

EFEKTIVITAS PASTA EKSTRAK CANGKANG KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DALAM PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF PADA GIGI WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERINFLAMASI MELALUI ANALISIS EKSPRESI *MATRIX METALLOPROTEINASE-1* (MMP-1)

TESIS



Nama: ROSDIANA AGUSTIN

NIM: J065202002

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2023**

PRASYARAT GELAR

**EFEKTIVITAS PASTA EKSTRAK CANGKANG KERANG
HIJAU (*Perna viridis*) DALAM PEMBENTUKAN DENTIN
REPARATIF PADA GIGI WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
TERINFLAMASI MELALUI ANALISIS EKSPRESI *MATRIX*
METALLOPROTEINASE-1 (MMP-1)**

TESIS

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Profesi Spesialis-1 dalam Bidang Ilmu Kedokteran Gigi Anak
pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

OLEH:

ROSDIANA AGUSTIN

NIM. J065202002

PEMBIMBING:

Prof. Dr. drg. SHERLY HORAX, MS

drg. WIWIK ELNANGTI WIJAYA, Sp.KGA

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
ILMU KEDOKTERAN GIGI ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

2023

**EFEKTIVITAS PASTA EKSTRAK CANGKANG KERANG
HIJAU (*Perna viridis*) DALAM PEMBENTUKAN DENTIN
REPARATIF PADA GIGI WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG
TERINFLAMASI MELALUI ANALISIS EKSPRESI *MATRIX*
*METALLOPROTEINASE-1 (MMP-1)***

OLEH:

ROSDIANA AGUSTIN

NIM. J065202002

Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,

Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, Januari 2024

Pembimbing I



Prof. Dr. drg. SHERLY HORAX, MS
NIP. 195804031986032002

Pembimbing II



drg. WIWIK ELNANGTI WIJAYA, Sp.KGA
NIP. 19810507 201901 6 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi (KPS)

PPDGS Kedokteran Gigi Anak FKG UNHAS



drg. SYAKRIANTYAH RIR, Sp.KGA, Subps. AIBK
NIP. 198607192021074001

PENGESAHAN UJIAN TESIS

EFEKTIVITAS PASTA EKSTRAK CANGKANG KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DALAM PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF PADA GIGI WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERINFLAMASI MELALUI ANALISIS EKSPRESI *MATRIX METALLOPROTEINASE-1* (MMP-1)

Diajukan Oleh:

ROSDIANA AGUSTIN

NIM. J065202002

Setelah membaca tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Telah disetujui:

Makassar, Januari 2024

Pembimbing I



Prof. Dr. drg. SHERLY HORAX, MS
NIP. 195804031986032002

Pembimbing II



drg. WIWIK ELNANGTI WIJAYA, Sp.KGA
NIP. 19810507 201901 6 001

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Kedokteran Gigi Anak FKG UNHAS



drg. SYAKRIANI SYAHRI, Sp.KGA. Subps. AIBK
NIP. 198607192021074001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



drg. IRFAN SUGIANTO, M.Med.Ed., Ph.D
NIP. 19810215 200801 1 009

PANITIA PENGUJI TESIS

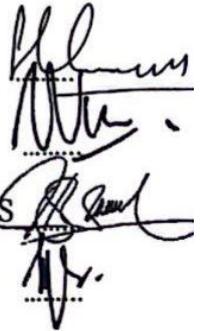
EFEKTIVITAS PASTA EKSTRAK CANGKANG KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DALAM PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF PADA GIGI WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERINFLAMASI MELALUI ANALISIS EKSPRESI *MATRIX METALLOPROTEINASE-1* (MMP-1)

OLEH:

ROSDIANA AGUSTIN
NIM. J065202002

Telah Disetujui:
Makassar, Januari 2024

1. Pembimbing I : Prof. Dr. drg. Sherly Horax., M.S
2. Pembimbing II: drg. Wiwik Elnangti Wijaya, Sp.KGA
3. Penguji I : Prof.Dr. Muh Harun Achmad, drg., Sp.KGA., KKA(K), FSASS
4. Penguji II : drg. Syakriani Syahrir., Sp.KGA., Subsp. AIBK(K)



Mengetahui,

Ketua Program Studi (KPS)

PPDGS Stomatologi Gigi Anak FKG UNHAS



drg. SYAKRIANI SYAHRIR, Sp.KGA. Subps. AIBK
NIP. 198607192021074001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rosdiana Agustin

NIM : J065202002

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Kedokteran Gigi Anak
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya tulis akhir yang saya buat ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya tulis ini merupakan hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Januari 2024

A 10,000 Indonesian postage stamp (METERAL TEMPEL) with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '10000', 'METERAL TEMPEL', and 'KORF AK0790889773'.

Rosdiana Agustin

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena hanya berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Efektivitas Pasta Ekstrak Cangkang Kerang Hijau (*Perna Viridis*) Dalam Pembentukan Dentin Reparatif Pada Gigi Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Terinflamasi melalui Analisis Ekspresi *Matrix Metalloproteinase-1* (MMP-1)”. Penulisan tesis ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Spesialis Kedokteran Gigi Anak pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Tesis ini juga diharapkan dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan peneliti lainnya untuk menambah pengetahuan dalam bidang ilmu kedokteran gigi maupun masyarakat umum.

Dalam perjalanan penulisan tesis ini, penulis menghadapi berbagai hambatan. Namun, berkat bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak, akhirnya penulisan tesis ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Dengan penuh rasa terima kasih, penulis ingin mengucapkan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed, Ph.D** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi UIniversitas Hasanuddin beserta seluruh pimpinan fakultas atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Kedokteran Gigi Anak Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Pembimbing tesis **Prof. Dr. drg. Sherly Horax, MS** dan **drg. Wiwik Elnangti Wijaya, Sp. KGA** yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran, serta ilmu selama penelitian dan penyusunan tesis ini, sekaligus senantiasa memberikan dukungan selama proses Pendidikan Spesialis di Bidang Kedokteran Gigi Anak.

3. **Prof. Dr. drg. Harun Achmad., M.Kes., Sp.KGA., Subsp. KKA(K)** dan **drg. Syakriani Syahrir., Sp.KGA., Subsp. AIBK** selaku penguji yang telah bersedia memberikan arahan, waktu, dan kesempatan untuk memberikan bimbingan kepada penulis sehingga karya tulis ilmiah ini dapat menjadi lebih baik.
4. Bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. **Sahriawati, S.Pi, MT**, laboran pendamping di Laboratorium Pengujian Kimia Kabupaten Pangkep, yang membantu dalam pelaksanaan penelitian tesis. **Drh. Andi Fitrah Ardiansyah, dan drh. Hera**, tim pendamping dan pengarah dalam pelaksanaan penelitian tesis ini. **Mardiati**, staf Laboratorium Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin, yang telah banyak membantu dalam proses pembuatan preparat histologi.
5. Staf Dosen PPDGS Kedokteran Gigi Anak FKG Unhas **Dr. Letkol Laut (K/W) Lusy Damayanti, drg., Sp.KGA, drg. Yayah Inayah, Sp.KGA, drg. Andi Sri Permatasari, Sp.KGA** atas saran, kritik, masukan, support, arahan, dan bimbingan selama studi perkuliahan, pengerjaan kasus klinik, dan tahap penelitian, sehingga karya ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Staf Akademik dan Tata Usaha Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Terutama kepada **Pak Midun, Pak Irwansyah dan Pak Majid**, atas bantuan dan saran dalam pelaksanaan penelitian tesis ini.
7. Teman-teman **Angkatan 1 PPDGS Kedokteran Gigi Anak FKG Unhas, drg. Asrina Zohraeni T, drg. Reza Ardiansya, drg. Arrang Sessoria, drg. Harmawaty, Prof. Dr.drg. Fajriani, M.Kes drg. Marhamah, M.Kes**, atas

kebersamaan, dan dukungan, selama menjadi residen. Semoga silaturahmi dan kekeluargaan kita bisa berlangsung selamanya, walaupun sudah kembali ke tempat tugas masing-masing.

8. Teman-teman residen Pedo FKG Unhas, **Angkatan Pedo 2- Pedo 6** terutama **drg. Yeyen Marwati, drg.Iriani, drg.Wahyuni, drg. Giska dan drg. Agnita** atas bantuan, dukungan, dan sarannya selama menjadi residen.

9. **Terkhusus Kepada:**

a. Suami tercinta dan terbaik **Akbar Fitrianto Rachman, S.STP., M.AP** yang senantiasa memberikan doa, dukungan, dan motivasi selama penulis menyelesaikan karya tulis ini. Terima kasih atas kesabaran dan kesetiiaannya. I LOVE U

b. Orang tua tersayang dan terhebat Papa **H. Ir. Agustono Arso, MM.**, Ibu **Hj. Yuslinawati**, dan Ayah Mertua **Abdul. Rachman**, Ibu Mertua **Hj. Hawiah Dahlan**, yang memberikan doa, dukungan, dan kasih sayang kepada penulis dalam bentuk moril dan materil, yang sangat berarti dalam menyelesaikan pendidikan spesialis ini.

c. Anak-anakku terhebat dan tersabar **Anindya Esterafiana Akbar, Azril Alfiando Puja Akbar**, dan **Arkhanza Nafindra Kahfi Akbar**, yang sudah sangat pengertian dan menjadi anak yang baik,terimakasih nak, mama sayang kalian.

d. Saudara-saudari **Abang Tony Ardiansyah, Mba Susana, Mba Desy Ardianty, Bang Dirman Dahlan, Mba Yunita Ardiany, Bang Jemmy Arifin, Mba Nurul Ardenia, Bang Fadli, Dek Putri Handayani, Reza,**

Wahyuni dan Abi yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

- e. Sahabat selama menjalani Pendidikan Dokter Gigi Hingga saat ini **drg. Marini Arisandy, drg. Dwi Puji Lestari, drg. Nina Permatasi, Sp.Prost, drg. Sri Widyastuti, drg. Athirah Nanda Khaeriani, drg. Yanti Kusumawaty** yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan doa kepada penulis dalam menyelesaikan tesis dan Pendidikan spesialis Kedokteran Gigi Anak ini.
- f. Seluruh keluarga, sahabat, dan orang-orang yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas bantuan dan dukungan dalam penyusunan dan penyelesaian karya tulis penelitian tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis senantiasa menerima kritik dan saran yang diberikan oleh pembaca. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua dalam pengembangan ilmu pengetahuan ke depannya.

