

Perbedaan ketebalan *odontoblast-like cells* setelah aplikasi CAPE dan Kalsium

Hidroksida

(Thickness differentiation of odontoblast-like cells after the application of CAPE dan Calcium Hydroxide)

Putri Galuh Prawitasari¹, Karlina Samadi², Ari Subiyanto.²

¹Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas

Airlangga ²Staf Pengajar Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya – Indonesia

ABSTRACT

Background : CAPE is the main component of propolis, it has several biology and pharmacological advantages as antioxidant, antiinflammation, anticancer and as an immunomodulator. There were the research before of CAPE is capable to stimulate the production of the TGF- β 1 and collagen sintesis by the pulp tissue with many superiority compare to Ca(OH)₂, recently Ca(OH)₂ is the gold standard for pulp capping treatment procedure. **Objective** : To determine and compare the effectiveness of CAPE and Ca(OH)₂ to the thickness of odontoblast-like cells in rat pulp tissue. **Methods** : Maxillary first molar tooth of wistar mice was class 1 prepared until the pulp opened, then Ca(OH)₂ was applied for 14 and 28 days, CAPE for 14 and 28 days. After application of Ca(OH)₂ and propolis extract, the tooth was filled with RMGIC. Teeth were extracted on defined day and processed for histological evaluation. **Result** : There is a significant difference in the thickness of odontoblast-like cells after application of CAPE for 14 days with Ca(OH)₂ for 14 days and CAPE for 28 days with Ca(OH)₂ for 28 days. **Conclusion** : odontoblast-like cells after application of CAPE extract material is thicker than Ca(OH)₂.

Key Words: CAPE, Calcium Hydroxide, odontoblast-like cells

Korespondensi (correspondence): Putri Galuh Prawitasari, Departemen Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl.Mayjen.Prof.Dr.Moestopo No.47, Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: putrigaluhprawitasari@gmail.com

PENDAHULUAN

Perawatan yang dilakukan pada daerah pulpa yang terbuka oleh karena karies adalah perawatan *direct pulp capping*. Tujuan dari pengobatan jaringan pulpa ini adalah untuk meregenerasi jaringan normal pada daerah pertemuan antara pulpa dan dentin. Jaringan ini merupakan jaringan yang meregulasi pembentukan dentin tersier (Bergenholtz *et al*, 2004).

Bahan yang paling sering digunakan untuk perawatan *pulp capping* pada perforasi pulpa baik karena trauma dari pemakaian instrumen maupun karena karies adalah kalsium hidroksida (Ca(OH)₂). Keuntungan utama dari kalsium hidroksida adalah dapat menstimulasi jaringan pulpa pada pembentukan jembatan dentin. Banyak penelitian yang menunjukkan adanya perbaikan dan pembentukan jaringan keras pada pulpa terbuka yang dirawat secara *direct pulp capping* dengan

menggunakan kalsium hidroksida. Namun pada jangka panjang, penelitian menunjukkan hasil yang berbeda. Kalsium hidroksida tidak memberikan hasil yang baik terhadap dentin, tidak menunjang differensiasi odontoblas dengan konsisten dan terbukti sitotoksik pada kultur sel (Bogen *et al*, 2008). Pembentukan jembatan dentin yang tidak sempurna (*tunnel defect*) dapat mempengaruhi aplikasi etsa asam, migrasi bahan adesif, sensitivitas pasca operatif, dan *shrinkage* polimerisasi dan tekanan kontraksi (Peter & Franklin, 2006).

Saat ini kecenderungan seseorang untuk mencari pengobatan alternatif dari bahan yang alami semakin meningkat, karena pengobatan ini lebih aman bagi tubuh dengan efek samping yang minimal, salah satu bahan pengobatan alternatif dari bahan alami ini adalah propolis. Dengan adanya kemajuan teknologi, banyak ditemukan kekayaan akan manfaat dari propolis dalam berbagai aspek kehidupan, terutama dalam bidang pencegahan dan

pengobatan penyakit. Propolis digunakan manusia untuk melindungi tubuh dari serangan bakteri, virus dan jamur. Kecepatan kerja dan keaktifan propolis dalam menahan invasi kuman menjadi keunggulan propolis dibandingkan dengan bahan alami lainnya yang mempunyai sifat serupa. Propolis merupakan senyawa kompleks yang terdiri dari 55 % resin, 30 % lilin lebah, 10 % minyak aromatik dan 5 % bee pollen. Komponen utama dari propolis adalah flavanoid dan asam fenolat, termasuk caffeic acid phenethyl ester (CAPE) yang kandungannya mencapai 50 % dari seluruh komposisi (Suranto, 2011).

Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) merupakan komponen aktif dari propolis, yang merupakan resin dari hasil sarang yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai sumber tanaman. Flavanoid dan komponen aromatik seperti cafeic acid mempunyai peran sebagai antimikroba dan anti bakteri (Parolia *et al*, 2010). Sedangkan caffeic acid phenethyl ester (CAPE) sendiri memiliki kemampuan sebagai antimitogenik, anticarcinogenic, antiinflamasi, dan merupakan bahan untuk immunomodulatori dalam sistem broad spectrum (Djurica *et al*, 2008).

Penggunaan CAPE dalam bidang kedokteran gigi masih dikembangkan hingga sekarang. Perkembangan tersebut juga untuk perawatan pulp capping pada gigi yang sudah terinflamasi. Pemanfaatan CAPE sebagai alternatif dari bahan *pulp capping* karena manfaatnya sebagai anti bakteri, merangsang pembentukan kolagen pulpa, mengurangi inflamasi dan degenerasi pulpa.

Penelitian sebelumnya dari Ansoerge *et al*, 2003 mengemukakan bahwa CAPE dapat meningkatkan produksi dari TGF- β 1 sebagai tahapan awal proses pembentukan odontoblast-like cells. Mengenai gambaran histologis pulpa tikus yang telah dilakukan *pulp capping* menuai beragam hasil, Sabir (2005) mengemukakan bahwa setelah minggu keempat tampak adanya pembentukan jembatan dentin pada gigi yang dirawat *pulp capping* dengan menggunakan CAPE, pendapat lain dikemukakan oleh Parolia *et al* (2010) bahwa pada hari ke 15 telah tampak adanya pembentukan jembatan dentin pada pulpa yang dirawat *direct pulp capping* dengan menggunakan propolis dan MTA.

Berdasarkan beragam hasil penelitian yang telah dikemukakan sebelumnya, perlu dilakukan penelitian untuk menelaah lebih lanjut tentang perbandingan gambaran histologis pada pulpa gigi tikus wistar setelah dilakukan aplikasi menggunakan kalsium hidroksida dan CAPE. Pada penelitian ini dilakukan analisa gambaran histopatologi *odontoblast-like cells* yang terbentuk pada pulpa gigi tikus wistar setelah perlakuan dengan kalsium hidroksida dan CAPE. Analisa ini dilakukan dengan menilai ketebalan odontoblast-like cells.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan jumlah sampel 42 ekor tikus Wistar jantan, berat 200-250 gr, usia 8-16 minggu. Sampel diberi waktu adaptasi selama 2 minggu. Sampel dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol (P0) yang tidak diberi perlakuan apapun, dan kelompok perlakuan yang terdiri dari: kelompok yang diberi perlakuan CAPE dan yang diberi perlakuan kalsium hidroksida, kemudian ditutup menggunakan resin GIC. Masing-masing kelompok dilakukan pengamatan pada hari ke 14 dan 28. Dimana waktu tersebut merupakan waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan odontoblast-like cells. Selanjutnya dilakukan proses euthanasia untuk pengambilan sampel jaringan dan kemudian dilakukan dekapitasi serta pemisahan maxilla.

Pembuatan sediaan melalui pemotongan transversal maxilla gigi molar kemudian pengecatan menggunakan Haematoxylin Eosin. Data yang diperoleh dianalisis dengan *oneway ANOVA* dan dilanjutkan uji *dunnet*

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata ketebalan *odontoblast-like cells* hari ke-14 menunjukkan kontrol (+) sebesar 0,022 mm, Ca(OH)₂ sebesar 0,035 mm, dan CAPE sebesar 0,08 mm. Sedangkan rata-rata ketebalan odontoblast-like cells pada hari ke-28 yaitu kontrol (+) sebesar 0,032 mm, Ca(OH)₂ sebesar 0,055 mm, dan CAPE sebesar 0,104 mm.

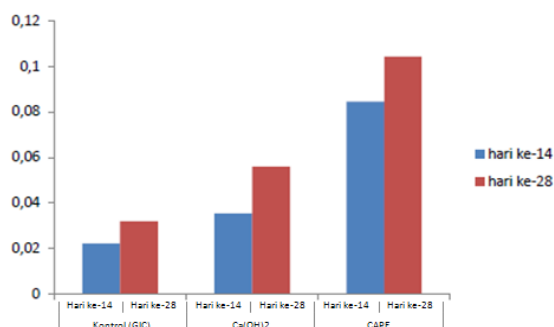


Diagram batang selisih rerata ketebalan *odontoblast-like cells* kelompok kontrol(+), Ca(OH)₂, dan CAPE pada hari ke-14 dan hari ke-28

PEMBAHASAN

Adanya kerusakan pada jaringan pulpa akan menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi untuk menghilangkan bahan yang membahayakan jaringan atau mencegah kerusakan tersebut meluas. Reaksi inflamasi merupakan tahap awal dari serangkaian proses penyembuhan. Pada saat jaringan terkena jejas, maka fibroblas akan segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar yang akan membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Roth and Calmes, 1981).

