

LAPORAN PENELITIAN

Perbedaan Kitosan Berat Molekul Rendah dan Tinggi Terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi

(The Differences Effect Between Low and High Molecular Weight Chitosan on Number of Lymphocyte Cells in the Wound Healing Process of Dental Extraction)

Felinda Gunawan*, Sularsih**, Soemartono***

*Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

**Ilmu Material dan Teknologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

***Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

ABSTRACT

Background: Molecular weight is one of the chitosan characteristic that affects the effectiveness application for wound healing of dental extraction. Chitosan could improve wound healing process because of its anti inflammation property and improve proliferation phase. Lymphocyte cell is one of the main cells that act during inflammatory phase. **Purpose:** the aim of this experiment is to account lymphocyte cell in wound healing of dental extraction using chitosan with different molecular weight. **Materials and Methods:** 54 Male Rattus Norvegicus were divided into 3 groups. Group I is control group (without chitosan). Group II was given low molecular weight chitosan. Group III was given high molecular weight chitosan. Rats were sacrificed by decapitation on day 5 and day 7 post extraction then they were examined histopatologically to see the change in lymphocyte cell number. **Result:** Data were statistically analyzed with One Way ANOVA and LSD with degree of significant $p < 0,05$ showed significant difference between high molecular weight chitosan group and low molecular weight chitosan group after 5 and 7 days observation. **Conclusion:** High molecular weight chitosan was found more effective to decrease lymphocyte cell amounts more than low molecular weight chitosan in wound healing of dental extraction process.

Keywords: Chitosan, molecular weight, lymphocyte cell, wound healing

Correspondence: Sularsih, Departement of Materials Science and Techmology Dentistry, Imu Material dan Teknologi, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Phone 031-5912191, Email: l4rs_dentist@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: Berat molekul merupakan salah satu karakteristik dari kitosan yang mempengaruhi efektifitas aplikasi untuk penyembuhan luka pencabutan. Kitosan dapat menunjang proses penyembuhan luka karena dapat sebagai anti-inflamasi dan mendukung tahapan proliferasi. Sel limfosit merupakan salah satu sel yang berperan utama dalam proses inflamasi. **Tujuan:** Mengetahui perbedaan pengaruh antara kitosan berat molekul rendah dan tinggi terhadap jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi. **Bahan dan Metode:** 54 *Rattus Norvegicus* jantan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I adalah kelompok kontrol (tanpa kitosan), kelompok II diberi kitosan gel berat molekul rendah, kelompok III diberi kitosan gel berat molekul tinggi. Dilakukan pengamatan pada hari ke-5 dan ke-7. Tikus didekaputasi dan mandibula tikus diambil kemudian dibuat sediaan histopatologi untuk melihat jumlah sel limfosit. **Hasil:** Analisa statistik One Way ANOVA dan LSD dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kitosan berat molekul tinggi dan rendah pada pengamatan hari ke-5 dan ke-7. **Simpulan:** Kitosan berat molekul tinggi lebih efektif terhadap penurunan jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

Kata kunci: Kitosan, berat molekul, sel limfosit, penyembuhan luka

Korespondensi: Sularsih, Bagian Imu Material dan Teknologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arief Rahman Hakim 150, Surabaya, Telepon 031-5912191, Email: l4rs_dentist@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase terintegrasi yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan.^{1,2,3} Peristiwa setiap tahap harus terjadi secara tepat dan teratur. Ada banyak faktor yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka yang mengganggu satu atau lebih tahapan dalam proses ini, sehingga menyebabkan perbaikan jaringan menjadi terganggu.² Proses penyembuhan luka pencabutan gigi melibatkan proses perbaikan pada jaringan keras yaitu tulang alveolar dan jaringan lunak yaitu ligamen periodontal dan gingiva.^{4,5,6}

Kehilangan gigi akan menyebabkan gangguan fungsi fonetik, mastikasi, dan estetik.⁷ Prostetik konvensional seperti *bridge* dan *partial denture* maupun implan digunakan untuk merestorasi,

mengembalikan fungsi dan estetik dari gigi yang telah dicabut.⁸ Percepatan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi merupakan hal utama yang perlu diperhatikan pada pencabutan gigi agar dapat segera merestorasi gigi yang hilang.⁹

