

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada praktik kedokteran gigi sehari-hari, sering ditemukan pulpa yang terbuka karena adanya karies, trauma, atau iatrogenik pada saat preparasi gigi atau ketika melakukan ekskavasi karies yang telah mencapai dentin. Pulpa terbuka dapat juga disebabkan oleh karies dentin yang tidak dirawat sehingga demineralisasi dentin meluas hingga mengenai atap pulpa (Zendrato, 2019). Dalam dunia kedokteran gigi dikenal proses pelapisan pulpa atau yang disebut *pulp capping*. *Pulp capping* dibagi menjadi 2, *indirect pulp capping* dan *direct pulp capping*. *Indirect pulp capping* adalah pelapisan pulpa yang dilakukan pada kavitas dengan kedalaman mendekati pulpa tetapi pulpa belum terbuka. Sedangkan pada pulpa vital yang terbuka baik oleh faktor iatrogenik, karies, maupun trauma, dilakukan *direct pulp capping* (Alex, 2018). *Direct pulp capping* merupakan suatu perawatan pada pulpa vital yang terbuka dengan menempatkan *dental material* di atas area yang terbuka untuk memfasilitasi pembentukan *barrier* dan memelihara vitalitas pulpa (Versiani, et al., 2019). Material yang digunakan adalah material yang dapat merangsang pembentukan jembatan dentin guna menutup daerah terbuka agar terjadi perbaikan (Patel & Barnes, 2016).

Kalsium hidroksida merupakan “gold standard” pada prosedur perawatan *pulp capping*. Hal ini disebabkan karena kemampuan kalsium hidroksida untuk memecah menjadi kalsium dan ion hidroksil, kandungan pH-nya yang tinggi, sifat antibakterialnya, dan kemampuan untuk menstimulasi odontoblast serta sel pulpa yang lain dalam berbagai cara untuk membentuk dentin reparatif (Alex, 2018), namun kalsium hidroksida memiliki kekurangan, diantaranya : dapat larut setelah 1 tahun, dapat terdegradasi selama tindakan

etsa asam, terdegradasi pada fleksur gigi, kegagalan tepi pada kondensasi amalgam, tidak melekat pada dentin atau restorasi resin (Baranwal, et al., 2016). Dwiandhono *et al* dalam penelitiannya menyebutkan kekurangan kalsium hidroksida sebagai bahan *pulp capping* antara lain : dapat menyebabkan iritasi terus menerus pada pulpa yang mengakibatkan inflamasi pulpa hingga lebih dari 3 bulan, respon jaringan yang tidak bisa diprediksi, dentin reparatif yang terbentuk tidak beraturan, dan ada kemungkinan terbentuk *tunnel defect*. Defek ini terbentuk karena adanya jaringan-jaringan yang terikut pada saat pembentukan jembatan dentin. *Tunnel defect* memudahkan invasi bakteri melalui jembatan dentin sehingga dapat menyebabkan kegagalan perawatan (Dwiandhono, et al., 2016). Namun dengan segala kekurangannya, kalsium hidroksida masih layak dipertahankan karena memiliki kemampuan antibakterial yang tinggi dan harganya cukup terjangkau jika dibandingkan dengan harga material *pulp capping* lainnya (Mostafa & Moussa, 2018).

Dalam penelitian ini dipilih ekstrak teh hijau dan ekstrak kulit buah kakao untuk dikombinasikan dengan kalsium hidroksida. Indonesia termasuk dalam 10 negara penghasil teh tertinggi di dunia dengan produksi pada tahun 2019 tercatat sebesar 137.800 ton dengan produktivitas rata-rata mencapai 1,6 ton/hektar/tahun sehingga teh merupakan sumber minuman yang mudah didapatkan (Ditjenbun, 2020). Ekstrak teh hijau (didapat dari daun *Camellia sinensis*) adalah sumber polifenol yang tinggi. Polifenol yang terkandung dalam teh hijau terdiri dari beberapa senyawa kimia seperti : flavandiol, flavonoid serta asam fenolik yang jumlah keseluruhannya mencapai 30% berat teh kering (Anggraini, 2017). Diantara kandungan polifenol tersebut, 16 diantaranya adalah katekin. Komposisi katekin adalah 10%-20% dari daun teh hijau kering. Senyawa katekin utama yang terdapat dalam teh hijau adalah *Epigallocatechin gallate* (EGCG), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin gallate* (ECG) dan *epicatechin* (EC). Di antara semuanya itu, EGCG