. *Growth factor* mempunyai peranan yang penting dalam merespons adanya jejas dan perbaikan jaringan (About *et al*, 2000). Diperkirakan proses karies memicu aktivitas odontoblas sehingga terjadi peningkatan ekspresi TGF- β 1. TGF- β 1 merupakan regulator yang penting pada proliferasi dan diferensiasi sel pulpa manusia selama proses pembentukan dan perbaikan dentin (Shirakawa *et al*, 1994). Pada penelitian sebelumnya dari Ansorge *et al*, 2003 dikemukakan bahwa CAPE dapat meningkatkan produksi dari TGF- β 1 sebagai tahapan awal proses pembentukan *odontoblast-like cells*.

Fungsi utama sel *odontoblast-like cells* selama pulpa hidup adalah memproduksi dan mendeposisi dentin. Dalam hal ini dibutuhkan sekresi dentin intertubular dan dentin peritubular yang akan membentuk tubuli dentin sebagai kekuatan utama dari dentin. Fungsi lainnya adalah sebagai pengatur keseimbangan ion dan protein dalam tubuli dentin. Selain itu *odontoblast-like cells* juga berfungsi sebagai penyeimbang kekuatan

hidrokinetik yang dapat mengatur tingkat sensitivitas dari gigi. Dalam hal perbaikan oleh jejas, *odontoblast-like cells* berperan sebagai penangkap sinyal ketika terdapat jejas terhadap gigi sehingga selanjutnya akan terjadi pembentukan dentin reaksioner sebagai mekanisme perbaikan terhadap jejas.

Mengenai gambaran histologis pulpa tikus yang telah dilakukan *pulp capping* menuai beragam hasil, Sabir (2005) mengemukakan bahwa setelah minggu keempat tampak adanya pembentukan jembatan dentin pada gigi yang dirawat *pulp capping* dengan menggunakan CAPE, pendapat lain dikemukakan oleh Parolia *dkk* (2010) bahwa pada hari ke 15 telah tampak adanya pembentukan jembatan dentin pada pulpa yang dirawat *direct pulp capping* dengan menggunakan propolis dan MTA.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *odontoblast-like cells* yang mati hanya di bawah perforasi sedangkan di bagian tepi perforasi dari dentin yang masih intak terdapat *odontoblast-like cells* yang mengalami kerusakan. Di daerah *subodontoblast-like cells* terlihat *odontoblast-like cellst-like cells* yang menumpuk di bawah *odontoblast-like cells* yang rusak. Kalau diperhatikan letak pertumbuhan *odontoblast-like cellst-like cells*, kemungkinan berasal dari proses diferensiasi sel fibroblas terdapat pada jaringan pulpa. *Odontoblast-like cellst-like cells* baru berproliferasi dari populasi sel pulpa yang lain oleh proses diferensiasi dan migrasi ke tempat perforasi, merupakan tempat sekresi dentin reparatif. Kemungkinan populasi sel progenitor dari *odontoblast-like cellst-like cells* baru yang diasumsikan sebagai sel dari lapisan *subodontoblast-like cells* atau fibroblas pulpa.

Dalam penelitian ini, untuk melihat signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan digunakan uji *Kruskall-wallis* dan dilanjutkan uji *Independent t-test* pada kelompok 14 hari dan 28 hari. Dari hasil analisa data ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* hari ke-14 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kontrol (+) dengan CAPE dan Ca(OH)₂ dimana ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* kontrol (+) lebih kecil daripada Ca(OH)₂ maupun dengan CAPE. Begitu juga ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* hari ke-28 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kontrol (+) dengan Ca(OH)₂ dan

CAPE dimana ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* kontrol (+) lebih kecil daripada $\text{Ca}(\text{OH})_2$ maupun CAPE. Ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* hari ke-14 dan hari ke-28 pada kelompok kontrol (+) paling kecil disebabkan *fluoride* dalam kandungan GIC dapat menyebabkan apoptosis pada *odontoblast-like cellst*. Hal ini didukung oleh penelitian Karube *et al*, 2009.

Ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* pada $\text{Ca}(\text{OH})_2$ lebih kecil dibanding CAPE pada hari ke-14 dan 28. Hal ini disebabkan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mengakibatkan nekrosis likuitatif pada lapisan superfisial pulpa yang memicu nekrosis koagulatif pada area antara lapisan pulpa nekrosis dan pulpa vital. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ketika diaplikasikan ke pulpa gigi dalam kondisi murni sebenarnya menghancurkan sejumlah jaringan pulpa sehingga tetap terjadi peradangan jaringan pulpa (Kunarti, 2007). Secara molekuler ion kalsium yang dilepaskan oleh $\text{Ca}(\text{OH})_2$ merangsang sintesis *fibronectin* dan *glycoproteins tenascin* di pulpa gigi yang berkemampuan memicu differensiasi sel-sel pulpa gigi menjadi sel pembentuk mineral yang merupakan sel utama untuk membentuk *odontoblast-like cellst-like cells* (Mizuno and Banzai, 2008; Leites *et al*, 2011). $\text{Ca}(\text{OH})_2$ juga merangsang pelepasan adrenomedullin dan TGF β dari dentin matrik manusia, dimana keduanya adalah *pluripoten growth factors* (Janebodin, 2010).

CAPE telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan imunomodulator sehingga proses penyembuhan pada pulpa gigi yang diawali dengan terbentuknya serabut kolagen dapat lebih mudah terjadi karena propolis dapat mencegah terjadinya infeksi dan meningkatkan regenerasi sel (Sabir, 2005).

CAPE dapat menghambat translasi NF κ B ke dalam inti sel sehingga mencegah terjadinya apoptosis. Terhambatnya proses apoptosis fibroblas akan mengakibatkan jumlah fibroblas dalam pulpa tidak mengalami penurunan yang drastis. Terhambatnya aktivasi NF κ B maka transkripsi gen yang mensekresi TNF- α terhambat. Sebaliknya terjadi peningkatan ekspresi TGF β 1 sebagai mekanisme pertahanan *host*. Pembentukan *odontoblast-like cellst-like cells* setelah pulp capping melibatkan differensiasi *odontoblast-like cellst-like cells* yang membentuk dentin reparatif dan aktivitas biosintetik yang dilakukan oleh komponen sekitar *odontoblast-like cellst* primer. Fenomena tersebut membutuhkan interaksi antara

molekul matriks ekstra seluler dan growth factor (TGF β 1), merupakan growth factor yang diketahui berperan penting dalam differensiasi *odontoblast-like cellst-like cells*.

Dari hasil penelitian di atas disimpulkan bahwa pemberian CAPE dapat meningkatkan pembentukan *odontoblast-like cellst-like cells*. CAPE mampu menstimulasi produksi TGF β 1 (Sabir *et al*, 2005). TGF β 1 merangsang proliferasi fibroblas, zat fibrogenik kuat yang merangsang kemotaksis fibroblas dan meningkatkan pembentukan kolagen, fibronectin, dan proteoglikan (Robin & Cotran, 2010). Kemampuan menghambat peradangan, menekan apoptosis, dan merangsang produksi TGF β 1 serta diferensiasi fibroblas inilah yang mengakibatkan ketebalan *odontoblast-like cellst-like cells* pada pulpa gigi tikus perforasi yang diberi CAPE secara signifikan lebih tebal dibanding gigi tikus yang diberi $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ahangari Z, Naseri M, Jalili M, Mansouri Y, Mashhadiabbas F, Torkaman A. 2012. *Effect of Propolis on Dentin Regeneration and the Potential Role of Dental Pulp Stem Cell in Guinea Pigs*. Cell Journal. 13(4). Pp. 223-8
2. Almas K, Dahlan A, Mahmoud A. 2001. *Propolis as a natural remedy : an update*. Saudi Dental Journal. 13 : 45-49
3. Ansoorge AR, Einhold D, Lendckel U. 2003. *Propolis and some of its constituents down regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF- β 1 production of human immune celss*, Z. Naturforsch, 58:508-9
4. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F, Rahimi H. 2008. *A Comparative Study of Histologic Response to Different Pulp Capping Materials And A Novel Endodontic Cement*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 106. Pp. 609-14
5. Bankova V, de Castro SL, Marcucci MC. 2000. *Propolis: recent advances in chemistry and plant origin*. Apidologie. 31, 3-15.
6. Bogen G, Kim JS, Bakland LK. 2008. *Direct pulp capping with mineral trioxide*. JADA. 139 : 305-15
7. Cohen S, Hargreaves KM. 2011. *Cohen's Pathways of the pulp*. 10th ed. St. Louis : Mosby
8. Inc. Pp. 490, 518, 626, 812

