

**EKSPRESI HSP 90 DAN TGF- β PADA JARINGAN PULPA
SETELAH APLIKASI KOMBINASI KALSIUM HIDROKSIDA
DENGAN EKSTRAK KULIT BUAH COKLAT
DAN EKSTRAK TEH HIJAU**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

NAWIRA
021918036315

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**EKSPRESI HSP 90 DAN TGF- β PADA JARINGAN PULPA
SETELAH APLIKASI KOMBINASI KALSIUM HIDROKSIDA
DENGAN EKSTRAK KULIT BUAH COKLAT
DAN EKSTRAK TEH HIJAU**

KARYA TULIS AKHIR

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Program Studi ilmu konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

Oleh:

Nawira

NIM : 021918036315

Menyetujui

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Serta



Devi Eka Juniarti, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP : 197906302005012001

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP: 197106261999031001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENETAPAN PANITIA PENGUJI
KARYA TULIS AKHIR**

Karya Tulis Akhir ini telah diuji pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 31 Mei 2022

PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Ketua : 1. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG (K)

Anggota : 2. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG (K)

3. Dr. Dian Agustin Wahjuningrum drg., Sp.KG (K)

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

5. Devi Eka Juniarti, drg., M.Kes., Sp.KG (K)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Nawira, drg
NIM : 021918036315
Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi
Jenjang : Spesialis (Sp)
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
Universitas : Airlangga

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan karya tulis akhir yang berjudul :

**EKSPRESI HSP 90 DAN TGF- β PADA JARINGAN PULPA SETELAH
APLIKASI KOMBINASI KALSIUM HIDROKSIDA DENGAN EKSTRAK
KULIT BUAH COKLAT DAN EKSTRAK TEH HIJAU**

Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 31 Mei 2022
Yang menyatakan



Nawira,
NIM 021918036315

UCAPAN TERIMA KAKSIH

Segala Puji Syukur bagi Allah SWT yang telah memberikan berkat dan rahmat Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Akhir dengan judul “Ekspresi HSP 90 dan TGF- β Pada Jaringan Pulpa Setelah Aplikasi Kombinasi Kalsium Hidroksida Dengan Ekstrak Kulit Buah Coklat dan Ekstrak Teh Hijau”. Karya tulis akhir ini dibuat untuk memenuhi syarat dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT.,Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis akhir pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., SpKG(K) selaku Ketua Departemen Konservasi Gigi yang telah memberikan ijin untuk pembuatan Karya Tulis Akhir
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes, Sp.KG(K) selaku Koordinator Program Studi Departemen Konservasi Gigi yang telah memberi ijin dan motivasi

sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan, dan selaku penguji yang telah membantu memberikan kritik dan saran sehingga karya tulis dapat diselesaikan dengan baik.

5. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg.,MS.,Sp.KG(K) selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Akhir ini, serta mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pengerjaan, sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Devi Eka Juniarti, drg.,M.Kes.,Sp.KG(K) selaku Dosen Pembimbing Serta yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan pada penulisan Karya Tulis Akhir ini, serta mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pengerjaan, sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
7. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Bagian Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.
8. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.
9. Keluarga tercinta Yusuf Rizal, dr., Fathimah Sofia dan Abdurrahman, terima kasih atas dukungan dan doanya selama penyusunan Karya Tulis Akhir.

10. Orang tua saya tercinta Husin Almashur, dr., M.M., dan Ir. Aminah, serta saudara saya Nabilah, dr., Fatimah Zahra, dr., dan Muhammad, terima kasih atas dukungan dan doanya selama penyusunan Karya Tulis Akhir.
11. Teman – teman seperjuangan PPDGS Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya angkatan 2019 yang senantiasa saling menyemangati selama mengikuti pendidikan.
12. Semua pihak yang turut membantu kelancaran penyusunan karya tulis akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa Karya Tulis Akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat saya harapkan. Semoga Karya Tulis Akhir ini memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 31 Mei 2022