Makassar, Januari 2024

Rosdiana Agustin

ABSTRAK

Latar belakang: Kerusakan gigi yang parah dapat dicegah dengan memberikan perlindungan pulpa pada karies yang dalam. Kalsium hidroksida adalah bahan yang dipercaya dapat merangsang pembentukan dentinal bridge, tetapi bersifat toksik bagi sel. Diperlukan bahan alternatif yang lebih biokompatibel seperti cangkang kerang hijau (*Perna viridis*) yang memiliki senyawa kalsium karbonat untuk remineralisasi jaringan keras gigi. *Matrix metalloproteinase* (MMP-1) dan *tissue inhibitor of metalloproteinase-1* (TIMP-1) terlibat dalam degradasi matriks ekstraseluler pada berbagai penyakit inflamasi. MMP-1 adalah kolagenase yang paling sering dikaitkan dengan remodeling jaringan dengan membelah komponen matriks termasuk kolagen. Penurunan ekspresi MMP-1 secara intraseluler dan ekstraseluler dalam karies gigi diduga mempunyai peranan penting dalam merespon adanya jejas dan pembentukan dentinal bridge.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi MMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang kerang hijau (*Perna viridis*) pada pulpa gigi wistar yang terinflamasi.

Bahan dan Metode: Penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *posttest only control group design* dengan 24 sampel wistar. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yaitu: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (aplikasi kalsium hidroksida), kelompok perlakuan pertama (aplikasi pasta cangkang kerang hijau konsentrasi 35%), kelompok perlakuan kedua (aplikasi pasta cangkang kerang hijau konsentrasi 40%) yang akan disecrifed dalam periode waktu 3,7 dan 14 hari. Data dianalisis pada hewan coba menggunakan pemeriksaan *Imunohistokimia* dan *Haematoxylin Eosin* (HE).

Hasil: Uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk memperlihatkan nilai signifikan ($p > 0,05$) berarti data terdistribusi normal. Hasil uji statistik menggunakan uji *independent sample t-test* menunjukkan nilai ($p < 0,05$) yang berarti ada perbedaan signifikan pada ekspresi MMP-1 pada kelompok perlakuan pertama dan kedua dibandingkan kelompok kontrol positif dan negatif. Berdasarkan waktu pengamatan 3,7 dan 14 hari terlihat penurunan ekspresi MMP-1 yang lebih besar setelah aplikasi pasta cangkang kerang hijau konsentrasi 35% dan 40%.

Kesimpulan: Aplikasi pasta ekstrak cangkang kerang hijau konsentrasi 35% dan 40 % terbukti lebih efektif dalam pembentukan dentin reparatif dan penurunan ekspresi MMP-1 dibandingkan kalsium hidroksida. Pasta ekstrak cangkang kerang hijau dengan konsentrasi 40% terbukti paling baik.

ABSTRACT

Background: Severe tooth decay can be prevented by providing pulp protection in deep caries. Calcium hydroxide is a material that is believed to stimulate the formation of dentin bridges but is toxic to cells. Requires alternative materials that are more biocompatible such as green mussel shells (*Perna viridis*) which contain calcium carbonate compounds to remineralize hard tooth tissue. Matrix metalloproteinase (MMP-1) and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 (TIMP-1) are involved in extracellular matrix degradation in various inflammatory diseases. MMP-1 is a collagenase most frequently associated with tissue remodeling by cleaving matrix components including collagen. Decreased expression of MMP-1 intracellularly and extracellularly in dental caries is thought to have an important role in stimulating injury and dentin bridge formation.

Objective: This study aims to determine the expression of MMP-1 after the application of green mussel (*Perna viridis*) shell paste to inflamed Wistar tooth pulp.

Materials and Methods: Laboratory experimental research with a posttest-only control group design with 24 Wistar samples. The experimental animals were divided into 4 groups, namely: negative control group, positive control group (calcium hydroxide application), first treatment group (application of 35% concentration of green mussel shell paste, second treatment group (application of 40% concentration of green mussel shell paste) which will be secreted. within a period of 3, 7, and 14 days. Data were analyzed on experimental animals using *Immunohistochemistry* and *Haematoxylin Eosin* (HE) examination.

Results: The normality test using the Shapiro-Wilk test displays a significant value ($p > 0.05$) meaning the data is normally distributed. The results of statistical tests using the Independent Sample t-test showed a value of ($p < 0.05$), which means there was a significant difference in MMP-1 expression in the first and second treatment groups compared to the positive and negative control groups. Based on observation times of 3, 7, and 14 days, a greater decrease in MMP-1 expression was seen after the application of 35% and 40% concentrations of green shell paste.

Conclusion: The application of green mussel shell extract paste with concentrations of 35% and 40% was proven to be more effective in forming reparative dentin and reducing MMP-1 expression compared to calcium hydroxide. Green mussel shell extract paste with a concentration of 40% has proven to be the best.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	
PRASYARAT GELAR	ii
PENGESAHAN UJIAN TESIS	iv
PANITIA PENGUJI TESIS	v
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Jaringan Pulpa	6
2.1.1 Definisi Pulpa	6
2.1.2 Sel-sel Pulpa	6
2.1.3 Komponen ekstraseluler	9
2.1.4 Fungsi Pulpa	12
2.2 Respon Inflamasi dan Imunologi Pulpa	12
2.3 Pembentukan Dentin Reparatif	14
2.4 Pulp Capping	16
2.4.1 Indirect Pulp Capping	16
2.4.2 Direct Pulp Capping	17
2.5 Bahan Pulp Capping	19
2.5.1 Kalsium Hidroksida	19
2.5.2 Mineral Trioxides Aggregate (MTA)	20

2.6	Cangkang Kerang Hijau.....	20
2.7	Hidroksiapatit.....	26
2.8	<i>Matrix Metalloproteinase -1 (MMP-1)</i>	27
2.9	Kerangka Teori	30
2.10	Kerangka Konsep.....	31
BAB III METODE PENELITIAN.....		33
3.1	Rancangan Penelitian.....	33
3.2	Waktu dan Lokasi Penelitian	33
3.2.1	<i>Waktu penelitian</i>	33
3.2.2	<i>Lokasi Penelitian</i>	33
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	34
3.3.1	<i>Populasi Penelitian</i>	34
3.3.2	<i>Sampel Penelitian</i>	34
3.3.3	<i>Perhitungan Besar Sampel</i>	35
3.4	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional.....	37
3.4.1	<i>Variabel Penelitian</i>	37
3.4.2	<i>Definisi Operasional</i>	37
3.5	Alat dan Bahan.....	38
3.5.1	<i>Alat</i>	38
3.5.2	<i>Bahan</i>	39
3.6	Prosedur Penelitian	39
3.6.1	<i>Pembuatan Pasta Cangkang Kerang Hijau (Perna viridis)</i>	39
3.6.2	<i>Persiapan Hewan Coba dan Aplikasi Bahan Uji pada pulpa</i>	41
3.7	Pemeriksaan Imunohistokimia MMP-1.....	43
3.8	Pengumpulan dan Analisis Data	45
3.9	ALUR PENELITIAN	47
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		48
4.1	HASIL PENGAMATAN	49
4.1.1	<i>Pengamatan Histologis</i>	50
4.1.2	<i>Pengamatan Imunohistokimia MMP-1</i>	53
4.2	HASIL ANALISIS DATA	56
4.2.1	<i>Pengamatan Histologis</i>	56
4.2.2	<i>Pengamatan Imunohistokimia MMP-1</i>	61
4.3	PEMBAHASAN	68

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	77
5.1 Kesimpulan	77
5.2 Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Anatomi dan Fisiologi Gigi ⁽¹⁷⁾	8
Gambar 2. 2 Sel-sel Pulpa ⁽²⁰⁾	11
Gambar 2. 3 Diagram yang Mengilustrasikan Tiga Fase Proses Perbaikan pada Inflamasi Pulpa ⁽²²⁾	14
Gambar 2. 4 Prosedur <i>Pulp Capping</i> ⁽³⁰⁾	19
Gambar 2. 5 Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i>).....	21
Gambar 4. 1 Dentin Reparatif yang terbentuk di hari ke-3 pada pulpa gigi Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	50
Gambar 4. 2 Dentin Reparatif yang terbentuk di hari ke-7 pada pulpa gigi Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	51
Gambar 4. 3 Dentin Reparatif yang terbentuk di hari ke-14 pada pulpa gigi Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	52
Gambar 4. 4 Foto mikroskopik ekspresi MMP-1 yang terjadi hari ke-3 pada pulpa Gigi Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	53
Gambar 4. 5 Foto mikroskopik ekspresi MMP-1 yang terjadi hari ke-7 pada pulpa Gigi Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	54
Gambar 4. 6 Foto mikroskopik ekspresi MMP-1 yang terjadi hari ke-7 pada pulpa gigi Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>)	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Persentase Senyawa Kimia Pada Serbuk Cangkang Kerang Hijau	23
Tabel 2. 2 Tabel Sintesa Penelitian Cangkang Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i>)	23
Tabel 4. 1. Rerata jumlah dentin reparatif pada setiap kelompok	56
Tabel 4.2 Perbandingan jumlah dentin reparatif setiap kelompok perlakuan berdasarkan waktu pengamatan	57
Tabel 4. 3 Perbandingan jumlah ekspresi dentin reparatif antara dua kelompok perlakuan pada hari ke-3	58
Tabel 4. 4 Perbandingan jumlah ekspresi dentin reparatif antara dua kelompok perlakuan pada hari ke-7	59
Tabel 4. 5. Perbandingan jumlah ekspresi dentin reparatif antara dua kelompok perlakuan pada hari ke-14	60
Tabel 4. 6 Uji Normalitas Data Rerata jumlah <i>MMP-1</i> pada setiap kelompok.....	61
Tabel 4. 7 Uji Statistik Perbandingan jumlah ekspresi MMP-1 setiap kelompok perlakuan berdasarkan waktu pengamatan.....	62
Tabel 4. 8 Perbandingan jumlah ekspresi MMP-1 antara dua kelompok perlakuan pada hari ke-3	64
Tabel 4. 9 Perbandingan jumlah ekspresi MMP-1 antara dua kelompok perlakuan pada hari 7	65
Tabel 4. 10 Perbandingan jumlah ekspresi MMP-1 antara dua kelompok perlakuan pada hari ke-14.....	66

