

**EVALUASI SEL NETROFIL DAN TNF- α PADA PULPA GIGI TIKUS
YANG MENGALAMI INFLAMASI SETELAH APLIKASI
KOMBINASI EKSTRAK IKAN HARUAN (*Channa striata*)
DAN KALSIUM HIDROKSIDA**

TESIS



DEWI KRISYANTI

J 025201005

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

**EVALUASI SEL NETROFIL DAN TNF- α PADA PULPA GIGI TIKUS
YANG MENGALAMI INFLAMASI SETELAH APLIKASI
KOMBINASI EKSTRAK IKAN HARUAN (*Channa striata*)
DAN KALSIUM HIDROKSIDA**



**Oleh:
DEWI KRISYANTI
J 025201005**

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

**EVALUASI SEL NETROFIL DAN TNF- α PADA PULPA GIGI TIKUS
YANG MENGALAMI INFLAMASI SETELAH APLIKASI
KOMBINASI EKSTRAK IKAN HARUAN (*Channa striata*)
DAN KALSIUM HIDROKSIDA**

TESIS

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memenuhi Gelar Profesi
Spesialis Bidang Konservasi Gigi**

Disusun dan Diajukan Oleh

**DEWI KRISYANTI
J 025201005**

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

2023

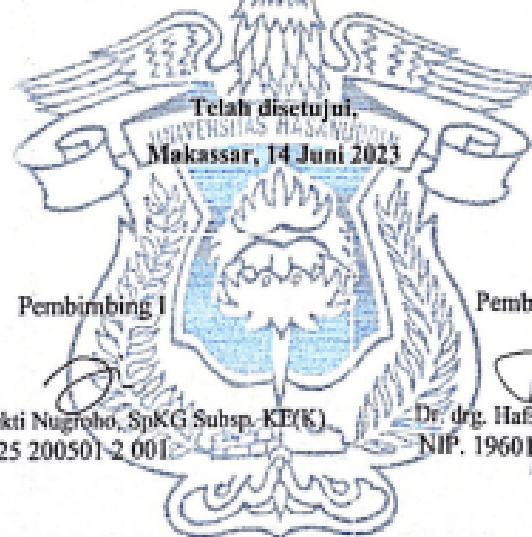
PENGESAHAN TESIS

**EVALUASI SEL NETROFIL DAN TNF- α PADA PULPA GIGI TIKUS
YANG MENGALAMI INFLAMASI SETELAH APLIKASI
KOMBINASI EKSTRAK IKAN HARUAN (*Channa striata*)
DAN KALSIUM HIDROKSIDA**

Diajukan oleh:

Dewi Krisyanti

J 025 201 005



Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, SpKG Subsp. KT(K)
NIP. 19710625 200501 2 001

Dr. drg. Hafifah Kata, M. Kes
NIP. 19601212 199412 2 001

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi

drg. Nurhayaty Natsir, PhD, SpKG Subsp. KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001



Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin

drg. Irfan Sagianto, M.Med.Ed., Ph.D
NIP. 19810215 200801 1 009

TELAH DIUJI OLEH PANITIA TESIS

PADA TANGGAL, 31 MEI 2023

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, SpKG SubspKE(K)

**Anggota : Dr. drg. Hafsa Kato, M.Kes
Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG Subsp KE(K)
drg. Wahyuni Suci Dwiandhany, Sp.KG Subsp KR(K), PhD
Prof. Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa, M.Si**

Mengetahui,

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi



drg. Nurhayaty Natsir, PhD, SpKG Subsp.KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dewi Krisyanti
Nomor Mahasiswa : J 025 201 005
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Bidang Studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan karya sendiri, bukan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juni 2023

Yang menyatakan,



Dewi Krisyanti

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul “Evaluasi Sel Netrofil dan TNF- α pada Pulpa Gigi Tikus yang Mengalami Inflamasi Setelah Aplikasi Kombinasi Ekstrak Ikan Haruan (*Channa striata*) dan Kalsium Hidroksida”

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D** selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh pimpinan fakultas atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
2. **Dr. drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, SpKG Subsp. KR(K)** selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi, dan juga memberikan ilmu, bimbingan, dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
3. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, SpKG Subsp. KE(K)** selaku Pembimbing I sekaligus Wakil Dekan II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. **Dr. drg. Hafsa Katu, M.Kes** selaku Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.

5. **Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, SpKG Subsp. KE(K)** sebagai dosen dan penguji yang memberikan ilmu, bimbingan, saran, dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **Prof. Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa, M.Si** sebagai penguji yang memberikan ilmu, bimbingan, saran, dan koreksi pada hasil penelitian ini.
7. **drg. Wahyuni Suci Dwiandhany, PhD., SpKG Subsp. KR(K)** sebagai dosen dan penguji yang memberikan ilmu, bimbingan, dan masukan selama pendidikan dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
8. **Drg. Christine A. Rovani, SpKG Subsp. KR(K)** sebagai dosen yang memberikan ilmu, bimbingan, dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
9. **drg. Noor Hikmah, SpKG Subsp. KE(K)** sebagai dosen yang memberikan ilmu, bimbingan, dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
10. **Nurhasni Hasan, S.Si, Apt. Ph.D** sebagai ketua jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung.
11. **Ismi dan Muhammad Syahrul** sebagai Staf Laboratorium Kimia Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung.
12. **drh. Alief dan drh. Rini** sebagai staf dosen Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu selama proses penelitian berlangsung.
13. **drg. Andi Tajrin, M. Kes, SpBMM., Subsp. C.O.** selaku direktur RSGMP Universitas Hasanuddin beserta seluruh direksi dan manajemen untuk

kesempatan belajar yang diberikan di wahana pendidikan RSGMP Universitas Hasanuddin.

