

**EKSPRESI *CASPASE-3* PADA PULPA GIGI KELINCI  
SETELAH APLIKASI BAHAN *PULP-OUT* SEBAGAI  
ALTERNATIF BAHAN DEVITALISASI PULPA**

**Tesis**



**ARFINA SARI HAMID**

**J025 17 1005**

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

**2020**



**EKSPRESI *CASPASE-3* PADA PULPA GIGI KELINCI  
SETELAH APLIKASI BAHAN *PILP-OUT* SEBAGAI  
ALTERNATIVE BAHAN DEVITALISASI PULPA**

**TESIS**

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Profesi Spesialis-1 bidang ilmu  
Konservasi Gigi Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis

**Disusun dan diajukan oleh :**

**ARFINA SARI HAMID**

**KEPADA**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS**

**PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2020**



PENGESAHAN TESIS

EKSPRESI *CASPASE-3* PADA PULPA GIGI KELINICI  
SETELAH APLIKASI BAHAN *PULP-OUT* SEBAGAI  
ALTERNATIVE BAHAN DEVITALISASI PULPA

Disusun dan diajukan oleh :

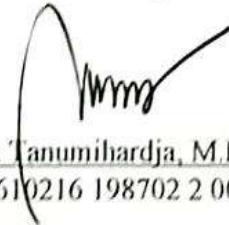
Arfina Sari Hamid

J025 17 1005

Telah disetujui,

Makassar, 20 Januari 2020

Pembimbing I



drg. Maria Tanumihardja, M.DSc  
NIP. 19610216 198702 2 001

Pembimbing II



Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG(K)  
NIP. 19760327 200212 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi  
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis  
Konservasi Gigi



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)  
P. 19640518 199103 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin



drg. Muhammad Ruslan, M.Kes., Ph.D., Sp.BM(K)  
NIP. 19730702 200112 1 001



# TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

Pada Tanggal 16 Januari 2020

## PANITIA PENGUJI TESIS

**KETUA** : Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDS.c

**ANGGOTA** : Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG(K)

drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG(K)

Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K)

drg. Christine A. Rovani, Sp.KG(K)

Mengetahui,  
Ketua Program Studi  
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)

NIP. 19640518 199103 2 001



## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Arfina Sari Hamid  
NIM : J025 17 1005  
Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis  
Program Studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini merupakan hasil 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, Januari 2020

Yang Menyatakan,

**Arfina Sari Hamid**



## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT karena atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**Ekspresi Caspase-3 Pada Piulpa Gigi Kelinci Setelah Aplikasi Bahan Pulp-Out Sebagai Bahan Devitalisasi Pulpa**” yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar.

Tak lupa jua, penulis kirimkan salawat serta salam kepada Nabi Besar Muhammad SAW yang telah membawa kita dari alam kegelapan menuju alam terang benderang seperti sekarang ini.

Tesis ini tidak akan tersusun sedemikian rupa tanpa bantuan, bimbingan dan petunjuk serta dorongan moril dari berbagai pihak, untuk itu perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes, Sp.BM(K), Ph.D, selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar
2. drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp. KG(K), selaku Ketua Program Studi Konservasi Gigi, Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
3. Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc, selaku pembimbing I penulis yang tiada hentinya memberikan dukungan, bimbingan, saran, doa dan kepercayaan dari awal

sa akhir penyusunan tesis ini

g. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG(K), selaku pembimbing II penulis yang memberikan dukungan, saran dan koreksi serta doa selama pembuatan tesis



5. Dr. drg. Christine A. Rovani, Sp.KG(K), selaku penguji yang memberikan masukan dan arahan membangun serta semangat dalam penyelesaian tesis ini
6. Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG(K), selaku Kepala Departemen Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin dan juga sebagai penguji, yang telah memberikan masukan dan arahan bersifat membangun untuk menyelesaikan tesis ini
7. Kepada Guru besar dan Staf Pengajar Program Studi Pendidikan Dokter gigi Spesialis Konservasi Gigi yang dengan tulis dan sabar dalam mendidikan dan membimbing penulis selama mengikuti studi
8. Dr. dr. Berty Nelwan, Sp.PA, Sp.F dan Dr. dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA yang telah membantu penulis dan memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini
9. Lukman, S.Si sebagai laboran yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama proses penelitian berlangsung
10. Teman seperjuangan penelitian penulis, drg. Taufik Amrullah dan drg. Yakobus Yanni, suka dan duka yang dilalui bersama
11. Sahabat seperjuangan residen PPDGS Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin, terkhusus PPDGS UNHAS Angkatan 2017 atas dukungan dan kerjasamanya yang tak pernah penulis lupakan
12. Terkhusus kepada :

kepada orangtua tercinta, ayah H. Abd. Hamid dan mama Hj. Herawati atas dukungan moril dan materil kepada penulis, serta tiada henti mengirimkan doa-doa terbaiknya sehingga mampu menyelesaikan studi tepat waktu



- Kepada kakak penulis, H. Muh. Adly Hamid, S.E, H. Muh. Azry Hamid, Muh. Azyadhi Hamid, S.E, Hj. Astriana Hamid, yang selalu mendoakan dan memberi semangat kepada penulis

13. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini

Penulis juga menghaturkan maaf sebesar-besarnya apabila terdapat kekeliruan selama penyusunan karya tulis ilmiah ini. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis harapkan masukan dan kritikan yang bersifat membangun. Semoga karya tulis ilmiah ini bermanfaat dalam bidang konservasi gigi pada khususnya.

Terima kasih.

