

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies telah menjadi salah satu prevalensi kronis terbanyak di dunia, penyebabnya multifaktorial, terutama disebabkan oleh karbohidrat diet yang dapat difermentasi pada permukaan gigi sepanjang waktu, diproses pathogen dan menghasilkan kavitas pada gigi (Ritter, 2019). Menurut Riskesdas 2018 terjadi peningkatan prevalensi terjadinya karies aktif pada penduduk Indonesia tahun 2013 yang lalu, yaitu dari 53,2% menjadi 57,6% (Kemenkes RI, 2018). Dari sejumlah itu jika hasil Riskesdas menunjukkan prevalensi 57,6% mengalami karies aktif yaitu karies yang belum ditangani atau belum dilakukan perawatan, maka di Indonesia terdapat 98.134.670 jiwa yang menderita karies aktif.

Kejadian karies dapat mengenai struktur gigi yang terdiri dari jaringan gigi enamel, dentin, dan sementum, sampai mengenai pulpa. Keradangan pulpa ini akan berlanjut dan dapat menyebabkan nekrosis pulpa (Bidjuni, 2019). Gigi yang mengalami nekrosis memerlukan perawatan saluran akar, yang bertujuan untuk membersihkan ruang pulpa dari jaringan pulpa yang telah terinfeksi, kemudian membentuk saluran akar untuk obturasi agar terbentuk apical seal (Kartinawanti, 2021).

Triad perawatan saluran akar terdiri dari preparasi biomekanis (*shaping*), disinfeksi (*cleaning*), dan obturasi (*filling*) (Subrata, 2018). Menurut Gopikrishna dan Chandra (2020) 65% kegagalan perawatan endodontik disebabkan oleh rendahnya kualitas obturasi, sedangkan keberhasilan obturasi dipengaruhi oleh bahan obturasi dan teknik obturasi yang digunakan (Annisa dan Prisinda, 2020).

Hasil perawatan endodontik dapat dipengaruhi oleh pemilihan sealer (Rusmiani dkk, 2017).

Tahap Obturasi bertujuan untuk mengisi saluran akar dan membentuk penutupan yang kuat pada foramen apikal gigi dan tidak dapat ditembus oleh cairan sehingga infeksi sekunder akibat kebocoran jaringan periapikal dapat dihindari (Cohen, 2021).

Bahan pengisi utama yang digunakan sebagai obturasi saluran akar adalah *guttapercha*, material ini merupakan standar bahan pengisi utama saluran akar. *Guttapercha* tidak dapat melekat pada dinding saluran akar, oleh karena itu diperlukan semen saluran akar agar dapat menciptakan perlekatan diantara *guttapercha* dan dinding saluran akar. Semen saluran akar berfungsi mengisi daerah yang tidak terjangkau oleh *guttapercha* dan meningkatkan adaptasi bahan pengisi terhadap dinding saluran akar serta meningkatkan kualitas penutupan daerah apeks (Grag and Grag, 2021).

Syarat bahan pengisi saluran akar menurut Cohen's dalam Path Way of the Pulp (2021) (1) biokompatibel, (2) tidak toksik, (3) memiliki daya antibakteri, (4) *hermetic seal*, (5) *radiopaque*, (6) tidak mengalami *shrinkage* saat setting, (7) tidak menyebabkan gigi berubah warna, (8) tidak larut dalam jaringan dan (9) mudah dalam mengaplikasikan.

Kalsium hidroksida merupakan salah satu *sealer* yang umum digunakan dalam perawatan endodontik, karena memiliki sifat antibakteri, dan mampu mengurangi peradangan jaringan serta dapat menstimulasi pembentukan jaringan keras karena dapat melepas ion kalsium (Ca^{2+}) (Ba-Hattab *et al.*, 2019). Namun pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sari dan Okte (2018), perawatan saluran akar

menggunakan *sealer* berbasis kalsium hidroksida mengalami kegagalan sebanyak 4 gigi (7,7%) karena menunjukkan lesi periapikal dan resorpsi patologis. Menurut Katebzadeh (2019), *sealer* berbasis kalsium hidroksida mempunyai lebih banyak kasus yang membaik, namun tetap memiliki kasus kegagalan sebesar 15,8% karena meningkatnya ukuran lesi periapikal. Grag dalam *Endodontics* (2021) mengungkapkan beberapa kekurangan dari Ca(OH)_2 , yaitu larut dan meninggalkan ruang kosong sehingga menimbulkan mikroleakage. Kalsium hidroksida Ca(OH)_2 juga memiliki aktifitas *osteogenic-cementogenic* namun belum ada penelitian lebih lanjut tentang hal ini (Grag dan Grag, 2021)

