

**Uji Toksisitas Akut *Pulp-Out*: Kajian Mikroskopik Sel Inflamasi
dan Pembuluh Darah Jaringan Gingiva Tikus Wistar**

*Pulp-Out Acute Toxicity Test: Microscopic Study of Inflammatory Cells
and Blood Vessels of Gingival Tissue in Wistar Rats*

TESIS



Oleh:

WARNI EKA MUTHIA

J025 19 1009

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

**Uji Toksisitas Akut *Pulp-Out*: Kajian Mikroskopik Sel Inflamasi
dan Pembuluh Darah Jaringan Gingiva Tikus Wistar**

TESIS

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

Disusun dan Diajukan Oleh:

**WARNI EKA MUTHIA
J025191009**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2022**

PENGESAHAN TESIS

**UJI TOKSISITAS AKUT PULP-OUT: KAJIAN MIKROSKOPIK SEL
INFLAMASI DAN PEMBULUH DARAH JARINGAN GINGIVA TIKUS
WISTAR**

Diajukan oleh

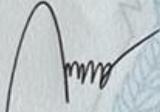
WARNI EKA MUTHIA

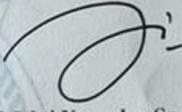
J025191009

Telah disetujui,
Makassar, 20 Juli 2022

Pembimbing I

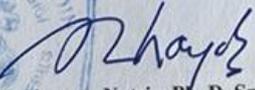
Pembimbing II

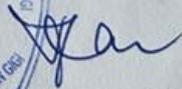

Dr. drg. Marja Tanumihardja, MDSc
NIP. 19610216 198702 2 001


Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)
NIP.19710625 200501 2 001

**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi**

**Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin**


drg. Nurhavaty Natsir, Ph. D, Sp. KG(K)
NIP. 19640518 199103 2 001


Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp. Pros(K)
NIP. 19631104 199401 1 001

TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

PADA TANGGAL, 30 JUNI 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc
Anggota : Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)
drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG(K)
Dr. drg. Hafsah Katu, M.Kes
Dr. drg. Nurlindah Hamrun, M.Kes

Mengetahui,

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi



Nurhayaty Natsir
Dr. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)
NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Warni Eka Muthia

Nomor Mahasiswa : J025191009

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis

Bidang Studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Juli 2022

Yang Menyatakan,



Warni Eka Muthia

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum wr. wb

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas kehendak, berkat dan rahmat hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Uji Toksikitas Akut *Pulp-Out*: Kajian Mikroskopik Sel Inflamasi dan Pembuluh Darah Jaringan Gingiva Tikus Wistar”. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. **Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K)** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc** sebagai Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga, dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini.
3. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)** sebagai Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga, dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini.
4. **drg. Nurhayaty Natsir, Ph. D, Sp.KG(K)** sebagai Ketua Prodi Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin dan dosen atas bimbingan, saran, dan arahan.
5. **drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG(K)** sebagai penguji yang telah memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.

6. **Dr. drg. Hafsah Katu, M.Kes.** sebagai dosen dan penguji telah memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
7. **Dr. drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes.** sebagai dosen dan penguji telah memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
8. **Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG(K), drg. Noor Hikmah, Sp.KG (K), drg. Wahyuni Suci Dwi Andhany, Sp.KG(K)** sebagai dosen yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
9. **Lukman Muslimin, S.Farm, Apt.** beserta staf Laboratorium Farmasi STIFA yang memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung.
10. **dr. M. Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA, DFM** sebagai Kepala Laboratorium Patologi Anatomi yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung.
11. Teman seperjuangan penelitian saya **drg. Esfandiary** dan **drg. Mustakim** yang telah melalui suka dan duka bersama selama penelitian.
12. Teman-teman residen Konservasi Gigi terkhusus 2019 (**Mutmainnah Majaya, Sulton Rahmi, Murniati Muhiddin, Harmiyati Gappar, Chandra Firdaus, St. Asmaul Husna, Nurvita Titi Ikawati**) yang sudah menjadi sahabat sekaligus saudara yang selalu menguatkan selama menempuh pendidikan.
13. Terkhusus suami saya **Akhmad Fauzi** beserta ibu dan ayah saya, **Hj. Eriyani dan H. Anwar**, yang memberikan dukungan yang besar selama

masa pendidikan, tak lupa anak saya **Muhammad Akhdan Zihni** dan **Emir Ubaidillah** atas pengertiannya.

Akhirnya dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dan semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, ridha dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 26 Juli 2022

Warni Eka Muthia

ABSTRAK

WARNI EKA MUTHIA: Uji Toksisitas Akut *Pulp-Out*: Kajian Mikroskopik Sel Inflamasi Dan Pembuluh Darah Jaringan Gingiva Tikus Wistar.

(Dibimbing oleh: **Maria Tanumihardja, Juni Jekti Nugroho**)

Latar Belakang: Bahan devitalisasi berbasis bahan alam telah diteliti berpotensi dimanfaatkan dalam perawatan saluran akar bila penggunaan anastesi lokal tidak efektif. Kombinasi getah jarak pagar dengan akar sidaguri dan melittin (*pulp-out*) untuk memastikan keamanan penggunaannya perlu dilakukan uji toksistas lokal terhadap *pulp-out* karena *pulp-out* bisa mencapai gingiva bila terjadi kebocoran pada tambalan sementara. **Tujuan:** mengevaluasi toksistas *pulp-out* terhadap jaringan gingiva melalui pengamatan terhadap sel radang dan pembuluh darah.