Makassar, Januari 2020

Penulis,

Arfina Sari Hamid





## ABSTRAK

### EKSPRESI *CASPASE-3* PADA PULPA GIGI KELINCI SETELAH APLIKASI BAHAN *PULP-OUT* SEBAGAI ALTERNATIF BAHAN DEVITALISASI PULPA

Maria Tanumihardja, Aries Chandra Trilaksana, Arfina Sari Hamid  
Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin, Makassar

#### Latarbelakang :

*Caspase* merupakan enzim proteolitik yang berperan dalam kematian sel baik secara apoptosis maupun nekrosis. Pemberian bahan devitalisasi pulpa menyebabkan nekrosis sel-sel pulpa dan menimbulkan nyeri tajam. Alternatif bahan devitalisasi pulpa berbasis herbal telah dikembangkan. *Pulp-out* merupakan kombinasi bahan herbal ekstrak getah jarak (*J. curcas*) dan ekstrak akar sidaguri (*S. rhombifolia*). Kematian sel pulpa setelah aplikasi pulp out belum diketahui. **Tujuan** : Penelitian dilakukan untuk mengetahui ekspresi *caspase-3* setelah aplikasi bahan *pulp-out* pada pulpa gigi kelinci. **Metode** : gigi kelinci yang telah dibur mencapai pulpa dibiarkan terbuka selama 60 detik, kemudian pulp out diaplikasikan pada kavitas gigi dan ditumpat dengan RMGIC. Setelah 24 jam, kelinci didekapitasi selanjutnya gigi diekstraksi dan dekalsifikasi, diikuti dengan pemeriksaan HE dan IHC ekspresi *caspase-3*. **Hasil** : tampak ekspresi *caspase-3* pada pulpa gigi setelah aplikasi bahan *pulp-out*. **Kesimpulan** : bahan devitalisasi berbasis herbal, *pulp-out* menunjukkan ekspresi *caspase-3* seperti sediaan bahan devitalisasi .

**Kata Kunci** : *Pulp-out*, ekstrak getah jarak, ekstrak akar sidaguri, *caspase-3*

Korespondensi : Arfina Sari Hamid

Email : [drGARFINASARIHAMID@gmail.com](mailto:drGARFINASARIHAMID@gmail.com)

Perintis Kemerdekaan KM 10 Universitas Hasanuddin, Makassar

## ABSTRACT

### EXPRESSION OF CASPASE 3 ON RABBIT'S PULP AFTER PULP OUT APPLICATION AS ALTERNATIVE OF DEVITALIZED PULP AGENT

Maria Tanumihardja, Aries Chandra Trilaksana, Arfina Sari Hamid  
Conservative dentistry departement, Dentistry Faculty, Hasanuddin University, Makassar

**Background:** Caspase is a proteolytic enzyme that plays a role in cell death both by apoptosis and necrosis. Providing pulp devitalization material causes necrosis of the pulp cells and causes sharp pain. Alternative herbal-based pulp devitalization agents have been developed. Pulp Out is a combination of herbal ingredients extract (*J. curcas*) and sidaguri root extract (*S. rhombifolia*). The death of pulp after the application of pulp out is unknown. **Objective:** The study was conducted to determine the expression of *caspase-3* after the application of pulp-out material on rabbit teeth. **Methods** : Rabbit teeth have been opening access of the pulp,



then left for 60 seconds, then the pulp-out is applied to the tooth cavity and restored by RM-GIC. After 24 hours, the rabbit was decapitated, then the teeth were extracted and the pulp was removed, followed by an HE and IHC examination of caspase-3 expression. **Results:** expression of caspase-3 in the dental pulp after application of the pulp-out material. **Conclusion:** herbal based devitalization, pulp out shows the expression of caspase-3 as the preparation of devitalsation material.

**Keywords :** pulp-out, jatropha extract (J. curcas), sidaguri root extract, *caspase-3*

Correspondens : Arfina Sari Hamid

Email : [drgarfinasarihamid@gmail.com](mailto:drgarfinasarihamid@gmail.com)

Perintis Kemerdekaan KM 10 Hasanuddin University, Makassar



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PRASYARAT GELAR.....	ii
LEMBAR PENGAJUAN TESIS.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
ABSTRAK.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii

### BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah... ..	3
1.3 Tujuan Penelitian... ..	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3

### BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Patofisiologi Penyakit Pulpa.....	5
2.2 Penanganan Nyeri pada Pulpitis .....	6
2.2.1 Anastesi .....	6
2.2.2 Devitalisasi Pulpa.....	6
2.3 Kematian Sel.....	8
2.3.1 Nekrosis Sel. ....	8
2.3.2 Apoptosis.....	



2.4 Caspase.....	11
2.4.1 Caspase 3.....	13
2.5 Tanaman Jarak Pagar ( <i>J. curcas</i> ).....	15
2.7.1 Sifat dan Kandungan Kimia.....	15
2.6 Tanaman Sidaguri ( <i>S. rhombifolia</i> ).....	16
2.6.1 Manfaat Sidaguri.....	16
2.6.2 Sifat dan Kandungan Kimia Sidaguri .....	17
2.7 Kerangka Teori.....	18
2.8 Kerangka Konsep.....	19
2.9 Hipotesis Penelitian.....	20

### **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

3.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	21
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	21
a. Waktu Penelitian.....	21
b. Lokasi Penelitian .....	21
3.3 Sampel Penelitian.....	21
3.3.1 Perhitungan Besar Sampel.....	22
3.4 Variabel Penelitian.....	23
3.5 Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	23
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	23
3.7 Prosedur Penelitian.....	24
a. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	24
b. Pembuatan Ekstrak Sampel Uji.....	24
c. Persiapan Hewan Coba .....	25
d. Pemeriksaan Histopatologi .....	26
e. Pemeriksaan Eskpresi <i>Caspase 3</i> .....	26
3.8 Pengumpulan dan Analisis Data .....	27



<b>BAB IV. HASIL .....</b>	<b>28</b>
<b>BAB V. PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>36</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>37</b>



## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Nilai rerata jumlah pembuluh darah dan diameter pembuluh darah pada masing-masing kelompok.....	29
2. Perbedaan antara dua kelompok perlakuan.....	30
3. Perbandingan ekspresi caspase-3 berdasarkan luas area yang terwarnai pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi 24 jam aplikasi... ..	32



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Nekrosis sel (“ <i>accidental</i> ” <i>cell death</i> ) .....	9
2. Apoptosis. <i>apoptotic body</i> , memberan intack, tidak ada inflamasi.....	10
3. Ilustrasi skematik perubahan morfologi cedera sel pada apoptosis dan nekrosis.....	11
4. Klasifikasi <i>caspase</i> .....	12
5. Keterlibaan <i>caspase-3</i> dalam jalur apoptosis.....	14
6. Tanaman Jarak ( <i>J. curcas</i> ).....	15
7. Gambaran mikroskopik jumlah pembuluh darah dan diameter pembuluh darah pada masing-masing kelompok.....	29
8. Hasil pemeriksaan ekspresi <i>caspase-3</i> ... ..	31



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Rekomendasi Permintaan Etik	
2. Komisi Etik Penelitian	
3. Dokumentasi Penelitian	43
4. Hasil Pemeriksaan HE dan IHC	46





## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
Et.al	Et alil, dan kawan-kawan
COX	<i>Cyclooxygenase enzyme</i>
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
HMGB1	Protein <i>High mobility group box</i>
Apaf-1	<i>Apoptotic protease activating factor-1</i>
SP	<i>Substansi P</i>
CRP	<i>C reactive protein</i>
HE	<i>Hematoksilin Eosin</i>
IHC	<i>Immunohistochemistry</i>
BB	Berat badan
g/kg	Gram/kilogram
I.m	<i>Intramuscular</i>
RMGIC	<i>Resin modified glass ionomer cement</i>



## BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kematian sel merupakan proses dasar untuk mempertahankan homeostasis, mengeluarkan sel-sel yang tidak diinginkan atau sel-sel yang rusak, dan menjamin berulangnya siklus isi seluler dalam meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi. Berdasarkan morfologi kematian sel, terdapat dua cara kematian sel yang berbeda yang umum dipelajari yaitu apoptosis dan nekrosis. Enzim proteolitik yang berperan dalam mengontrol kematian sel dan inflamasi adalah *caspase* (Shalini dkk, 2015).

