

**MEKANISME PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF
MELALUI EKSPRESI TLR-4, TNF- α , TGF- β 1,
ODONTOBLAST-LIKE CELLS, *Col-I*, DMP-1 DAN ALP
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN UNGU
(*Graptophyllum pictum* L.Griff)**

(Studi Eksperimental Hewan Coba *Rattus norvegicus* Model Perforasi Pulpa Gigi)

DISERTASI



Oleh :

**DEVI EKA JUNIARTI
NIM: 021810173001**

**PROGRAM STUDI DOKTOR
ILMU KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**MEKANISME PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF
MELALUI EKSPRESI TLR-4, TNF- α , TGF- β 1,
ODONTOBLAST-LIKE CELLS, Col-I, DMP-1 DAN ALP
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN UNGU
(*Graptophyllum pictum* L.Griff)**

(Studi Eksperimental Hewan Coba *Rattus norvegicus* Model Perforasi Pulpa Gigi)

DISERTASI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi
Fakulta Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga Surabaya**

Oleh :
DEVI EKA JUNIARTI
NIM 021810173001

Menyetujui

Promotor



Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., Sp.KG(K)
NIP. 196006251986012002

Ko Promotor



Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS., Sp.KG(K)
NIK. 195108102022016101

Ketua Program Studi



Prof. Dr. Ida Bagus Narmada, drg., Sp.Ort(K)
NIP. 195601071981031003

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai oleh Panitia Ujian Tahap I (Tertutup)
pada tanggal : 16 Agustus 2022**

Panitia Penguji

Ketua : Prof. Dr. Ida Bagus Narmada, drg., Sp.Ort(K)

Anggota :

1. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., M.Kes., Sp.KG(K) (Promotor)
2. Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., M.S., Sp.KG(K) (Ko Promotor)
3. Prof. Dr. Intan Nirwana, drg., M.Kes.
4. Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S.
5. Dr. Indeswati Diyatri, drg., MS.
6. Ninuk Hariyani, drg., M.Kes., MPH., Ph.D.

Ditetapkan dengan surat keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
tentang Tugas Menjadi Tim Penguji pada Ujian Disertasi Tertutup

Nomor : 380/UN3.1.2/2022

Tanggal : 15 Agustus 2022

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh,

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul “Mekanisme Pembentukan Dentin Reparatif Melalui Ekspresi $TNF-\alpha$, $TGF-\beta 1$, *Odontoblast-like cells*, *Col-I*, DMP-1 dan ALP setelah Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff)”.

Disertasi ini dapat diselesaikan berkat dorongan, bimbingan, arahan, saran, dan perbaikan dari banyak pihak, maka dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., M.T., Ak., CMA .yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Pendidikan Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Darmawan setijanto, drg., MKes. selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode tahun 2015-2020 dan segenap jajarannya yang telah memberikan dukungan dan kesempatan untuk menempuh Pendidikan Program Doktor Ilmu Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Wakil Dekan I dan mantan Ketua Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga untuk kesempatan serta dukungan yang diberikan selama menempuh masa studi
4. Prof. Dr. Ida Bagus Narmada, drg., Sp.Ort(K) selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan penguji disertasi yang telah memberikan dukungan dan motivasi untuk menyelesaikan masa studi dan pembuatan disertasi.

5. Almh. Prof. Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., M.Kes. selaku promotor yang dengan penuh perhatian telah meluangkan waktu, memberikan dorongan semangat dengan penuh kesabaran, memberikan bimbingan dan saran semasa membimbing di masa studi saya. Terima kasih untuk ilmunya, prof, insyaa Allah budi baik tersebut menjadi amal jariyah.
6. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku promotor atas waktu dan motivasi yang telah diberikan sehingga disertasi ini dapat terselesaikan.
7. Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS., Sp.KG(K) selaku Ko Promotor yang dengan telah meluangkan waktu, memberikan dorongan dan semangat, bimbingan dan saran hingga terselesaikannya disertasi ini.
8. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Ketua Departemen Ilmu Konservasi Gigi yang telah memberikan dukungan selama masa studi.
9. Prof. Dr. Intan Nirwana, drg., M.Kes., Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S, Dr. Indeswati Diyatri, drg., M.S. selaku penguji disertasi, yang telah banyak memberikan saran dan masukan yang sangat berharga dalam penyusunan disertasi ini.
10. Ninuk Hariyani, drg., MPH selaku penguji disertasi sekaligus pembimbing dalam proses pengolahan data penelitian dan analisis statistik.
11. Prof. Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing penelitian di Research Centre Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan sarannya selama berkonsultasi di lab.
12. Bapak Heri Soemantoro dan mas Udin selaku staf di Unit Hewan Coba Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Wibi Riawan, S.Si selaku staf Departemen Biokimia dan Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, mas Yoni Abdurrahman, A.Md. A.K. selaku staf di *Research Centre* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, pak Ari dan mbak Umma selaku staf di Lab. Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, tim Unit Layanan Pengujian

Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, dan para Tim Inbio Indonesia yang telah membantu selama proses penelitian disertasi.