Metode: Penelitian *eksperimental laboratoris* dengan disain *post test with control group*. Dua belas gigi tikus wistar dibagi kedalam 2 kelompok yaitu kelompok uji dan kelompok kontrol. Pada kelompok uji diberikan aplikasi bahan *pulp-out* pada sulkus gingiva dengan dosis 50 mg, sedangkan pada kelompok kontrol tidak ada perlakuan. Pada hari ke 8, dilakukan eutanasia pada hewan uji kemudian dilanjutkan ekstraksi pada rahang dan difiksasi dalam formalin. Seluruh sampel dilakukan pemeriksaan histopatologis pada jaringan gingiva dengan pembesaran 400x perlapangan pandang. **Hasil:** Hasil uji t-berpasangan menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna secara statistik. Nilai rerata infiltrat sel radang setelah aplikasi *pulp-out* yaitu 162.08 ± 38.87 sedangkan nilai rerata infiltrat sel radang tanpa *pulp-out* yaitu 157.83 ± 42.2 dengan nilai $p = 0,86$. Nilai rerata jumlah pembuluh darah setelah aplikasi *pulp-out* yaitu 34.92 ± 8.98 sedangkan nilai rerata jumlah pembuluh darah tanpa *pulp-out* yaitu 45.00 ± 8.53 dengan nilai $p = 0,995$ pada tingkat signifikansi 95%. Terjadi peningkatan infiltrat sel radang dan penurunan jumlah pembuluh darah setelah aplikasi *pulp-out* pada jaringan gingiva hewan coba. **Kesimpulan:** *Pulp-out* tidak menyebabkan toksik lokal pada jaringan gingiva tikus wistar secara ireversibel.

Kata Kunci: *Pulp-out*, gingiva, sel radang, pembuluh darah.

ABSTRACT

WARNI EKA MUTHIA: *Pulp-Out* Acute Toxicity Test: Microscopic Study of Inflammatory Cells and Blood Vessels of Gingival Tissue in Wistar Rats
(Supervised by: **Maria Tanumihardja, Juni Jekti Nugroho**)

Background: Herbal-based devitalization agents have been investigated for potential use in root canal treatment. The combination of *Jatropha curcas* with sidaguri root and melittin (pulp-out) will be examined for its local toxicity prior applying in humans. **Objective:** to evaluate the toxicity of pulp-out on gingival tissue by observing inflammatory cells and blood vessels. **Methods:** Laboratory experimental research with post test design with control group. Twelve teeth of wistar rats were divided into 2 groups, test group and control group. Pulp-out was applied into gingival sulcus on the test group. On the 8th day, the test animals were euthanized, followed by extraction of the jaws and fixed in formalin. All samples were histopathologically examined on the gingival tissue with a magnification of 400x. **Results:** Paired t-test results showed no statistically significant difference between the groups ($p= 0.858$). Mean value of inflammatory cells infiltrate after pulp-out application was $162.08 \pm 38,87$ while mean value of inflammatory cell infiltrate without pulp-out was $157.83 \pm 42,20$ with. Mean value of the number of blood vessels after pulp-out application was 34.92 ± 8.99 while mean value of the number of blood vessels without pulp-out was 45.00 ± 8.53 ($p= 0.995$). There was an increase in inflammatory cell infiltrate and a decrease in the number of blood vessels after pulp-out application on animal's gingival tissue. **Conclusion:** Pulp-out did not cause irreversible local toxicity in the gingival tissue of wistar rats. **Keywords:** Pulp-out, gingiva, inflammatory cells, blood vessels.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PRASYARAT GELAR	ii
PENGESAHAN UJIAN TESIS	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	2
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Jaringan Gingiva	4
2.2. Devitalisasi Pulpa	11
2.3. Toksisitas Bahan Devitalisasi Pulpa.....	12
2.4. <i>Pulp-Out</i>	15
BAB III. KERANGKA TEORI DAN KONSEP	
3.1. Kerangka Teori	19
3.2. Kerangka Konsep	20
3.3. Hipotesis Penelitian	20

BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1. Jenis Penelitian	21
4.2. Waktu Penelitian	21
4.3. Lokasi Penelitian	21
4.4. Sampel Penelitian.....	21
4.5. Perhitungan Besar Sampel	22
4.6. Variabel Penelitian	23
4.7. Definisi Operasional Penelitian	23
4.8. Alat dan Bahan Penelitian	24
4.9. Data Penelitian	24
4.10. Prosedur Penelitian	25
BAB V. HASIL PENELITIAN.....	29
BAB VI. PEMBAHASAN.....	33
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Gambaran histologis gingiva yang sehat	8
Gambar 2.2. Serangkaian foto mikrograf yang menunjukkan gambaran histologis gingivitis (pewarnaan HE).....	10
Gambar 5.1a. Gambaran histologi sel radang jaringan gingiva pada kelompok kontrol.....	29
Gambar 5.1b. Gambaran histologi sel radang jaringan gingiva pada kelompok perlakuan.....	30
Gambar 5.2a. Gambaran histologi jumlah pembuluh darah jaringan gingiva pada kelompok kontrol.....	30
Gambar 5.2b. Gambaran histologi jumlah pembuluh darah jaringan gingiva pada kelompok perlakuan.....	31

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Uji Normalitas Dan Homogenitas Infiltrat Sel Radang dan Jumlah Pembuluh Darah Setiap Kelompok	32
Tabel 5.2. Rerata Infiltrat Sel Radang dan Jumlah Pembuluh Darah Setelah Aplikasi Pulp-Out Pada Masing-Masing Kelompok.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

1. Rekomendasi Persetujuan Etik
2. Dokumentasi Penelitian
3. Hasil analisa uji statistik menggunakan SPSS for Windows versi 26.0

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Gingiva adalah bagian dari mukosa pengunyahan yang menutupi prosesus alveolaris dan melindungi jaringan di bawahnya (Bathla, 2017). Gingiva manusia serta jaringan mulut lainnya dapat menunjukkan beberapa lesi patologis yang tidak diinduksi plak, yang dapat menyebabkan inflamasi (Holmstrup *et al.*, 2018).

Respon inflamasi gingiva terhadap biomaterial atau bahan kimia pada jaringan ditandai dengan infiltrasi sel imun, terutama neutrophil, makrofag, sel plasma, dan limfosit, dan produksi sitokin *proinflammatory* (Bruno *et al.*, 2010). Akumulasi sel-sel pertahanan ini menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskular (Preethanath *et al.*, 2019).