*Caspase* adalah protease *cysteine-aspartic* yang telah diidentifikasi 15 *caspase*. *Caspase-3* merupakan eksekutor utama dalam kematian sel dan merupakan salah satu *caspase* yang mampu mengaktifkan *caspase* lain seperti *caspase 6* dan *caspase 7* yang menyebabkan amplifikasi kerusakan sel (Sari, 2015). *Caspase-3* yang telah teraktivasi akan memicu apoptosis sel (Muhartono dan Subeki, 2017). Apoptosis sel merupakan kematian sel yang terprogram dan terkontrol, ditandai dengan aktivasi protein *caspase* yang mengurai protein untuk menginisiasi dan mendukung sinyal apoptosis. (Matalova, 2012; Pradeep, *et.al.* 2016)

Aplikasi bahan devitalisasi pulpa pada perawatan saluran akar gigi vital dapat menyebabkan kematian sel. Paraformaldehid umumnya digunakan dalam bidang endodontik untuk mematikan pulpa dalam perawatan saluran akar gigi (Srivastava, dkk

Paraformaldehid memiliki toksisitas yang kuat, menyebabkan vasodilatasi, dan  
...an yang berakhir dengan hilangnya vitalitas pulpa atau kematian sel.



Disamping itu, bahan ini menimbulkan respons nyeri yang sangat tajam sehingga *lidocain* dan minyak cengkeh ditambahkan dalam formulasi sediaan bahan devitalisasi untuk mengurangi nyeri yang terjadi (informasi produk). (Zhen-Ya, 2013).

Penelitian-penelitian dilakukan untuk menemukan alternatif bahan devitalisasi, antara lain bahan yang berasal dari tumbuhan alam yang banyak terdapat di Indonesia. Getah tanaman jarak (*J. curcas*) dilaporkan dapat menyebabkan nekrosis koagulasi pada pulpa gigi geraham *M. nemestrina* 24 jam setelah pengaplikasiannya. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan getah jarak terbukti dapat meningkatkan prostaglandin E2 yang merupakan mediator nyeri (Siregar, 2000; Mattulada, 2008).

Bahan alam lain yang diteliti memiliki potensi sebagai pereda nyeri adalah akar sidaguri (*S. rhombifolia*). Ekstrak akar sidaguri dilaporkan dapat menghambat enzim siklooksigenase yang berperan terhadap pembentukan PGE<sub>2</sub> (Tanumihardja dkk, 2019).

Kombinasi kedua bahan alam di atas merupakan salah satu ide yang diasumsikan memiliki aksi yang sesuai dengan bahan devitalisasi yang ada dan selanjutnya dalam tulisan ini kombinasi kedua bahan alam tersebut dinamakan *pulp-out*. Sejauh ini belum ada penelitian yang mengevaluasi jalur kematian sel setelah aplikasi *pulp-out* pada kavitas gigi. Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kematian sel setelah aplikasi *pulp-out* dengan menilai ekspresi salah satu

yaitu *caspase-3* secara imunohistokimia.

usan Masalah



Apakah aplikasi *pulp-out* pada pulpa gigi kelinci memberi ekspresi *caspase-3* pada pemeriksaan imunohistokimia ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui ekspresi *caspase-3* pada pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp-out* sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa?

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui jalur kematian sel pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp-out* sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa melalui pemeriksaan imunohistokimia
- b. Mengevaluasi gambaran histologis (HE) kematian sel pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp-out*.

### 1.4 Manfaat penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai jalur kematian sel pulpa setelah aplikasi *pulp-out* yang bisa dimanfaatkan sebagai alternatif bahan devitalisasi.



#### Manfaat Khusus

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis konservasi gigi pada khususnya mengenai gambaran histologis dan imunohistokimia sel pulpa gigi kelinci setelah aplikasi *pulp-out*.
- b. Bahan *pulp-out* diharapkan dapat dijadikan sebagai alternatif bahan devitalisasi pulpa dalam bidang konservasi gigi.



## BAB II

## TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Patofisiologi Inflamasi Pulpa

Pulpa merupakan jaringan ikat yang mengandung komponen jaringan seperti substansi interselular, cairan jaringan, sel-sel tertentu, limfatik, pembuluh darah, saraf, *odontoblast* dan komponen seluler lainnya (Larasati, 2014). Pulpa akan bereaksi terhadap iritasi yang mengenainya sebagaimana jaringan ikat lainnya dan dapat mengakibatkan inflamasi dan kematian sel (Larasati, 2014). Inflamasi adalah respon pertahanan tubuh yang diperlukan untuk mempertahankan diri dengan mengeliminasi penyebab jejas yang dapat mengakibatkan kerusakan jaringan atau sel (*cell injury*), membersihkan jaringan dari sisa-sisa kerusakan, dan membangun jaringan baru. (Larasati, 2014; Syarifuddin dkk, 2016)

Inflamasi pada pulpa gigi sama dengan inflamasi yang terjadi pada jaringan ikat lainnya yang dimediasi oleh faktor seluler dan molekuler. Inflamasi pulpa terjadi karena adanya cedera sel dan jaringan, (Syarifuddin dkk, 2016). Proses inflamasi pada pulpa gigi ditandai dengan adanya perubahan vaskularisasi darah dan migrasi sel inflamasi menuju ke daerah inflamasi. (Luminita, 2004).