13. Suami Yanuar Eko Atmojo, ST., MBA., dan putri-putriku tercinta Annisa Fitriyani Azaria dan Keisha Putri Salsabila yang hingga saat ini selalu mendampingi, memberikan semangat dan dukungan dengan penuh kesabaran dan pengertian.
14. Kedua orang tua, R. Moestidjab, dr., Sp.M(K) dan Noviaty, serta kedua mertua alm. Ahmad Raidi, dr., Sp.B., dan Dra. Indah Suwarni, yang telah memberikan dukungan, semangat dan doanya demi kelancaran masa studi. Adik sepupu saya tercinta Ratna Mustriana, drg. yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu saya selama penelitian di laboratorium hewan coba.
15. Teman-teman Program Pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan sejawat dosen di Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang selama ini telah memotivasi, memberi masukan dalam penyusunan disertasi ini.
16. Semua sejawat dosen dan sejawat senior di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu, terima kasih yang tak terhingga atas motivasinya

Akhir kata semoga disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan dunia pendidikan kedokteran gigi dan bagi masyarakat. Semoga Allah SWT melimpahkan berkah-Nya kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, yang telah turut berperan membantu penyelesaian disertasi ini. Aamiin ya Robbal'alamiin...

Wassalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh.

Penulis

ABSTRACT

Background : Tooth injury that causes pulpitis with pulp perforation can be maintained its vitality by direct pulp capping. Tooth injury can induce a host immune response and cause inflammation. Purple leaves as a potential medicinal plant has several bioactive compounds that have been shown to act as anti-inflammatory. Purple leaves extract can be used as an alternative to pulp protection in pulpitis, and potential to stimulate reparative dentin formation in pulpal perforations. **Purpose :** To prove the formation of reparative dentin by administering 10% purple leaves extract via TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, odontoblast-like cells, col-I, DMP-1 and ALP. **Methods :** The experimental animals used 63 *Rattus norvegicus* divided into 3 groups, 3 observation times, and each group contains 7 rats. First molar was prepared until the pulp was exposed. The negative control group (exposed pulp without therapy), the positive control (exposed pulp capped with Ca(OH)₂) and the treatment group (exposed pulp capped with 10% purple leaves extract). After treatment on the 7th, 14th and 21st day, TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, col-I, DMP-1 and ALP expressions were examined using immunohistochemical techniques. Odontoblast-like cells were examined using histopathological techniques. **Result :** The treatment group showed a decrease the TLR-4, TNF- α expressions and an increase the TGF- β 1, *odontoblast-like cells*, col-I, DMP-1 and ALP. **Conclusion :** 10% purple leaves extract was able to inhibit pulp inflammation and stimulate the formation of reparative dentin.

Keywords : Purple leaves extract (*Graptophyllum pictum* L.Griff), anti-inflammatory activity, reparative dentin

ABSTRAK

Latar Belakang : Cedera pada gigi yang menyebabkan pulpitis dengan kondisi perforasi pulpa dapat tetap dipertahankan vitalitasnya dengan perawatan *direct pulpcapping*. Kerusakan gigi akibat cedera dapat menginduksi respon imun *host* dan menimbulkan inflamasi. Daun ungu sebagai salah satu tanaman berpotensi obat memiliki beberapa kandungan bioaktif yang terbukti dapat berperan sebagai antiinflamasi. Diharapkan dengan potensi antiinflamasi tersebut, ekstrak daun ungu dapat digunakan sebagai alternatif obat pelindung pulpa pada gigi dengan pulpitis, serta potensial dalam menstimulasi pembentukan dentin reparatif pada perforasi pulpa. **Tujuan :** Membuktikan pembentukan dentin reparatif dengan pemberian ekstrak daun ungu 10% melalui TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, *odontoblast-like cells*, *col-I*, DMP-1 dan ALP. **Metode :** Menggunakan hewan coba (*Rattus norvegicus*) sejumlah 63 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok, 3 waktu pengamatan, dan setiap kelompok terdiri dari 7 sampel. Gigi M1 tikus di preparasi hingga mengalami perforasi pulpa. Kelompok kontrol negatif (perforasi pulpa tanpa pemberian obat), kelompok kontrol positif (perforasi pulpa dan diaplikasikan Ca(OH)₂) dan kelompok perlakuan (perforasi pulpa dan diaplikasikan ekstrak daun ungu 10%). Setelah perlakuan hari ke-7, 14 dan 21, dilakukan pemeriksaan menggunakan metode imunohistokimia untuk menganalisis ekspresi TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, *col-I*, DMP-1 dan ALP. Pemeriksaan histopatologi untuk melihat jumlah *odontoblast-like cells*. **Hasil :** Kelompok perlakuan menunjukkan penurunan TLR-4, TNF- α dan peningkatan TGF- β 1, *odontoblast-like cells*, *col-I*, DMP-1 dan ALP. **Simpulan :** Ekstrak daun ungu 10% mampu menghambat inflamasi dan menstimulasi pembentukan dentin reparatif.

