

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

*Pulp capping* merupakan suatu aplikasi selapis atau lebih material pelindung sebagai bahan perawatan di atas pulpa terbuka yang dapat merangsang pembentukan dentin reparatif. Perawatan *pulp capping* ada 2 macam yaitu *direct* dan *indirect pulp capping*. *Direct* dan *indirect pulp capping* mempunyai tujuan untuk dapat mempertahankan vitalitas gigi, fungsi dan kesehatan dari pulpa (Hilton, 2010).

*Direct pulp capping* merupakan suatu prosedur penutupan pulpa dengan basis protektif yang diletakkan langsung diatas daerah pulpa yang terbuka. *Direct pulp capping* diaplikasikan sesegera mungkin pada pulpa yang terbuka karena trauma, karies atau akibat preparasi kavitas secara tidak sengaja yang menyebabkan perforasi pulpa (Horsted, 2010).

Bahan yang sering digunakan dalam perawatan *pulp capping* adalah kalsium hidroksida. Prevalensi keberhasilan direk *pulp capping* kalsium hidroksida melalui evaluasi radiografi oleh Nisak (2016) didapatkan tingkat keberhasilan sebesar 36,70%, dan meragukan sebesar 46,70%, sisanya adalah kegagalan sebesar 16,70%. Penelitian Paramitta (2011) tentang efek aplikasi kalsium hidroksida pada sel fibroblas terhadap viabilitas sel didapatkan aplikasi kalsium hidroksida dapat menyebabkan kematian sel fibroblas dimana berakibat pada kerusakan jaringan pulpa. Kalsium hidroksida sebagai bahan *pulp capping*

harus memiliki syarat dapat diterima oleh tubuh, tidak toksik, tidak iritan, tidak bersifat karsinogenik dan tidak dapat menimbulkan reaksi alergi. (Qureshi, 2014)

Kombinasi kalsium hidroksida sebagai bahan pulp capping dengan bahan alternatif yang berasal dari seperti ekstrak propolis diharapkan dapat menurunkan kematian sel fibroblas. Propolis telah lama digunakan dalam praktek dunia kedokteran karena kemampuannya sebagai anti inflamasi, anti mikroba, dan anti oksidan (Mori *et al.*, 2014). Kombinasi kalsium hidroksida propolis mengandung *flavonoid* dan CAPE yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mengikat radikal bebas, yaitu ion *hidroksil* ( $\text{OH}^-$ ) serta dapat mencegah terjadinya *lipid peroksidasi* dan juga kematian sel fibroblas yang disebabkan oleh bahan *pulp capping* seperti kalsium hidroksida (Wu *et al*, 2017).

Propolis adalah zat yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera Sp* dan *Trigona spp*. Kandungan senyawa, warna dan aroma propolis sangat bervariasi tergantung lingkungan, kondisi tanah, dan musim tanaman tersebut berasal (Anggraini, 2009). Kandungan kimia utama dari propolis adalah *flavonoid* dan *asam fenolat*, termasuk CAPE (*Caffeic Acid Phenethyl Ester*) merupakan salah satu ikatan fenol yang ada dalam propolis yang kandungannya hampir 50% dari seluruh komposisi. *Flavonoid* adalah senyawa tanaman yang terkenal memiliki sifat sebagai *antioksidan*, *antibakteri*, *antijamur*, *antivirus* dan *anti-inflamasi* (Parolia *et al*, 2010).

Penelitian oleh Prasetyo (2017) menyebutkan kandungan propolis berupa *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) dapat menghambat produksi sitokin proinflamasi dan menghambat produksi ROS pada level transkripsi melalui

supresi aktivasi NF $\kappa$ B sehingga akan menghambat apoptosis. Didukung oleh Widjiastuti (2014) ekstrak propolis terbukti mampu menghambat ekspresi NF- $\kappa$ B dan meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada sel odontoblas yang diinduksi dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang inaktif, dimana aktivasi NF- $\kappa$ B dapat menyebabkan peningkatan *sitokin proinflammatory* yang menyebabkan apoptosis sel, sedangkan peningkatan ekspresi TGF- $\beta$ 1 yang menyebabkan pembentukan dan perbaikan kompleks dentin-pulpa. Pada kombinasi kalsium hidroksida dan propolis diharapkan sifat *antibakteri*, *antioksidan*, dan *anti-inflamasi* akan lebih baik dibandingkan kalsium hidroksida, sehingga memiliki kemampuan dalam mengurangi apoptosis sel *fibroblas*.