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies, trauma dan faktor iatrogenik dapat menyebabkan terbukanya jaringan pulpa gigi. Terbukanya jaringan pulpa dapat menyebabkan terjadinya pulpitis mulai dari reversibel sampai menjadi *irreversibel*, sehingga menyebabkan rasa nyeri yang hebat dan nekrosis pulpa.^{1,2} Harus dilakukan perawatan saluran akar atau pencabutan gigi saat terjadi kondisi seperti ini. Tantangan utama pada kasus terbukanya pulpa adalah pada saat jaringan pulpa terbuka secara tidak wajar, seperti pada kondisi iatrogenik yang mana 40% kasus iatrogenik terjadi karena pemilihan alat ekskavasi yang kurang baik,³

Tujuan dari perawatan pulpa yakni mempertahankan integritas dan kesehatan jaringan mulut adalah tujuan utama dari perawatan pulpa. Kehilangan dini gigi sulung dapat menyebabkan maloklusi dan/atau masalah estetik, fonetik, atau fungsional. Penting untuk berusaha menjaga vitalitas pulpa jika memungkinkan; namun, bila hal ini tidak memungkinkan, pulpa dapat dikeluarkan seluruhnya tanpa mengorbankan fungsi gigi.⁴

Pada kasus dengan pulpa terbuka, harus segera dilakukan perawatan kaping pulpa direk, yaitu pengaplikasian suatu bahan yang mampu menjadi pembatas dan melindungi jaringan pulpa dari kontaminasi dan mampu merangsang penyembuhan agar tidak terjadi nekrosis. Perlindungan jaringan pulpa atau kaping pulpa adalah pemberian suatu material bioaktif di atas jaringan pulpa untuk mempertahankan

vitalitas pulpa dan merangsang pembentukan dentin reparatif. Tujuan dari perawatan pulpa adalah terbentuknya dentin reparatif, yang terbentuk dari sel-sel odontoblas dan sel-sel pulpa lainnya yang mengindikasikan adanya respon reparatif dari jaringan pulpa.⁵

Odontoblas dapat menghasilkan substansi-substansi bioaktif seperti MMP-1 dan molekul lain yang terlibat dalam proses inflamasi dan perbaikan dentin.⁶ MMP-1 merupakan salah satu enzim kolagenase dari *Matrix Metalloproteinase* yang diekspresikan oleh sel fibroblas, sel makrofag dan sel *endothelial* yang jumlahnya akan rendah pada kondisi fisiologis, namun meningkat saat kondisi patologis. MMP-1 adalah kolagenase yang paling sering dikaitkan dengan remodeling jaringan dengan membelah komponen matriks termasuk kolagen. Kolagen merupakan protein struktural utama dalam matriks ekstraseluler yang berfungsi memperkuat dan mendukung jaringan ikat. Degradasi kolagen ini sangat berperan pada kerusakan jaringan selama inflamasi pulpa.⁶ MMPs juga berperan dalam berbagai macam proses fisiologis (contohnya perkembangan embrionik, pembaruan jaringan, dan penyembuhan luka) dan proses patologis (misalnya kanker, arthritis, periodontitis dan fibrosis).⁷

Salah satu kondisi patologis yang dapat menyebabkan inflamasi pulpa adalah perforasi pulpa akibat faktor iatrogenik. Kondisi ini dapat dirawat dengan mengaplikasikan bahan bio-kompatibel pada jaringan pulpa yang terbuka. Bahan tersebut di antaranya adalah kalsium hidroksida yang saat ini banyak digunakan karena mudah diperoleh dengan harga terjangkau.⁸ Kalsium hidroksida memiliki kemampuan terapeutik dan biologis. Keberhasilan kalsium hidroksida sebagai

capping agent berkaitan dengan sifat alkalinya sebagai faktor penting pada penyembuhan pulpa. Namun pH yang tinggi pada kalsium hidroksida dapat menyebabkan inflamasi kronis dan nekrosis sel secara *in-vivo*. Kalsium hidroksida memiliki toksisitas yang sangat tinggi terhadap sel, kurangnya kemampuan adhesi, sehingga dapat terjadi *mikroleakage* yang menyebabkan ketidakmampuan dalam menekan terjadinya inflamasi.⁹

Beberapa penelitian tentang sumber alam sebagai bahan baku antara lain cangkang kerang, cangkang siput, cangkang telur, tulang ikan dan sisik ikan. Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan adalah cangkang kerang yang kaya kalsium, magnesium dan sejumlah kecil fluorida.¹⁰

Cangkang pada kerang hijau tersusun atas kalsium karbonat, kalsium fosfat, $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$, Ca_3S_2 , dan kalsium aktif. Kalsium fosfat bisa dijadikan kristal dan membentuk hidroksi apatit yang dapat diimplantasikan karena memiliki sifat bioaktif dan osteo-konduktif yang bermanfaat pada mineralisasi tulang. Tulang dan gigi mengandung materi organik yang mengandung kalsium dalam bentuk kalsium fosfat karbonat yang disebut apatit karbonat. Fase apatit yang stabil yaitu hidroksi apatit. Hidroksi apatit disintesis dari cangkang kerang. Metode yang dilakukan dengan menghilangkan bahan organik pada cangkang sehingga dapat menghasilkan senyawa kalsium. Kalsium yang diperoleh bereaksi dengan senyawa asam fosfat sehingga menghasilkan senyawa kalsium fosfat. Penggunaan cangkang kerang hijau untuk menjadikan pasta perlindungan pulpa merupakan pilihan baru dalam memberikan perlindungan pulpa pada karies gigi yang dalam.¹¹

Oleh karenanya, peneliti ingin melakukan penelitian untuk melihat bagaimana efektivitas pasta cangkang kerang hijau (*Perna viridis*) sebagai bahan *pulp capping* perlindungan pulpa pada gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang terinflamasi melalui analisis ekspresi *matrix metalloproteinase-1* (MMP-1)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan, dirumuskan masalah yaitu: Bagaimana efektivitas pasta cangkang kerang hijau (*Perna viridis*) terhadap ekspresi MMP-1 pada gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami inflamasi?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Mengetahui ekspresi MMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang kerang hijau pada pulpa gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami inflamasi.

b. Tujuan Khusus

1. Mengetahui pembentukan dentin reparatif dan ekspresi MMP-1 setelah aplikasi pasta kalsium hidroksida pada pulpa gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*)
2. Mengetahui pembentukan dentin reparatif perubahan ekspresi MMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang kerang hijau pada pulpa gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*)

3. Membandingkan pembentukan dentin reparatif ekspresi MMP-1 setelah aplikasi kalsium hidroksida dan pasta cangkang kerang hijau pada pulpa gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

1.4 Manfaat Penelitian

a. Manfaat klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar upaya pengembangan pasta cangkang kerang hijau sebagai bahan alternatif bio-mineralisasi gigi.

b. Manfaat ilmu pengetahuan dan teknologi

Memberikan kontribusi keilmuan mengenai pengaruh pasta cangkang kerang hijau terhadap pembentukan dentin reparatif melalui ekspresi MMP-1 pada pulpa gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang terinflamasi sebagai kandidat bahan bio-mineralisasi gigi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jaringan Pulpa

2.1.1 Definisi Pulpa

Pulpa adalah massa jaringan ikat yang terletak di tengah gigi, tepat di bawah lapisan dentin. Pulpa dikatakan sebagai bagian dari kompleks “*dentin-pulp*”, dan juga dikenal sebagai endodontium, karena kedua jaringan ini saling terkait erat dan bergantung pada perkembangan dan kelangsungan hidup satu sama lain.¹²

Pulpa gigi adalah jaringan ikat khusus yang terletak di antara dinding jaringan mineral (dentin, enamel, dan sementum). Pulpa gigi dapat berhubungan dengan lingkungan luar gigi melalui foramen apikal, foramina, dan saluran lateral yang menghubungkan pulpa dengan lingkungan toleransi rendah, karena substrat nutrisi berasal dari vaskularisasi yang melewati foramen kecil dan foramina.⁴