Kata kunci : Daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff), antiinflamasi, dentin reparatif

RINGKASAN DISERTASI

Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 sebesar 57,6% penduduk Indonesia mempunyai masalah gigi dan hanya sejumlah 10,2% yang telah mendapatkan pelayanan dari tenaga medis. Jumlah pasien dengan diagnosis pulpitis kurang lebih 160.000 dalam jangka waktu satu tahun. Pada suatu penelitian dilaporkan dari 204 gigi dengan diagnosis pulpitis, terdapat 90 gigi (44,1%) yang mengalami perforasi disebabkan trauma mekanis. Pada penelitian lainnya, dilaporkan sebanyak total 420 pasien di RSKGMP FKG Universitas Airlangga menderita karies profunda pada 105 dari total 169 pasien laki-laki (62,13%) dan 146 dari 251 pasien perempuan (58,17%). Tindakan preparasi kavitas atau pengambilan jaringan karies profunda berisiko menyebabkan perforasi pulpa. Adanya kerusakan pada jaringan pulpa akan menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi. Respon inflamasi melalui beberapa jalur transduksi sinyal antara lain *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell* (NF κ B) dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Aktivasi jalur transduksi sinyal NF κ B menyebabkan degradasi *inhibitor of nuclear factor-kappa B* (I κ B) yang mengakibatkan sitokin proinflamasi meningkat.

Pada kondisi perforasi pulpa dengan diagnosis *pulpitis reversible*, dapat diindikasikan untuk perawatan *direct pulpcapping*. Kalsium hidroksida sebagai *gold standard material pulpcapping* memiliki kemampuan dalam mineralisasi saat pembentukan dentin reparatif pada kondisi perforasi pulpa. Namun kalsium hidroksida memiliki kekurangan yaitu pH basa (12,5-12,8) yang dapat mengaktifkan apoptosis, serta menginduksi respon imun *host* berupa inflamasi. Terjadinya inflamasi pada jaringan pulpa superfisial yang kontak dengan material

kalsium hidroksida menyebabkan dihasilkannya sel-sel imun fagosit hingga proses pembentukan dentin reparatif berakhir, sehingga dilaporkan dentin reparatif yang terbentuk porus.

Selama beberapa dekade terakhir, ekstrak tumbuhan dan senyawa alami kembali menjadi pusat perhatian sebagai media pengobatan dalam upaya peningkatan kualitas kesehatan, oleh karena tanaman dengan potensi obat memiliki beberapa bioaktif yang terbukti memiliki mekanisme antioksidan, antiinflamasi sehingga dapat menstimulasi perbaikan kerusakan sel tubuh. Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) merupakan salah satu tanaman obat tradisional Indonesia, yang mempunyai sifat antiinflamasi dan antioksidan sehingga diharapkan dapat meredakan reaksi inflamasi pada pulpa dan memicu pembentukan dentin reparatif. Komponen aktif utama daun ungu yang memiliki mekanisme sebagai antiinflamasi berasal dari kandungan flavonoid. Flavonoid yang telah diidentifikasi dari ekstrak daun ungu melalui uji HPLC yaitu flavonol quercetin, kaempferol dan myricetin.

Pemberian ekstrak daun ungu akan diterima oleh *Toll-like receptor-4* (TLR-4) pada permukaan makrofag pulpa. Melalui uji *molecular docking* didapatkan nilai ikatan antara ketiga senyawa flavonol pada senyawa flavonoid ekstrak daun ungu dengan TLR-4, lebih kuat dan stabil. Kandungan beberapa bioaktif dalam ekstrak daun ungu yang dikenal dengan polifenol memiliki mekanisme menghambat inflamasi pada jalur kanonikal NF κ B melalui TLR-4. TLR-4 yang dihambat menyebabkan tidak terjadinya translokasi NF κ B ke inti sel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ungu 10% mampu menurunkan ekspresi TLR-4, TNF- α dan meningkatkan TGF- β 1,

odontoblast-like cells, *col-I*, DMP-1 dan ALP. Hasil analisis jalur didapatkan bahwa ekstrak daun ungu mampu menghambat TLR-4 sehingga ekspresi TLR-4 menurun. Hambatan TLR-4 selanjutnya juga akan menghambat degradasi I κ B. Tidak terdegradasinya I κ B menyebabkan NF κ B tidak mengalami translokasi ke inti sel dan berakibat penurunan ekspresi sitokin proinflamasi, salah satunya adalah TNF- α .