Berbagai metode dikembangkan dalam penanganan luka untuk menghasilkan penyembuhan luka yang optimal, salah satunya adalah pendekatan penyembuhan menggunakan biomaterial. Kitosan merupakan biomaterial yang telah teruji dapat menunjang proses penyembuhan luka.^{3,9,10,11,12} Kitosan merupakan biopolimer karbohidrat alami hasil dari deasetilasi dari chitin, komponen utama dari cangkang *Crustacea sp.* seperti kepiting, udang, dan *crawfish* yang banyak didapat dari limbah *seafood*.^{12,13,14} Kitosan merupakan kopolimer dari Nasetil-glukosamin

dan N-glukosamin. Sejak penemuannya sekitar 200 tahun lalu, kitosan sebagai polimer alam kationik, telah banyak digunakan sebagai *topical dressing* pada manajemen luka karena memiliki sifat antimikroba, tidak toksik, biokompatibel, *biodegradable*, hemostatik dan memodulasi fungsi sel-sel inflamasi dan kemudian mempercepat granulasi dan proses penyembuhan berikutnya sehingga terjadi percepatan penyembuhan luka.¹⁴

Efektivitas bahan kitosan dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu berat molekul, derajat deasetilasi, viskositas, kelarutan, dan pH.^{9,13,14} Beberapa peneliti telah menemukan bahwa percepatan proses penyembuhan luka oleh kitosan terkait dengan struktur kimianya. Parameter utama yang mempengaruhi karakteristik kitosan adalah berat molekul dan derajat deasetilasi. Di pasaran, kitosan yang diproduksi secara komersial tersedia dalam beraneka ragam sumber kitosan dengan *range* berat molekul yang bermacam-macam. Oleh karena itu, karakteristik ini penting untuk dijadikan pertimbangan efektivitasnya dalam aktivitas biomedis untuk mengoptimalkan aplikasi dan hasil yang diinginkan. Kitosan dengan berat molekul tinggi dan derajat deasetilasi tinggi telah ditemukan lebih efektif daripada kitosan berat molekul sedang atau rendah dalam penyembuhan luka bakar.¹¹ Dengan menurunnya berat molekul, ukuran partikel juga makin menurun.¹⁵ Kitosan berat molekul tinggi memiliki viskositas yang tinggi, sedangkan kitosan berat molekul rendah memiliki viskositas yang lebih rendah dan panjang rantai molekul yang pendek.¹⁶ Kitosan dapat segera menimbulkan efek pada proses

penyembuhan luka karena absorpsi yang sangat cepat oleh jaringan saat diaplikasikan secara topikal pada luka.¹¹ Kitosan berat molekul rendah lebih mudah diabsorpsi secara *in vivo* daripada kitosan berat molekul tinggi.¹²

Sel limfosit bermigrasi pada luka mengikuti sel-sel inflamasi dan makrofag. Sel limfosit T muncul secara signifikan pada hari ke-5 luka sampai hari ke-7 dan puncaknya saat fase proliferasi akhir (*lateproliferative*)/ fase awal remodeling (*earlyremodelling*).^{2,17} Peran sel limfosit dalam proses penyembuhan luka adalah melepaskan limfokin yang mempengaruhi populasi dari sel-sel radang lainnya.^{3,18} Sel limfosit T merupakan sel limfosit dengan jumlah tertinggi yang berperan dalam perekrutan makrofag ke daerah luka dengan mengeluarkan limfokin berupa *macrophage aggregating factor* (MAF) dan *macrophage chemotactic factor* (MCF).³ Limfosit juga mempengaruhi sel fibroblas untuk menunjang tahap proliferasi dengan dengan menghasilkan sitokin, seperti IL-2 dan *fibroblast activating factor*.¹⁷

Beberapa studi telah dilaporkan pada penggunaan kitosan sebagai akselerator yang dapat mempercepat penyembuhan luka. Larutan kitosan dari limbah kepiting secara nyata dapat membantu penyembuhan luka pada kulit mencit. Secara mikroskopik kitosan dapat mempercepat infiltrasi sel radang, pertumbuhan jaringan ikat, dan re-epitelisasi. Kitosan mampu meningkatkan jumlah sel limfosit pada pengamatan hari ke-2 dan penurunan jumlah limfosit pada hari ke-4 hingga ke-6 luka insisi kulit mencit.³ Kitosan gel 1% dengan derajat deasetilasi >75% yang diaplikasikan pada luka

pencabutan gigi *Rattus Norvegicus* telah terbukti dapat meningkatkan jumlah sel osteoblas, sel fibroblast dan kolagen tipe I pada lama pengamatan 7 dan 14 hari.⁹ Kitosan dengan konsentrasi 0.25%, 0.5%, 0.75% dan 1% bersifat tidak toksik.¹⁹