Inflamasi gingiva dapat disebabkan oleh traumatik lesi, seperti trauma mekanik, trauma termal, atau trauma kimia. Inflamasi jaringan gingiva yang disebabkan karena trauma kimia salah satunya adalah paraformaldehida yang digunakan sebagai bahan devitalisasi dalam perawatan saluran akar (Kaushik *et al.*, 2020; Holmstrup *et al.*, 2018). Inflamasi ligamen periodontal, inflamasi hingga nekrosis gingiva dan tulang alveolar yang menyebabkan resorpsi akar yang parah dan nekrosis periapikal telah dilaporkan terjadi setelah aplikasi paraformaldehida sebagai bahan devitalisasi pulpa (Bansal and Mahajan, 2019; Moon, 2002).

Alternatif lain bahan devitalisasi pulpa berbasis bahan alam telah diteliti. Kombinasi tiga bahan herbal; getah jarak, akar sidaguri dan melittin disebut dengan *pulp-out* telah diteliti memiliki potensi sebagai bahan devitalisasi pulpa

(Tanumihardja, *et al.*, 2019). Untuk memastikan keamanan penggunaannya, telah dilakukan uji toksistas terhadap *pulp out* secara sistemik pada organ hati, ginjal, usus dan limpa yang menunjukkan efek inflamasi yang bersifat reversibel (Muhidin, 2021; Karim, 2021; Temmanengnga, 2021).

Belum ada penelitian yang dilakukan untuk mengkaji toksisitas *pulp-out* ke mukosa rongga mulut khususnya jaringan gingiva. Penelitian ini penting karena *pulp-out* bisa mencapai gingiva bila terjadi kebocoran pada tambalan sementara terutama pada kavitas proksimal. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi toksisitas lokal *pulp-out* melalui pengamatan terhadap sel radang dan pembuluh darah pada jaringan gingiva.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

Apakah *pulp-out* menyebabkan toksisitas lokal pada jaringan gingiva?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas *pulp-out* terhadap jaringan gingiva.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi jumlah infiltrasi sel inflamasi jaringan gingiva setelah aplikasi *pulp-out* pada jaringan gingiva.
2. Mengevaluasi jumlah pembuluh darah setelah aplikasi *pulp-out* pada jaringan gingiva.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat IPTEK

Memberikan informasi baru mengenai toksisitas lokal setelah aplikasi *pulp-out* sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa terhadap jaringan gingiva.

1.4.2 Manfaat Klinis

1. Diharapkan dapat dijadikan pertimbangan bahan devitalisasi pulpa sebelum perawatan endodontik.
2. Mengembangkan ilmu pengetahuan dalam bidang endodontik dengan menggunakan bahan-bahan yang tersedia di alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jaringan Gingiva

2.1.1 Struktur Anatomi Jaringan Gingiva

Gingiva, juga dikenal sebagai gusi, adalah jaringan epitel khusus yang mengelilingi gigi melalui sel khusus yang dikenal sebagai sel *junctional epitel* (JE). *Junctional epitel* ini terletak di bagian bawah sulkus gingiva, dan bertindak sebagai barier baik pada trauma mekanis maupun gangguan mikrobiologis. Epitel gingiva memainkan peran penting dalam respon imun bawaan terhadap infeksi pada jaringan periodontal. Dengan demikian, gingiva adalah mediator kunci dalam inisiasi penyakit periodontal (Fujita *et al.*, 2020).

Pada orang dewasa, gingiva normal menutupi tulang alveolar dan akar gigi sampai pada setinggi koronal dari *cementoenamel junction*. Secara anatomis, gingiva dibagi menjadi *marginal gingiva*, *attached gingiva* dan *interdental gingiva* (Reddy, 2011). Meskipun setiap jenis gingiva menunjukkan variasi yang cukup besar dalam diferensiasi, histologi, dan ketebalan sesuai dengan tuntutan fungsionalnya, semua jenis secara khusus terstruktur untuk berfungsi secara tepat terhadap kerusakan mekanis dan mikroba. Dengan kata lain, struktur spesifik dari berbagai jenis gingiva mencerminkan efektivitas masing-masing sebagai penghalang penetrasi oleh mikroba dan agen berbahaya ke dalam jaringan yang lebih dalam (Fiorellini *et al.*, 2019).

Marginal gingiva atau *unattached gingiva* adalah tepi terminal atau batas gingiva yang mengelilingi gigi seperti *collar*. *Marginal gingiva* biasanya memiliki

lebar sekitar 1 mm, dan membentuk dinding jaringan lunak dari sulkus gingiva. Ini dapat dipisahkan dari permukaan gigi dengan probe periodontal. Titik paling apikal dari *marginal gingival scallop* disebut *gingival zenith*. Dimensi *apicocoronal* dan *mesiodistal* bervariasi antara 0,06 mm dan 0,96 mm (Fiorellini *et al.*, 2019)

Attached gingiva bersambung dengan *marginal gingiva*. *Attached gingiva* ini kuat, dan terikat erat pada periosteum yang mendasari tulang alveolar. Aspek fasial dari *attached gingiva* meluas ke mukosa alveolar yang relatif longgar dan dapat digerakkan, dibatasi oleh *mucogingival junction* ((Fiorellini *et al.*, 2019).

Interdental gingiva menempati embrasur gingiva, yang merupakan ruang interproksimal di bawah area kontak gigi. *Interdental gingiva* dapat berbentuk piramidal, atau berbentuk *col*. Pada yang pertama, ujung satu papila terletak tepat di bawah titik kontak, yang terakhir menunjukkan lekukan seperti lembah yang menghubungkan papila fasial dan lingual dan yang sesuai dengan bentuk kontak interproksimal. Bentuk gingiva dalam ruang interdental tertentu tergantung pada ada atau tidaknya titik kontak antara gigi yang berdekatan, jarak antara titik kontak dan puncak tulang, dan ada atau tidaknya beberapa derajat resesi (Fiorellini *et al.*, 2019).

2.1.2 Gambaran Mikroskopik Gingiva

Gambaran mikroskopik gingiva menunjukkan struktur *epitel gingiva*, *epitel junctional*, dan jaringan ikat gingiva atau lamina propria yang sangat penting untuk patogenesis periodontal (Bathla, 2017).