Respons inflamasi terhadap cedera pulpa gigi bermakna secara klinis. Cedera dapat disebabkan karies gigi, prosedur restoratif (iatrogenik), fraktur gigi atau atrisi (Larasati, 2014; Sang et.al. 2015). Pulpa gigi sensitif terhadap faktor eksternal seperti mikroba akibat karies dan/atau iritasi mekanis/kimiawi selama prosedur perawatan gigi pada bidang kedokteran gigi. (Fouad, 2014; Sang et.al. 2015).(Kenneth,



2016). Inflamasi yang terjadi ditandai dengan adanya perubahan bentuk dan fungsi vaskuler seperti terjadinya vasodilatasi, perubahan permeabilitas vaskuler, angiogenesis, perubahan jumlah dan diameter pembuluh darah. (Purwaningsih, 2014; Jordan et.al, 2015)

## 2.2 Penanganan Nyeri pada Pulpitis

### 2.2.1 Anastesi

Efektivitas anastesi selama perawatan endodontik terutama pada jaringan pulpa vital sangat penting untuk menciptakan rasa nyaman dan meningkatkan kerjasama pasien selama perawatan berlangsung. Dilain pihak, keberhasilan anastesi pada pulpa vital tidak mudah dicapai terutama pada gigi molar rahang bawah (Dabas and Dabas, 2004). pada kasus pulpitis *irreversible* (Torabinejad, *et.al.* 2015).

Salah satu faktor kegagalan anastesi yaitu adanya infeksi dan/atau inflamasi yang berakibat pada berkurangnya bioavailabilitas anestetikum yang berdampak pada pengurangan efektivitas anastesi lokal (Allegreti,et.al,2016). Selain itu terjadi penurunan pH pada jaringan terinflamasi sehingga mengurangi penetrasi anestetikum. Agen anastesi lokal tidak memadai untuk mencegah transmisi impuls karena terjadi penurunan ambang rangsangan. Faktor lain penyebab kegagalan tersebut yaitu resistensi *sodium channel* terhadap *tetrodotoxin* (TTXr) yang telah terbukti resisten terhadap aksi anastesi lokal (Reader and Nusstein, 2002).



vitalisasi Pulpa

Devitalisasi pulpa merupakan teknik operatif yang digunakan pada perawatan pulpitis dengan cara pemberian bahan kimia, *devitalizing agent*. Bahan devitalisasi diberikan ketika pemberian anastesi tidak bekerja efektif dalam mengurangi rasa sakit selama perawatan. Metode devitalisasi pulpa menggunakan bahan kimia buatan yang diaplikasikan di atas permukaan pulpa gigi yang terbuka atau hampir terbuka. Berbagai bahan devitalisasi digunakan dalam kedokteran gigi sehari-hari untuk mematikan pulpa. menyebabkan terputusnya aliran pembuluh darah pulpa, berdampak pada hilangnya vitalitas pulpa hingga menyebabkan nekrosis jaringan pulpa.

Paraformaldehid pada umumnya digunakan dalam endodontik untuk mematikan pulpa. Paraformaldehid mengandung molekul formaldehida yang secara bertahap berpenetrasi ke dalam pulpa, menyebabkan nekrosis dalam 10 hari - 14 hari (Srivastava, dkk. 2011).

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

Beberapa kelemahan bahan ini antara lain respons nyeri yang sangat tajam setelah aplikasi bahan tersebut. Salah satu alasannya karena toksisitas vaskular yang

menyebabkan tekanan pulpa meningkat lebih lanjut sehingga menyebabkan nyeri secara signifikan selanjutnya menyebabkan pecahnya pembuluh darah di pulpa dan akhirnya menyebabkan nekrosis pulpa. (Zhen-ya, 2013).





## 2.3 Kematian Sel

Seperti sel tubuh lainnya, sel-sel pulpa juga menunjukkan reaksi terhadap cedera atau inflamasi yang terjadi pada pulpa. Reaksi tersebut dapat berupa kematian sel. Kematian sel merupakan proses kritis aktif yang menjaga homeostasis jaringan dan mengeliminasi potensi sel berbahaya. Berdasarkan morfologi, kematian sel yaitu apoptosis dan nekrosis (Green dan Llambi, 2015).

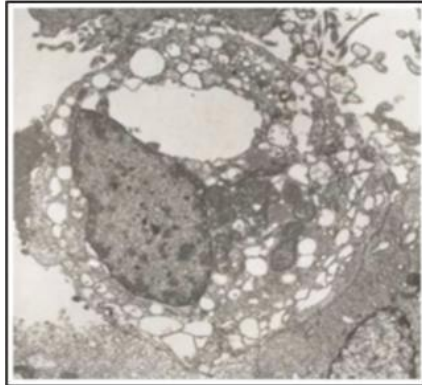
### 2.3.1 Nekrosis Sel

Nekrosis dipercaya sebagai bentuk kematian sel yang pasif dan tidak terkontrol (Han, *et.al.* 2008). Nekrosis (“*accidental*” *cell death*) terjadi akibat sel terpapar jejas baik secara fisik, mikroorganisme, atau bahan kimia karena ada perbedaan ekstrim dari kondisi fisiologisnya (seperti hipotermia, hipoksia, atau iskemia) (Lee, *et.al.* 2018). Nekrosis secara morfologi terjadi melalui pembengkakan sel dan kerusakan membran plasma, yang memicu pelepasan kandungan sitoplasma yang cepat (seperti: *nuclear protein high mobility group box 1* (HMGB1)) ke dalam lingkungan sel, kemudian diikuti penyusutan sel serta fragmentasi DNA dan inti. Pelepasan ini, menimbulkan respon inflamasi yang besar di lingkungan fisiologis di sekitar sel yang mati (Han, *et.al.* 2008; Kang *et.al.* 2013; Feostova, *et.al.*2014; Lee, *et.al.* 2018)

Kematian sel nekrosis telah terjadi di berbagai kondisi patologis, seperti stroke, dan beberapa penyakit neurodegeneratif. Lebih lanjut, nekrosis terkadang sebagai suatu faktor penyebab pemicu tumor karena meningkatkan



kemungkinan mutasi proto-onkogenik, akibat respon inflamasi yang berlebihan dan jangka panjang (Han, *et.al.* 2008; Kang *et.al.* 2013; Lee, *et.al.* 2018).