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti ingin membuktikan pengaruh penggunaan kitosan yang memiliki berat molekul tinggi dan rendah terhadap penurunan jumlah sel limfosit pada pengamatan hari ke-5 dan ke-7 dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Teknik pengambilan sampel adalah secara *simple random sampling*.

Besar sampel pada penelitian ini adalah 54 ekor *Rattus Norvegicus* jantan strain Wistar usia 3 bulan, berat badan 150-200 gr dibagi dalam 3 kelompok: kelompok kontrol (P₁), kelompok kitosan berat molekul rendah (P₂), kelompok kitosan berat molekul tinggi (P₃). Masing-masing kelompok dibagi dua, kelompok pengamatan hari ke-5 dengan kelompok pengamatan hari ke-7. Sehingga menjadi 6 perlakuan: kontrol hari ke-5 (P_{1.1}), kontrol hari ke-7 (P_{1.2}), kitosan berat molekul rendah hari ke-5 (P_{2.1}), kitosan berat molekul rendah hari ke-7 (P_{2.2}), kitosan berat molekul tinggi hari ke-5 (P_{3.1}), kitosan berat molekul tinggi hari ke-7 (P_{3.2}). Alat digunakan pada penelitian ini terdiri atas : pinset, tang modifikasi elevator khusus untuk mencabut gigi tikus, *Needle holder*, gunting,

Disposable syringe 1cc dan 3cc, *Absorbable sutures*, toples tempat sampel, sarung tangan, masker, *berker glass*, timbangan, pinset, rotary microtome, label, *slide*, *cover glass*, petridish, sarung tangan, mikroskop, kamera. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : Bahan penelitian hewan coba pada penelitian ini terdiri atas kitosan cangkang kepiting SigmaAldrich *low molecular weight*, kitosan cangkang kepiting SigmaAldrich *high molecular weight*, Asam asetat 1%, NaOH, Alkohol 70%, ketamin hydrochloride dan xylazine hydrochloride, buffer formalin 10%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol 100% (absolute), NaOH 50%, *Xylene*, buffer paraffin, asam nitrat 5%, pewarnaan *haematosiklin eosin (HE)*.

Pembuatan kitosan gel dilakukan melarutkan 1 gr bubuk kitosan dalam 100 ml asam asetat 1% pH sekitar 4,0 sesuai dengan aturan pabrik dalam *bekker glass* sehingga menjadi sediaan bentuk gel. Kemudian gel ditetesi dengan NaOH sehingga didapatkan pH dalam kisaran netral.⁹

Semua alat disterilkan dengan panas kering 160°C selama 1 jam. Hewan coba dianestesi menggunakan ketamine dengan dosis 25 mg/kg BB dan xylazine dengan dosis 10 mg/kg BB yang dilarutkan dalam larutan *isotonic saline solution* steril lalu diambil 0,2 ml/ 200 gram BB dan disuntikkan pada paha kanan atas secara intramuskular. Kemudian dilakukan pencabutan gigi insisif kiri rahang bawah pada tikus menggunakan alat modifikasi tang dan elevator. Pastikan tidak ada sisa gigi yang tertinggal di dalam soket gigi. Soket gigi kemudian diirigasi menggunakan *saline solution*. Kitosan gel dengan berat molekul rendah dan

tinggi dalam *syringe* berdiameter kecil dimasukkan ke dalam soket tempat luka pencabutan gigi, kemudian dilanjutkan menjahit lukanya dengan teknik simpul tunggal menggunakan *absorbable sutures*.⁹

Pada masing-masing kelompok 9 ekor didekaputasi pada hari ke-5 dan 9 ekor pada hari ke-7. Kemudian diambil spesimen rahang bawah kiri tikus dan segera di euthanasia.^{6,20} Spesimen rahang dibuat dalam bentuk preparat potongan sagital dengan pengecatan HE. Setelah itu dilakukan pemeriksaan histopatologi pada 1/3 apikal soket dengan pembesaran 400x pada 3 lapang pandang kemudian dihitung jumlah sel limfosit. Hasil perhitungan diambil rata-ratanya.⁹

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil, kemudian dilakukan uji hipotesis menggunakan statistik analitik dengan nilai $p=0,05$ menggunakan program SPSS versi 20.