Penulis

ABSTRACT**EXPRESSION OF HSP 90 AND TGF- β ON PULP TISSUE AFTER APPLICATION OF COMBINATION OF CALCIUM HYDROXIDE WITH CACAO POD HUSK EXTRACT AND GREEN TEA EXTRACT**

Background: Preparation for caries is done to take the tissue that has been infected with bacteria. The caries preparation procedure can lead to pulp perforation by taking too deep the caries tissue. Calcium hydroxide is the gold standard in the use of pulp capping materials in pulp protection but has several limitations. There are limitations on calcium hydroxide, so that research was carried out with other alternative materials as pulp capping materials. **Purpose:** Proving the effect of the combination of calcium hydroxide with cocoa pod husk extract and combination of calcium hydroxide with green tea extract on increasing the expression of HSP 90 AND TGF- β . **Method:** Fifty four upper molar teeth in Wistar rats were mechanically perforated and a combination pulp capping material is applied then divided into three groups. The first group of calcium hydroxide with akuades. The second group was calcium hydroxide with cocoa pod husk extract. The third group was calcium hydroxide with green tea extract. **Results:** The combination group of calcium hydroxide with cacao pod husk extract increased the expression of HSP 90 AND TGF- β more than the combination group of calcium hydroxide with green tea extract with insignificant differences. **Conclusion:** The insignificant difference between the two extracts indicates that both of them have relatively the same anti-inflammatory ability because the active substances content has the effect of increasing the expressions that are comparable.

Key words: Perforation, calcium hydroxide, cocoa pod husk extract, green tea extract, HSP 90 expression, TGF- β expression

ABSTRAK**EKSPRESI HSP 90 DAN TGF- β PADA JARINGAN PULPA SETELAH
APLIKASI KOMBINASI KALSIMUM HIDROKSIDA DENGAN EKSTRAK
KULIT BUAH COKLAT DAN EKSTRAK TEH HIJAU**

Latar belakang: Preparasi pada karies dilakukan untuk pengambilan jaringan yang sudah terinfeksi bakteri. Tindakan preparasi karies dapat menyebabkan perforasi pulpa karena pengambilan jaringan karies yang terlalu dalam. Kalsium hidroksida merupakan gold standard dalam penggunaan bahan pulp capping dalam perlindungan pulpa tetapi memiliki beberapa keterbatasan. Adanya keterbatasan pada kalsium hidroksida, sehingga dilakukan penelitian dengan bahan alternatif lain sebagai bahan pulp capping. **Tujuan:** Membuktikan pengaruh kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak kulit buah kakao dengan kalsium hidroksida dan kombinasi ekstrak teh hijau terhadap peningkatan ekspresi HSP 90 dan TGF- β . **Metode:** Lima puluh empat gigi molar atas pada tikus wistar diperforasi secara mekanis dan diaplikasikan bahan kombinasi pulp capping kemudian dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama kalsium hidroksida dengan akuades. Kelompok kedua kalsium hidroksida dengan ekstrak kulit buah kakao. Kelompok ketiga kalsium hidroksida dengan ekstrak teh hijau. **Hasil:** Kelompok kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak kulit buah coklat lebih meningkatkan ekspresi HSP 90 dan TGF- β dibanding kelompok kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak teh hijau dengan perbedaan yang tidak signifikan. **Kesimpulan:** Perbedaan yang tidak signifikan pada kedua ekstrak menunjukkan bahwa keduanya memiliki kemampuan anti inflamasi yang relatif sama karena kandungan zat aktifnya memberikan dampak peningkatan jumlah ekspresi yang sebanding.