2.1.2.1 Epitel Gingiva

Secara historis, kompartemen epitel dianggap hanya memberikan *barrier* fisik terhadap infeksi dan perlekatan gingiva yang mendasarinya. Namun, sel-sel epitel memainkan peran aktif dalam pertahanan *innate host* dengan menanggapi bakteri secara interaktif, yang berarti bahwa epitel berpartisipasi secara aktif dalam menanggapi infeksi, dalam memberi sinyal reaksi *host* lebih lanjut, dan dalam mengintegrasikan *innate* imun dan respon yang diperlukan. Sebagai contoh, sel epitel dapat merespon bakteri dengan peningkatan proliferasi, perubahan sinyal sel, perubahan diferensiasi dan kematian sel, dan, akhirnya, perubahan homeostasis jaringan (Fiorellini *et al.*, 2019).

2.1.2.2 Epitel Junctional

Epitel junctional melekat pada permukaan gigi (*epithelial attachment*) melalui lamina basal internal. Epitel ini melekat pada jaringan ikat gingiva oleh lamina basal eksternal yang memiliki struktur yang sama seperti jaringan ikat epitel lainnya di tempat lain di tubuh (Fiorellini *et al.*, 2019). *Epitel junctional* menunjukkan beberapa fitur struktural dan fungsional yang unik yang berkontribusi untuk mencegah flora bakteri patogen dari kolonisasi permukaan gigi subgingiva. Pertama, *epitel junctional* melekat kuat pada permukaan gigi, sehingga membentuk penghalang epitel terhadap bakteri plak. Kedua, memungkinkan akses cairan gingiva, sel inflamasi, dan komponen pertahanan host imunologi ke margin gingiva. Ketiga, sel *epitel junctional* menunjukkan pergantian yang cepat, yang berkontribusi pada keseimbangan host-parasit dan perbaikan cepat jaringan yang rusak. Beberapa peneliti juga telah menunjukkan bahwa sel-sel *epitel junctional*

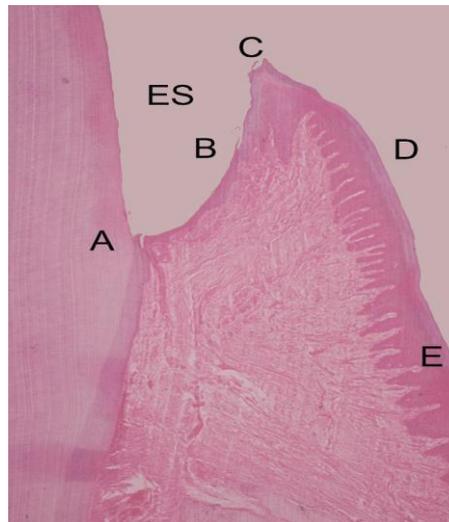
memiliki kapasitas endositik yang sama dengan makrofag dan neutrofil dan bahwa aktivitas ini mungkin bersifat protektif (Fiorellini *et al.*, 2019).

2.1.2.3 Jaringan Ikat Gingiva

Komponen utama dari jaringan ikat gingiva adalah serat kolagen (sekitar 60% oleh volume), fibroblas (5%), pembuluh darah, saraf, dan matriks (sekitar 35%). Jaringan ikat memiliki kompartemen seluler dan ekstraseluler kompartemen terdiri dari fiber dan substansi dasar. Elemen seluler yang dominan dalam jaringan ikat gingiva adalah fibroblas. Fibroblas berasal dari mesenkim dan memainkan peran utama dalam pengembangan, pemeliharaan, dan perbaikan jaringan ikat gingiva (Fiorellini *et al.*, 2019).

Perbaikan jaringan ikat gingiva memiliki tingkat *turnover* yang tinggi sehingga jaringan ikat gingiva memiliki kapasitas penyembuhan dan regeneratif yang sangat baik. Memang, jaringan ikat gingiva mungkin salah satu jaringan penyembuhan terbaik di tubuh, dan umumnya menunjukkan sedikit bukti jaringan parut setelah prosedur pembedahan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh rekonstruksi yang cepat dari arsitektur fibrous jaringan. Namun, kapasitas reparatif jaringan ikat gingiva tidak sebesar ligamen periodontal atau jaringan epitel (Fiorellini *et al.*, 2019). Saluran mikrosirkulasi, pembuluh darah, dan pembuluh limfatik memainkan peran penting dalam drainase cairan jaringan dan penyebaran peradangan. Pada individu dengan gingivitis dan periodontitis, mikrosirkulasi dan pembentukan vaskular sangat berubah pada jaringan vaskular langsung di bawah epitel sulkular gingiva dan *epitel junctional* (Fiorellini *et al.*, 2019).

Seperti disebutkan sebelumnya, perubahan anatomi dan histologi telah terbukti terjadi pada mikrosirkulasi gingiva individu dengan gingivitis. Studi prospektif pembuluh darah gingiva pada hewan telah menunjukkan bahwa tanpa adanya peradangan, jaringan pembuluh darah diatur dalam pola yang teratur, berulang, dan berlapis. Sebaliknya, pembuluh darah gingiva yang meradang menunjukkan pola pleksus pembuluh darah yang tidak teratur dengan pembuluh mikro, menunjukkan penampilan melingkar, melebar, dan berbelit-belit (Fiorellini *et al.*, 2019).



Gambar 2.1. Gambaran histologis gingiva yang sehat. (A). *Enamel Space* (ES; *junctional epithelium* (A dan B), *sulcular epithelium* (B dan C), *free gingiva* (C dan D), dan *attachment gingiva* (D dan E). Jaringan ikat gingiva terdiri dari bundel kolagen yang padat, teratur, dan saling bertautan. Sumber: Newman, MG. *Et al. Carranza's Clinical Periodontology*. 2015