merupakan katekin yang dominan pada teh hijau (Vishnoi, et al., 2018). Kemampuan 4 katekin utama yang terkandung dalam teh hijau baik secara bahan tunggal maupun kombinasi, dapat menurunkan ekspresi faktor inflamasi (Ohishi, et al., 2016). EGCG sebagai antioksidan dapat menunjukkan kemampuan anti inflamasinya, dimana target utamanya adalah ROS. ROS yang dihasilkan oleh berbagai stimuli inflamasi ekstraseluler mengaktivasi *Nuclear Factor Kappa-light-enhancer of Activated B Cell* (NF- κ B). Ketika aktivasi NF- κ B ditekan oleh teh hijau dan katekinnya sebagai antioksidan secara tidak langsung akan menghasilkan efek anti inflamasi (Ohishi, et al., 2016). Kurniawan melakukan uji toksisitas teh hijau terhadap sel fibroblast dan menyatakan bahwa uji toksisitas teh hijau pada konsentrasi 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2mg/ml, 4 mg/ml, dan 8 mg/ml bersifat aman dan tidak toksik pada sel fibroblast (Kurniawan, 2010). Penelitian oleh Annita dan Panus melaporkan Konsentrasi Hambat Minimal ekstrak teh hijau terhadap *S. mutans* dan *L. acidophilus* adalah pada 0,2 % dan 0,3 % dengan Konsentrasi Bunuh Minimal adalah 0,8% dan 0,9% (Annita & Panus, 2018).

Indonesia merupakan produsen kakao terbesar ketiga di dunia setelah negara Pantai Gading dan Ghana. Data dari DEPPERIN 2007 menyebutkan bahwa luas lahan tanaman kakao (*Theobroma cacao L.*) di Indonesia kurang lebih 992.448 Ha dengan produksi biji kakao sekitar 456.000 ton per tahun. *Theobroma cacao L.* merupakan bahan industri yang sering dimanfaatkan dalam pembuatan coklat, namun bagian yang dimanfaatkan dari tanaman tersebut adalah biji sehingga kulitnya menumpuk sebagai limbah, yaitu mencapai 75% dari total produksi (Sari, et al., 2018). Sebagai limbah pengolahan kakao, kulit buah kakao kaya akan kandungan flavonoid yang dapat menekan proses inflamasi, sehingga sayang untuk dibuang. Flavonoid yang ditemukan pada kakao adalah katekin (37%), anthocyanin (4%), tannin terkondensasi atau proanthocyanidin (58%) dan quercetin. Tannin terkondensasi atau proanthocyanidin adalah komponen

polifenol terbesar pada kulit buah kakao yang memiliki kemampuan anti-inflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Proanthocyanidin memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan menghambat stress oksidatif (Rahayu, et al., 2020). Fungsi proanthocyanidin sebagai antiinflamasi dilakukan dengan cara menghambat NF- κ B sehingga level sitokin proinflamasi dapat ditekan. NF- κ B menjadi aktif karena stimulus *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan kerusakan DNA dan stress fisik. Hambatan pada faktor transkripsi NF- κ B menyebabkan reaksi inflamasi menjadi lebih terkontrol, selain itu ekstrak kulit buah kakao juga memiliki kemampuan meningkatkan jumlah sel fibroblast (Yuwono, et al., 2019). Beberapa penelitian mengatakan bahwa ketika infeksi dan inflamasi berada di bawah kontrol, proses perbaikan akan terjadi (Cooper, et al., 2014). Uji toksisitas ekstrak kulit kakao terhadap sel fibroblast BHK-21 yang dilakukan Fitriani (2019) dengan menggunakan parameter IC₅₀, menunjukkan bahwa ekstrak kulit kakao dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% termasuk dalam kategori toksik karena persentase sel yang mati lebih dari 50%, sedangkan pada konsentrasi 3,125% bersifat tidak toksik karena prosentase sel yang mati kurang dari 50% (Fitriani, et al., 2019). Pada penelitian ini digunakan konsentrasi 3,125% tersebut. Penelitian yang dilakukan oleh Yumas (2017) melaporkan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak limbah kulit ari biji kakao terhadap bakteri *S. mutans* adalah pada 0,25% (Yumas, 2017).

Ekstrak teh hijau dan kulit kakao yang mengandung EGCG dan proanthocyanidin akan menghambat HSP 70 dan HMGB 1 yang dilepas oleh jaringan terhadap stress yang diterima. *Heat shock protein* 70 (HSP 70) dan *High-mobility group box 1* (HMGB1) merupakan molekul intrasel tetapi dilepas ke lingkungan ekstrasel ketika ada nekrosis atau kerusakan sel dan jaringan. Keduanya berinteraksi secara kuat dengan system imun di lingkungan ekstraseluler dan berperan sebagai ligan bagi TLR2 dan TLR4 (Pizano, et al., 2018). HSP 70 dan HMGB 1 ekstraseluler berperan sebagai DAMP (*Damage-*