Sebagai upaya tubuh dalam menjaga homeostasis, sel T regulator (*Treg cells*) melakukan ‘*cross talk*’ dengan makrofag melalui sintesis sitokin antiinflamasi IL-10. Total polifenol dalam ekstrak daun ungu terbukti mampu berperan meregulasi sel *Treg* dalam polarisasi makrofag sehingga fase inflamasi dapat dihentikan dan jaringan pulpa masuk dalam fase penyembuhan. IL-10 yang diproduksi oleh sel *Treg* menghambat produksi sitokin proinflamasi pada makrofag, sehingga fase inflamasi dapat berakhir, ditandai dengan polarisasi makrofag fenotipe M1 ke M2. Makrofag fenotipe M2 berperan pada fase proliferasi dengan memproduksi *growth factor*, diantaranya adalah TGF- β 1.

Pada penelitian ini terbukti ekstrak daun ungu 10% dapat menyebabkan penurunan yang signifikan pada TNF- α , serta meningkatkan ekspresi TGF- β 1. TGF- β 1 yang dilepaskan oleh makrofag fenotipe M2, berikatan dengan TGF- β R sehingga terjadi proliferasi fibroblas pulpa dan diferensiasi menjadi *odontoblast-like cells* yang ditandai dengan peningkatan jumlah *odontoblast-like cells*, peningkatan sekresi *col-I*, DMP-1 dan ALP. Terbentuknya *odontoblast-like cells* akan menyebabkan ikatan pada fibril kolagen dan dimulainya nukleasi hidroksiapatit oleh kolagen tipe I (*col-I*). Nukleasi hidroksiapatit diinisiasi oleh

DMP-1 kemudian matriks ekstraselular dentin terbentuk untuk memfasilitasi mineralisasi yang diinduksi oleh ALP hingga terjadi pembentukan dentin reparatif.

DAFTAR ISI

Sampul Dalam.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Penetapan Panitia Penguji.....	iii
Ucapan Terima Kasih.....	iv
Abstrak.....	vii
Ringkasan Disertasi.....	ix
Daftar Isi.....	xiii
Daftar Tabel.....	xvii
Daftar Gambar.....	xviii
Daftar Lampiran.....	xx
Daftar Singkatan.....	xxii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.3.1 Tujuan Umum.....	8
1.3.2 Tujuan Khusus.....	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	8
1.4.2 Manfaat Praktis.....	9
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Struktur Gigi.....	10
2.2 Kompleks Dentin Pulpa.....	11
2.3 Dentin.....	12
2.3.1 Dentin Primer.....	14
2.3.2 Dentin Sekunder.....	14
2.3.3 Dentin Tersier.....	15
2.4 Pulpa.....	19
2.4.1 Fungsi Pulpa.....	19
2.4.2 Histologi Pulpa.....	20
2.4.3 Sel Penyusun Pulpa.....	21

2.5	Jejas pada Pulpa.....	22
2.6	Inflamasi Pulpa.....	24
2.7	Pulpitis.....	25
2.8	<i>Pulpcapping</i>	26
	2.8.1 <i>Indirect Pulpcapping</i>	26
	2.8.2 <i>Direct Pulpcapping</i>	27
2.9	Mediator Inflamasi.....	29
2.10	Mekanisme Penyembuhan Pulpa.....	30
2.11	<i>Toll-like Receptor</i>	32
2.12	<i>Toll-like Receptor-4</i>	33
2.13	<i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i> (TNF- α).....	34
2.14	<i>Transforming Growth Factor-β</i>	35
2.15	<i>Odontoblast-like cells</i>	37
2.16	Kolagen tipe I.....	38
2.17	Dentin Matriks Protein-1 (DMP-1).....	39
2.18	<i>Alkaline Phosphatase</i> (ALP).....	41
2.19	Daun Ungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L.Griff).....	42
	2.19.1 Deskripsi Umum dan Botanikal Daun Ungu.....	42
	2.19.2 Fitokimia Daun Ungu.....	44
	2.19.3 Kandungan Kimia Daun Ungu.....	45
2.20	Penelitian Daun Ungu di Bidang Kedokteran Gigi.....	50
2.21	Profil Toksisitas Daun Ungu.....	52
2.22	Tikus Putih sebagai Hewan Coba Penelitian <i>Direct Pulpcapping</i>	53
	2.22.1 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	53
	2.22.2 Tikus Putih Galur Wistar.....	54
	2.22.3 Aspek Teknis Penelitian pada Molar Tikus.....	55
2.23	Pemeriksaan Imunohistokimia.....	56
2.24	Pemeriksaan Histopatologi Anatomi (HPA).....	57
2.25	<i>Molecular Docking (in silico)</i>	59
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		61
3.1	Kerangka Konseptual.....	61
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual.....	62
3.3	Hipotesis Penelitian.....	64
BAB 4. METODE PENELITIAN.....		66
4.1	Jenis Penelitian.....	66
4.2	Rancangan Penelitian.....	66
4.3	Populasi.....	67
4.4	Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	67
	4.4.1 Sampel.....	67
	4.4.2 Besar Sampel.....	68
	4.4.3 Teknik Pengambilan Sampel.....	69
4.5	Variabel Penelitian.....	70
	4.5.1 Variabel Bebas.....	70
	4.5.2 Variabel Tergantung.....	70