14. Sejawat senior dan junior residen Konservasi Gigi yang banyak membantu selama proses keresidenan beserta seluruh sejawat residen PPDGS FKG Unhas.

15. Teman-teman seperjuangan Residen Konservasi Gigi Angkatan 2020; Alm. Alief Fadli, Alm. Linda Dian Aksari, Lestari Hardianti Sugiaman, Nurlaela Tahir, Imara Binti Qaf. Terima kasih untuk kebersamaan, suka dan duka yang dilalui bersama.

16. Ucapan terima kasih yang tak terhingga secara khusus kepada:

a. Ibu dan tante yang tercinta yang tidak pernah berhenti mendoakan dan memberi dukungan moril dan materil selama penulis menjalani proses Pendidikan.

b. Saudaraku tersayang, Engelina, S.Si. Apt, dan Ir. Dany Hendrawan. Terima kasih atas segala doa dan dukungan selama penulis menjalani proses pendidikan.

Terima kasih setulus-tulusnya juga penulis ucapkan kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Penulisan tesis ini jauh dari kesempurnaan oleh karenanya, penulis memohon maaf atas segala kekurangan dan keterbatasan. Semoga penulisan tesis ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi ilmu pengetahuan khususnya dibidang Kedokteran Gigi. Amin.

Makassar, 10 Juni 2023

Penulis

ABSTRAK

DEWI KRISYANTI: Evaluasi Sel Netrofil dan TNF- α pada Pulpa Gigi Tikus yang Mengalami Inflamasi Setelah Aplikasi Kombinasi Ekstrak Ikan Haruan (*Channa striata*) dan Kalsium Hidroksida.

(Dibimbing oleh: **Juni Jekti Nugroho, Hafsa Kato**)

Latar Belakang: Pulpa memiliki sistem pertahanan terhadap inflamasi yang melibatkan sistem imun. Ketika permukaan dentin-pulpa mengalami inflamasi, terjadi akumulasi leukosit diikuti pelepasan sitokin proinflamasi. Netrofil, bagian terbesar dari leukosit, bekerja dengan cara mengelilingi daerah terinfeksi, dan memfagosit patogen. *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), sitokin utama agen proinflamasi, memberikan respon yang cepat terhadap infeksi. Aplikasi kalsium hidroksida (KH) pada pulpitis reversibel melepaskan gugus hidroksil dengan pH alkalis dan berpotensi menyebabkan iritasi dan nekrosis pulpa. Sehingga dikembangkan kombinasi bahan untuk mengurangi efek inflamasi dari KH. Beberapa penelitian melaporkan ikan haruan mengandung kadar albumin tinggi berfungsi sebagai antiinflamasi dan menstimulasi perbaikan jaringan, dengan mempertahankan tekanan osmotik dan integritas mikrovaskuler.

Tujuan: Mengevaluasi efektivitas kombinasi ekstrak ikan haruan dan KH terhadap penurunan jumlah sel netrofil dan TNF- α pada konsentrasi 25%, 50% dan 75%.

Metode: Penelitian *experimental laboratorium in vitro posttest with control group design*. Sebanyak 24 sampel gigi tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (KH 100%), kelompok perlakuan menggunakan kombinasi ekstrak ikan haruan dan KH dengan 25%, 50% dan 75%, kemudian dievaluasi hari 1, 3 dan 5 lalu diamati dibawah mikroskop.

Hasil: Nilai rerata jumlah sel netrofil dan TNF- α menurun secara signifikan pada pengamatan hari 1, 3 dan 5 pada kelompok kombinasi ekstrak ikan haruan 25% dan 50% dan terjadi penurunan pada kelompok kombinasi ekstrak ikan haruan 50% dan 75%, namun tidak berbeda secara signifikan.

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak ikan haruan 75% dan KH 25% terbukti efektif menurunkan jumlah sel netrofil dan TNF- α pada pengamatan hari ke 5.

Kata Kunci: kalsium hidroksida, netrofil, TNF- α , ikan haruan.

ABSTRACT

DEWI KRISYANTI: Evaluation of Neutrophil Cells and TNF- α in Inflamed Rat Tooth Pulps After Combination Application of Haruan Fish Extract (*Channa striata*) and Calcium Hydroxide.
(Supervised by: **Juni Jekti Nugroho, Hafsah Katu**)

Background: The pulp defense system against inflammation involving immune system. When dentin-pulp surface becomes inflamed, leukocyte accumulation occurs followed by the release of proinflammatory cytokines. Neutrophils, the largest part of leukocytes, work surrounding infected area, and phagocytize pathogens. Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α), the main cytokine proinflammatory agent, provides rapid response to infection. Application of calcium hydroxide (KH) on reversible pulpitis, release groups of hydroxyl which has alkaline pH, has potential effect to irritation and pulp necrosis. Therefore, combination of ingredients was developed to reduce the inflammatory effect of KH. Several studies reported Haruan fish (*Channa striata*), contains high levels of albumin which has anti-inflammatory and stimulates tissue repair by maintaining osmotic pressure and microvascular integrity.