2.1.3 Mekanisme Pertahanan Gingiva

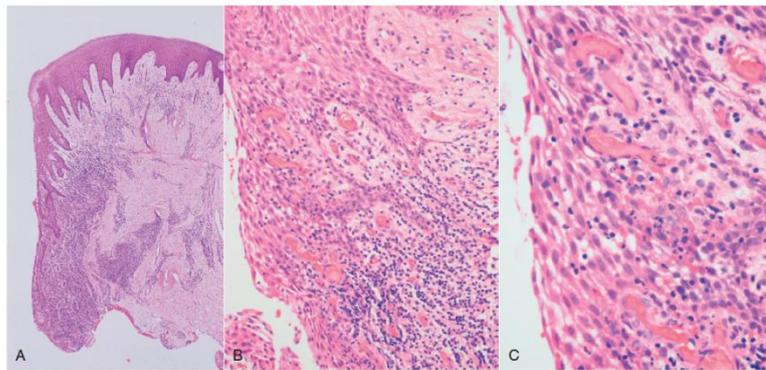
Perkembangan gingivitis sangat jelas terlihat dari perspektif klinis. Selain itu, perubahan yang terjadi di dalam jaringan sangat jelas terlihat saat diperiksa di bawah mikroskop. Dalam istilah luas, terdapat infiltrasi jaringan ikat oleh banyak sel pertahanan terutama neutrofil, makrofag, sel plasma, dan limfosit. Sebagai hasil dari akumulasi sel-sel pertahanan ini dan pelepasan enzim perusak ekstraselular,

ada gangguan pada anatomi normal jaringan ikat yang mengakibatkan penipisan kolagen dan proliferasi *epitel junctional*. Vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah menyebabkan peningkatan cairan keluar dari pembuluh darah dan memfasilitasi jalannya sel pertahanan dari pembuluh darah ke jaringan, mengakibatkan pembesaran jaringan, yang tampak eritematosa dan edematosa (yaitu gambaran klinis gingivitis) (Preshaw, 2015).

Jaringan gingiva selalu memiliki karakteristik respon inflamasi tingkat rendah sebagai akibat dari keberadaan biofilm subgingiva secara terus menerus (Preshaw, 2015). Inflamasi tingkat rendah ini ditandai dengan respon dari leukosit dan sel endotel terhadap biofilm bakteri. Produk metabolisme bakteri memicu sel *epitel junctional* untuk menghasilkan sitokin dan neuropeptida, yang menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah lokal, neutrofil meninggalkan pembuluh darah dan bermigrasi melalui jaringan ikat menuju sumber peradangan sebagai respon terhadap kemokin (Preshaw, 2015; Cekici *et al.*, 2014).

Pada saat awal gingivitis, gingiva tampak eritematosa akibat proliferasi kapiler, terbukanya lapisan mikrovaskuler, dan vasodilatasi yang berlanjut (Preshaw, 2015). Peningkatan permeabilitas vaskular menyebabkan peningkatan aliran *gingival crevicular fluid* (GCF), dan jumlah neutrofil meningkat secara signifikan di jaringan ikat dan munculnya makrofag, limfosit, sel plasma, dan sel mast (Cekici *et al.*, 2014). Fibroblas menurun pada kondisi ini, terutama melalui apoptosis (kematian sel terprogram), yang meningkatkan ruang yang tersedia untuk infiltrasi leukosit. Kerusakan kolagen terjadi, yang mengakibatkan penipisan kolagen di daerah apikal dan lateral *epitel junctional* dan *sulcular*. Epitel kemudian

dapat terlihat berkembang ke dalam area jaringan ikat yang kekurangan kolagen (Gambar 2). Akibat edema jaringan gingiva, gingiva mungkin tampak sedikit bengkak sehingga sulkus gingiva menjadi sedikit lebih dalam. Aliran GCF meningkat. Gingivitis awal bisa bertahan tanpa batas waktu, atau bisa berlanjut lebih (Preshaw, 2015; Cekici *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Serangkaian foto mikrograf yang menunjukkan gambaran histologis gingivitis (pewarnaan HE). Dalam semua kasus, gigi berada di sisi kiri gambar. A. Pembesaran gingiva yang rendah menunjukkan epitel hiperplastik *junctional* dan *sulcular* dengan infiltrasi sel inflamasi padat di jaringan ikat yang berdekatan. B. Perbesaran sedang dari antarmuka jaringan epitel-ikat menunjukkan banyak sel inflamasi intraepitel bersama dengan edema interseluler. Jaringan ikat mengandung kapiler yang melebar (hiperemia), dan terdapat infiltrat sel inflamasi yang padat. C. Pembesaran tinggi menunjukkan neutrofil dan limfosit kecil yang melewati *epitel sulcular*.

Sumber: Newman, MG. *dkk. Carranza's Clinical Periodontology*. 2015

Pada tahap selanjutnya dapat dianggap sebagai periode transisi dari respon imun bawaan ke respon imun adaptif yang disebut sebagai gingivitis kronis (Preshaw, 2015). Terdapat infiltrasi sel inflamasi yang signifikan pada tahap ini yang menempati sejumlah besar jaringan ikat yang meradang. Sejumlah besar sel infiltrasi dapat diidentifikasi berdekatan dengan *epitel junctional* dan *epitel sulcular*, di sekitar pembuluh darah, dan di antara bundel serat kolagen. Penipisan kolagen berlanjut, dengan proliferasi lebih lanjut dari epitel ke dalam ruang jaringan ikat. Neutrofil menumpuk di jaringan dan melepaskan kandungan lisosomnya

secara ekstraselular sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan lebih lanjut. Neutrofil juga merupakan sumber utama metaloproteinase matriks-8 (MMP-8; kolagenase neutrofil) dan MMP-9 (gelatinase B), dan enzim ini diproduksi dalam jumlah besar di jaringan gingiva yang meradang saat neutrofil bermigrasi melalui *bundle* serat kolagen yang padat untuk memasuki sulkus. *Epitel junctional* dan *epitel sulcular* membentuk *pocket epithelium* yang tidak melekat kuat pada permukaan gigi, yang mengandung sejumlah besar neutrofil, dan lebih permeabel untuk masuk atau keluarnya zat dari jaringan ikat di bawahnya (Preshaw, 2015).

Secara klinis, tahap ini adalah gingivitis kronis dengan perdarahan gingiva, perubahan warna dan kontur (Cekici *et al.*, 2014). Penting untuk diingat bahwa perubahan inflamasi ini masih dapat pulih sepenuhnya jika kontrol plak yang efektif diaktifkan kembali (Preshaw, 2015).