4.5.3	Variabel Kendali.....	71
4.6	Definisi Operasional.....	71
4.7	Instrumen Penelitian.....	74
4.8	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	74
4.8.1	Tempat Penelitian.....	74
4.8.2	Waktu Penelitian.....	75
4.9	Alat dan Bahan Penelitian.....	75
4.9.1	Alat Penelitian.....	75
4.9.1.1	Alat untuk Pembuatan Jejas pada Tikus Putih.....	75
4.9.1.2	Alat untuk Perlakuan.....	75
4.9.1.3	Alat Pemeriksaan Laboratorium.....	76
4.9.2	Bahan Penelitian.....	76
4.9.2.1	Bahan Persiapan untuk Hewan Coba.....	76
4.9.2.2	Bahan untuk Perlakuan.....	76
4.9.2.3	Bahan Pemeriksaan Histopatologi Anatomi dan Imunohistokimia.....	76
4.10	Prosedur Penelitian.....	77
4.10.1	Laik Etik Penelitian.....	77
4.10.2	Determinasi Tanaman Daun Ungu.....	77
4.10.3	Prosedur Pembuatan Bahan.....	78
4.10.4	Perlakuan Hewan Coba.....	82
4.10.5	Prosedur Pengamatan Hewan Coba.....	84
4.11	Prosedur Pengambilan Data.....	89
4.12	Analisis Data.....	89
4.13	Alur Penelitian.....	90
BAB 5.	HASIL PENELITIAN.....	91
5.1	Hasil Ekstraksi dan Penentuan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Ungu.....	92
5.2	Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun Ungu.....	93
5.3	Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Daun Ungu.....	94
5.4	Hasil Analisis <i>In-silico</i> Ekstrak Daun Ungu.....	94
5.5	Hasil Pemeriksaan Ekspresi TLR-4.....	95
5.6	Hasil Pemeriksaan Ekspresi TNF- α	98
5.7	Hasil Pemeriksaan Ekspresi TGF- β 1.....	101
5.8	Hasil Pemeriksaan Jumlah <i>Odontoblast-like Cells</i>	103
5.9	Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>Col-I</i>	106
5.10	Hasil Pemeriksaan Ekspresi DMP-1.....	108
5.11	Hasil Pemeriksaan Ekspresi ALP.....	111
5.12	Analisis Jalur Pemberian Ekstrak Daun Ungu 10%.....	113
BAB 6.	PEMBAHASAN.....	121
6.1	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap TLR-4.....	129
6.2	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap TNF- α	133

6.3	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap TGF- β 1	135
6.4	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap <i>Odontoblast-like Cells</i>	139
6.5	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap <i>Col-I</i>	141
6.6	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap DMP-1	144
6.7	Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif terhadap ALP.....	146
6.8	Mekanisme Jalur Pemberian Ekstrak Daun Ungu pada Pembentukan Dentin Reparatif.....	149
6.9	Temuan Baru.....	159
6.10	Keterbatasan Penelitian.....	160
BAB 7. PENUTUP.....		161
7.1	Simpulan.....	161
7.2	Saran.....	161
DAFTAR PUSTAKA.....		163
LAMPIRAN.....		177

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 : Nilai rendemen hasil ekstraksi daun ungu.....	93
Tabel 5.2 : Analisis fitokimia ekstrak daun ungu 96%.....	93
Tabel 5.3 : Senyawa kimia penyusun ekstrak daun ungu hasil GC-MS	94
Tabel 5.4 : Indikator warna <i>docking</i> senyawa flavonoid daun ungu terhadap TLR-4.....	94
Tabel 5.5 : Analisis data jumlah ekspresi TLR-4 antar kelompok.....	96
Tabel 5.6 : Analisis data jumlah ekspresi TNF- α antar kelompok.....	99
Tabel 5.7 : Analisis data jumlah ekspresi TGF- β 1 antar kelompok.....	101
Tabel 5.8 : Analisis data jumlah <i>Odontoblast-like Cells</i> antar kelompok	104
Tabel 5.9 : Analisis data jumlah ekspresi <i>col-I</i> antar kelompok.....	106
Tabel 5.10 : Analisis data jumlah ekspresi DMP-1 antar kelompok.....	109
Tabel 5.11 : Analisis data jumlah ekspresi ALP antar kelompok.....	111
Tabel 5.12 : Hasil nilai koefisien dan signifikansi antar variabel melalui uji regresi analisis jalur pada pemberian ekstrak daun ungu 10% pada hari ke-7.....	113
Tabel 5.13 : Hasil nilai koefisien dan signifikansi antar variabel melalui uji regresi analisis jalur pada pemberian ekstrak daun ungu 10% pada hari ke-14.....	116
Tabel 5.14 : Hasil nilai koefisien dan signifikansi antar variabel melalui uji regresi analisis jalur pada pemberian ekstrak daun ungu 10% pada hari ke-21.....	118