2.1.2 Sel-sel Pulpa

a. Sel Odontoblas

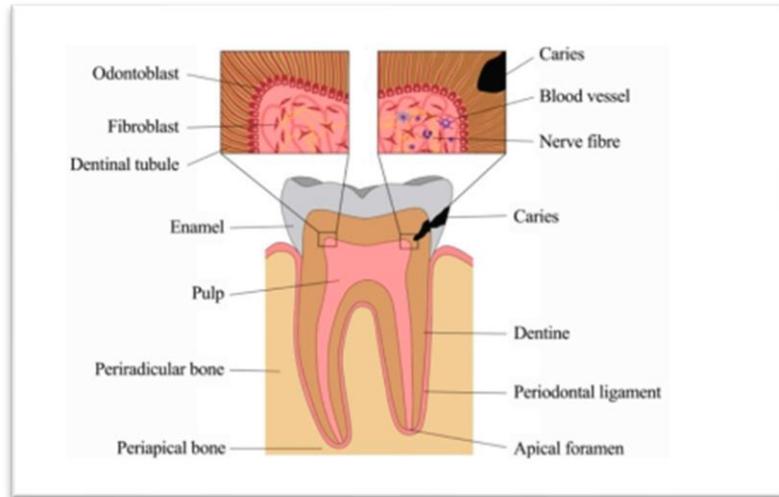
Odontoblas adalah sel yang terletak di perifer ruang pulpa dan terorganisir sebagai lapisan sel yang padat. Karena letaknya di perifer, odontoblas menjadi sel-sel pertama yang ditemui oleh bakteri kariogenik pada karies dentin.¹³ Odontoblas adalah sel yang terspesialisasi dan bertanggung jawab untuk pembentukan dentin. Karena perluasan proses

sitoplasma ke dalam tubulus dentin, sel-sel ini membentuk bagian utama dari kompleks dentin-pulpa. Ketika kompleks ini dirusak oleh penyakit atau atrisi, atau dipengaruhi oleh prosedur operatif, sel ini akan bereaksi untuk mempertahankan jaringan pulpa.^{4,14}

b. Fibroblas

Fibroblas merupakan sel pada pulpa dengan jumlah paling banyak. Fibroblas berfungsi membentuk dan memelihara matrik pulpa, yaitu serabut kolagen dan substansi dasar. Fibroblas pada pulpa muda secara aktif mensekresi matrik sehingga pada sitoplasmanya terdapat banyak organela yang berfungsi untuk sintesa dan sekresi matrik pulpa. Sejalan dengan bertambahnya usia, sintesa matrik berkurang sehingga gambaran fibroblas sedikit tipis dan berbentuk *spindle* atau kumparan. Fibroblas berfungsi memelihara dan membentuk matriks pulpa, serta mengatur *turn-over* matriks kolagen dengan kemampuannya mencerna dan mendegradasi kolagen.¹⁵

Fibroblas dapat mensintesis dan mensekresi berbagai macam molekul ekstraseluler yang mencakup unsur-unsur fibrous matriks ekstraseluler seperti: kolagen, elastin, proteoglikan, glikoprotein, sitokin, faktor pertumbuhan dan proteinase. Fibroblas melepaskan enzim proteolitik seperti *family matriks metalloproteinase* (MMPs). Inhibitor terhadap MMPs disebut inhibitor jaringan *metalloproteinase* yang disekresikan oleh sel fibroblas untuk mengatur degradasi ekstraseluler. Degradasi intraseluler sebagai bentuk fisiologi normal dan remodeling jaringan ikat kolagen.¹⁶



Gambar 2. 1 Anatomi dan fisiologi gigi¹⁷

(Sumber: Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine – Pulp Complex and the Periapical Tissues. 2021)

c. Sel-sel Tidak Terdiferensiasi

Sel mesenkimal yang tidak berdiferensiasi mewakili kumpulan dari sel-sel jaringan ikat pulpa berasal. Sel-sel ini dapat membentuk odontoblas dan fibroblas tergantung pada rangsangan. Sel-sel ini terdapat di seluruh area yang kaya sel dan inti pulpa dan sering kali berhubungan dengan pembuluh darah. Di bawah mikroskop cahaya, sel mesenkim tidak berdiferensiasi sebagai sel polihedral besar yang memiliki stain nukleus ringan yang berada di tengah. Sel-sel sitoplasma ini terlihat berlimpah dan meluas ke sitoplasma perifer.¹⁵

Sel-sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi tersebar di seluruh zona kaya sel dan inti pulpa, yang sering menempati daerah perivaskuler. Setelah menerima rangsangan, sel ini dapat mengalami diferensiasi menjadi fibroblas, odontoblas, makrofag dan osteoklas.¹⁸

d. Sel-sel Imun

Pulpa dilengkapi dengan komponen seluler yang penting pada identifikasi awal dan pemrosesan antigen. Pulpa memiliki kemampuan untuk memicu reaksi pertahanan tubuh. Sel imun yang utama pada pulpa normal adalah sel T, makrofag dan sel dendritik.¹⁸ Sel-sel imun pada gigi sulung sangat mirip dengan pada gigi permanen, kecuali bahwa populasi T-limfosit pada gigi sulung memiliki sedikit lebih banyak Sel CD4+ dibandingkan sel CD8+, sedangkan pada gigi permanen Sel CD8+ melebihi jumlah sel CD4+.¹⁶ Sel punca pulpa gigi memiliki kemampuan memperbaharui diri dan, di bawah kondisi lingkungan yang sesuai, dapat berdiferensiasi menjadi odontoblas, kondrosit, adiposit, dan neuron. Sel-sel ini memiliki kapasitas untuk menimbulkan osteoblas dan karena itu dapat menjadi alat yang menjanjikan untuk regenerasi tulang.¹⁵

2.1.3 Komponen ekstraseluler

a. Kolagen

Kolagen adalah komponen organik utama dalam pulpa gigi. Semua kolagen terdiri dari tiga rantai alfa polipeptida yang melingkari satu sama lain untuk membentuk konfigurasi kolagen *triple-helix* yang khas. Fitur umum termasuk adanya asam amino glisin pada setiap posisi ketiga (urutan berulang Gly-X-Y), hidroksiprolin dan hidroksilisin, dan domain non kolagen dan proporsi residu prolin yang tinggi. Variasi di antara kolagen termasuk perbedaan dalam perakitan rantai polipeptida dasar, panjang *triple helix*, interupsi dalam heliks, dan terminasi dari domain heliks.¹⁵

Morfologi serat kolagen disintesis dan disekresikan oleh odontoblas dan fibroblas. Namun, jenis kolagen yang disekresikan oleh odontoblas dan termineralisasi, berbeda dari kolagen yang diproduksi oleh fibroblas yang pulpa itu biasanya tidak mengalami kalsifikasi. Perbedaan dalam struktur dasar tetapi dalam tingkat ikatan silang dan sedikit variasi dalam kandungan *hydroxylysine*.^{16,18}

b. Glycosaminoglycans and proteoglycans

Pulpa mengandung beberapa jenis glikosaminoglikan yang secara normal ada pada jaringan ikat lainnya. Pada pulpa manusia ditemukan secara konsisten kondroitin sulfat, dermatan sulfat, asam hialuronat. Berbagai jenis proteoglikan juga ditemukan pada jaringan konektif pulpa dengan cara imunohistokimia. Predentin memiliki berbagai jenis glukosaminoglikan dan proteoglikan sedangkan dentin mengandung *chondroitin* sulfat. Glikosaminoglikan dan proteoglikan berperan penting selama dentinogenesis. Keduanya menunjukkan afinitas untuk kolagen dengan demikian mempengaruhi fibronogenesis yang terjadi selama mineralisasi. *Chondroitin* sulfat dan glikosaminoglikan utama yang terdapat pada gigi dengan dentinogenesis aktif, memiliki kapasitas yang kuat untuk mengikat kalsium dan mungkin terlibat dalam mempertahankan kalsium selama mineralisasi.¹⁸

c. Protein Non Kolagen

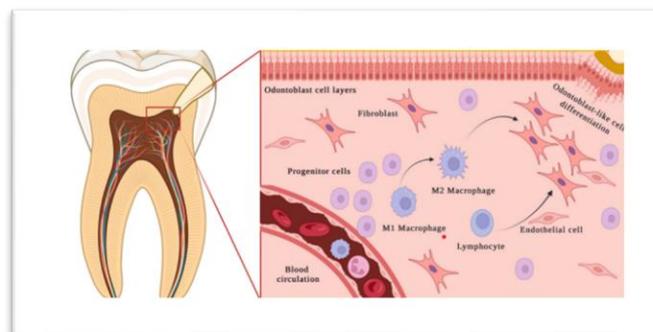
Fibronektin adalah glikoprotein stroma multifungsi sebagai
(1) protein plasma yang bersirkulasi,

(2) protein yang menempel pada permukaan sel, dan

(3) fibril yang tidak larut membentuk bagian dari matriks ekstraseluler.

Berdasarkan kemampuan, fibronektin bertindak sebagai mediator untuk adhesi sel-sel dan sel-matriks yang memiliki efek besar pada proliferasi, diferensiasi, dan organisasi sel. Fibronektin tersebar di matriks ekstraseluler pulpa. Fibronektin memediasi interaksi antara odontoblas yang sepenuhnya berdiferensiasi dan serat ekstra seluler dan dapat berkontribusi pada pemeliharaan morfologi spesifik sel-sel.¹⁸

Adanya protein non kolagen terkait dengan mineralisasi jaringan menunjukkan kemungkinan peran protein ini dalam memediasi pembentukan jaringan mineral pulpa. Namun, matriks pulpa kekurangan protein non kolagen yang diidentifikasi dalam dentin seperti: dentin sialoprotein, dentin phosphoprotein, dentin matriks protein 1 dan *osteocalcin*.¹⁹



Gambar 2. 2 Sel-sel Pulpa

(Sumber: Islam R, Islam RR, Tanaka T, Alam MK, Mohamed H, Ahmed A, et al. Direct pulp capping procedures – Evidence and practice. Jpn Dent Sci Rev [Internet]. 2023;59:48–61. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2023.02.002>)

2.1.4 Fungsi Pulpa

Secara fisiologis pulpa memiliki lima fungsi utama, yaitu:¹⁴

- (1) Induktif, pulpa berperan dalam induksi dan pengembangan odontoblas dan dentin, yang jika telah terbentuk, menginduksi pembentukan email.
- (2) Formatif, berperan pada pembentukan dentin oleh odontoblas, selama tahap awal perkembangan gigi, dentino-genesis umumnya merupakan proses yang cepat, setelah pematangan gigi selesai, pembentukan dentin terus berlanjut pada kecepatan yang jauh lebih lambat dan dalam pola yang kurang simetris.
- (3) Nutritif, melalui tubulus dentinalis, pulpa memasok nutrisi yang sangat diperlukan bagi pembentukan dentin.
- (4) Defensif, pulpa gigi memiliki kemampuan untuk merespons inflamasi dan imunologis dalam upaya untuk menetralkan atau meniadakan invasi mikroorganisme.
- (5) Sensatif, melalui sistem saraf, pulpa memancarkan sensasi yang diperantarai oleh email atau dentin ke pusat-pusat saraf yang lebih tinggi.