Associated Molecular Pattern) untuk memediasi respon inflamasi, imunitas, dan metabolisme pada kondisi terjadinya penyakit pada manusia dengan cara memicu aktivasi *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) dan sekresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 α , IL-1b, IL-6, IL-8 oleh makrofag (Nugraha, et al., 2020). HMGB1 adalah protein yang selalu ada pada hampir semua tipe sel (Tang & Kang, 2016) dan merupakan protein kromosomal non-histone yang diekspresikan secara utama di dalam nukleus sel eukariotik (Zhang, et al., 2014). HMGB1 bertindak sebagai sinyal bahaya dan mediator inflamasi melalui sekresi pasif dari sel nekrotik dan/atau melalui leakage aktif dari sel imun seperti sel makrofag, monosit, dan dendritik (Norouzitallab, et al., 2015). HSP 70 diketahui terdapat pada semua organisme dan penting untuk pertahanan hidup sel (Kashyap, et al., 2017). Pada kondisi normal, HSP70 diproduksi secara pokok dalam intraseluler dan terlibat dalam memperkuat biogenesis protein dan homeostasis protein dalam sel. Di bawah kondisi stress dari sel seperti kenaikan suhu, stress akibat logam berat atau stress oksidatif, protein ini diinduksi dan dilepas secara aktif maupun pasif ke lingkungan ekstraseluler untuk memperbaiki secara sebagian protein yang terdenaturasi, memfasilitasi degradasi dari protein yang terdenaturasi permanen dan menghambat agregasi protein sehingga melindungi sel dari stress lingkungan yang berbahaya (Norouzitallab, et al., 2015). Dalam suatu penelitian mengenai *Acute Pancreatitis* (AP), didapati bahwa HMGB 1 meningkat pada sel yang mengalami nekrosis, sehingga HMGB1 menjadi target terapi. Tingginya ekspresi HMGB1 berkaitan dengan sinyal bahaya dan prognosis yang buruk dari suatu penyakit (Pizano, et al., 2018). HMGB1 juga didapati meningkat pada pasien sepsis dan level tertinggi didapat pada pasien yang meninggal (Williams & Ireland, 2008).

Sebuah studi pada hewan tikus mengindikasikan kenaikan level HSP 70 pada prosesus odontoblast dalam 3 hari setelah preparasi kavitas dentin (pengeburan gigi) dan

level HSP 70 cenderung tinggi selama dentinogenesis reparatif pada *odontoblast like-cells* yang baru terbentuk kurang lebih 15 hari setelah kerusakan akibat preparasi kavitas (Fabian, et al., 2009). Pada penelitian mengenai separasi gigi pada tikus, diketahui ekspresi HSP 70 meningkat setelah 24 jam dan menurun bertahap dalam kurung waktu 1 minggu (Nakano, et al., 2013). HMGB1 mengalami peningkatan dalam 1 jam trauma pada manusia. Peningkatan terjadi hingga mencapai puncak dalam 2-6 jam setelah trauma, dengan level yang tinggi di atas kadar normal hingga 136 jam setelah trauma (Peltz, et al., 2009). Pada penelitian didapatkan HMGB1 dilepas setelah *delay* lebih dari 24 jam (Williams & Ireland, 2008). Sebuah penelitian mengenai level HSP70 dan HMGB1 pada pasien acute pancreatitis (AP) yang diukur pada hari ke 0, 3, dan 7 hari, diketahui level HSP70 dan HMGB1 meningkat pada hari ke 3 dan 7 (Pizano, et al., 2018). Dengan mengetahui kenaikan level HSP 70 dan HMGB 1 inilah diambil kesimpulan untuk meneliti HSP 70 dan HMGB 1 pada hari ke 1, 3 dan 7, untuk melihat perbedaan level yang terjadi pada ketiga hari tersebut setelah aplikasi ekstrak teh hijau dan kakao.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan penurunan ekspresi HSP 70 dan HMGB 1 antara kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak kulit buah kakao (*theobroma cacao L*) pada hari ke 1, 3, dan 7?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menjelaskan perbedaan penurunan ekspresi HSP 70 dan HMGB 1 antara kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak kulit buah kakao (*theobroma cacao L*) pada hari ke 1, 3, dan 7.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menjelaskan penurunan ekspresi HSP 70 antara kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak kulit buah kakao (*theobroma cacao L*) pada hari ke 1, 3, dan 7.
2. Menjelaskan penurunan ekspresi HMGB 1 antara kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak kulit buah kakao (*theobroma cacao L*) pada hari ke 1, 3, dan 7.
3. Membandingkan perbedaan penurunan ekspresi HSP 70 dan HMGB 1 antara kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak kulit buah kakao (*theobroma cacao L*) pada hari ke 1, 3, dan 7.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai perbedaan ekspresi HSP 70 dan HMGB 1 antara kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi kalsium hidroksida dan ekstrak kulit buah kakao (*theobroma cacao L*) pada hari ke 1, 3, dan 7.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat berguna untuk pengembangan kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cocoa L*) dengan fungsi utama untuk menurunkan respon inflamasi di bidang kedokteran gigi.