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 : Struktur gigi.....	10
Gambar 2.2 : Odontoblas sebagai bagian kompleks dentin pulpa.....	11
Gambar 2.3 : Penampang melintang tubuli dentin.....	14
Gambar 2.4 : Kondisi odontoblas pada iritasi patologis dan fisiologis..	16
Gambar 2.5 : Proses dentinogenesis reparatif.....	17
Gambar 2.6 : Lapisan dentin reparatif.....	18
Gambar 2.7 : Lapisan odontoblas dan <i>sub odontoblastic</i> pulpa.....	21
Gambar 2.8 : Material restorasi gigi pada kedalaman profunda memicu inflamasi pulpa.....	24
Gambar 2.9 : <i>Indirect pulpcapping</i> pada kavitas profunda	27
Gambar 2.10 : <i>Direct pulpcapping</i> pada kavitas profunda perforasi.....	28
Gambar 2.11 : Diagram yang mengilustrasikan tiga fase proses Perbaikan pulpitis.....	31
Gambar 2.12 : TLR <i>signaling pathways</i> sebagai respons terhadap kerusakan sel.....	32
Gambar 2.13 : Daun ungu (<i>Graptophyllum pictum</i> L.Griff).....	44
Gambar 2.14 : Flavonoid	46
Gambar 2.15 : β -sitosterol.....	47
Gambar 2.16 : Saponin.....	48
Gambar 2.17 : Tanin	49
Gambar 2.18 : Alkaloid.....	50
Gambar 2.19 : Tikus Putih Galur Wistar	54
Gambar 2.20 : Prosedur penelitian pada molar pertama rahang atas tikus dengan paparan cedera mekanis.....	56
Gambar 2.21 : Pemeriksaan imunohistokimia.....	57
Gambar 2.22 : Persiapan jaringan.....	59
Gambar 4.1 : Rancangan penelitian.....	66
Gambar 4.2 : Alur penelitian.....	90
Gambar 5.1 : Visualisasi hasil analisis <i>docking</i> TLR-4 dengan senyawa flavonoid daun ungu.....	95
Gambar 5.2 : Diagram batang rerata ekspresi TLR-4.....	97
Gambar 5.3 : Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi TLR-4.....	98
Gambar 5.4 : Diagram batang rerata ekspresi TNF- α	100
Gambar 5.5 : Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi TNF- α	100
Gambar 5.6 : Diagram batang rerata ekspresi TGF- β 1.....	102
Gambar 5.7 : Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi TGF- β 1.....	103
Gambar 5.8 : Diagram batang rerata jumlah <i>odontoblast-like cells</i>	105
Gambar 5.9 : Hasil pemeriksaan <i>odontoblast-like cells</i> pada hari ke-21..	105
Gambar 5.10 : Diagram batang rerata ekspresi <i>col-I</i>	107
Gambar 5.11 : Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi <i>col-I</i>	108
Gambar 5.12 : Diagram batang rerata ekspresi DMP-1.....	110
Gambar 5.13 : Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi DMP-1.....	110
Gambar 5.14 : Diagram batang rerata ekspresi ALP.....	112
Gambar 5.15 : Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi ALP.....	112

Gambar 5.16 : Analisis jalur mekanisme pembentukan dentin reparatif setelah pemberian ekstrak daun ungu 10% pada hari ke-7 melalui uji regresi.....	114
Gambar 5.17 : Analisis jalur mekanisme pembentukan dentin reparatif setelah pemberian ekstrak daun ungu 10% pada hari ke-14 melalui uji regresi.....	116
Gambar 5.18 : Analisis jalur mekanisme pembentukan dentin reparatif setelah pemberian ekstrak daun ungu 10% pada hari ke-21 melalui uji regresi.....	119
Gambar 6.1. : Bagan temuan baru mekanisme pembentukan dentin reparatif dan reseptor target yang dihambat oleh ekstrak daun ungu.....	160