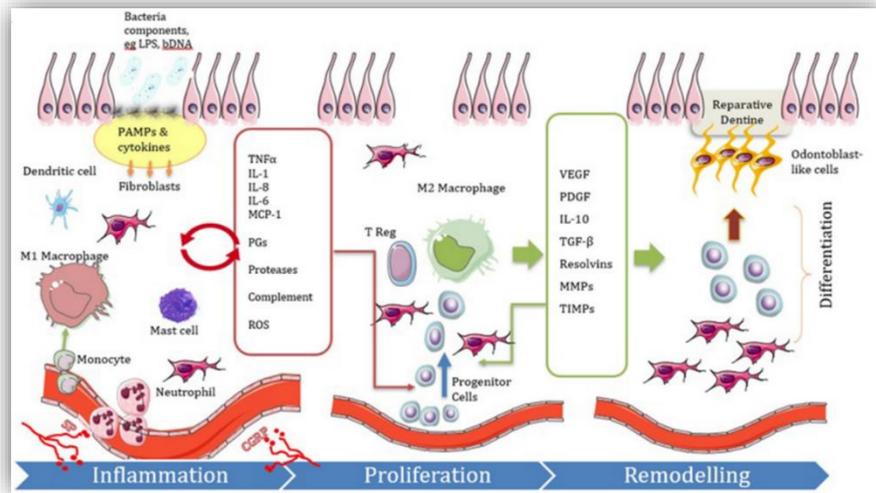
2.2 Respon Inflamasi dan Imunologi Pulpa

Konsep polimorfisme genetik secara umum mengacu pada perbedaan ekspresi mediator inflamasi tertentu atau aktivasi reaksi imunologi seluler lainnya. Variasi ini membuat individu tertentu lebih rentan terhadap ekspresi yang lebih dramatis dari proses penyakit atau mekanisme penundaan penyembuhan. Polimorfisme genetik biasanya disebut sebagai nukleotida tunggal polimorfisme atau SNP. SNP dihubungkan dengan ekspresi sejumlah

protein, seperti *interleukin-1* (IL-1), dan dapat menjelaskan reaksi inflamasi terhadap iritasi yang tampaknya serupa memiliki persentasi klinis yang berbeda dan tanggapan terhadap pengobatan pada pasien yang berbeda.¹⁶

Sistem kekebalan mewakili sistem sel kompleks, jaringan, organ serta mediator molekuler yang bertindak secara sinkron untuk menjamin pemeliharaan kesehatan dan pertahanan terhadap penyakit. Sel berinteraksi dengan iritasi mikroba serta satu sama lain melalui sejumlah besar mediator molekuler dan permukaan sel reseptor yang bersama-sama menghasilkan berbagai reaksi fenotipik.¹⁶

Respon imun merupakan mekanisme pertahanan spesifik yang menjadi aktif setelah inflamasi. Reaksi imun ditandai dengan pemrosesan, presentasi, dan pengenalan antigenik. Sel *presenting antigen* (APC) di dalam pulpa gigi mengekspresikan molekul kompleks histokompatibilitas mayor kelas II (MHC kelas II), menangkap protein antigenik dan mengubah fragmen peptida menjadi limfosit T helper spesifik-antigen dalam limfonoda. Limfosit T helper yang diaktifkan (limfosit CD4+ T helper) berkembang biak dengan cepat, berdiferensiasi menjadi sel T memori (limfosit T memori CD45RO+) dan, melalui aliran darah atau limfatik bermigrasi ke jaringan pulpa, di mana APC asli memulai fagositosis dan menyajikan antigen langsung ke sel T ini. Setelah diaktifkan, CD4+ Limfosit T helper memicu kekebalan yang efektif. Produksi sitokin, CD4+/CD45RO+ T limfosit dapat merangsang migrasi dan aktivasi makrofag, CD4+ lainnya Limfosit T helper, dan limfosit CD20+ B yang menghasilkan antibodi terhadap antigen spesifik.²⁰



Gambar 2. 3 |Diagram Yang Mengilustrasikan Tiga Fase Proses Perbaikan Pada Inflamasi Pulpa²¹
 (Sumber: El IA, Cooper PR, About I, Tomson PL, Lundy FT, Duncan HF. Deciphering Reparative Processes in the Inflamed Dental Pulp. 2021;2(March):1–10)

2.3 Pembentukan Dentin Reparatif

Dentin reparatif adalah matriks dentin tersier yang disekresikan sel *odontoblast like cell* yang berasal dari sel mesenkim yang belum terdiferensiasi, merupakan respons tubuh terhadap stimulus yang kuat. Pemulihan (*repair*) dentin dihubungkan dengan meningkatnya vaskularisasi dan inisiasi respons imun *innate* pada area tersebut. Hal ini dihubungkan dengan kemampuan sel pulpa melakukan sekresi *growth factor*, yang akan memulai stimulasi diferensiasi sel dan neovaskularisasi.²²

Dentin sekunder merupakan dentin yang terbentuk secara kontinu setelah mahkota terbentuk secara penuh. Mulai terbentuknya dentin sekunder berawal dari reaksi pulpa ketika terjadi kontak dengan gigi antagonis selama mastikasi. Kandungan mineral dalam dentin sekunder lebih kecil 6-10% dibandingkan dengan dentin primer.²³

Ada tiga tahap dentino-genesis reparatif:

- (1) *recruitment* sel progenitor,
- (2) *signalling* diferensiasi *odontoblast like cell*, dan
- (3) regulasi sekresi matriks oleh sel.

Sel mesenkim yang belum terdiferensiasi, berada dalam *cell rich zone* berdekatan dengan *odontoblast layer* merupakan sel progenitor. Sel progenitor bersifat pluripoten, yaitu memiliki kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi bermacam-macam jenis sel sesuai dengan kebutuhan. Sel ini merupakan sel yang pertama kali membelah ketika terjadi cedera. Sel tersebut dapat menjadi fibroblas maupun odontoblas. Selama peradangan, sel-sel tersebut dapat berdiferensiasi menjadi makrofag atau sel resorpsi (dentinoklas).²⁴

Growth factor merupakan salah satu yang berperan penting dalam dentinogenesis reparatif, yang bertindak sebagai regulasi beberapa fungsi sel seperti proliferasi, diferensiasi dan sintesis matriks. *Growth factor* adalah grup protein yang dapat menginduksi proliferasi dan sel diferensiasi dengan berikatan pada reseptor permukaan sel. Beberapa jenis *growth factor* yang berperan dalam regenerasi kompleks pulpa, antara lain, transforming growth factor-B (TGF- β), *Bone Morphogenic Protein* (BMPs), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Insulin Growth Like Factor* (IGF), *Fibroblast Growth Factor* (FGF).^{22,24}

2.4 Pulp Capping

Pulp capping adalah aplikasi selapis atau lebih material bahan pelindung di atas pulpa yang terbuka, untuk mempertahankan vitalitas pulpa dengan merangsang pembentukan dentin reparatif. Bahan *pulp capping* harus memiliki sifat bio-kompatibel, bio-interaktif (secara biologi melepaskan ion), dan bioaktif (kemampuan membentuk apatit) untuk mengaktifkan sel pulpa dan pembentukan dentin reparatif.²⁵ *Pulp capping* terbagi 2 yaitu:

2.4.1 Indirect Pulp Capping

a. Gigi Sulung

Indirect Pulp Capping (IPC) bertujuan untuk menjaga integritas pulpa. Pada gigi sulung dengan lesi karies, dalam upaya menghindari paparan pulpa iatrogenik. Syarat untuk IPC adalah tidak munculnya tanda-tanda klinis atau radiografi pulpitis ireversibel, dan satu-satunya gejala yang dapat diterima mungkin menimbulkan rasa sakit singkat yang segera mereda tanpa analgesik. Dalam melakukan perawatan IPC, dentin karies lunak yang paling kaya bakteri dihilangkan, sementara yang relatif keras, mungkin berubah warna, dentin yang dekat dengan pulpa. Ini masih berisi beberapa bakteri yang jumlah dan aktivitasnya sangat drastis berkurang ketika saluran diobati dengan bahan bio-kompatibel tepat, tambalan hermetis untuk menghilangkan nutrisi bakteri. Proses karies akan terhenti dan setiap dentin yang karies akan mengeras (remineralisasi). Jika pulpa sehat atau dengan tanda-tanda pulpitis reversibel, cukup menutupi dinding rongga pulpa dengan GIC konvensional atau RMGI.