2.2 Devitalisasi Pulpa

Berdasarkan sejarah, bahan devitalisasi pulpa umum digunakan dalam praktik endodontik, bahan ini beraksi cepat dan mendevitalisasi pulpa dalam beberapa hari. Bahan devitalisasi pulpa diaplikasikan pada pulpa yang meradang dan nyeri terutama pada kasus dimana anestesi lokal sebagian besar tidak efektif (Bansal dan Mahajan, 2019). Bahan devitalisasi pulpa diaplikasikan berkontak dengan pulpa yang terbuka atau hampir terbuka, dan ditutup dengan seng oksida eugenol atau semen sementara lainnya (Srivastava *et al.*, 2011).

Bahan devitalisasi mampu mematikan saraf sehingga rasa nyeri dapat dihilangkan secara permanen (Tanumihardja *et al.*, 2019). Bahan devitalisasi pulpa

umumnya mengandung paraformaldehida. Paraformaldehida digunakan sebagai bahan devitalisasi pulpa yang meradang ketika anestesi lokal tidak efektif (Ozgoz *et al.*, 2018). Paraformaldehida mengalami depolimerisasi lambat di kavitas gigi. Akibatnya, molekul formaldehida secara bertahap menembus ke dalam pulpa, menyebabkan nekrosis lengkap setelah 6-8 hari (Antoniak *et al.*, 2017). Paraformaldehida ketika bekerja pada pulpa dapat menyebabkan kelumpuhan dinding pembuluh darah dan perdarahan pembuluh darah untuk membentuk trombosis, mengakibatkan gangguan sirkulasi darah sehingga pulpa secara bertahap mengalami anhidrasi dan nekrosis (Zhen-ya, 2013). Paraformaldehida bekerja tidak terbatas pada pulpa, tetapi menembus melalui dentin dan secara bertahap dilepaskan sebagai formaldehida (Ozgoz *et al.*, 2018).

2.3 Toksisitas Bahan Devitalisasi Pulpa

2.3.1 Toksisitas Paraformaldehida

Paraformaldehida memiliki sifat toksisitas yang kuat pada sel protoplasma, serabut saraf, pembuluh darah, menyebabkan lisis serabut saraf, destruksi dan dekomposisi dari akson selubung medula, vasodilatasi, hiperemi dan perdarahan. Selanjutnya terjadi kehancuran respirasi seluler pada mitokondria melalui membran sel sehingga menyebabkan kematian sel (Zhen-ya, 2013).

Formaldehida menyebabkan peningkatan efek sitotoksik dengan mengganggu keseimbangan intraseluler, memiliki kecenderungan kuat untuk bergabung dengan protein, asam nukleat (DNA dan RNA) dan asam lemak tak jenuh melalui proses non-enzimatik. Kombinasi ini menghasilkan reaksi inflamasi,

reaksi alergi, sitotoksitas, nekrosis dan efek mutagenik dan karsinogenik dengan mengembangkan denaturasi pada protein. Selain itu, radikal oksigen bebas meningkat di jaringan yang terkena formaldehida, dan peningkatan ini mempercepat proses (apoptosis atau nekrosis) yang menyebabkan kematian sel (Inci *et al.*, 2013).

Hata menunjukkan adanya distribusi sistemik formaldehida yang telah ditempatkan di saluran akar gigi taring kucing setelah pulpektomi (Hata *et al.*, 1989). Myers *et al.* (1983) menunjukkan perubahan jaringan di hati dan ginjal yang menunjukkan toksisitas akut setelah dilakukan pulpotomi pada anjing. Hasil pemeriksaan histologi menunjukkan pengurangan lebar rongga Bowman dapat dilihat sebagai akibat dari edema di kapiler glomerulus dan edema di jaringan hati yang mengubah tampilan sinusoid hepatic.

Formaldehida yang dilepaskan melalui dentin memiliki efek merusak pada jaringan periodontal dan tulang. Paraformaldehida memiliki efek toksik yang diketahui dengan baik, yang dapat diperkirakan terjadi pada kontak langsung dengan gingiva dan tulang. Pemulihan paraformaldehida dari sequestrum merupakan indikasi distribusi lokal bahan beracun ini di jaringan (Ozgoz *et al.*, 2018).

Sebuah studi oleh Hülsmann *et al* (1993) melaporkan bahwa kebocoran marginal dari bahan pengisi sementara dan perforasi iatrogenik dari lantai kamar pulpa dapat mengakibatkan difusi paraformaldehida (Toxavit) ke dalam jaringan periodontal. Pada pemeriksaan histologis, jaringan lunak menunjukkan sel epitel hiperplastik dan perubahan degeneratif. Ditemukan infiltrasi inflamasi sub epitel

dan granulosit. Pada nekrotik tulang alveolar hanya sedikit tanda inflamasi terdeteksi, di kedua spesimen terlihat endapan albumin. Laporan kasus ini menunjukkan efek merugikan dari paraformaldehida pada periodonsium dan tulang ketika digunakan sebagai bahan devitalisasi selama perawatan saluran akar. Oleh karena itu, penggunaan paraformaldehida untuk devitalisasi pulpa tidak lagi diindikasikan (Lee dan Choi, 2016).

2.3.2 Toksisitas Arsen

Arsenik telah memainkan peran dalam prosedur endodontik karena efeknya yang cepat dan mendevitalisasi pulpa dalam 1 atau 2 hari (Lu *et al.*, 2015), namun penggunaannya harus dihindari karena tidak lagi memiliki peran terapeutik dan telah terbukti memiliki banyak efek berbahaya. Praktisi gigi harus waspada menggunakan pasta arsenik sebagai agen devitalisasi karena difusinya ke jaringan periodontal dan sekitarnya melalui saluran akar gigi dan kebocoran restorasi sementara yang dapat menyebabkan komplikasi parah seperti kerusakan parah pada jaringan periapikal, destruksi tulang pendukung, dan hilangnya gigi (Giudice *et al.*, 2013). Trioksida arsenik adalah racun protoplasma yang dapat melisiskan sel-sel normal di jaringan (Lu *et al.*, 2015).