Objective: To evaluate the effectiveness of the combination of haruan fish extract and KH on reducing the number of neutrophil cells and TNF- α on 25%, 50% and 75% concentrations.

Method: In vitro study with control group design, 24 rat samples were divided into 4 groups: the control group (100% KH), the treatment group used a combination of haruan fish extract and 25%, 50% and 75% KH, evaluated on 1, 3 and 5 days.

Results: The number of neutrophil cells and TNF- α decreased on observations on days 1, 3 and 5 in the 25% and 50% haruan fish extract combination group but not significantly different on 75% group.

Conclusion: Combination 75% haruan fish extract and 25% KH has been shown to be effective in reducing the number of neutrophil cells and TNF- α on the 5th day observation.

Keywords: calcium hydroxide, neutrophils, TNF- α , haruan fish.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
BAB I - PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II - TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Dentin Pulpa Kompleks.....	5
2.2. Pulpa	7
2.3. Inflamasi Pulpa.....	8
2.3.1 Granulosit.....	8
2.3.2 Monosit	9
2.3.2.1 TNF- α	10
2.4. <i>Pulp Capping</i>	11
2.4.1. Kalsium Hidroksida	11
2.5 Ikan Haruan (<i>Channa striata</i>).....	12
BAB III - KERANGKA PENELITIAN	
3.1. Kerangka Teori	15
3.2. Kerangka Konsep	16
3.3. Hipotesis Penelitian	17
BAB IV - METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	18
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	18

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian	
4.3.1 Populasi Penelitian	19
4.3.2 Sampel Penelitian	19
4.3.3 Perhitungan Besar Sampel	20
4.4 Alat dan Bahan	
4.4.1 Alat.....	21
4.4.2 Bahan	22
4.4.3 Prosedur Penelitian	22
4.4.4 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	29
4.5 Pengumpulan dan hasil Analisis Data	30
4.6 Alur Penelitian	31
BAB V - HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Penelitian	32
5.2 Hasil Analisis	38
BAB VI - PEMBAHASAN	44
BAB VII - PENUTUP	49
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 5.1 Gambar jumlah sel netrofil (panah hitam) pulpa gigi tikus dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x dan 1000x) pada aplikasi hari ke-1	33
Gambar 5.2 Gambar jumlah sel netrofil (panah hitam) pulpa gigi tikus dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x dan 1000x) pada aplikasi hari ke-3	34
Gambar 5.3 Gambar jumlah sel netrofil (panah hitam) pulpa gigi tikus dengan pewarnaan HE (perbesaran 400x dan 1000x) pada aplikasi hari ke-5	35
Gambar 5.4 Gambar <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> (TNF- α) pulpa gigi tikus dengan pewarnaan imunohistokimia TNF- α pada aplikasi hari ke-1	36
Gambar 5.5 Gambar <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> (TNF- α) pulpa gigi tikus dengan pewarnaan imunohistokimia TNF- α pada aplikasi hari ke-3	37
Gambar 5.6 Gambar <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> (TNF- α) pulpa gigi tikus dengan pewarnaan imunohistokimia TNF- α pada aplikasi hari ke-5	38

DAFTAR TABEL DAN DIAGRAM

Tabel 5.1	Rerata jumlah sel netrofil antara kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan.	39
Tabel 5.2	Rerata jumlah TNF- α antara kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan.	40
Tabel 5.3	Rerata jumlah sel netrofil antar dua kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan.	40
Tabel 5.4	Rerata jumlah TNF- α antar dua kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan.	41
Diagram 5.1	Rerata jumlah sel netrofil berdasarkan waktu pengamatan pada setiap kelompok perlakuan.	42
Diagram 5.2	Rerata jumlah TNF- α berdasarkan waktu pengamatan pada setiap kelompok perlakuan.	42

DAFTAR LAMPIRAN

- A. Rekomendasi etik penelitian
- B. Hasil Analisis Bahan
- C. Hasil uji statistik menggunakan SPSS
- D. Proses persiapan ekstrak ikan haruan

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dentin dan pulpa memiliki sistem pertahanan terhadap inflamasi dan perbaikan atau pembentukan dentin yang dimediasi oleh sistem pertahanan *host* terhadap iritan bakteri, kimia dan termal (Ritter, 2019; Sarra, 2021). Bila terkena jejas, pulpa akan mengadakan reaksi pertahanan berupa respon inflamasi yang melibatkan sistem imun. Respon inflamasi pada pulpa tergantung dari berat ringannya stimulus, ada yang bersifat reversibel dan ireversibel. Respon reversibel terjadi apabila penyebabnya dihilangkan dengan aplikasi capping agent terhadap jaringan pulpa, maka inflamasi dapat terhenti dan pulpa akan kembali berfungsi normal (Austermann *et al*, 2022). Sedangkan respon ireversibel terjadi pada kondisi sistem pertahanan jaringan pulpa tidak dapat dipulihkan atau disembuhkan (Widodo, 2007).