Bahan bio-kompatibel lainnya dapat digunakan seperti kalsium hidroksida *fast setting* atau ZOE.²⁶

b. Gigi Permanen

Indirect Pulp Capping dilakukan pada kavitas yang dalam, yang berada di dekat pulpa, namun belum terekspos. *Indirect pulp capping* diindikasikan untuk gigi permanen dengan diagnosis pulpa normal dengan tidak ada tanda dan gejala pulpitis, atau gigi dengan diagnosis pulpitis reversibel²⁷

IPC dalam kasus gigi permanen muda mengikuti prosedur yang dijelaskan untuk perawatan pulpa gigi sulung yang sesuai. Radiografi untuk mengkonfirmasi tidak adanya peradangan pulpa ireversibel. Pada gigi permanen sebaiknya diselesaikan dalam dua kunjungan, dengan interval antara kunjungan hingga beberapa bulan. Pada kunjungan pertama, setelah semua karies dentin dihilangkan kecuali dekat pulpa, pemberian sediaan kalsium hidroksida dan ditutup dengan GIC *filling* untuk periode yang telah ditentukan. Perawatan ini bertujuan untuk mengurangi gejala dan mengurangi risiko terbukanya pulpa.²⁶

2.4.2 Direct Pulp Capping

a. Gigi Sulung

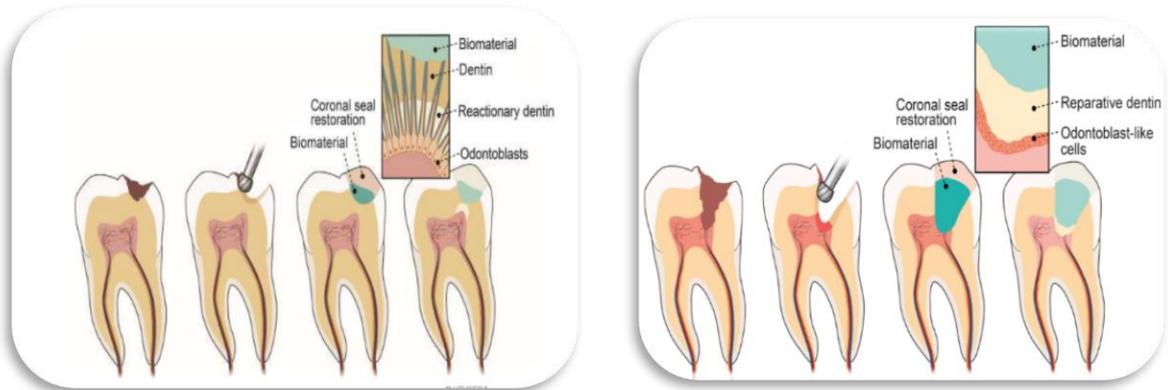
Secara umum prosedur *pulp capping* harus dibatasi pada eksposur kecil yang terjadi secara tidak sengaja oleh trauma atau selama preparasi gigi. *Pulp capping* diindikasikan hanya untuk gigi di mana tidak ada rasa sakit, tidak

ada pendarahan di tempat paparan seperti saat paparan mekanis. Jumlah pendarahan yang dianggap normal jika tidak ada pulpa yang hiperemis.²⁸

Perawatan *direct pulp capping* setelah ekskavasi karies dalam merupakan kontraindikasi pada gigi sulung karena hasil perawatan belum dapat memberikan bukti yang baik. Pada gigi sulung dengan karies yang agak dalam, perawatan pulpotomi diindikasikan dan memiliki tingkat keberhasilan yang lebih tinggi. *Direct pulp capping* diindikasikan untuk paparan traumatis atau paparan mekanis yang terjadi selama preparasi kavitas pada karies yang dangkal dengan mengaplikasikan bahan kalsium hidroksida atau *Mineral Trioksida Agregat (MTA)*.²⁹

b. Gigi Permanen

Direct pulp capping untuk gigi permanen serta prosedur klinis yang relevan, tidak berbeda dengan gigi sulung. Secara sederhana, bahan pilihannya adalah kalsium hidroksida, dan terbaru adalah semen bioaktif endodontik yang menunjukkan hasil yang sangat baik. Salah satunya adalah semen kalsium silikat (*Biodentine™*, *Septodont*, *Prancis*), yang tampaknya sama-sama menghasilkan dentin reparatif padat seperti yang dihasilkan oleh MTA. Ini menunjukkan bahwa selain menutup rapat rongga dari bakteri, bahan *capping* harus mendorong pembentukan dentin reparatif.²⁶



Gambar 2. 4 Prosedur *Pulp Capping*³⁰

(Sumber: <https://pocketdentistry.com/management-of-the-vital-pulp-and-of-immature-teeth-2/>)

2.5 Bahan *Pulp Capping*

2.5.1 Kalsium Hidroksida

Kalsium hidroksida $\text{Ca}(\text{OH})_2$ memiliki efek melalui modifikasi produk kelarutan Ca dan PO_4 dan pengendapan garam menjadi matriks organik. Efek dari pH $\text{Ca}(\text{OH})_2$ yang sangat tinggi kemungkinan besar menginisiasi dengan baik pembentukan dentin reparatif.²⁹

Kalsium hidroksida melakukan perbaikan pulpa dengan beberapa aksi mekanisme $\text{Ca}(\text{OH})_2$ memiliki ion hidroksil yang bersifat antibakteri yang dapat meminimalkan dan menghilangkan penetrasi bakteri yang masuk dalam pulpa. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dipercaya bersifat alkalin dapat mengiritasi jaringan pulpa merangsang perbaikan melalui beberapa mekanisme yang tidak diketahui. Beberapa jenis protein terlibat dalam matriks dentin selama proses dentinogenesis. Khususnya BMP dan $\text{TGF-}\beta$ yang memiliki kemampuan merangsang perbaikan pulpa. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ juga dapat melarutkan protein-protein

dari dentin yang menyebabkan pelepasan bioaktif molekular sebagai mediator dalam proses perbaikan pulpa²⁵

2.5.2 Mineral Trioxides Aggregate (MTA)

Bahan dasar MTA adalah campuran *dicalcium, tricalcium silicate* dan *tricalcium aluminate*, 20% bismut oksida ditambahkan untuk *radio-opaqueness*, dan oksida besi dan magnesium dalam jumlah yang lebih kecil. MTA digunakan sebagai sealer, *direct pulp capping* dan pulpotomi, *root penetration*, dan *apical plugs*. pH bahan ini 12,5, mirip dengan kalsium hidroksida murni. Proses aplikasi MTA dipercepat dalam kondisi lingkungan lembab; inilah sebabnya, setelah menempatkan MTA dilanjutkan pemberian tambalan sementara dan restorasi akhir ditempatkan pada hari berikutnya. Kekuatan MTA setidaknya setara dengan ZOE semen. MTA memiliki kekurangan, diantaranya biayanya yang relatif tinggi dan digunakan dalam dosis tunggal karena kelembaban atmosfer menurunkannya efektifitasnya.²⁶

2.6 Cangkang Kerang Hijau

Kerang hijau (*Perna viridis*) termasuk binatang lunak (*Moluska*) yang hidup di laut terutama pada daerah litoral, memiliki sepasang cangkang (*bivalvia*), berwarna hijau egak kebiruan. Insangnya berlapis-lapis (*Lamelii branchia*) dan berkaki kapak (*Pelecypoda*) serta memiliki benang *byssus*. Kerang hijau adalah "*suspension feeder*", dapat berpindah-pindah tempat dengan menggunakan kaki dan benang "*byssus*", hidup dengan baik pada perairan dengan kisaran kedalaman 1 m sampai 7 m, memiliki toleransi terhadap perubahan salinitas antara 27-35 per mil.³¹

Kerang hijau atau dikenal sebagai *green mussels* adalah binatang lunak yang hidup di laut, bercangkang dua dan berwarna hijau (gambar 1). Kerang hijau merupakan organisme yang termasuk kelas *Pelecypoda*. Golongan biota yang bertubuh lunak.³²

Nama ilmiah: *Perna viridis*

Famili: *Mytilidae*

Filum: *Moluska*

Kelas: *Bivalvia*

Kerajaan: *Animalia*

Ordo: *Mytiloida*

Spesies: *Perna viridis*



Gambar 2. 5 Kerang hijau (*Perna viridis*)

(Sumber : <https://darilaut.id/berita/penelitian-terbaru-sebagian-kerang-hijau-pantai-utara-jawa-tak-layak-konsumsi>)

Cangkang kerang hijau memiliki kandungan kalsium yang tinggi sehingga berpotensi digunakan untuk bahan baku bio-material. Pengolahan bubuk dan teknik kalsinasi-disolusi-presipitasi (CDP) selanjutnya untuk mendaur ulang cangkang menjadi nilai tambah kalsium karbonat (PCC) yang diendapkan. Dalam studi eksperimental, cangkang kerang hijau yang diterima

awalnya dicuci dan digiling dan diikuti dengan perlakuan panas pada suhu yang berbeda dalam tungku listrik. Produk PCC diendapkan dari larutan campuran ion kalsium dan karbonat yang berasal dari bubuk yang diberi perlakuan panas. Padatan yang mengendap kemudian diselidiki melalui metode XRD, SEM-EDX, dan FTIR. Metode XRD Rietveld menegaskan bahwa kerang hijau mentah kaya akan kristal aragonit, yang dapat didaur ulang menjadi vaterit dan kalsit dalam produk PCC.³³

Limbah cangkang kerang hijau adalah salah satu material yang biasanya digunakan sebagai bahan kerajinan yang dilakukan oleh sekelompok pengrajin di daerah Pantai Kenjeran, Surabaya.³⁴ Kerang hijau (*Perna viridis*) sering dipanen sebagai sumber makanan di kawasan Indo-Pasifik. Dibudidayakan di perairan pantai, hutan bakau, dan muara sungai. Produktivitas tinggi kerang hijau ditemukan selama musim puncak Maret hingga Juli. Saat ini produksi kerang hijau di Indonesia bisa mencapai 309.886 ton/tahun (data tahun 2018). Jika kerang ini terdiri dari 70% dari total berat kerang, 216.902 ton limbah kerang hijau memerlukan pembuangan yang tepat untuk mengurangi pencemaran lingkungan. Limbah cangkang kerang hijau dapat didaur ulang menjadi produk bernilai tambah. Upaya telah dilakukan dalam dekade terakhir untuk memproses cangkang ini menjadi kalsium karbonat (PCC) yang diendapkan karena semakin penting sebagai bahan biomedis.^{31 3536}

Bubuk ekstrak kerang laut telah diteliti di banyak bidang mengenai penggunaannya di bidang medis. Faktanya, spesies laut alami, yaitu cangkang

kerang hijau (*Perna viridis*), memiliki kualitas unggul dan komposisi polimorf kalsium karbonat aragonit murni. Cangkang kerang memiliki sekitar 95% CaCO dengan kandungan lain yang meliputi zat organik dan oksida seperti SiO, MgO dan SO.³⁷ Selain itu, juga memiliki komponen mineral yang hampir sama dengan tulang dengan kandungan Kalsium Karbon (CaC) yang tinggi dan tidak mengandung unsur logam berat seperti merkuri (Hg) atau arsen (As) di dalam produk cangkangnya, yang tentunya praktis untuk keperluan biomedis.³⁸