**Gambar 1.** Nekrosis (“accidental” cell death).

(Sumber : *Regulation of Tumor Progression by Programmed Necrosis.* 2018)

### 2.3.2 Apoptosis

Istilah apoptosis, diambil dari kata Yunani yang berarti jatuh, pertama kali digunakan oleh Kerr dkk di tahun 1972 untuk mengindikasikan suatu jenis kematian sel yang diamati pada hati dan melibatkan beberapa karakteristik yang membedakannya dari kematian sel nekrosis. Secara spesifik, sel apoptosis menunjukkan ciri morfologi yang berbeda, seperti adanya bagian membran, *nuclear pyknosis* (kondensasi kromatin), dan *karyorhexis* (fragmentasi inti). Sel apoptosis dapat ditelan oleh sel fagosit yang dekat di sekelilingnya sehingga tidak ada kebocoran material toksik selular atau inflamasi di sekitar sel mati yang teramati. Apoptosis sel juga terjadi pada kondisi perkembangan normal dan juga kondisi patologis, dan saat ini dianggap

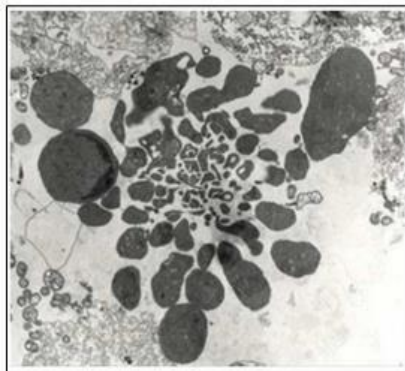
model kematian sel sempurna yang memudahkan eliminasi hal-hal yang merusak serius, yang tidak dibutuhkan, sel yang terinfeksi oleh virus atau



bakteri, begitupun mempertahankan homeostatis jaringan melalui pembuangan sel yang tidak diperlukan pada organisme multiselular. Kematian sel apoptosis yang abnormal berkontribusi terhadap berbagai penyakit seperti kanker (apoptosis yang terhenti) dan syok septik (apoptosis masif) (Han, *et.al.* 2008).

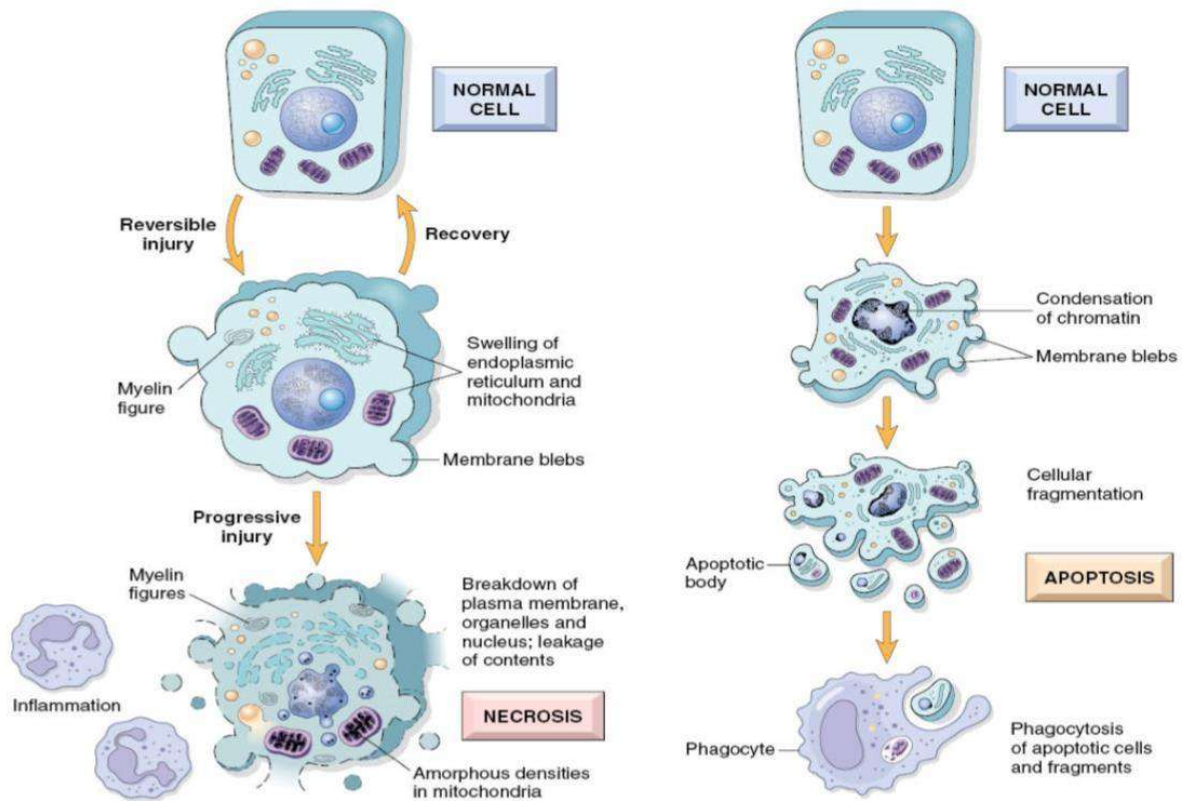
Apoptosis dapat direspons secara fisiologis, adaptif dan patologis. Apoptosis disebabkan oleh suatu stimulus yang relatif kecil dibandingkan stimulus yang menyebabkan nekrosis. Apoptosis merupakan proses yang normal pada embriogenesis dan homeostasis untuk kelangsungan hidup organisme. Melalui proses apoptosis, sel yang rusak akan dieliminasi, sedangkan sel yang masih berfungsi baik akan dibiarkan tetap berproliferasi sehingga dapat melindungi organisme atau tubuh dari kerusakan (Supriadi, 2008).

Apoptosis dapat dimediasi melalui tiga jalur yaitu intrinsik (dimediasi mitokondria), ekstrinsik (mediasi reseptor kematian) dan jalur sinyal dari tekanan retikulum endoplasma. Ketiga jalur ini mengarah pada aktivasi *caspase-3* dan akhirnya apoptosis (Xi, *et.al.* 2016).



**ambar 2.** Apoptosis. *Apoptotic body, membrane intact*, tidak ada inflamasi.  
Sumber : *Regulation of Tumor Progression by Programmed Necrosis.* 2018.