9. Cox CF, Subay RK, Ostro E: 1996. *Tunnel defects in odontoblast-like cellst-like cellss: their formation following direct pulpcapping*. Oper Dent 21:4
10. Craig RG. 2012. *Craig's Restorative Dental Materials*. 13th ed. Philadelphia : Elsevier Mosby. p. 155
11. Djurica G, Danilovic Vesna, Krsljak Elena. 2007. *The effect of caffeic acid phenetyl ester on healing capacity and repair of the dentin-pulp complex: in vivo study*. Acta Veterinaria (Beograd), Vol. 58, No. 1, 99 - 108
12. Ensiklopedi Indonesia. 2003. Serangga. Ensiklopedia Indonesia Seri Fauna. Edisi kelima. Jakarta. PT. Ichtiar Baru Van Houve. p. 1-5
13. European Society of Endodontology. 2006. *Quality Guidelines For Endodontic Treatment : Consensus Report Of The European Society Of Endodontology*. J Endod. Int. 39. Pp. 921-30
14. Grossman LI, Oliet S, Rio CED. 1996. *Ilmu Endodontik Dalam Praktek*. Edisi ke-11. Jakarta. EGC. Pp. 40-53
15. Golub EE, Battaglia KB. 2007. *The Role Of Alkaline Phosphatase In Mineralization*. Curr Opin Orthop. 18 : Pp. 444-448
16. Hegazi AG, Abd El Hady FK, Abd Allah FA. 2000. *Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis*. Z. Naturforsch. 55c. Pp. 70-5
17. Janebodin K, Horst OV, Osathanon T. 2010. *Dental Pulp Response To Pulp Capping Materials And Bioactive Molecules*. CU Dent J. 33. Pp. 229-48
18. Markham KR, Mitchell KA, Wilkins AL, Daldy JA, Lu Y. 1996. *HPLC and GC-MS Identification of The Major Organic Constituents in New Zaealand Propolis*. Phytochemistry. 42(1):205-11
- 19.
20. Modena KS, Casas-Apaico LC, Atta MT, Costa CA, Hebling J, Sipert CR, Navarro MF, Santos CF. 2009. *Cytotoxicity and biocompatibility of direct and indirect pulp capping materials*. J Appl Oral Sci. Brazil. 17(6) : 544-5
21. Nanci A. 2003. *Repair And Regeneration Of Oral Tissue*. In *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, And Function*. 6th ed. St. Louis. Mosby Inc. Pp. 397-415
22. Parolia A, Thomas MS, Kundabala M, Mohan M. 2010. *Propolis and Its Potential Uses In Oral Health*. Int J of Medicine and Medical Sci. 2(7) : 210-5
23. Playfair J.H.L, Chain B.M. 2009. *At Glance Imunologi*. Pp. 18 - 19
24. Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry*. 5th ed. St. Louis : Mosby Inc. Pp. 24
25. Sabir A, Tabbu CR, Agustiono P, Sosroseno W. 2005. *Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis*. J Oral Sci. 47 (3) : 135-8
26. Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G., Dejour. 2005. *Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis*. Departementof botany. Brazil : Institute of Biosciences University of Sao Paulo Brazil. Publized by Oxford University Press. p. 47-53
27. Scheller S, Ilewicz L, Luciak M, Skrobidurska D, Stojko A, Matuga W. 1978. *Biological properties and chemical application of propolis. IX. Experimental observation on the influence of ethanol extract of propolis (EEP) on dental pulp regeneration*. Arzneimittelforshung 28, Pp. 289-91
28. Seltzer S, Bender IB. 2002. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Quintessence Publishing Co Inc. p. 13, 315-6
29. Suranto, Adji, 2011. *Dahsyatnya Propolis untuk menggempur penyakit*. Ed.1. Jakarta: PT.Agro media Pustaka. hal: 17-29.
30. Unda FJ, Martin A, Hilario E, Begue-Kirn C, Ruch JV, Arechaga J. 2000. *Dissection of the odontoblast-like cellst differentiation process in vitro by a combination of FGF1, FGF2 and TGFβ1*. Dev Dyn 218: Pp. 480-9
31. Walton RE, Torabinejad M. 2009. *Endodontics principles and practice*. 4th ed. Missouri. Saunders Elsevier. Pp 9-14
32. Willershausen B, Willershausen I, Ross A, Velikonja S, Kasaj A, Blettner M. 2011. *Retrospective study on direct pulp capping with calcium hydroxide*. Quintessence International. 42 (2) : 165-71