HASIL

Data hasil penelitian rerata dan simpang baku jumlah sel limfosit dapat dilihat pada Tabel 1.

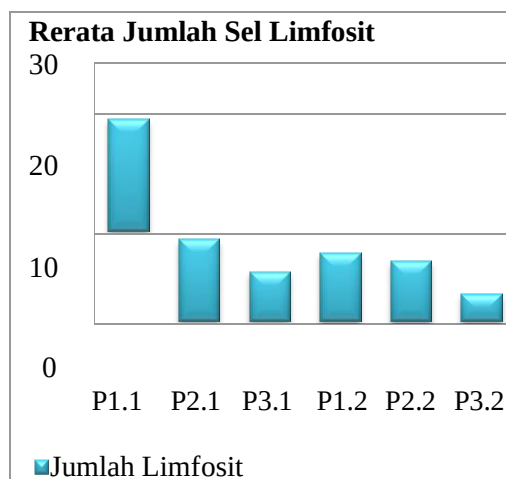
Sebelum dilakukan uji hipotesis, maka setiap kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan uji *Kolomogorov-Smirnov*. Hasil uji *KolomogorovSmirnov* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan hasil uji *Levene* didapatkan nilai signifikansi 0.075 sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian homogen ($p > 0,05$).

Tabel 1. Rerata dan simpang baku jumlah sel limfosit pada luka pencabutan gigi

Kelompok	Rerata $\pm$ Simpang Baku
P1.1	23,11 $\pm$ 8,492
P2.1	16,89 $\pm$ 7,590
P3.1	10,22 $\pm$ 4,265
P1.2	14,00 $\pm$ 8,216
P2.2	12,44 $\pm$ 4,362
P3.2	5,67 $\pm$ 1,803

Uji hipotesis menggunakan uji *One way ANOVA* dengan $p < 0.05$ untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian kitosan dengan berat molekul rendah dan tinggi terhadap perbedaan rerata jumlah sel limfosit pada luka pencabutan gigi.

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada jumlah sel limfosit pada setiap kelompok perlakuan. Selanjutnya, uji LSD digunakan untuk menentukan perbedaan yang paling bermakna antar kelompok perlakuan.

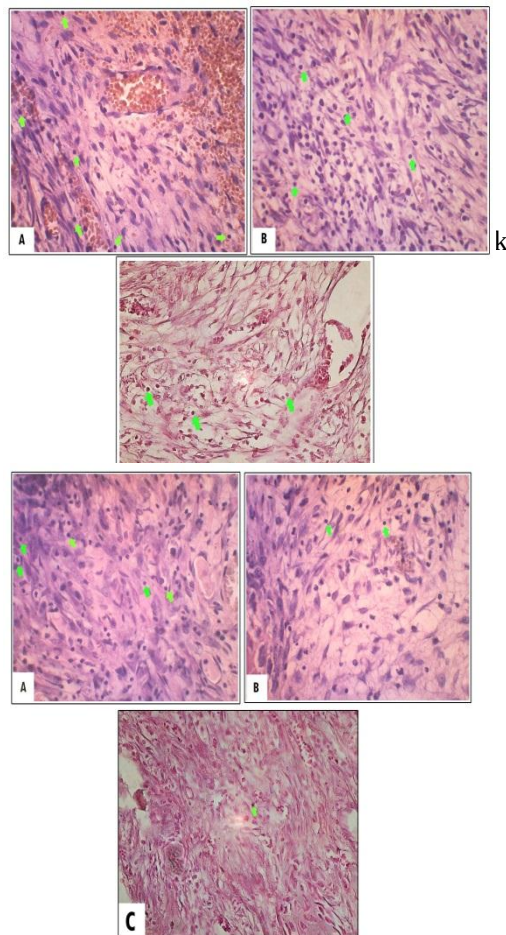


Gambar 1. Grafik perbandingan rerata jumlah sel limfosit pada masing-masing kelompok perlakuan

Hasil uji LSD dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Tabel hasil uji *LSD*