Apoptosis adalah suatu proses kematian sel yang terprogram, diatur secara *genetik*, bersifat aktif, ditandai dengan adanya *kondensasi kromatin*, *fragmentasi* sel dan *fagositosis* sel. Pada proses apoptosis, *mitokondria* berperan penting karena perannya dalam berbagai hal yaitu *transport electron*, hilangnya *potensial membrane*, pelepasan *sitokrom-c* dan ekspresi protein kelompok *Bcl-2* (Roufayel, 2016). Adanya perubahan *permeabilitas membrane mitokondria* selain dapat menghambat pembentukan *energy ATP*, *sitokrom-c* yang merupakan protein pelarut penting dalam rantai *transport electron* akan keluar dari *sitosol* dan dapat mengaktifkan apoptosis. Apoptosis juga merupakan mekanisme penting untuk mencegah *proliferasi* sel yang mengalami kerusakan DNA, agar sel-sel tersebut tidak dilipat gandakan (Kar, 2015).

Penggunaan bahan material *pulp capping* dalam bidang kedokteran gigi harus bersifat *biokompatibel* yaitu dapat diterima oleh tubuh, tidak toksik, tidak

iritan, tidak bersifat *karsinogenik* dan tidak dapat menimbulkan reaksi alergi (Qureshi, 2014). Kalsium hidroksida yang dikombinasi dengan ekstrak propolis dapat memperbaiki kelemahan yang ada pada kalsium hidroksida sebagai material *pulp capping*. Propolis dengan kandungan *flavonoid* nya yang tinggi sebagai antioksidan, mampu mengendalikan proses apoptosis dengan menurunkan level *stress oksidatif* dan pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Level *stress oxidative* dan ROS yang berlebihan dapat memicu terjadinya apoptosis melalui peningkatan *pathway apoptotic internal*, yaitu didahului dengan *Mitochondrial Permeability Transition* (MPT) yang menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria seperti *Apoptosis Inducing Factor* (AIF) yang mengaktifkan regulator apoptosis seperti Bcl-2 dan *apoptotic efactor caspase* seperti caspase 9 yang mengaktifkan caspase 3 kemudian membentuk *apoptosome* dan menghasilkan apoptosis (D'Autreaux, 2007).

Penelitian bahan material kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak propolis melalui parameter jumlah sel hidup telah dilakukan, sedangkan parameter kematian sel secara apoptosis melalui aktivitas mitokondria Bcl-2 dan caspase 9 belum dilakukan. Mitokondria berperan penting dalam respirasi sel dan terjadinya kematian sel secara terprogram atau apoptosis, apoptosis yang terjadi dapat mempengaruhi homeostasis seluler sehingga mempengaruhi kuantitas proliferasi sel *fibroblast* (Desta *et al*, 2010).

Bcl-2 sebagai protein anti-apoptosis berperan dalam menghambat terjadinya proses apoptosis pada sel dengan menghambat kerja *Bax* sehingga inaktif, hambatan ini mencegah permeabilitas membran luar mitokondria

sehingga tidak terjadi pelepasan *sitokrom-c*. Pembebasan *sitokrom-c* dari ruang intermembran mitokondria ke dalam *sitosol* merupakan kunci untuk mengaktifkan caspase 9, *sitokrom-c* akan berinteraksi dengan *Apaf-1* dan pro caspase 9 dengan membentuk badan *apoptosom*. *Apoptosom* ini bertindak sebagai *activator* pada caspase inisiator. Caspase 9 bentuk aktif ini kemudian mengaktifkan caspase 3, 6, dan 7 yang menyebabkan apoptosis. (McComb *et al*, 2019).