**Gambar 3.** Ilustrasi skematik perubahan morfologi cedera sel pada apoptosis dan nekrosis

## 2.4 Caspase

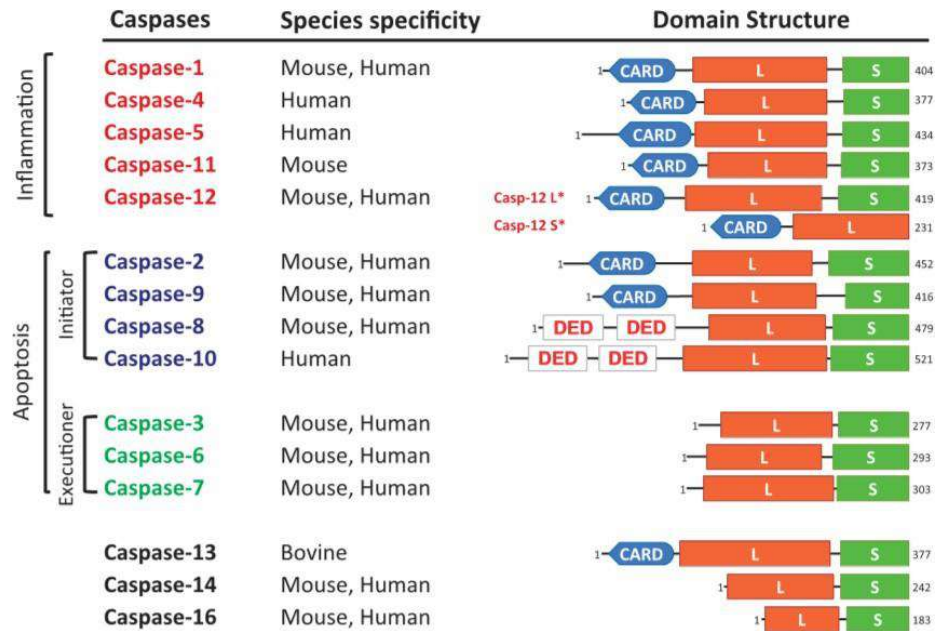
*Caspase* merupakan keluarga protease sistein-aspartik yang mengurai serangkaian protein untuk menginisiasi dan mendukung sinyal apoptosis. Sejauh ini sekitar 15 *caspases* mamalia telah diidentifikasi dan memainkan peran dalam apoptosis, peradangan, dan juga dalam jalur non-apoptosis. *Caspase* diklasifikasikan berdasarkan fungsinya yaitu *inflammatory caspase*, terdiri atas *caspase -1, -4 dan -5*;

*initiator* terdiri atas *caspase -2, -8, -9 dan -10*, dan *apoptotic effector*



(eksekutor) terdiri atas *caspase* -3, -6 dan -7 (Yazdi, *et.al.*, 2010; Matalov, *et.al.*, 2012).

(Gambar 4)



**Gambar 4.** Klasifikasi *caspase* (Shalini,*et al.*, 2015)

*Caspase* dapat diatur menjadi dua jalur yang berbeda, baik dimulai dari luar sel (jalur reseptor ekstrinsik atau kematian), atau dari dalam sel (jalur intrinsik atau mitokondria). Jalur mitokondria terdiri dari aktivasi faktor pro apoptosis, meliputi Bax, yang merupakan kebalikan dari anggota keluarga Bcl-2. Translokasi dari Bax, Bid atau Bad ke mitokondria akan menginduksi pelepasan *cytochrome C*. Bentuk kompleks *cytochrome c* dengan *pro-apoptotic factor Apaf- 1 (apoptotic protease activating factor-1)* and *procaspase-9*, akan menghasilkan pembentukan *apoptosome* dan pada aktivasi *caspase 9*. *Caspase 9* selanjutnya membelah *procaspase-3* dan



mengaktifkan *caspase-3* diikuti dengan destruksi sel secara lengkap (Matalov, *et.al.*, 2012).

### 2.4.1 *Caspase-3*

*Caspase-3* merupakan golongan *caspase* eksekutor yang diaktifkan oleh *caspase* inisiator, misalnya *caspase-8* dan *caspase-9*. Aktivasi apoptosis baik jalur ekstrinsik maupun intrinsik akan berujung pada aktivasi *caspase-3* sebagai *caspase* eksekutor. Apabila *caspase-3* telah teraktivasi maka akan terjadi kematian sel apoptosis. (Muhartono dan Subeki, 2017).

*Caspase-3* bertanggung jawab terhadap penguraian seluruh atau sebagian protein dari berbagai jenis protein utama seperti *nuclear enzyme poly ADP ribose polymerase* yang mengalami dimerisasi untuk membentuk enzim aktif. *Caspase-3* merupakan mediator apoptosis utama dalam sistem imun dan telah terdeteksi pada penyakit inflamasi. Beberapa studi immunohistokimia telah menemukan adanya peningkatan *caspase-3* yang terlibat dalam proses inflamasi yang dihubungkan dengan destruksi jaringan pada pasien periodontitis (Pradeep, *et.al.* 2016). *Caspase-3* diaktifkan di dalam sel jalur ekstrinsik (*death ligan*) dan intrinsik (mitrokondia) (Yazdi *et.al.*, 2010; Pradeep, *et.al.* 2016).

Sebagai *caspase* eksekutor, zymogen *caspase-3* dalam bentuk tidak aktif.

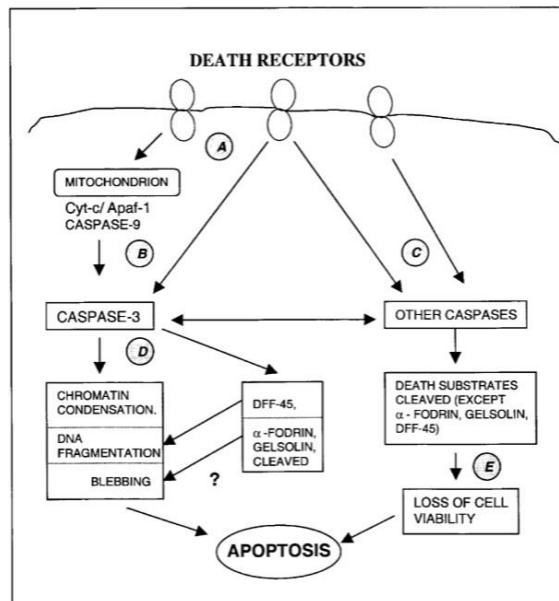
*3* teraktivasi oleh *caspase* inisiator setelah ada sinyal apoptotik. Salah satu sebut adalah *granzym B* yang dapat mengaktivasi *caspase* inisiator pada sel



yang menjadi target apoptosis oleh sel T *killer* (pembunuh). Aktivasi ekstrinsik ini akan memicu rangkaian *caspase* dari jalur apoptotik di mana *caspase-3* berperan penting di dalamnya (Green and Llambi, 2015). Adanya zymogen *caspase-3* untuk meregulasi aktivitas *caspase* agar membunuh semua sel (Yazdi, *et.al.*, 2010)

*Caspase-3* juga telah terbukti terlibat dalam sejumlah proses yang tidak terkait langsung dengan kematian sel. Aktivasi *caspases* 3 selama apoptosis memiliki peran penting sebagai regulator negatif dari respon imun dengan memicu pelepasan sitokin anti-inflamasi dan menekan respon inflamasi. Selain peran-peran ini dalam penekanan imun, *caspases* memiliki peran dalam regenerasi jaringan dan proliferasi. Meskipun aktivasi *caspase-3* menyebabkan kematian sel dalam *host*, telah ditemukan untuk merangsang proliferasi sel di sel disekitar, non-apoptosis (Flanaga, *et.al.*, 2016).