Kerusakan jaringan dan efek samping telah dilaporkan di beberapa artikel dari penggunaan pasta arsenik. Giudice *et al.* (2013) melaporkan terjadinya nekrosis jaringan lunak yang parah dan osteomielitis setelah lepasnya pasta arsenik dari kamar pulpa. Chen and Sung (2014) melaporkan terjadinya nekrosis gingiva dan tulang alveolar setelah aplikasi arsen sebagai bahan devitalisasi karena restorasi sementara yang tidak memadai.

2.4 *Pulp-out*

Pulp-out merupakan kombinasi bahan-bahan alam yaitu getah jarak pagar (*Jatropha curcas L*), akar sidaguri (*Sida rhombifolia L*) dan melittin. *Pulp-out* digunakan sebagai bahan devitalisasi pulpa dari bahan alam yang diharapkan dapat menjawab keterbatasan yang disebabkan oleh bahan devitalisasi pulpa kimia. *Pulp-out* diperoleh dari hasil kombinasi 25% ekstrak akar sidaguri, 25% getah jarak pagar, dan 1% melittin dalam makrogol propilen glikol.

Penelitian Tanumihardja *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa *pulp-out* berpotensi digunakan sebagai bahan devitalisasi pulpa. Penelitian yang dilakukan pada kelinci sebagai hewan coba, menunjukkan *pulp-out* mampu melisis sel dalam pemeriksaan histopatologi. Kematian sel tersebut mulai ditunjukkan pada pemberian dosis 5% dan lisis sel meningkat banyak pada pemberian dosis 50%.

Penelitian berikutnya oleh Tanumihardja *et al.*, (2021a) yang mengamati bagaimana lisis sel terjadi setelah aplikasi *pulp-out* pada kavitas gigi yang telah dibur, menggambarkan kematian sel terjadi pada pengamatan ekspresi Caspase-3. Caspase-3 adalah enzim yang berperan sebagai eksekutor dalam melisis sel secara terprogram. Jalur kematian sel setelah aplikasi *pulp-out* memiliki kemiripan dengan jalur kematian sel yang menggunakan bahan devitalisasi komersil yaitu melalui jalur nekrosis.

Hasil penelitian lain oleh Tanumihardja *et al.*, (2021a) melalui pengamatan ekspresi IL-1 β menunjukkan adanya inflamasi yang terjadi setelah pemberian *pulp-out* dosis 25% dan 50% selama 24 jam pada hewan uji. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan herbal dalam *pulp-out* tidak mampu mengatasi inflamasi yang terjadi

akibat kematian sel.

Penelitian *pulp-out* lain secara *in vitro* dengan menggunakan CLSM tampak terjadi sumur-sumur pada dasar kavitas yang menggambarkan kelarutan mineral setelah aplikasi *pulp-out*. *Pulp-out* berpenetrasi melalui pori yang terbentuk dan kemudian melisiskan sel yang ada di dalam pulpa. Ini menunjukkan *pulp-out* mampu berpenetrasi ke dalam pulpa gigi. (Tanumihardja *et al.*, 2021b)

2.4.1 Getah Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*)

Jatropha adalah tanaman dari famili *Euphorbiaceae*. *Jatropha* memiliki arti tanaman penyembuh atau tanaman obat dan merupakan tanaman yang mudah ditemui. *Jatropha* memiliki beberapa jenis spesies yaitu *Jatropha curcas*, *Jatropha integerima*, *Jatropha gossypifolia* dan *Jatropha multifida*. Salah satu *Jatropha* yang banyak terdapat di Indonesia adalah *Jatropha curcas linn*. Getah jarak pagar memiliki banyak kandungan fitokimia yaitu flavonoid, saponin, tannin, alkaloid dan *protease curcain* yang lebih banyak dan memiliki sifat antiinflamasi, antibakteri, antikanker, antifungi, antinyeri, dan antiseptik. Getah jarak pagar memiliki aktivitas antiinflamasi, aktivitas koagulan dan aktivitas desinfektan dan antiparasit dimana semua aktivitas itu dapat membantu mempercepat penyembuhan luka (Ridha, 2016).

Dari hasil penelitian yang dilakukan Mattulada, diketahui bahwa pemberian getah jarak dapat mengurangi nyeri pulpa (Mattulada, 2008). Penelitian oleh Irmaleny *et al.* (2011) menunjukkan getah jarak dapat menurunkan konsentrasi Substansi P lebih banyak dibandingkan dengan ekstraknya. Pada penelitian lain, getah jarak dengan teknik overlay agar menunjukkan bahwa getah jarak tidak

melisiskan sel tetapi memfiksasi sel (Siregar dan Damayanti, 2020).

2.4.2 Akar Sidaguri

Sidaguri (*S. rhombifolia*), genus tumbuhan berbunga dari keluarga mallow, *Malvaceae*. Sidaguri merupakan tumbuhan yang memiliki potensi cukup besar disetiap bagiannya, salah satunya adalah akar tanaman sidaguri karena mengandung steroid dan alkaloid yang dapat dijadikan sebagai antibakteri dan antiinflamasi (Pratiwi dan Zulkarnain, 2020).

Pada penelitian Tanumihardja, *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa ekstrak akar *S. rhombifolia* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *E. faecalis*. Penelitian oleh Pratiwi dan Zulkarnain (2020) menunjukkan terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis* setelah dilakukan pemberian nano gel ekstrak akar sidaguri (*Sida rhombifolia L.*) pada gingivitis tikus wistar putih.

Logeswari *et al.*, (2013) menyatakan bahwa ekstrak air dan etanol akar *S. rhombifolia* memiliki aktivitas anti-inflamasi secara *in vivo* pada tikus wistar. Selanjutnya pada penelitian oleh Tanumihardja *et al.*, (2019) menyatakan bahwa senyawa aktif sidaguri memiliki sifat efek anti-inflamasi dengan menghambat COX secara non-selektif.