Ketika permukaan dentin-pulpa mengalami inflamasi, *antigen-presenting cell* dendritik bermigrasi ke lapisan odontoblas diikuti akumulasi leukosit. Berbagai macam tipe leukosit yaitu granulosit, monosit dan limfosit. Sel netrofil, merupakan bagian terbesar dari leukosit yang bekerja dengan cara berjalan mengelilingi daerah terinfeksi, dan memfagosit patogen (Rosales, 2018; Brown, 2013; Carol, 1997) ditandai dengan peningkatan aliran darah dan permeabilitas pembuluh darah yang diakibatkan oleh migrasi leukosit ke tempat yang terkena jejas secepat mungkin untuk menghambat perkembangan bakteri dan memperbaiki jaringan (Bergenholtz, 1981; Rosales, 2018; Nourshargh *et al*, 2014; Wainright, 2019; Renard *et al*, 2020). Monosit merupakan bagian 1-6% dari leukosit. Setelah melewati dinding kapiler ke jaringan konektif, monosit

akan berubah menjadi makrofag. Makrofag akan mengeluarkan sitokin seperti *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), IL-1, IL-6, dan IL-8 jika terpapar inflamasi (Duque, 2014; Fitzgerald, 2017; Espinoza, 2022). *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) merupakan sitokin utama agen proinflamasi yang berperan dalam memberikan respon yang cepat terhadap infeksi dengan cara meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, dan ekstravasasi leukosit di daerah cedera (Jang, 2021; Kritikou, 2022; Silva *et al*, 2009).

Inflamasi pulpa yang bersifat reversibel dapat dihentikan dengan melakukan proteksi pada pulpodentinal kompleks berupa aplikasi *capping agent*. Kalsium hidroksida merupakan *capping agent* yang masih menjadi *gold standard* pada perawatan pulpa karena memiliki pH tinggi dan kemampuan membentuk *dentinal bridge*, namun pH yang tinggi berpotensi menyebabkan iritasi jaringan pulpa, dan *tunnel defect* selama pembentukan *dentinal bridge* yang memungkinkan bakteri dan toksin masuk ke dentin, sehingga diperlukan bahan kombinasi dari alam yang bersifat non-toksik dan non-iritatif (Sarra, 2021; Mostafa and Moussa, 2018; Hilton, 2009; Kurniati, 2008). Beberapa upaya dilakukan untuk mengurangi inflamasi *capping agent* dengan melakukan kombinasi bahan bahan alam. Ikan haruan (*Channa striata*), salah satu bahan alam yang dikenal dengan nama ikan gabus, telah diketahui memiliki potensi antiinflamasi, antioksidan, antibakteri dan antijamur secara *in vitro* (Aznan, *et al* 2020). Penelitian sebelumnya membuktikan ekstrak ikan haruan konsentrasi 25%, 50% dan 100% setelah penambahan kalsium hidroksida terbukti efektif meningkatkan viabilitas sel odontoblas yang terinflamasi (Tanumihardja *et al*, 2018).

Ikan haruan atau ikan gabus (*Channa striata*), merupakan salah satu biota laut yang telah banyak diteliti memiliki senyawa penting bagi proses sintesis jaringan seperti asam amino, mineral seng (Zn), tembaga (Cu), besi (Fe), dan hidroksiapatit (HA), serta kadar albumin yang tinggi sehingga mampu merangsang terjadinya regenerasi jaringan (Sumidarti *et al*, 2020; Suhartono, 2013; Santoso, 2009). Albumin merupakan protein terbanyak yang terdapat dalam plasma dan memiliki peran menjaga tekanan osmotik, fisiologi asam-basa, antikoagulan, antioksidan, dan mempertahankan integritas mikrovaskular (Arik, 2021; Nicholson and Wolmaran, 2000). Menurut penelitian Nugroho *et al*, (2020) dan Ramadhanti *et al*, (2021) albumin menstimulasi terjadinya perbaikan jaringan yang ditandai dengan penurunan jumlah sel leukosit, makrofag dan vasodilatasi pada pembuluh darah.

Berdasarkan penjelasan mengenai manfaat kandungan albumin yang dapat mempercepat penyembuhan inflamasi, penulis tertarik untuk meneliti efektivitas kombinasi ekstrak ikan haruan (*Channa striata*) dan kalsium hidroksida pada pulpa yang mengalami inflamasi terhadap jumlah sel netrofil dan TNF- α .

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dirumuskan masalah sebagai berikut: Apakah jumlah sel netrofil dan TNF- α pada pulpa gigi tikus wistar yang mengalami inflamasi efektif menurun setelah aplikasi kombinasi ekstrak ikan haruan (*Channa striata*) dan kalsium hidroksida?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis jumlah sel netrofil dan TNF- α pada pulpa gigi tikus wistar yang mengalami inflamasi setelah aplikasi kombinasi ekstrak ikan haruan dan kalsium hidroksida.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi penurunan jumlah sel netrofil dan TNF- α pada pulpa gigi tikus yang mengalami inflamasi setelah aplikasi kombinasi ekstrak ikan haruan (*Channa striata*) dan kalsium hidroksida pada pengamatan hari 1,3 dan 5.
2. Mengevaluasi konsentrasi optimal pada kombinasi ekstrak ikan haruan (*Channa striata*) dan kalsium hidroksida terhadap penurunan jumlah sel netrofil dan TNF- α pada pulpa gigi tikus yang mengalami inflamasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai efektivitas kombinasi ekstrak ikan haruan (*Channa striata*) dan kalsium hidroksida terhadap jumlah sel netrofil dan TNF- α .