#### ROLES OF CASPASE-3 IN APOPTOSIS



Par 5. Keterlibatan *caspase-3* dalam jalur apoptosis. (1) Jalur aktivasi *caspase-3* g atau tidak pada pelepasan mitochondrial cytochrome c (A). (2) Aktivasi *caspase-*





3 dapat bergantung atau tidak pada *caspase* 9 (A,B). (3) Jalur kematian sel bergantung atau tidak pada *caspase*-3 (C). *Caspase*-3 diperlukan pada pembelahan for a-fodrin, DFF-45 dan gelsolin (sel MCF-7), *blebbing* dan kondensasi kromatin dan fragmentasi DNA (D) (Flanaga, *et.al.*, 2016).

## 2.5 Tanaman Jarak Pagar (*J. curcas*)

Jarak pagar (*J. curcas*) merupakan tanaman asli daerah tropis Amerika yang dapat ditemukan di hampir seluruh wilayah Indonesia. (Maftuchah, dkk. 2016). Tanaman jarak yang dikenal secara luas oleh masyarakat Indonesia ada dua macam, yakni jarak kepyar dan jarak pagar. Jarak pagar diperkenalkan untuk ditanam di pekarangan oleh bangsa Jepang pada tahun 1942-an. Minyak jarak pagar dimanfaatkan sebagai bahan bakar kendaraan untuk perang pada masa itu (Dewi, dkk. 2013)



**Gambar 5.** Tanaman Jarak (*J. curcas*) (Abdelgadir, *et.al.* 2013)

### 2.5.1 Sifat dan Kandungan Kimia

Jarak pagar (*Jatropha curcas*) merupakan tanaman perdu yang mempunyai warna putih yang terasa pahit dan agak keruh. Getahnya biasa digunakan bat kumur pada kelainan gusi berdarah dan menghilangkan bengkak. Getah





jarak mengandung antara lain sterol atau triterpen, aglikon flavon, tanin, senyawa pereduksi, glikosida steroid, dan saponin. Senyawa tanin dapat menyebabkan presipitasi protein, sedangkan saponin dapat mempengaruhi sel dan menyebabkan hemolisis. Getah jarak bersifat asam yang mempengaruhi kelarutan komponen jaringan keras gigi (Mattulada, 2008). Getah jarak terbukti dapat menghambat PGE2 (Mattulada, 2008), serta mampu menurunkan substansi P (SP) pada 24 jam aplikasi (Irmaleny, 2011)

## 2.6 Tanaman Sidaguri (*Sida rhombifolia*)

Sidaguri (*S. Rhombifolia*) merupakan tanaman herbal yang umum di perkotaan. Sidaguri menyebar ke Assam, India dan bahkan menyebar ke Eropa sebagai obat untuk rematik (Dalimarta, 2003).

### 2.6.1 Manfaat sidaguri (Kinho, 2011; Ema, 2012 dan Syarifuddin, 2012)

Khasiat dari komponen tumbuhan sidaguri yaitu:

- a. Bunga : digunakan sebagai obat luar misalnya pada gigitan serangga.
- b. Daun : memiliki aktivitas hipourisemia, antiinflamasi dan hepatoprotektor.
- c. Akar : Akar sidaguri terbukti memiliki efek analgetik sehingga pengobatan dengan akar sidaguri pada kasus sakit gigi dapat menjadi salah satu alternatif pengobatan tradisional bagi masyarakat (Natsir dkk, 2014). Selain itu, akar sidaguri juga

iliki efek antiinflamasi yang ditandai dengan menurunnya kadar CRP (Tanumihardja dkk, 2016), serta dapat menghambat cyclooxygenase enzymes

(Tanumihardja dkk, 2019)