Kata kunci: Perforasi, kalsium hidroksida, ekstrak kulit kakao, ekstrak teh hijau, ekspresi HSP 90, ekspresi TGF- β

DAFTAR ISI

COVER.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PANITIA PENGUJI.....	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRACT.....	viii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	7
1.4.2. Manfaat Praktis.....	7
BAB 2	8
TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Kompleks Dentin Pulpa	8
2.1.1 Dentin Primer	9
2.1.2 Dentin Sekunder.....	10
2.1.3 Dentin Tersier	10
2.1.3.1 Dentin Reaksioner	12

2.1.3.2 Dentin Reparatif	12
2.2 Pulpa Gigi	13
2.2.1 Sel-Sel Pulpa	13
2.2.2 Inflamasi Pulpa.....	15
2.2.6 Penyembuhan Jaringan Pulpa	16
2.2.7 <i>Transforming Growth Factor-β</i> (TGF-β)	17
2.2.8 <i>Heat Shock Protein 90</i> (HSP 90)	18
2.3 <i>Pulp Capping</i>	22
2.4 Kalsium Hidroksida	22
2.4.1 Kegunaan Kalsium Hidroksida	22
2.4.2 Kekurangan Kalsium Hidroksida	23
2.5 Tanaman Kakao (<i>Theobroma Cacao. L</i>).....	24
2.5.1 Kandungan Kimia Kakao	24
2.5.3 Manfaat Dalam Bidang Kesehatan	26
2.5.4 Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Kakao	27
2.6 Tanaman Teh Hijau (<i>Camellia Sinensis</i>)	28
2.6.2 Kandungan Teh Hijau	28
2.6.3 Manfaat Dalam Bidang Kesehatan	30
2.6.4 Uji Toksisitas Ekstrak Teh Hijau.....	31
BAB 3	32
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	32
3.1 Kerangka Konseptual	32
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	33
3.3 Hipotesis Penelitian	35
BAB 4	37
METODE PENELITIAN	37
4.1 Jenis Penelitian	37
4.2 Rancangan Penelitian	37
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	38
4.3.1 Tempat Penelitian	38
4.3.2 Waktu Penelitian	38

4.4 Sampel Penelitian	38
4.4.1 Sampel penelitian	38
4.4.2 Kriteria Sampel Penelitian	39
4.4.3 Besar Sampel	39
4.5.1 Variabel Bebas.....	41
4.5.2 Varibel Tergantung.....	42
4.5.3 Variabel Terkendali	42
4.6 Definisi Operasional.....	42
4.7 Alat dan Bahan Penelitian	43
4.7.1 Alat Penelitian	43
4.7.2 Bahan Penelitian.....	44
4.8 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	44
4.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	45
4.8.2 Pembuatan Ekstrak Teh Hijau	45
4.8.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kakao	46
4.8.4 Pembuatan Campuran Kalsium hidroksida dengan Akuades.....	46
4.8.5 Pembuatan Kombinasi Kalsium hidroksida dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao	47
4.8.6 Pembuatan Kombinasi Kalsium hidroksida dengan Ekstrak Teh Hijau	47
4.8.7 Tahap Persiapan.....	47
4.8.8 Tahap Pengelompokan Subyek	48
4.8.9 Tindakan Pada Kelompok Perlakuan.....	49
4.8.10 Pengamatan Pada Hewan Coba	50
4.9 Analisis Data.....	54
4.10 Alur Penelitian.....	56
BAB 5	57
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS STATISTIK	57
5.1 Hasil Pengamatan Imunohistokimia Ekspresi TGF- β	57
5.2 Hasil Pengamatan Imunohistokimia Ekspresi HSP 90.....	58
5.3 Analisis Data	59

