalsium (Ca) yang terlepas pada gigi premolar setelah dilakukan perendaman ditunjukkan pada kelompok A yaitu sebesar 0,29 ppm, sedangkan pada kelompok perendaman dalam larutan kitosan 2,5% dan larutan kitosan 5% memiliki nilai rata-rata kadar pelepasan kalsium (Ca) 0 ppm atau tidak terdeteksi sehingga tidak perlu dilakukan uji statistik.

PEMBAHASAN

Perbedaan nilai kadar kalsium (Ca) yang terlepas antara kelompok A dengan kelompok B dan C pada larutan perendaman dapat disebabkan oleh adanya perbedaan pengaruh tingkat keasaman atau kandungan H^+ masing-masing larutan perendaman dan kemampuan kitosan dalam menghambat penetrasi asam tersebut pada gigi.¹²

Kelompok A menunjukkan terjadi pelepasan kadar kalsium (Ca) sebesar 0,29 ppm yang membuktikan telah terjadi demineralisasi pada gigi. Larutan asam memicu demineralisasi karena ion H^+ yang terdapat pada larutan akan memengaruhi ikatan kristal hidroksiapatit pada gigi. Hidroksiapatit $\{Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2\}$ bersifat reaktif terhadap ion hidrogen (H^+). Ketika ion H^+ meningkat maka OH^- dari kristal hidroksiapatit akan terlepas karena diikat oleh ion H^+ dari asam tersebut dan membentuk air dengan reaksi $H^+ + OH^- \leftrightarrow H_2O$. Kemudian lepasnya OH^- dari kristal hidroksiapatit ini mengakibatkan fosfat inorganik dari kristal hidroksiapatit terdemineralisasi yang akan terdapat dalam 4 bentuk yaitu H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , dan PO_4^{3-} . Bentuk H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, dan HPO_4^{2-} terjadi karena kontak antara H^+ dari larutan asam dengan fosfat inorganik tadi sehingga bentuk tersebut tidak dapat berkontribusi terhadap keseimbangan hidroksiapatit normal yang menyebabkan kristal hidroksiapatit larut dan lepasnya kalsium dari gigi. Kalsium yang terlepas kemudian dapat membentuk $CaHPO_4$.^{13,14,15}

Faktor lain yang juga memengaruhi lepasnya kalsium pada kristal hidroksiapatit adalah pembentukan kompleks khelat antara asam dengan mineral pada kristal hidroksiapatit. Asam laktat memiliki gugusan COOH, gugusan COOH akan mengalami proses pemisahan senyawa ionik menjadi ion-ion yang lebih kecil dalam larutan sehingga akan membentuk H^+ yang berikatan dengan H_2O menjadi H_3O^+ dan COO^- yang tersisa akan berkhelasi dengan ion kalsium (Ca^{2+}) dan menyebabkan kalsium tersebut keluar dari kristal hidroksiapatit. Semakin kuat ikatan, maka semakin banyak pula ion kalsium yang keluar dari kristal hidroksiapatit yang nantinya diikuti lepasnya ion-ion lain.^{16,17}

Pada kelompok B dan C menunjukkan nilai kadar pelepasan kalsium sebesar 0 ppm. Nilai 0 ppm ini sendiri tidak memiliki arti bahwa sama sekali tidak terjadi pelepasan kalsium. Hal ini karena tingkat sensitivitas dari spektrofotometri serapan atom pada

penelitian ini hanya dapat mendeteksi $\geq 0,001$ ppm. Namun, hasil ini menandakan bahwa kemungkinan kalsium yang terlepas dari gigi sangat rendah yaitu $< 0,001$ ppm sehingga tidak terdeteksi dan menunjukkan bahwa demineralisasi gigi dapat dihambat oleh larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) konsentrasi 2,5% dan 5%. Faktor yang mungkin menjelaskan mekanisme kitosan mampu menghambat demineralisasi yaitu kitosan berikatan dengan permukaan enamel membentuk selubung mekanis untuk mencegah penetrasi asam pada gigi. Gugus $-NH_2$ pada kitosan berinteraksi dengan ion H^+ dari asam asetat untuk membentuk $-NH_3^+$ dan membuat molekul bermuatan positif. Muatan positif ini kemudian dapat berinteraksi melapisi permukaan enamel yang bermuatan negatif sebagai penghalang mekanis untuk penetrasi asam dalam enamel sehingga demineralisasi dapat terhambat.^{6,18}

Tidak adanya perbedaan nilai kadar pelepasan kalsium antara kelompok B dan C menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2,5% mungkin sudah memiliki gugus amina yang cukup atau bahkan lebih untuk menghambat demineralisasi. Hal ini dapat dikaitkan dengan derajat deasetilisasi kitosan. Nilai derajat deasetilisasi kitosan yang semakin tinggi maka jumlah gugus amina bermuatan positif yang terbentuk semakin banyak dan berbanding lurus dengan konsentrasi kitosan, sehingga semakin banyak gugus amina maka kemampuan penghalang mekanis juga meningkat.^{10,18}