Kelom- pok	Mean	Kelom- pok	Mean	Sig
P1.1	23.11	P1.2	14.00	0.004*
		P2.1	16.89	0.041*
		P2.2	12.44	0.001*
		P3.1	10.22	0.000*
P1.2	14.00	P3.2	5.67	0.000*
		P2.1	16.89	0.335
		P2.2	12.44	0.603
		P3.1	10.22	0.209
P2.1	16.89	P3.2	5.67	0.007*
		P2.2	12.44	0.141
		P3.1	10.22	0.029*
		P3.2	5.67	0.000*
P2.2	12.44	P3.1	10.22	0.458
		P3.2	5.67	0.027
P3.1	10.22	P3.2	5.67	0.131

**Gambar 2.** Sel limfosit pada kelompok pengamatan hari ke-7

(tanda hijau). Pembesaran 400x

- (A) Kelompok P_{1.2} (kontrol)
 (B) Kelompok P_{2.2} (BM rendah)
 (C) Kelompok P_{3.2} (BM tinggi)

PEMBAHASAN

Luka pencabutan gigi melalui serangkaian proses penyembuhan luka. Agar dapat segera merestorasi gigi yang hilang, percepatan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi merupakan hal utama yang perlu diperhatikan pada pencabutan gigi.^{6,9} Kitosan merupakan biomaterial yang telah teruji dapat menunjang proses penyembuhan luka.^{3,5,9,14,11}

Kitosan merupakan biopolimer alami derivat dari deasetilasi kitin, yang didapatkan pada pada binatang bercangkang *Crustacea sp* seperti kepiting.^{12,13,14} Kitosan merupakan polimer yang tersusun dari kopolimer dari glukosamin (D-GlcN) dan N-asetilglukosamin (D-GlcNA).¹² Kitosan banyak digunakan sebagai *topical dressing* pada luka karena memiliki sifat antimikroba, tidak toksik, biokompatibel, *biodegradable* dan hemostatik. Selain itu, kitosan memiliki kemampuan memodulasi fungsi dari sel-sel inflamasi seperti sel limfosit serta mendukung proses granulasi dan organisasi luka.^{3,14} Berat molekul merupakan salah satu karakteristik utama pada kitosan yang mempengaruhi proses penyembuhan luka. Peran awal kitosan dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi adalah sifatnya yang hemostatik. Sifat kation kitosan adalah linier polielektrolit, bermuatan positif.²¹ Kitosan yang bermuatan positif memiliki kemampuan untuk mengikat membran darah merah yang bermuatan negatif sehingga dengan cepat dapat terbentuk *blood clot* pada fase hemostasis dan mempercepat proses penyembuhan luka.²²

Mukoadesif secara umum diartikan sebagai adesi (perlekatan) bahan dengan mukosa.⁵ Lapisan

mukosa terdiri atas glikoprotein disebut mucin yang kaya akan muatan negatif. Seperti yang telah disampaikan sebelumnya bahwa kitosan bermuatan positif sehingga akan menghasilkan ikatan dengan muatan negatif mucin.²¹ Pada kitosan berat molekul tinggi, ukuran partikel besar dan memiliki viskositas tinggi sehingga aplikasi kitosan gel lebih mudah juga penetrasi pada lapisan mucin juga meningkat sehingga mukoadhesi lebih kuat, mudah melekat pada jaringan dibanding berat molekul rendah.^{5,22}

Pada saat proses penyembuhan luka pencabutan gigi, sel limfosit banyak terdapat pada jaringan granulasi yang ada pada hari ke-3 hingga hari ke-7 pasca pencabutan gigi.⁵ Pada penelitian ini jumlah limfosit kelompok kontrol hari ke-5 dan kontrol hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini karena jumlah sel limfosit T meningkat signifikan pada hari ke-5 luka sampai hari ke-7 dan berkurang secara signifikan pada hari ke-7 luka di mukosa rongga mulut.^{17,23}

Jumlah sel limfosit pada kelompok berat molekul rendah hari ke-5 dengan hari ke-7 tidak berbeda signifikan. Pada kelompok kitosan berat molekul tinggi hari ke-5 dengan ke-7 juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Jumlah sel limfosit pada kelompok berat molekul rendah dan tinggi sama-sama makin menurun. Hal ini dikarenakan luka telah mengalami penyembuhan lebih cepat dan peradangan berkurang sehingga menunjang percepatan proses penyembuhan luka.³

Jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol dengan berat molekul rendah dan tinggi menunjukkan perbedaan yang

signifikan pada pengamatan hari ke-5. Jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol dengan berat molekul tinggi berbeda signifikan pada pengamatan hari ke-7, tetapi antara kelompok kontrol dengan kelompok berat molekul rendah tidak signifikan. Jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol lebih besar dibanding kedua kelompok kitosan pada hari ke-5 dan ke-7. Pada kelompok kitosan dengan berat molekul tinggi menunjukkan jumlah sel limfosit yang paling sedikit. Hal ini membuktikan bahwa pemberian kitosan membuat kerja limfosit menjadi lebih efektif sehingga mempercepat penyembuhan luka. Sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Djamaluddin (2009) bahwa pemberian kitosan dari limbah cangkang krustasea meningkatkan jumlah sel limfosit pada hari ke-2 dan jumlah sel limfosit menurun pada hari ke-4 dan ke-6 luka insisi kulit mencit.

Pada kelompok berat molekul tinggi jumlah limfosit menunjukkan perbedaan yang signifikan dibanding kelompok berat molekul rendah pada hari ke-5 dan ke-7. Kitosan berat molekul tinggi memiliki monomer N-asetil yang lebih banyak dibanding kitosan berat molekul rendah.¹¹ Pada fase inflamasi, sel fagosit seperti sel PMN dan sel makrofag mengeluarkan enzim lisosim.²⁴ Enzim lisosim akan mendegradasi kitosan menjadi N-asetil-D-glukosamin dimer aktif dan molekul- molekul yang lebih kecil (monomer).^{9,22} Kemudian monomer N-asetil glukosamin berikatan dengan reseptor utama pada makrofag untuk kitosan yaitu *mannose receptor*.²⁵ Setelah berikatan dengan reseptor, kitosan di internalisasi oleh sel makrofag dan memicu migrasi dan proliferasi sel makrofag. Sel makrofag yang teraktivasi menghasilkan

peningkatan aktivitas metabolik, menstimulasi sekresi *growth factor*, sitokin IL-12, IL-6, dan IL-23, mengenalkan antigen kepada limfosit T, sehingga meningkatkan respon dari limfosit.²⁶ Sel limfosit yang banyak teraktifasi selanjutnya menghasilkan sitokin IL-2 sehingga proses inflamasi dapat berlangsung lebih cepat. Sel limfosit juga menghasilkan *fibroblast activating factor* yang mempengaruhi sel fibroblas yang akan menunjang tahap penyembuhan luka berikutnya.¹⁷ Dengan monomer N-asetil pada kitosan berat molekul tinggi yang lebih banyak dapat meningkatkan kemampuan kitosan pada sel limfosit sehingga menjadi lebih aktif.¹¹ *Blood clot* yang terbentuk juga lebih kuat pada soket bekas pencabutan gigi yang diberi kitosan berat molekul tinggi. Sedangkan pada kitosan berat molekul rendah, ukuran partikel lebih kecil dan memiliki viskositas yang rendah sehingga aplikasi kitosan gel lebih sulit dibanding kitosan gel berat molekul tinggi.^{5,22, 27}