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Sertifikat Laik Etik Penelitian.....	177
Lampiran 2	: Surat Keterangan Identifikasi Tanaman.....	178
Lampiran 3	: Permohonan Ijin Penelitian ke Laboratorium Preskripsi Formulasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.....	179
Lampiran 4	: Permohonan Ijin Penelitian ke Laboratorium Kimia Analitik Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.....	180
Lampiran 5	: Permohonan Ijin Penelitian ke Laboratorium Hewan Coba Departemen Biokimia dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga....	181
Lampiran 6	: Surat Keterangan Sehat Hewan Uji.....	182
Lampiran 7	: Permohonan Ijin Penelitian ke <i>Research Center</i> Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.....	183
Lampiran 8	: Permohonan Ijin Penelitian ke Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.....	184
Lampiran 9	: Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Ungu.....	185
Lampiran 10	: Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Ungu.....	186
Lampiran 11	: Hasil Analisis GCMS.....	187
Lampiran 12	: Hasil Pemeriksaan HPA Jumlah <i>Odontoblast-like cells</i>	188
Lampiran 13	: Foto Penelitian.....	189
Lampiran 14	: Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Ungu.....	192
Lampiran 15	: Hasil Uji <i>In Silico</i> Ekstrak Daun Ungu.....	194
Lampiran 16	: Hasil Pemeriksaan IHC TLR-4 Hari ke-7.....	204
Lampiran 17	: Hasil Pemeriksaan IHC TLR-4 Hari ke-14.....	205
Lampiran 18	: Hasil Pemeriksaan IHC TLR-4 Hari ke-21.....	206
Lampiran 19	: Hasil Pemeriksaan IHC TNF- α Hari ke-7.....	207
Lampiran 20	: Hasil Pemeriksaan IHC TNF- α Hari ke-14.....	208
Lampiran 21	: Hasil Pemeriksaan IHC TNF- α Hari ke-21.....	209
Lampiran 22	: Hasil Pemeriksaan IHC TGF- β 1 Hari ke-7.....	210
Lampiran 23	: Hasil Pemeriksaan IHC TGF- β 1 Hari ke-14.....	211
Lampiran 24	: Hasil Pemeriksaan IHC TGF- β 1 Hari ke-21.....	212
Lampiran 25	: Hasil Pemeriksaan IHC <i>Col-I</i> Hari ke-7.....	213
Lampiran 26	: Hasil Pemeriksaan IHC <i>Col-I</i> Hari ke-14.....	214
Lampiran 27	: Hasil Pemeriksaan IHC <i>Col-I</i> Hari ke-21.....	215
Lampiran 28	: Hasil Pemeriksaan IHC DMP-1 Hari ke-7.....	216
Lampiran 29	: Hasil Pemeriksaan IHC DMP-1 Hari ke-14.....	217
Lampiran 30	: Hasil Pemeriksaan IHC DMP-1 Hari ke-21.....	218
Lampiran 31	: Hasil Pemeriksaan IHC ALP Hari ke-7.....	219
Lampiran 32	: Hasil Pemeriksaan IHC ALP Hari ke-14.....	220
Lampiran 33	: Hasil Pemeriksaan IHC ALP Hari ke-21.....	221
Lampiran 34	: Hasil Pemeriksaan HPA <i>Odontoblast-like cells</i> Hari ke-7.....	222

Lampiran 35	: Hasil Pemeriksaan HPA <i>Odontoblast-like cells</i> Hari ke-14.....	223
Lampiran 36	: Hasil Pemeriksaan HPA <i>Odontoblast-like cells</i> Hari ke-21.....	224
Lampiran 37	: Analisis Statistik TLR-4 Hari ke-7.....	225
Lampiran 38	: Analisis Statistik TLR-4 Hari ke-14.....	227
Lampiran 39	: Analisis Statistik TLR-4 Hari ke-21.....	229
Lampiran 40	: Analisis Statistik TNF- α Hari ke-7.....	231
Lampiran 41	: Analisis Statistik TNF- α Hari ke-14.....	233
Lampiran 42	: Analisis Statistik TNF- α Hari ke-21.....	235
Lampiran 43	: Analisis Statistik TGF- β 1 Hari ke-7.....	237
Lampiran 44	: Analisis Statistik TGF- β 1 Hari ke-14.....	239
Lampiran 45	: Analisis Statistik TGF- β 1 Hari ke-21.....	241
Lampiran 46	: Analisis Statistik <i>Odontoblast-like Cells</i> Hari ke-7.....	243
Lampiran 47	: Analisis Statistik <i>Odontoblast-like Cells</i> Hari ke-14.....	245
Lampiran 48	: Analisis Statistik <i>Odontoblast-like Cells</i> Hari ke-21.....	247
Lampiran 49	: Analisis Statistik <i>Col-I</i> Hari ke-7.....	249
Lampiran 50	: Analisis Statistik <i>Col-I</i> Hari ke-14.....	251
Lampiran 51	: Analisis Statistik <i>Col-I</i> Hari ke-21.....	253
Lampiran 52	: Analisis Statistik DMP-1 Hari ke-7.....	255
Lampiran 53	: Analisis Statistik DMP-1 Hari ke-14.....	257
Lampiran 54	: Analisis Statistik DMP-1 Hari ke-21.....	259
Lampiran 55	: Analisis Statistik ALP Hari ke-7.....	261
Lampiran 56	: Analisis Statistik ALP Hari ke-14.....	263
Lampiran 57	: Analisis Statistik ALP Hari ke-21.....	265
Lampiran 58	: Uji Regresi Linear Hari ke-7.....	267
Lampiran 59	: Uji Regresi Hari ke-14.....	272
Lampiran 60	: Uji Regresi Hari ke-21.....	276
Lampiran 61	: Publikasi Internasional.....	279