Pada penelitian ini selain mampu menghambat demineralisasi juga ditemukan potensi larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dalam membantu remineralisasi yaitu terdapatnya kemungkinan keberadaan kalsium karbonat dan kalsium fosfat yang berasal dari kitosan. Keberadaan kalsium karbonat dan kalsium fosfat ini berkaitan dengan kadar abu pada kitosan. Nilai kadar abu kitosan menunjukkan bahwa proses pada tahap demineralisasi saat pembuatan kitosan belum sepenuhnya mampu menghilangkan mineral-mineral anorganik dalam sampel terutama kalsium karbonat dan kalsium.¹⁰ Hal ini menunjukkan kitosan berpotensi melepaskan ion kalsium sehingga menyebabkan adanya *common ion effect* antara ion kalsium di gigi dengan ion kalsium dalam larutan yang mencegah ion kalsium dari gigi terlarut dan meningkatkan potensi remineralisasi pada gigi.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan derajat deasetilisasi 85,25% pada konsentrasi 2,5% dan 5% mampu menghambat pelepasan kalsium (Ca) pada gigi dan memiliki potensi sebagai biomaterial dalam menghambat demineralisasi dan juga berperan dalam proses remineralisasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI. 2018. p.204
2. Colak H, Dülgergil CT, Dalli M, Hamidi MM. Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *J Nat Sci Biol Med.* 2013;4(1):29–38.
3. Ayilliath, Ambili & Savitha, Sathyaprasad & Kottigade, Subbannaya & Sreeshma, & Kamath, Ananth. (2013). Relationship of Severe Early Childhood Caries to Maternal Microbial Flora and Salivary Buffering Capacity. *Health Sciences.* 2013;2(2).
4. Panigoro S, Pangemanan DHC, Juliatri. Kadar Kalsium Gigi yang Terlarut pada Perendaman Minuman Isotonik. *Jurnal e-GiGi (eG).* 2015; 3(2) : 356- 360.
5. Hidayat S, Adhani R, Arywa IW. Perbedaan pH Saliva Menggosok gigi Sebelum dan Sesudah Mengonsumsi Makanan Manis dan Lengket (Pengukuran Menggunakan pH Meter pada Anak Usia 10-12 Tahun di SDN Melayu 2 Banjarmasin). *Jurnal Dentino Kedokteran Gigi.* 2014. Vol II. No 1 : 39-45.
6. Suriya I, Gunawan HA, Amir LR. Effect of chitosan on the enamel demineralization process in vitro: an enamel solubility test. *Journal of Physics:* 2018. Conf. Series 1073 : 1-6.
7. Faridah F, Khafidzoh A, Mustikawati D, Anggraeni N, Dharmawan Y. Chitosan Pada Sisik Ikan Bandeng (*Chanos Chanos*) Sebagai Alternatif Pengawet Alami Pada Bakso. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa.* 2012; 2(2):76-79.
8. Budirahardjo, R. Sisik Ikan Sebagai Bahan yang Berpotensi Mempercepat Proses Penyembuhan Jaringan Lunak Rongga Mulut, Regenerasi Dentin Tulang Alveolar. *Stomatognatic (J K G Unej).* 2010; 7(2): 136-140.
9. Widyaningrum DRW, Putri DKT, Taufiqurrahman I. Antibacterial Activities of Chitosan In Haruan Fish Scales (*Channa striata*) to The Growth of *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Dentino Kedokteran Gigi.* Vol IV. No 2. September 2019 : 162 - 167
10. Putri DKT *et.al.* Synthesis and Characteristics of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) Fish Scales. *Sys Rev Pharm.* 2020; 11(4): 15 20.
11. Mahatmanti FW, Sugiyo W, Sunarto W. Sintesis Kitosan dan Pemanfaatannya sebagai Anti Mikroba Ikan Segar. *Journal Unnes.* 2010. 101-111.
12. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental Erosion-An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological Aspects. *Caries Research.* 2011. p. 212

13. Yuniarti, Achadiyahani, Murniati N. Penggunaan Pemutih Gigi Mengandung Hidrogen Peroksida 40% Dibanding dengan *Strawberry (Fragaria X ananassa)* terhadap Ketebalan Email, Kadar Kalsium, dan Kekuatan Tekan Gigi. *Global Medical and Health Communication*. 2016. Vol. 4 No. 1: 7-15
14. Ehrlich H, Koutsoukos PG, Demadis KD, Pokrovsky OS. Principles of Demineralization: Modern Strategies for the Isolation Organic Frameworks. Elsevier. 2009. p. 169-193
15. Nasution A. Jaringan Keras Gigi Aspek Mikrostruktur dan Aplikasi Riset. Syiah Kuala University Press ; 2016.p.2;p.21;p.31
16. Featherstone JDB, Lussi A. Understanding the Chemistry of Dental Erosion. *Monogr Oral Sci*. 2006. 20: 66-76.
17. Neel EAA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM et al. Demineralization-remineralization Dynamics in Teeth and Bone. *Dove Press Journal*. 2016. 11: 4743-4763.
18. Visveswaraiah PM, Prasad D, Johnson S. Chitosan A Novel Way to Intervene in Enamel Demineralization - An in Vitro Study. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 2014; 3(11): 617-627.