1.4.2 Manfaat Khusus

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis konservasi gigi pada khususnya mengenai efektivitas kombinasi ekstrak ikan haruan (*Channa striata*) dan kalsium hidroksida sebagai kandidat bahan *pulp capping*.

BAB II

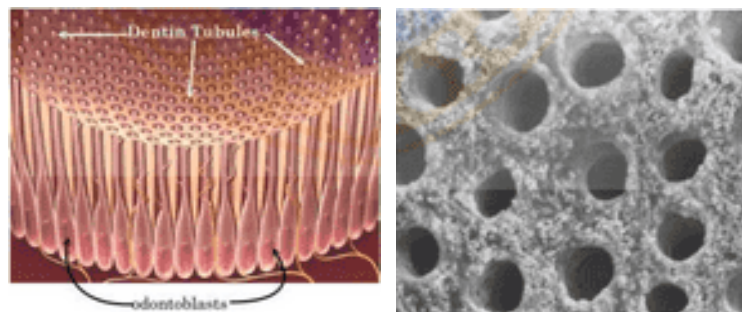
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dentin-Pulpa Kompleks

Dentin-pulpa kompleks merupakan struktur fungsional dinamis pada gigi, berperan penting dalam pertahanan pulpa terhadap stimulus, perbaikan dan regenerasi jaringan bilamana ada trauma dan infeksi, dengan mengaktifkan sistem pertahanan imun dan menginduksi regenerasi atau perbaikan pada cedera jaringan atau infeksi (Kim, 2017).

2.1.1 Dentin

Dentin, merupakan jaringan termineralisasi yang terdiri dari 70% bahan anorganik (terutama kristal hidroksiapatit), 20% matriks organik yang terdiri dari 90% kolagen dan 10% air. Permeabilitas dentin normal ditentukan oleh struktur tubularnya. Tubulus dentinalis melintasi seluruh bagian dentin dan berbentuk konus. Bagian terluas dari tubulus memiliki diameter rata-rata $2,5\mu\text{m}$ dan yang tersempit sekitar $0,2-0,7\mu\text{m}$. Di dalam tubulus dentinalis tidak hanya terdapat prosesus odontoblas, tetapi juga cairan dentin dan serabut saraf sensoris (Siquera, 2011).



Gambar 2.1 Potongan melintang dentin (Combe, 1992)

2.1.2 Odontoblas

Odontoblas adalah sel yang memproduksi dentin, memiliki fungsi sebagai pertahanan pertama yang bereaksi terhadap benda asing yang memasuki dentin, dengan cara memproduksi matriks dentin ekstraselular (Bergenholtz, 2010; Lim *et al*, 2021). Ketika odontoblas mengalami destruksi, sel progenitor atau *stem cell* yang terdapat di dalam pulpa berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi *odontoblas like cell* yang membentuk dentin reparatif. Stimulasi fisiologis atau trauma, seperti karies dan prosedur operatif, dapat menyebabkan mobilisasi, proliferasi, dan diferensiasi *stem cell* menjadi *odontoblas like cell* yang dipengaruhi oleh adanya morfogen/biomolekul regulator yang dikeluarkan dari matriks dentin (Casagrande, 2001; Baldion, 2018).

Odontoblas juga turut berperan pada pengaturan aliran darah pulpa dan dalam perkembangan inflamasi pulpa. Selain itu, odontoblas berperan penting dalam pertahanan karena dapat mengekspresikan reseptor seperti *Toll like receptor* (TLR), sitokin dan defensin, diantara mediator imun lainnya. Serabut sensorik yang mempersarafi pulpa yaitu serat A δ di perifer dan serat C di pulpa sentral. Serat A δ bertanggung jawab atas respon tajam terhadap perubahan termal. Serat C merupakan serat tidak bermielin dan bertanggung jawab atas nyeri tumpul yang diakibatkan oleh trauma mekanis, iritasi kimia, dan bakteri (Yu and Abott, 2007; Huang, 2009; Park, 2015; Torabinejad, 2021), sedangkan sistem vaskularisasi pada pulpa bertanggung jawab untuk suplai nutrisi dan berkontribusi pada respon inflamasi pulpa (Rombouts *et al*, 2017). Pembuluh darah ini melewati foramen apikal, dapat juga melalui kanal lateral atau aksesori. Darah dari arteri memasuki gigi melalui arteriol yang berdiameter 100 μ m atau kurang, yang dipersarafi oleh otonom dan saraf sensorik, dan regulasi

aliran darah tampaknya didominasi oleh kontrol saraf simpatis. Adanya vasodilatasi pembuluh darah disebabkan oleh pelepasan neuropeptida (Hargreaves, 2016; Dissanayaka and Zhang, 2017).