Penelitian Wang *et al* (2013) melaporkan awal terjadinya apoptosis dimulai dari 6 jam hingga lebih dari 24 jam setelah rangsangan, dan penelitian Ghazemi *et al* (2018) tentang pemberian dosis tinggi prednisolon pada kultur sel CCRF-CEM dengan waktu 12,24, dan 48 jam didapatkan peningkatan ekspresi Bcl-2 pada 24 dan 48 jam, sedangkan pada 12 jam tidak ada perubahan signifikan pada tingkat ekspresi Bcl-2. Penelitian lainnya oleh Haryanto (2019) tentang sepsis yang disebabkan induksi LPS menggunakan sel Balb/C tikus dengan waktu yang digunakan 12, 24, 36, dan 48 jam terjadi peningkatan jumlah caspase 9 dibandingkan dengan kelompok kontrol, ekspresi caspase 9 menunjukkan penurunan pola dalam serial waktu 12,24,36,dan 48 jam, hingga yang terendah 48 jam menunjukkan tidak ada perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Berdasarkan penelitian yang sudah ada sebelumnya juga telah dilakukan penelitian pendahuluan untuk melihat ekspresi caspase 9 dengan menggunakan sel pulpa gigi tikus wistar yang diperforasi dan diberi aplikasi bahan pulp capping kalsium hidroksida pada 12, 24, dan 36 jam dan didapatkan peningkatan ekspresi

caspase 9 secara signifikan pada 24 dan 36 jam disbanding kelompok kontrol, dan penurunan signifikan Bcl-2 pada 24 dan 36 jam disbanding kelompok kontrol.

Berdasarkan latar belakang diatas maka diperlukan penelitian efek kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) dengan propolis terhadap apoptosis melalui ekspresi Bcl-2 dan ekspresi caspase 9 pada pulpa gigi tikus wistar (*RATTUS NORVEGICUS*) dengan menggunakan waktu 24 dan 36 jam.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ada peningkatan ekspresi Bcl-2 pada sel fibroblas pulpa gigi tikus wistar setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak propolis dengan waktu 24 jam
2. Apakah ada peningkatan ekspresi Bcl-2 pada sel fibroblas pulpa gigi tikus wistar setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak propolis dengan waktu 36 jam
3. Apakah ada peningkatan ekspresi Caspase 9 pada sel fibroblas pulpa gigi tikus wistar setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak propolis dengan waktu 24 jam
4. Apakah ada peningkatan ekspresi Caspase 9 pada sel fibroblas pulpa gigi tikus wistar setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak propolis dengan waktu 36 jam

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Menganalisis perubahan ekspresi Bcl-2 dan Caspase 9 setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dengan ekstrak propolis setelah 24 dan 36 jam.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Membuktikan peningkatan ekspresi Bcl-2 setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dengan ekstrak propolis pada pulpa gigi tikus wistar setelah 24 jam.
2. Membuktikan peningkatan ekspresi Bcl-2 setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dengan ekstrak propolis pada pulpa gigi tikus wistar setelah 36 jam.
3. Membuktikan penurunan ekspresi caspase 9 setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dengan ekstrak propolis pada pulpa gigi tikus wistar setelah 24 jam.
4. Membuktikan penurunan ekspresi caspase 9 setelah aplikasi kombinasi kalsium hidroksida ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) dengan ekstrak propolis pada pulpa gigi tikus wistar setelah 36 jam.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Teoritis Penelitian**

Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh aplikasi bahan *pulp capping* menggunakan kombinasi kalsium hidroksida dengan ekstrak propolis

yang dapat mengurangi proses terjadinya apoptosis pada sel fibroblas dilihat melalui perubahan ekspresi *Bcl-2* dan *Caspase 9* pada 24 jam dan 36 jam.

#### **1.4.2 Manfaat Praktis Penelitian**

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi informasi yang baru untuk perkembangan ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan pemakaian bahan *pulp capping*.