Tabel 2. 1 Prosentase Senyawa Kimia Pada Serbuk Cangkang Kerang Hijau

Senyawa	Kadar (%)
CaCO ₃	95.69
SiO ₂	0.22
Fe ₂ O ₃	1.00
MgO	3.08
Al ₂ O ₃	0.01

Beberapa penelitian terdahulu yang dilakukan menggunakan cangkang kerang hijau (*Perna viridis*) disajikan dalam tabel berikut ini:

Tabel 2. 2 Tabel Sintesa Penelitian Cangkang Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Nama Peneliti (Tahun)	Judul	Kesimpulan
1. Kajal Chakraborty, Minju Joy, Selsa Jose Chakkalakkal, 2018 ³⁹	Antioxidant and antiinflammatory secondary metabolites from the Asian green mussel <i>Perna viridis</i>	Senyawa yang berasal dari kerang hijau Asia, <i>Perna viridis</i> menunjukkan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang potensial dibandingkan dengan yang ditunjukkan oleh senyawa lain yang diteliti

<p>2. Eka Fitriah, Yuyun Maryuningsih, Evi Roviati, 2018 ⁴⁰</p>	<p>Pemanfaatan Daging dan Cangkang Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i>) Sebagai Bahan Olahan Pangan Tinggi Kalsium</p>	<p>Diperoleh hasil bahwa pada produk tidak terdapat bakteri jumlah total koloni bakteri pada sampel sebanyak 0 koloni /100ml. Produk olahan pangan layak untuk dikonsumsi</p>
<p>3. Mohammad Rofik Usman, Rifka Nabila, Lutfiah Nurul Hakik, 2020 ¹⁰</p>	<p>Extraction of Calcium from Green Clam Shells (<i>Perna viridis</i>) and Batik Clam Shells (<i>Paphia undulata</i> B.) by Calcination Method as Effervescent</p>	<p>Ukuran partikel kristal CaO yang dihasilkan dari cangkang kerang hijau dan batik berturut-turut yaitu 88,7597 nm dan 96,6566 nm. Kristal CaO yang terbaik berdasarkan nilai χ^2 dan ukuran partikel yaitu kristal CaO dari cangkang kerang hijau. Formulasi serbuk <i>effervescent</i> kalsium memiliki hasil uji organoleptik yang sama dari ketiga formulasi yang dilakukan.</p>
<p>4. Agung Shamsuddin Saragih1,Amin Pamungkas and Alfian Noviyanto, 2020⁴¹</p>	<p>Synthesis of Hydroxyapatite from Indonesian Green Mussels (<i>Perna viridis</i>) via Precipitation Methods</p>	<p>Hidroksiapatit dari limbah cangkang kerang hijau disintesis menggunakan metode pengendapan. Hasil uji XRF menunjukkan komposisi kulit kerang hijau memiliki kalsium dalam jumlah yang besar. Unsur kalsium, fosfat dan hidroksil sebagai penyusun hidroksiapatit</p>

		telah diidentifikasi dan hidroksiapatit dari cangkang kerang hijau telah sesuai dengan standar acuan hidroksiapatit
5. Rifky Ismail, Tezara Cionita, Wong Ling Shing, et all, 2021 ³³	The potential use of green mussel (<i>Perna viridis</i>) shells for synthetic calcium carbonate polymorphs in biomaterials	Pemanfaatan cangkang kerang hijau dan rajungan untuk kegiatan industri dan konsumsi memiliki banyak manfaat. Cangkang kerang hijau secara teknis memungkinkan untuk bahan awal dalam aplikasi biomedis.
6. Revankar, Vanita Dattatraya Saranyan, R Chakravarthy, Yadav Manivannan, E Rajmohan, M, 2021 ³⁷	Remineralising Potential of Marine Skeletal Species- <i>Perna viridis</i> Powder Extract on Human Teeth Enamel: An In-vitro Study	Peningkatan pH larutan ekstrak bubuk cangkang kerang selain kaya kandungan kalsium bioavailabilitas cangkang kerang memiliki efisiensi untuk mendukung remineralisasi. Meskipun Clinpro menunjukkan lebih banyak remineralisasi daripada MSPE, yang terakhir karena bioavailabilitasnya yang mudah dan sumber alami kalsium dan fosfat dapat menjadi pilihan masa depan dalam remineralisasi lesi karies enamel.

2.7 Hidroksiapatit

Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) adalah mineral anorganik dengan kandungan utama kalsium dan fosfat dengan rasio Ca/P sebesar 1,67 (stoikiometri).⁸ Hidroksiapatit telah banyak digunakan dalam bidang ortopedi dan kedokteran gigi karena hidroksiapatit memiliki komposisi kimia yang sama dengan tulang dan gigi sehingga memiliki biokompatibilitas yang baik, osteokonduktif, non toksik, bioaktif, dan dapat didegradasi secara perlahan.⁸ Limitasi dari hidroksiapatit adalah memiliki sifat mekanis yang rendah.³⁷

Hidroksiapatit (HAp) adalah kalsium fosfat sintetis yang paling stabil secara termodinamika keramik memiliki biokompatibilitas yang baik dengan pH netral -7,0.⁴² Hidroksiapatit dari limbah cangkang kerang hijau disintesis menggunakan metode pengendapan. Uji XRF, FTIR dan XRD adalah karakterisasi instrumental dari hidroksiapatit dari cangkang kerang hijau. Hasil uji XRF dari penelitian menunjukkan bahwa komposisi cangkang kerang hijau memiliki kalsium dalam jumlah yang besar. Studi FTIR mengidentifikasi adanya gugus fungsi fosfat dan hidroksil yang menunjukkan adanya hidroksiapatit dari sampel. Unsur kalsium, fosfat dan hidroksil sebagai penyusun hidroksiapatit telah diidentifikasi dari penelitian dimana hasil uji XRD menegaskan bahwa hidroksiapatit dari cangkang kerang hijau telah sesuai dengan standar acuan hidroksiapatit.⁴¹

Telah terbukti bahwa hidroksiapatit (HA) memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri kariogenik dan yang terbaik adalah memanfaatkan sifat antibakteri HA, dengan menggunakannya sebagai bahan dasar untuk

pengobatan kavitas gigi, dan untuk bertindak melawan sisa bakteri kariogenik. Beberapa penulis telah menyarankan bahwa HA bisa digunakan sebagai kandidat prospektif untuk aplikasi kedokteran gigi seperti *pulp capping* atau sebagai bahan *baseliner*⁴²

2.8 *Matrix Metalloproteinase -1 (MMP-1)*

MMP terdiri dari 28 enzim yang disekresikan atau transmembran yang secara kolektif mampu memproses dan menurunkan berbagai protein matriks ekstraseluler (ECM) dan komponen membran basement (BM). Ada 28 MMP sejauh ini ditemukan diekspresikan dalam jaringan manusia. MMP berbagi homologi sekuens protein tinggi dan telah menentukan struktur domain dan dengan demikian, menurut sifat strukturalnya, MMP diklasifikasikan menjadi kolagenase interstitial, gelatinase, MMP tipe membran, *stromelysins*, *matrilysins* dan MMP lainnya. *Matrix metalloproteinases* (MMPs) ada di kompleks dentin-pulpa dan beberapa MMP tertentu dapat berpartisipasi dalam regulasi mineralisasi matriks dentin. Selain itu, beberapa MMP telah terdeteksi pada lesi karies dentin dan jaringan pulpa kronis.^{6,43}

MMP dikategorikan berdasarkan struktur dan substratnya menjadi kolagenase, gelatinase, *stromelysins*, *matrilysins*, *membrane-type* (MT)-MMPs, dan lain-lain. Kolagenase termasuk MMP-1, MMP-8, MMP-13, dan MMP-18 membelah kolagen interstitial tipe I, II, dan III dan mencerna beberapa protein ECM dan non-ECM lainnya. MMP-1 merupakan kolagenase yang paling mudah terlihat di semua tempat, penampakannya memang sedikit tetapi ada pada tiap variasi sel-sel normal. Beberapa sel-sel tumor menampilkan

MMP-1 pada konsentrasi tinggi. Dari beberapa serat kolagen, MMP-1 mendegradasi lebih efisien kolagen tipe III dibandingkan dengan tipe I dan II.⁴⁴

Matrix metalloproteinase (MMP-1) dan *tissue inhibitor of metalloproteinase-1* (TIMP-1) terlibat dalam degradasi matriks ekstraseluler pada berbagai penyakit inflamasi. Sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-1* (IL)-1 dan *Tumor Nekrosis Factor α* (TNF- α) akan memulai dan memperparah inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan, sehingga ditemukan sitokin proinflamasi yang signifikan tinggi saat pulpa cedera. Degradasi kolagen memainkan peran terhadap destruksi selama pulpitis.⁴⁵