2.2 Pulpa

Pulpa gigi berasal dari jaringan ikat mesenkim yang kaya akan pembuluh darah dan saraf, memiliki fungsi utama sebagai fungsi induktif, formatif, yang berperan dalam menginisiasi pembentukan dentin dan email, fungsi nutritif, fungsi defensif, yaitu menstimulus pembentukan dentin sebagai respon odontoblas terhadap cedera, terutama jika ketebalan dentin telah berkurang atau kesinambungan dentin telah terputus. Akan tetapi, dentin baru yang terbentuk memiliki kemampuan protektif dengan kualitas dibawah dentin fisiologis. Fungsi defensif lainnya adalah kemampuan pulpa dalam menetralkan invasi mikroorganisme penyebab karies ke dalam pulpa maupun zat-zat toksik, dengan respon inflamasi dan imunologik serta fungsi sensitif. Namun karena memiliki karakteristik dikelilingi oleh jaringan keras dan kurangnya sirkulasi kolateral maka perubahan volume di dalam ruang pulpa (seperti saat terjadi inflamasi) sangat terbatas sehingga mengurangi kemampuan pulpa dalam melakukan pertahanan dan perbaikan jaringan (Hargreaves, 2016; Okiji, 2012; Pashley, 2012).

Secara histologis, pulpa dibagi menjadi 4 zona, yaitu zona odontoblas, merupakan bagian pulpa yang terletak pada bagian tepi pulpa; *cells free zone*, zona yang terdapat di bawah zona odontoblas dengan jumlah sel yang relatif sedikit; zona *cells rich*, memiliki kepadatan sel yang tinggi dan dapat terlihat dengan jelas pada pulpa koronal gigi berdekatan dengan zona *cells free*; dan

zona inti pulpa, merupakan zona yang letaknya paling dalam, bagian tengah pulpa serta terdapat banyak pembuluh darah dan syaraf (Hargreaves, 2012).

2.3 Inflamasi Pulpa

Inflamasi pada pulpa dikenal sebagai pulpitis, merupakan bentuk pertahanan pulpa yang terjadi akibat respon dari jaringan ikat vaskular terhadap iritasi yang disebabkan oleh infeksi bakteri, kimia atau mekanis selama prosedur perawatan yang mengakibatkan peningkatan respon inflamasi pada daerah yang mengalami iritasi (Park *et al*, 2015; Widodo, 2015). Respon inflamasi pada pulpa dapat bersifat reversibel dan ireversibel, tergantung pada tingkat keparahan iritasi yang menyertainya. Pulpitis reversibel adalah iritasi pulpa ringan yang jika penyebab iritasi dihilangkan maka vitalitas pulpa akan kembali normal. Faktor yang dapat menyebabkan pulpitis reversibel adalah lesi karies, atau iritasi lainnya, seperti retak, abrasi servikal, atrisi atau fraktur mahkota. Pulpitis reversibel biasanya tidak ada gejala, atau hanya mengalami hiperalgesia ringan pada pulpa atau rasa nyeri yang tajam pada perubahan termal dalam jangka waktu yang pendek. Perawatan untuk pulpitis masih dapat dilakukan dengan restorasi (Hargreaves, 2012; Torabinejad *et al*, 2021). Ketika terjadi inflamasi, leukosit akan bermigrasi ke daerah yang mengalami cedera. Berdasarkan morfologinya, leukosit terdiri dari 3 tipe utama: granulosit, monosit, dan limfosit.

2.3.1 Granulosit

Merupakan bagian terbesar sekitar 60% dari leukosit yang berbentuk granula atau butiran yang terlihat dalam sitoplasma, berinti besar yang memanjang atau berlobus dan bersifat fagosit. Subtipe granulosit adalah: netrofil, basofil, dan eosinofil (Dulaimi, 2018). Sel netrofil adalah leukosit

pertama dari sistem imun alami yang bermigrasi menuju tempat peradangan dengan cara memfagositosis bakteri secara ekstraselular dengan cara melepaskan peptida dan enzim antibakteri. Selain berfungsi sebagai antibakteri, netrofil mampu mengekspresikan mediator inflamasi seperti *growth factor*, kemokin dan sitokin (Bekkingring and Torensma, 2013). Netrofil, dikenal sebagai leukosit polimorfonuklear (PMN), merupakan jenis sel leukosit terbanyak dalam darah manusia (Rosales, 2017) dan berukuran lebih besar dari limfosit, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak agak kemerahan. Inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen (Mansyur, 2015). Kemampuan dari netrofil, yaitu migrasi (masuk ke dinding pembuluh darah), adesi (melekat pada permukaan endotelial), emigrasi (meninggalkan aliran darah), kemotaksis (pindah ke arah target), opsonisasi (mengenali dan mengikat target), serta fagositosis (Triwbridge and Emling, 1993).