2.4.3 Mellitin

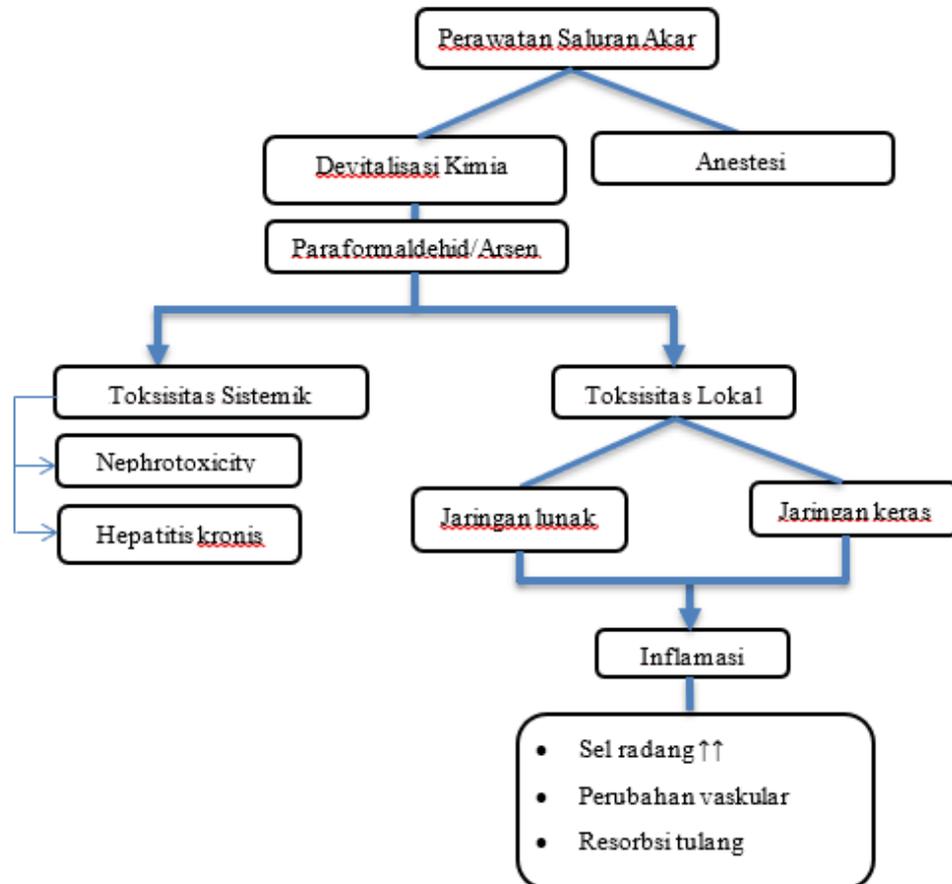
Melittin adalah konstituen utama dari racun lebah (*Apis mellifera*), terhitung sekitar 50% dari berat racun lebah yang kering (Lee and Bae, 2016). Melittin diketahui memiliki efek antikanker, antiinflamasi, dan antibakteri dalam sel (Jeong *et al.*, 2017) juga memiliki potensi untuk digunakan dalam imunoterapi (Alqarni *et al.*, 2018).

Hasil penelitian Leandro *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa melittin terbukti aktif melawan bakteri yang ada di rongga mulut. Menurut Kim *et al.* (2018) melittin melemahkan respon inflamasi yang diinduksi LPS dan oleh karena itu dapat diterapkan dalam pengobatan periodontitis untuk efek anti-inflamasi. Choe dan Kim (2017) juga melaporkan bahwa mellitin mampu menghambat pembentukan osteoklas melalui down-regulasi jalur pensinyalan RANKL-RANK dan penghambatan interleukin-1 β .

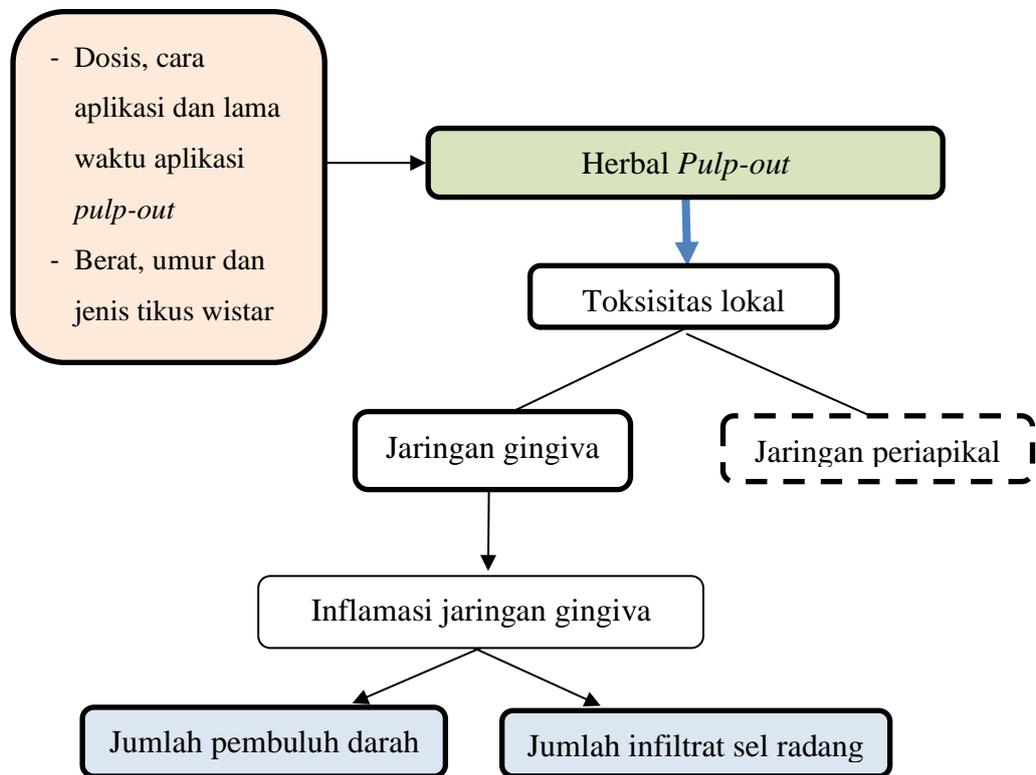
BAB III

KERANGKA TEORI DAN KONSEP

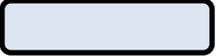
3.1. Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep



Keterangan :

-  : Variabel independen
-  : Variabel dependen
-  : Variabel kendali

3.3 Hipotesis Penelitian

Pulp-out tidak menyebabkan toksik pada jaringan gingiva tikus wistar.