Ion hidroksil OH^- pada kalsium hidroksida yang dilepaskan adalah oksidan radikal bebas yang tinggi dan menunjukkan reaktivitas yang kuat terhadap sel. Efek ion hidroksil ini sangat reaktif menggabung secara cepat dengan sel membran sitoplasma. Kerusakan pada membran sitoplasma akan mempengaruhi struktur organik yang terdapat di dalam membran sel yaitu protein yang menyebabkan denaturasi protein. Ion hidroksil bila kontak dengan DNA akan menyebabkan hambatan replikasi sehingga terjadi nekrosis dan jumlah sel yang lisis akan semakin banyak atau biasa disebut kematian sel (apoptosis) (Katirciolu dan Mercan, 2018).

Peristiwa apoptosis adalah suatu peristiwa kematian sel salah satunya dipicu oleh kerusakan DNA yang gagal diperbaiki, infeksi, *cell shrinkage* dan paparan radiasi. Apoptosis memiliki beberapa jalur, jalur ekstrinsik, intrinsik, dan *granzymen*. Jalur intrinsik umumnya melibatkan mitokondria. Apoptosis melalui jalur intrinsik diinisiasi oleh pelepasan sinyal dari mitokondria dalam sel. Perubahan oksidasi fosforilasi intermembran mitokondria menyebabkan terbukanya

canal, terjadi pelepasan sitokrom C mengaktivasi inisiator *Caspase-9* lalu *Caspase-3*. Inisiator *Caspase-3* untuk meningkatkan apoptosis. *Caspase-3* merupakan penanda apoptosis jalur intrinsik (Astawa, 2018)

Pada penelitian yang sudah dilakukan oleh Ratna (2022), sealer kalsium hidroksida ditemukan biotoksik secara signifikan setelah 3 hari dengan metode metanalisis. Kalsium hidroksida sebagai sealer (Kalsium hidroksida, Acroseal) terbukti sangat toksik pada sel fibroblas gingiva manusia dan sel fibroblas L929 tikus. Beltes *et al* (2019) juga melakukan penelitian mengenai toksisitas sealer berbasis kalsium hidroksida (Sealapex, CRCS, Kalsium hidroksida) didapatkan sealer tersebut bersifat toksik pada sel L929 dan sel BHK 21/C13 dari tikus. Kalsium hidroksida juga memiliki kemampuan untuk menginduksi kematian sel fibroblas dan terlibat dalam kerusakan jaringan pulpa, pada konsentrasi 62,5 µg / ml atau lebih tinggi. Oleh karena beberapa kekurangan yang dimiliki kalsium hidroksida, maka dilakukan kombinasi dengan bahan herbal yang mampu meningkatkan daya antiiritasi, mengurangi toksisitas, dan meningkatkan penyembuhan.

Dewasa ini pemanfaatan tanaman tradisionial sebagai alternatif obat tengah berkembang pesat. Ekstrak *red pine* mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi, anti kanker, antiobesitas, antiinflamasi, dan antidiabetes. Alasan dalam memilih *Red pine* sebagai obat alternatif mengurangi efek kerugian yang ditimbulkan oleh kalsium hidroksida adalah karena *Red pine* mengandung komponen fenol dan flavonoid berkisar 5,7% (Patra, 2018). Fenol dan Flavonoid diketahui dapat menginduksi aktivasi protein proapoptosis keluarga Bcl-2, protein Bax. Hasil penelitian terbaru menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *red pine*

pada sel yang menyebabkan kerusakan DNA mengurangi ekspresi BAX protein dengan menghilangkan ROS di dalam sel, menghambat kerusakan sel dengan meningkatkan ekspresi antiapoptotik Bcl-2. Dalam penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa Bcl-2 yang dikenal sebagai penanda antiapoptotik, menunjukkan nilai yang tinggi secara signifikan pada percobaan tikus yang diinduksi kolesterol dan *red pine* (Seo, 2018). *Red pine* (*Pinus Densiflora*) adalah jenis pinus yang tumbuh di daerah pegunungan Jepang, Korea dan China (Min *et al*, 2019).