d. Semua bagian tumbuhan

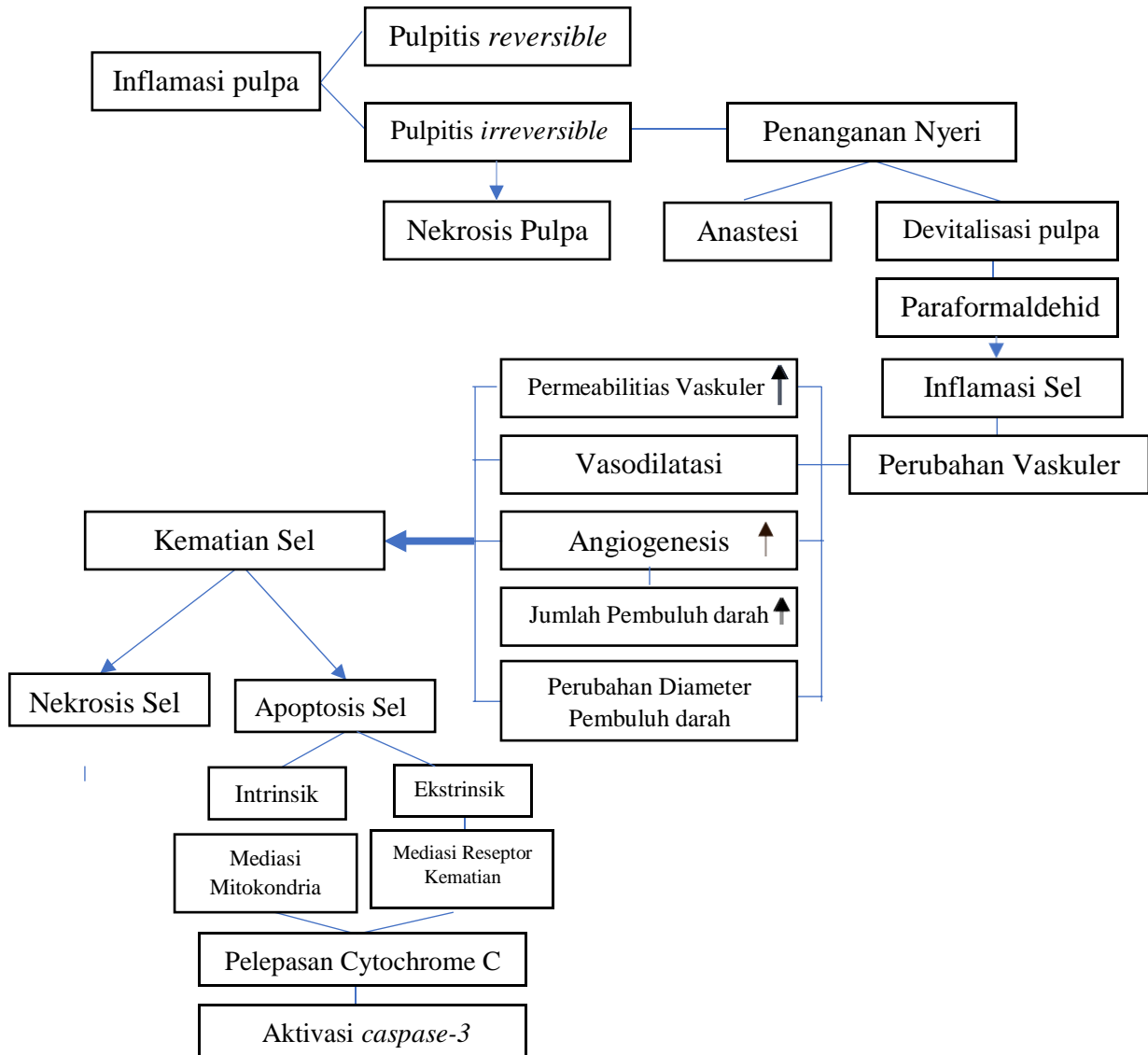
Semua bagian tumbuhan digunakan untuk mengobati asam urat dengan cara direbus dan kemudian air seduhan diminum. Beberapa penelitian juga melaporkan ekstrak sidaguri menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor dan anti HIV.

**2.6.2 Sifat dan kandungan kimia sidaguri (Kinho, 2011)**

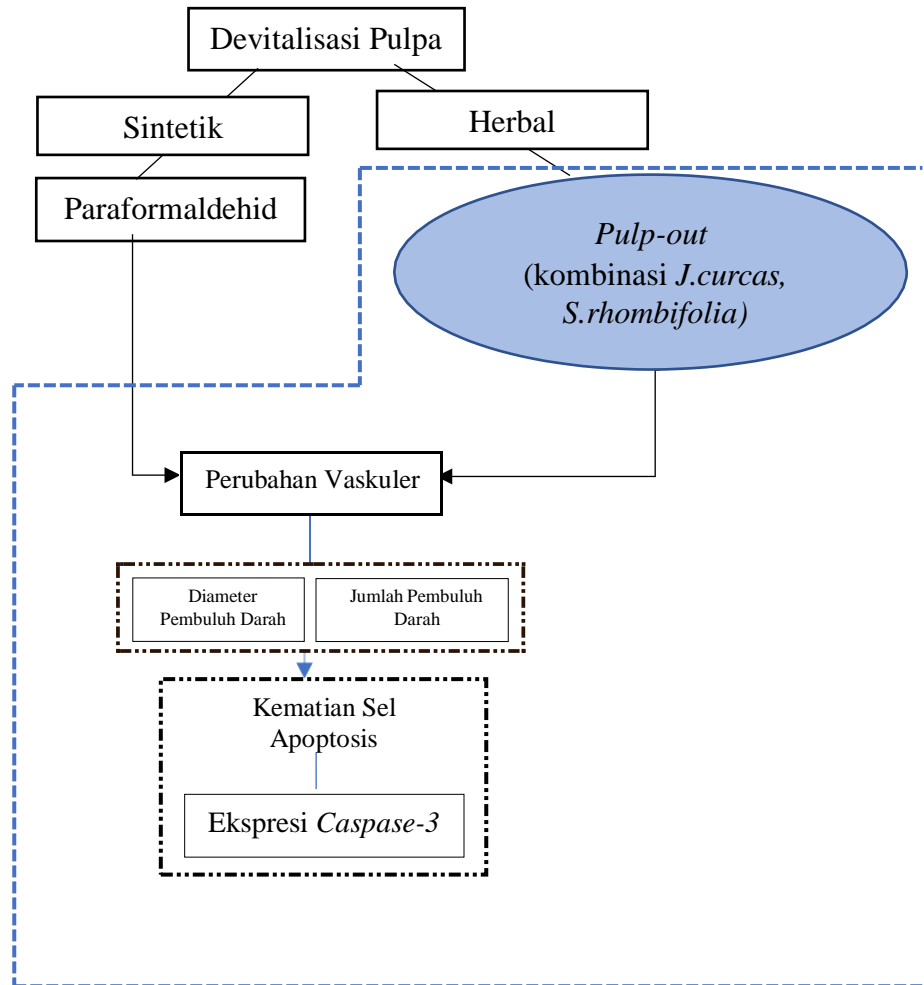
Kandungan senyawa kimia dalam sidaguri adalah alkaloid, saponin, tannin, fenol, kalium oksalat, flavonoid dan steroid. Senyawa flavonoid dapat menghambat aktivitas xantin oksidase dan bersifat menangkap radikal bebas superoxide sehingga mampu menurunkan kadar asam urat dan mengobati gout. Tannin yang terdapat pada herba sidaguri mempunyai aktivitas antioksidan dan dapat menghambat pertumbuhan sel tumor. Saponin sebagai antimikroba dan kalsium oksalat dapat memperbaiki kekurangan kalsium dalam tubuh. Selain itu, sidaguri juga berkhasiat sebagai antiinflamasi, dan sakit gigi. Zat *phlegmatic* digunakan sebagai peluruh dahak (ekspektoran) dan pelumas (lubrikan).




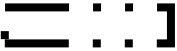

## 2.7 Kerangka Teori



## 2.8 Kerangka Konsep



Keterangan :

-  Variabel independen
-  Variabel dependen
-  Variabel yang diteliti



## 2.9 Hipotesis Penelitian

Aplikasi *pulp out* menunjukkan ekspresi *caspase-3* pada pulpa gigi kelinci.