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara pengaruh kitosan gel berat molekul rendah dengan berat molekul tinggi terhadap jumlah sel limfosit. Kitosan berat molekul tinggi lebih efektif terhadap penurunan jumlah sel limfosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Gosain A, DiPietro LA. 2004. Aging and Wound Healing. *World J Surg*, 28: 326-321.
- Guo S, DiPietro LA. 2010. Factors affecting Wound Healing. *J Dent Res*, 89(3): 229-219.
- Djamaluddin AM. 2009. Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Krustasea untuk Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*). Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor. H. 8.
- Farina R, Trombelli L. 2011. Wound healing of extraction sockets. *Endodontic Topics. Dentistry & Oral Sciences Source, Ipswich, MA*, 25(1): 43-16.
- Budianto B. 2013. Pengaruh Kitosan Gel 1% yang Memiliki Berat Molekul Tinggi dan Rendah Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi. Skripsi, Universitas Hang Tuah, Surabaya. H. 38,22.
- Steiner GG, Francis W, Burrell R, Kallet MP, Steiner DM, Macias R. 2008. The Healing Socket And Socket Regeneration. Available from www.Endoexperience.com/userfiles/file/unnamed/The%20Healing%20Socket%20And%20Socket%20Regeneration.pdf.
- Ayu DA. 2011. Kesehatan Gingiva pada Pengguna Gigi Tiruan Cekat di Pulang Kodingareng. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Makassar. Available from <http://repository.unhas.ac.id/handle/123456>. Diakses 9 September 2013.
- Chawaf BA. 2011. Healing of human extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after 6 and 12 weeks. Dissertation, Universitätsmedizin Berlin. P.8-1.
- Sularsih. 2011. Penggunaan Kitosan dalam Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Rattus Norvegicus. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya. H. 48-42.
- Budihargono O, Yulianti A, dan Rianti D. 2013. Peningkatan Mobilisasi Sel Polimorfonuklear Setelah Pemberian Gel Kitosan 1% pada Luka Pencabutan Gigi Cavia Cobaya. *Material Dental Journal Universitas Airlangga January*: 6-1.
- Alsarra IA. 2009. Chitosan Topical Gel Formulation in the Management of Burn Wounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45: 21-16.
- Prashanth RN, Tharanathan H. 2007. Chitin/Chitosan: Modifications and Their Unlimited Application Potential an Overview. *Trends in Food Science & Technology* 18, 117131.
- Kim F. 2004. Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different

- Processing Protocols. Thesis, Louisiana State University. H. 7-6.
14. Dai T, et al. 2011. Chitosan Preparations for Wounds and Burns: antimicrobial and Wound Healing Effects. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9(7):879- 857.
15. Chattopadhyay DP and Inamdar MS. 2012. Studies on Synthesis, Characterization and Viscosity Behaviour of Nano Chitosan. *Res. J. Engineering Sci.*, 1(4), 15-9.
16. Maeda Y, Kimura Y. 2004. Antitumor Effects of Various LowMolecular-Weight Chitosans Are Due to Increased Natural Killer Activity of Intestinal Intraepithelial Lymphocytes in Sarcoma 180– Bearing Mice. *J. Nutr.* 134: 950–945.
17. Suryadi IA, Asmarajaya AAGN, Maliawan S. 2013. Proses Penyembuhan dan Penanganan Luka. Bagian/SMF Ilmu Penyakit Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar. Available from <http://ojs.unud.ac.id/index.php/eum/article/download/4885/3671>. Diakses 26 Juni 2013.
18. Agramula G. 2008. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) dalam Proses Persembuhan Luka Mencit. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/3352>. Diakses 25 September 2013. H. 46.
19. Ariani MD, Yuliati A, Adiarto T. 2009. Toxicity Testing of Chitosan from Tiger Prawn Shell Waste on Cell Culture. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*, 42(1): 20-15.
20. Pierce S. 2006. Euthanasia of Mice and Rats. P. 1. Available from <http://www.bu.edu/orccommittees/iacuc/policies-andguidelines/euthanasia-of-rodents/>. Diakses 29 Juli 2013.
21. Albert. 2011. Pengaruh Konsentrasi H2O2 dan Konsentrasi Asam Asetat dalam Proses Pembuatan Kitosan. Skripsi, Universitas Sumatra Utara, Medan. Available from <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/29148>. Diakses 9 Juni 2013.
22. Aranaz I, Mengibar M, Harris R, Paños I, Miralles B, Acosta N, Galed G dan Heras Á. 2009. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Current Chemical Biology*, 3: 230-203.
23. Larjava H. 2012. Oral Wound Healing : Cell Biology and Clinical Management. Oxford: Wiley-Blackwell. P. 47.
24. Freier T, Koh HS, Kazazian K, Shoichet MS. 2005. Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation. *Biomaterials* 26: 5878-5872.
25. Mori T, Murakami M, Okumura M, Kadosawa T, Uede T, Fujinaga T. 2005. Mechanism of Macrophage Activation by Chitin Derivates. *J. Vet. Med. Sci.*, 67(1): 56-51.
26. Kumar V, Abbas AK, dan Aster JC. 2011. *Robbins Basic Pathology*. 9th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. P. 72-29.
27. Alemdaroglu C, Degim Z, Celebi N, Zor F, Ozturk S, Erdogan D. 2006. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns*, 32: 319-32.