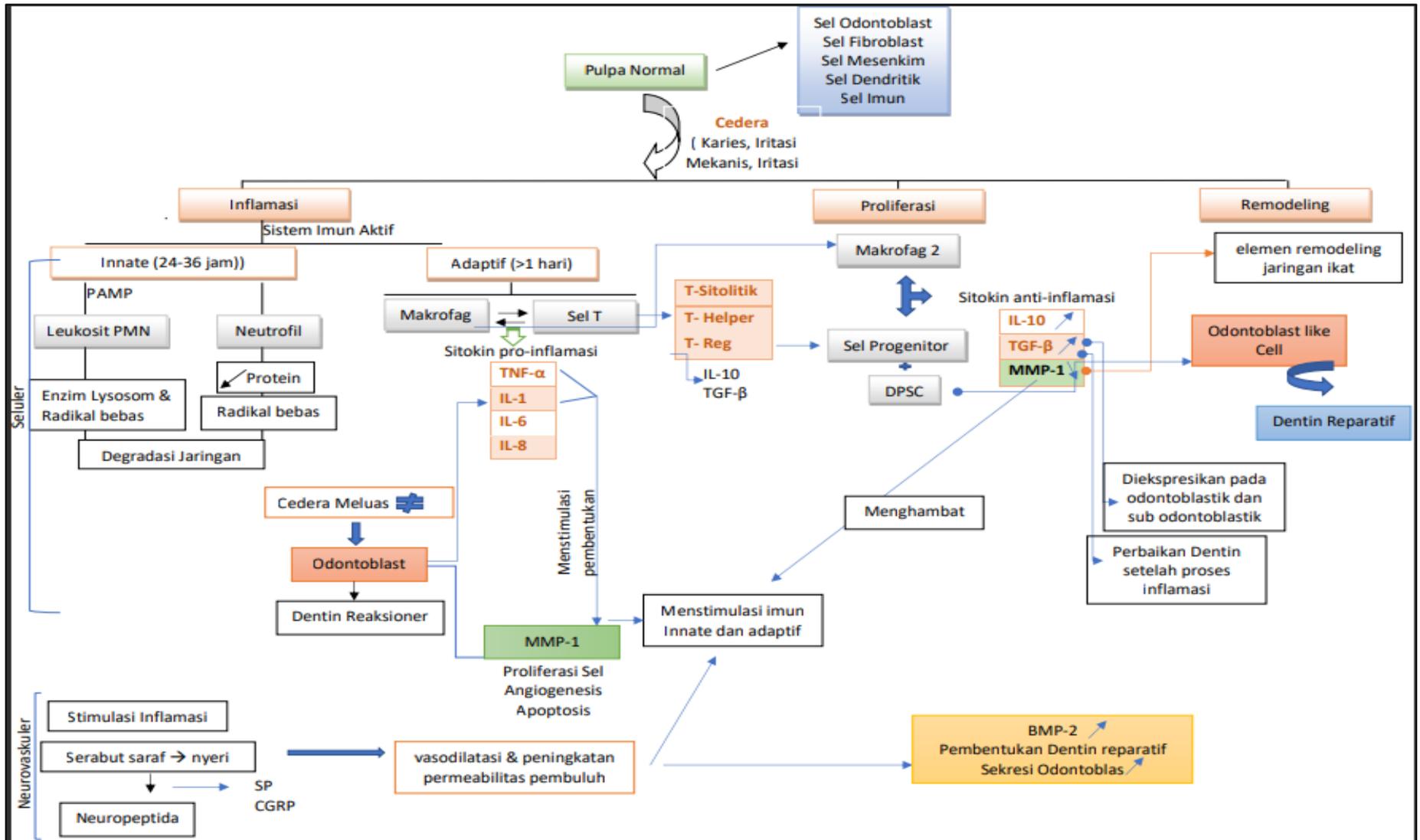
MMP berfungsi sebagai sitokin inflamasi selama pembentukan atau remodeling vaskular. Pada pembuluh yang matang dan diam, MMP aktif tidak ada atau diekspresikan pada level rendah. Tetapi pada jaringan yang mengalami angiogenesis abnormal dan remodeling vaskular, MMP diekspresikan, disekresikan, dan diaktifkan. Sel-sel inflamasi seperti makrofag dan neutrofil merupakan sumber penting MMP dalam jaringan pembuluh darah. Faktor inflamasi, termasuk *tumor necrosis factor alpha* (TNF-) dan *interleukin* (ILs), merangsang ekspresi MMP.

SMMP mendegradasi ECM untuk memfasilitasi migrasi dan perekrutan sel termasuk sel inflamasi dan reseptor permukaan sel membelah dan molekul non-ECM lainnya untuk memediasi adhesi, proliferasi, dan apoptosis sel di dinding pembuluh darah yang terlibat dalam proses inflamasi.⁴⁶

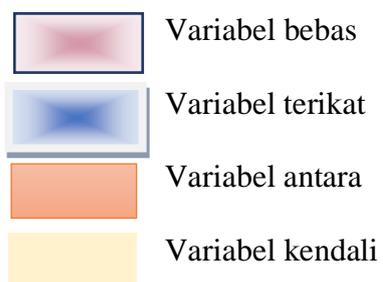
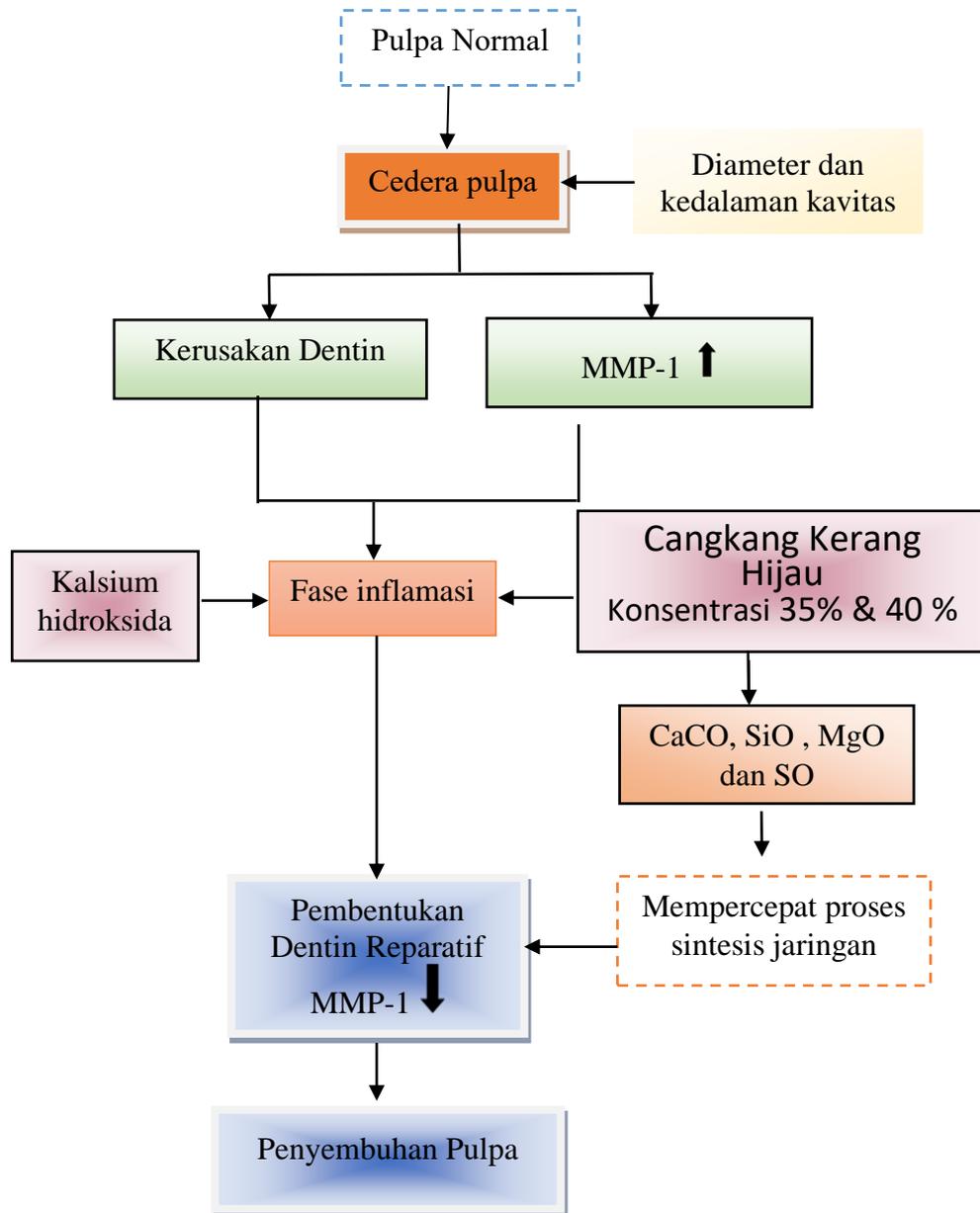
Gelatinase mendegradasi kolagen dan gelatin dan termasuk MMP-2 (gelatinase A) dan MMP-9 (gelatinase B) yang merupakan MMP yang paling banyak dipelajari dalam pembuluh darah. Stromelisin terdiri dari MMP-3, MMP-10 dan MMP-11. MMP-3 dan MMP-10 memiliki spesifisitas substrat yang serupa, dan keduanya mencerna berbagai molekul ECM dan berpartisipasi dalam proteolisis proMMPs, sedangkan struktur dan fungsi MMP-11, juga disebut *stromelysin-3*, berbeda dari dua *stromelysin* lainnya. *Matrilysins* yang tidak memiliki domain *hemopexin* termasuk MMP-7 (*matrilysin-1*) dan MMP-26 (*matrilysin-2*). MMP-7 memproses banyak molekul permukaan sel, sedangkan MMP-26 mendegradasi sejumlah komponen ECM. *Membrane-type* (MT)- MMPs terdiri dari empat MMP transmembran, MMP-14 (MT1-MMP), MMP-15 (MT2-MMP), MMP-16 (MT3-MMP), dan MMP-24 (MT5-MMP) dan dua MMP berlabuh glikosil-fosfatidinositol, MMP-17 (MT4-MMP) dan MMP-25 (MT6-MMP). MT-MMP diekspresikan pada permukaan sel dan mengaktifkan proMMP. MMP lain yang tidak diklasifikasikan dalam kategori sebelumnya antara lain MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23, MMP-27, dan MMP-28.^{47,46}

MMP-1 adalah kolagenase yang paling sering dikaitkan dengan remodeling jaringan normal. Peranan MMP pada odontoblas *mature* diklasifikasi sebagai berikut: 1) Fungsi MMP pada gigi sehat dalam hal pembentukan dentin sekunder fisiologis dan mineralisasi, 2) Partisipasi MMP pada degradasi matrix selama cedera gigi, 3) Peranan MMP dalam dentinogenesis tersier, 4) Peranan MMP dalam inflamasi pulpa.⁶

2.9 Kerangka Teori



2.10 Kerangka Konsep



Hipotesis

Terjadi penurunan ekspresi MMP-1 dan pembentukan dentin reparatif pada pulpa gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami inflamasi setelah aplikasi pasta cangkang kerang hijau (*Perna viridis*.)