2.3.2 Monosit

Monosit merupakan leukosit berbentuk agranular dan terdapat sekitar 16% dari leukosit, memiliki ukuran sel terbesar diantara sel leukosit. Setelah melewati dinding kapiler ke jaringan konektif, monosit akan berubah menjadi makrofag. Makrofag merupakan salah satu sel fagosit pada sistem imun yang terdistribusi secara luas pada jaringan tubuh. Sel ini diketahui sebagai bentuk matur dari monosit dan memegang peranan penting pada imunitas alami dan bawaan (Samaranayake, 2012). Monosit beredar dalam sirkulasi dan berdiferensiasi secara terus-menerus menjadi makrofag kemudian menetap di jaringan. Baik makrofag dan netrofil merupakan garis pertahanan pertama sistem imun alami terhadap mikroorganisme dan berperan penting untuk mengontrol infeksi bakteri. Makrofag memiliki kemampuan mensekresi sitokin

seperti *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), IL-1, IL-6, dan IL-8 saat terpapar inflamasi (Eales, 2003; Abbas and Lichtman, 2010; Duque, 2014). Sitokin adalah protein non-struktural berukuran kecil dengan berat molekul rendah yang memiliki pengaruh regulasi yang kompleks pada inflamasi dan imunitas dan merupakan mediator sitokin yang saling berinteraksi baik secara sinergis atau antagonis.

2.3.2.1 *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α)

Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) merupakan master regulator diantara semua sitokin yang berperan dalam inflamasi pulpa, yaitu menginduksi dilatasi pembuluh darah dengan meningkatkan permeabilitas, meningkatkan respon inflamasi dan sebagai imunostimulasi (Idriss and Naismith, 2000; Silva, 2019).

Pada inflamasi pulpa, TNF- α dapat merangsang sel pulpa progenitor untuk berdiferensiasi menjadi odontoblas yang mampu menginduksi *dentin matrix protein* (DMP) dalam pembentukan dentinogenesis reparatif, yang berasal dari jaringan pulpa yang tidak berdiferensiasi dan fibroblas yang ditandai dengan mineralisasi dan awal *dentin phosphoprotein* (DPP), *dentin sialoprotein* (DSP), *dentin phosphosialoprotein* (DSPP) (Rhim, 2005; Sloan and Smith, 2007; Silva, 2009). *Dentin phosphoprotein* (DPP) berperan sebagai induktor mineralisasi dengan mengikat kalsium dan kolagen tipe I (He *et al*, 2005). *Dentin sialoprotein* (DSP) adalah protein matriks ekstraselular (ECM) yang mengaktifkan sinyal intraselular. Sedangkan *dentin phosphoprotein* (DSPP) mengakibatkan protein berkurang seiring terjadinya biomineralisasi (Rajpar, 2002).

2.4 Pulp Capping

Pulp capping merupakan tindakan perawatan yang dilakukan untuk mempertahankan vitalitas pulpa yang terbuka yang dikembangkan pertamakali di Berlin oleh Philipp Pfaff pada tahun 1756 dengan menggunakan *gold foil*, namun bahan ini masih memiliki banyak kekurangan, sehingga bahan *pulp capping* terus mengalami pengembangan hingga sekarang ini, bahan *pulp capping* digunakan untuk menjaga vitalitas pulpa dan menginduksi sel pulpa untuk membentuk jaringan keras (Dammaschke, 2008; Alex, 2018).

Berdasarkan teknik penempatannya, *pulp capping* dibagi menjadi dua, yaitu teknik *direct pulp capping* dan *indirect pulp capping*. Teknik *direct pulp capping* merupakan usaha untuk menjaga vitalitas pulpa pada pulpa terbuka yang disebabkan oleh trauma atau selama preparasi kavitas, tanpa melibatkan kontaminasi bakteri. Sedangkan teknik *indirect pulp capping* diindikasikan pada karies atau fraktur mahkota yang menyisakan ketebalan dentin minimal 0,5mm dari pulpa (Torabinejad and Fouad, 2021).

2.4.1 Kalsium Hidroksida

Kalsium hidroksida masih dianggap sebagai standar emas perawatan *direct pulp capping* selama beberapa dekade dikarenakan kalsium hidroksida memiliki kemampuan untuk memecah menjadi gugus kalsium dan hidroksil, pH tinggi dan sifat antibakteri yang sangat baik serta dapat menstimulasi odontoblas dan sel pulpa lainnya untuk membentuk dentin reparatif. Namun demikian, kalsium hidroksida memiliki beberapa kekurangan seperti formulasi bahan yang sangat mudah larut, serta adanya *defect tunnel* dalam dentin reparatif yang terbentuk di bawah pulpa yang dapat menyebabkan porositas dan mengakibatkan penurunan kekuatan mekanis, serta penurunan sistem adesi

pada dentin, membuat tingkat keberhasilan kalsium hidroksida sebagai *capping agent* pada umumnya sulit diprediksi dan bahkan menunjukkan kegagalan (Saito *et al*, 2004; Alex, 2018). Mekanisme efek awal penggunaan kalsium hidroksida pada pulpa yang terbuka dapat membentuk perkembangan nekrosis sekitar 1,5mm pada lapisan superfisial pulpa. Efek ini dapat menyebabkan terjadinya *microleakage* sehingga bakteri dapat infiltrasi ke dalam pulpa (Murray, 2006; Mostafa and Moussa, 2018).