Kandungan α -pinene, β -pinene dan camphene merupakan salah satu zat bioaktif melindungi terhadap faktor apoptosis dan aksi antioksidan yang menghambat apoptosis. Mekanisme α -pinene β -pinene, dan camphene didalam *red pine* sebagai antioksidan dilakukan dengan penekanan ekspresi protein p53 mengakibatkan peningkatan Bcl-2 diikuti oleh *Caspase-3* berkurang yang merupakan antiapoptotik (Seo, 2018). *Caspase-3* adalah inisiator penting untuk apoptosis jalur intrinsik maupun ekstrinsik. Umumnya ditemukan dalam sel dalam keadaan inaktif yang disebut prokaspase dan ketika diaktifkan dapat memicu sinyal apoptosis yang diikuti oleh kematian sel. (Astawa, 2018). Sebuah penelitian pada *strain wistar* untuk indeks apoptosis dan ekspresi *Caspase-3* dilakukan pada hari ke-3 setelah diaplikasi bahan aktif. Pada hari ke-3 didapatkan fase inflamasi *moderate inflammatory* hingga *severe*, sel sel PMN, *leukocytes*, hiperemi pembuluh darah nampak pada waktu tersebut (Gilbert, 2016).

Red pine dan kalsium hidroksida dikombinasikan maka akan terjadi suatu reaksi. Kalsium merupakan senyawa basa kuat yang sangat mudah bereaksi dengan asam, sedangkan asam fenolik adalah asam lemah. Reaksi antara asam

fenolik dengan kalsium hidroksida merupakan reaksi asam basa, hasil dari reaksi tersebut adalah garam kalsium fenolik dan air. Reaksi tersebut tersebut sangat menguntungkan bagi tubuh karena dapat menurunkan tingkat keasaman terjadi netralisasi dan menurunkan tingkat iritasi (Zhou et al, 2018).

Kandungan antioksidan *Red pine* ketika dikombinasikan dengan kalsium hidroksida diharapkan dapat mengurangi efek merugikan dari kalsium hidroksida yakni flavonoid, fenol, camphene dan tanin didalam *Red pine* sebagai pemberi *electron donors*. Flavonoid dalam *Red pine* dapat menginduksi aktivasi protein antiapoptotik yakni Bcl-2 dan Bcl-xl, kondisi ini menunjukkan pengurangan ekspresi protein BAX dengan cara menghilangkan ROS didalam sel, sehingga kerusakan sel menjadi turun dan apoptosis turun (Astawa, 2018).

Keamanan suatu bahan pada kedokteran gigi dan penggunaannya yang tepat merupakan hal yang sangat penting. Bahan yang diaplikasikan ke dalam rongga mulut harus mempunyai sifat biokompatibel dengan sifat tidak toksik, tidak iritasi, tidak karsinogenik, tidak menimbulkan alergi serta tidak boleh mempunyai efek merugikan terhadap lingkungan biologis, baik lokal maupun sistemik (C.A Rovani, Kamizar, Munyati, 2018).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu untuk melakukan penelitian mengenai apoptosis dan ekspresi *Caspase-3* pada sel fibroblast setelah pemberian kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai sealer saluran akar.

Uji sitotoksisitas *cell viability* dalam HIT-T15 dan sel L6 diuji dengan MTT assay konsentrasi 0,1,5,10,25,50, dan 100 $\mu\text{g/ml}$ pada *red pine* (*pinus densiflora*). Hasilnya dari uji tersebut bahwa *red pine* (*pinus densiflora*) tidak bersifat toksik (Denizot dan Lang 1986 cit Min, 2019).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai *sealer* saluran akar dapat menurunkan ekspresi *Caspase-3* sel fibroblast?
2. Apakah kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai *sealer* saluran akar dapat menurunkan apoptosis sel fibroblast ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai *sealer* saluran akar terhadap apoptosis sel fibroblast melalui ekspresi *Caspase-3*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisa penurunan kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai *sealer* saluran akar terhadap ekspresi *Caspase-3* sel fibroblast
2. Menganalisa penurunan kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai *sealer* saluran akar terhadap apoptosis sel fibroblast

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan kontribusi keilmuan mengenai kombinasi *Red pine* dan Ca(OH)_2 sebagai *sealer* saluran akar terhadap apoptosis sel fibroblast melalui ekspresi *Caspase-3*

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut bahan alternatif sealer kombinasi *red pine* dan Ca(OH)_2 dalam pemanfaatannya sebagai bahan sealer saluran akar dan inovasi perkembangan bahan herbal dalam bidang kedokteran gigi.