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline phosphatase</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
BAFF	: <i>B-cell activating factor</i>
BHK-21	: <i>Baby Hamster Kidney</i>
CD282	: <i>Cluster Differensiasi 282</i>
Col-1	: <i>Collagen type-1</i>
COX-2	: <i>cyclooxygenase-2</i>
Ca ²⁺	: Ion kalsium
Ca(OH) ₂	: Kalsium hidroksida
DAMPs	: <i>Damaged-Associated Molecular Patterns</i>
DMP-1	: <i>Dentin Matrix acidic Phosphoprotein-1</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
DSP	: <i>dentin sialoprotein</i>
DPP	: <i>dentine phosphoryn</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
ER-β	: <i>Estrogen Receptor-β</i>
ERK	: <i>Extracellular Regulated Kinase</i>
FGF-2	: <i>Fibroblast Growth Factor-2</i>
FKG	: Fakultas Kedokteran Gigi
FTIR	: <i>Fourier Transform Infrared</i>
GC-MS	: <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
H ⁺	: Hidrogen
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HO-1	: <i>Heme Oxygenase-1</i>
IFN	: interferon
IκB	: <i>Inhibitor kappa B</i>
IKK	: <i>Inhibitor kappa B kinase</i>
IL-1	: <i>interleukin-1</i>
IL-1β	: <i>interleukin-1 beta</i>
IL-6	: <i>interleukin-6</i>
IL-8	: <i>interleukin-8</i>
IL-10	: <i>interleukin-10</i>
iNOS	: <i>inducible nitric oxide synthetase</i>
IRAK	: <i>Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase</i>
JNK	: JUN N-terminal kinase
K(+)	: Kontrol positif
K(-)	: Kontrol negatif
KBM	: Konsentrasi Bunuh Minimal
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimal
LDL	: <i>Low-density lipoprotein</i>
LPS	: Lipopolisakarida
ml	: milligram

MAL	: <i>myd88-adaptor-like</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MD2	: <i>Myeloid Differentiation factor 2</i>
MMP	: <i>matrix metalloproteinase</i>
MTT	: <i>Microtetrazolium</i>
MyD88	: <i>Myeloid Differentiation Primary Response Gene</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
nm	: <i>nanometer</i>
OH ⁻	: <i>ion hidroksil</i>
OLC	: <i>odontoblast-like cells</i>
P	: <i>Perlakuan</i>
PAMPs	: <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
PEG	: <i>Polyethylene Glycol</i>
PGE2	: <i>prostaglandin E2</i>
pH	: <i>Potential of Hydrogen ion</i>
PMN	: <i>polimorfonuklear</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RSKGMP	: <i>Rumah Sakit Khusus Gigi dan Mulut Pendidikan</i>
sel NK	: <i>sel natural killer</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
STAT-1	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription-1</i>
SOCS-3	: <i>Suppressor of Cytokine Synthesis-3</i>
TAB-2	: <i>TAK1-binding protein 2</i>
TAB-3	: <i>TAK1-binding protein 3</i>
TAK-1	: <i>Transforming Growth Factor-beta activated kinase 1</i>
TGF-β1	: <i>Transforming Growth Factor-beta 1</i>
TGF-βR	: <i>Transforming Growth Factor-beta receptors</i>
TIR	: <i>Toll/IL-1 Receptor</i>
TLR-2	: <i>Toll-Like Receptor-2</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Receptor-4</i>
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TNFR-1	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor-1</i>
TRAM	: <i>TRIF-Related Adaptor Molecule</i>
TRAF6	: <i>TNF-Receptor-Associated Factor 6</i>
TRIF	: <i>TIR-domain-containing adaptor-inducing interferon-β</i>
UV	: <i>ultraviolet</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-visible</i>
μg	: <i>mikrogram</i>
μm	: <i>mikrometer</i>

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : Devi Eka Juniarti
NIM : 021810173001
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran Gigi
Alamat / No. Telp : Manyar Indah x1/6-8 Sky (081299534242)

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Disertasi saya ini adalah asli dan benar-benar hasil karya sendiri, dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatas namakan saya, serta bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (plagiatism) dari hasil karya orang lain. Disertasi belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik baik di Universitas Airlangga, maupun di Perguruan Tinggi lainnya;
2. Dalam Disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar kepustakaan;
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pemyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh. Karena karya tulis Disertasi ini, serta sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Surabaya, 24 Agustus 2022

Yang membuat pernyataan,


Nama Devi Eka Juniarti
NIM. 021810173001