2.5 Ikan Haruan (*Channa striata*)

Ikan haruan (*Channa striata*) atau ikan gabus, adalah jenis ikan predator yang bernilai gizi tinggi. Ikan ini mudah ditemukan di perairan air tawar daerah tropis seperti Asia dan Afrika. Berdasarkan taksonomi, klasifikasi ikan haruan, yaitu: (Mustafa *et al*, 2012; Shaliha *et al*, 2018).

Kingdom: *Animalia*

Filum: *Chordata*

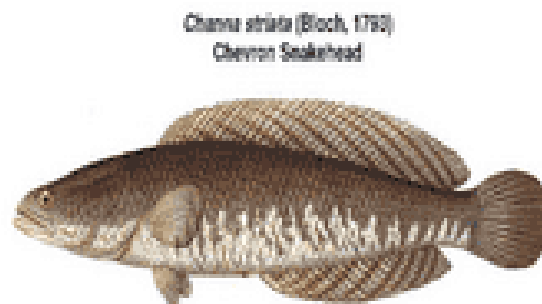
Kelas: *Actynopterygii*

Ordo: *Perciformes*

Family: *Channidae*

Genus: *Channa*

Species: *Channa striata*



After Bloch, 1793. Image reversed from original pl. 321

Gambar 2.2 Ikan gabus (*Channa striata*) Sumber: Bloch, 1973.

Ikan ini memiliki banyak kelebihan, diantaranya kandungan albumin, Zn, Fe, Cu dan asam lemak tak jenuh yang berperan mengurangi terjadinya inflamasi pada proses penyembuhan luka (Mustafa *et al*, 2012; Izzaty *et al* 2014). Albumin sangat baik untuk orang yang memiliki serum albumin rendah atau luka, luka bakar atau dalam kondisi paska operasi. Asam lemak tak jenuh pada ikan haruan membantu meregulasi mensintesis prostaglandin, yang bertindak sebagai vasodilator pada pembuluh darah dan menginduksi penyembuhan luka. Kandungan asam lemak tertinggi pada ikan haruan adalah asam palmiat, yang berfungsi menekan sitokin proinflamasi TNF- α (Izzaty *et al*, 2014; Agustin, 2016). Albumin, merupakan protein terbanyak dalam darah yang berfungsi sebagai transpor fisiologis atau metabolit tubuh seperti asam lemak, hormon, bilirubin, dan ligan dari luar maupun sistem regulasi tekanan osmosis koloid darah; meningkatkan substrat sel untuk berproliferasi, serta deposisi matriks saat terjadinya infeksi dan trauma (Chasanah, 2015; Shoeters *et al*, 2018). Albumin menunjukkan efek adesi dan proliferasi pada sum-sum tulang belakang yang berasal dari stem sel mesenkim, sehingga *allograft* yang dilapisi albumin menghasilkan pembentukan tulang yang lebih cepat dan lebih kuat daripada *allograft* yang tidak dilapisi albumin (Weszl *et al*, 2012; Skaliczki, 2013).

Zinc (Zn) berperan dalam menjaga integritas jaringan dan membatasi kerusakan membran yang disebabkan oleh radikal bebas saat inflamasi. Defisiensi zinc (Zn) menyebabkan perubahan sistem kekebalan tubuh seperti penurunan fungsi sel B dan sel T, reaksi hipersensitivitas, fagositosis, dan produksi sitokin serta terganggunya penghancuran bakteri dan proses penyembuhan luka. Pemberian zinc secara oral menunjukkan peran penting zinc

dalam sintesis protein dan dalam perbanyakan sel. Tubuh manusia terdiri dari jaringan ikat yang berasal dari protein, sehingga untuk membangun dan mempertahankan integritas jaringan ikat diperlukan zinc (Mustafa *et al*, 2012).

Zat besi (Fe) berperan dalam produksi sel darah merah, proses metabolisme, termasuk transportasi oksigen, sintesis DNA, dan transportasi elektron. Besi diperlukan untuk sejumlah proses yang sangat kompleks yang berlangsung terus-menerus pada tingkat molekuler dan sangat diperlukan untuk kehidupan manusia seperti transportasi oksigen ke seluruh tubuh (Gupta, 2014).

Tembaga (Cu) pada ekstrak ikan haruan merupakan salah satu unsur mineral penting yang berhubungan dengan zat besi karena sifat dan perannya yang serupa. Tembaga disimpan di hati dan dalam jumlah kecil ditemukan di otak, sumsum tulang, limpa, jantung, dan ginjal. Memiliki beberapa fungsi enzim, terutama *amine oxidase* dan *pyridoxal phosphate*. Tembaga juga dikaitkan dengan ikatan kolagen dan elastin (Mustafa *et al*, 2012). Tembaga, berperan dalam membentuk jaringan ikat, tulang, dan optimalisasi kerja antioksidan di dalam tubuh. Asam lemak tak jenuh pada ikan haruan berfungsi sebagai regulator sintesis prostaglandin (Izzaty *et al*, 2014). Selain itu, unsur ini sangat dibutuhkan dalam proses metabolisme dan pembentukan hemoglobin. Bila berlebihan dapat mengganggu kesehatan, tetapi bila kekurangan tembaga dalam darah dapat menyebabkan anemia yang merupakan gejala umum, pertumbuhan yang terganggu, kerusakan tulang, depigmentasi rambut. (Burns, 1981; Arifin, 2007).