BAB 6	67
PEMBAHASAN	67
BAB 7	73
KESIMPULAN DAN SARAN	73
7.1 KESIMPULAN	73
7.2 SARAN	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Perbatasan dentin-pulpa	9
Gambar 2.2. Kondisi odontoblas di bawah iritasi patologis dan fisiologis	11
Gambar 2.3. Struktur dan mekanisme kerja HSP90	20
Gambar 2.4. Bagian kulit kakao	25
Gambar 2.5. Ikatan kimia terjadi antara proanthocyanidin dengan Ca(OH)_2	26
Gambar 2.6. Proanthocyanidin dalam ekstrak kakao	27
Gambar 2.7. Daun teh yang telah diproses	27
Gambar 2.8 Struktur kimia katekin terbanyak pada teh hijau	29
Gambar 2.9 Ikatan kimia antara EGCG dengan Ca(OH)_2	30
Gambar 5.1 Pengamatan IHC ekspresi TGF- β pada hari ke 1.....	57
Gambar 5.2 Pengamatan IHC ekspresi TGF- β pada hari ke 3.....	58
Gambar 5.3 Pengamatan IHC ekspresi TGF- β pada hari ke 7.....	58
Gambar 5.4 Pengamatan IHC ekspresi HSP 90 pada hari ke 1.....	58
Gambar 5.5 Pengamatan IHC ekspresi HSP 90 pada hari ke 3.....	59
Gambar 5.6 Pengamatan IHC ekspresi HSP 90 pada hari ke 7.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Nilai rerata dan standar deviasi ekspresi TGF-β.....	60
Tabel 5.2	Nilai rerata dan standar deviasi ekspresi HSP 90	60
Tabel 5.3	Nilai Uji Shapiro-Wilk dan Uji Levene test pada TGF-β	62
Tabel 5.4	Nilai Uji Shapiro-Wilk dan Uji Levene test pada HSP 90	62
Tabel 5.5	Hasil Uji <i>Tukey HSD Test</i> pada pengamatan ekspresi TGF-β	64
Tabel 5.6	Hasil Uji <i>Tukey HSD Test</i> pada pengamatan ekspresi HSP 90	65

DAFTAR SINGKATAN

AAE	: American Association of Endodontics
APC	: antigen presenting cell
ATP	: adenosine triphosphate
BHK	: baby hamster kidney cell
BMP	: bone morphogenic protein
Ca(OH)₂	: calcium hydroxide
COX-2	: cyclooxygenase-2
DAB	: diamino benzidine
DEJ	: dentino-enamel junction
dH₂O	: distilled hydrogen dioxide
DNA	: deoxyribonucleic acid
EC	: epicatechin
ECG	: epicatechin gallate
EDTA	: ethylenediaminetetraacetic acid
EGC	: epigallocatechin
EGCG	: epigallocatechin gallate
EGCG	: epigallocatechin gallate
ERK	: extracellular signal-regulated kinase
FGF	: fibroblast growth factor
GA	: gallate acid
GC	: gallocatechin
GTF	: antiglucosyl-transferase
HCl	: hydrochloride
HE	: haematoxylin eosin staining
HIV	: human immunodeficiency virus
HRP	: horseradish peroxidase
HSP	: heat shock protein
HSP90	: heat shock protein 90
IC₅₀	: inhibitory concentration 50
IHK	: imunohistokimia
IKK	: I-kappa B kinase
IL-1	: interleukin 1
IL-6	: interleukin 6
JNK	: c-Jun N-terminal kinase
LDL	: lipoprotein densitas rendah
MAPK	: mitogen-activated protein kinase
MMP	: matrix metalloproteinase
mRNA	: messenger RNA
Na₂SO₄	: sodium sulfate/natrium sulfate
NF-κB	: nuclear factor kappa B (nuclear factor kappa-light-enhancer of activated B cell)

NOS	: nitric oxide synthase
OB	: odontoblast
PBS	: phosphate buffered saline
PD	: predentin
PGE2	: prostaglandin E2
PMN	: polymorphonuclear
PTD	: peritubular dentin
RIP	: receptor interacting kinase
Riskesdas	: Riset Kesehatan Dasar
RMGIC	: resin modified glass ionomer cement
ROS	: reactive oxygen species
Smad	: a family protein similar to the gene products of the Drosophila gene 'mothers again decantaplegic (Mad) and the C. elegans gene Sma.
TGF	: transforming growth factor
TGF-β	: transforming growth factor beta
TGF-β1	: transforming growth factor beta 1
TLR	: toll-like receptor
TNF	: tumor necrosis factor
TNF-α	: tumor necrosis factor alpha
USDA	: united states department of agriculture
WT	: whittering trough