

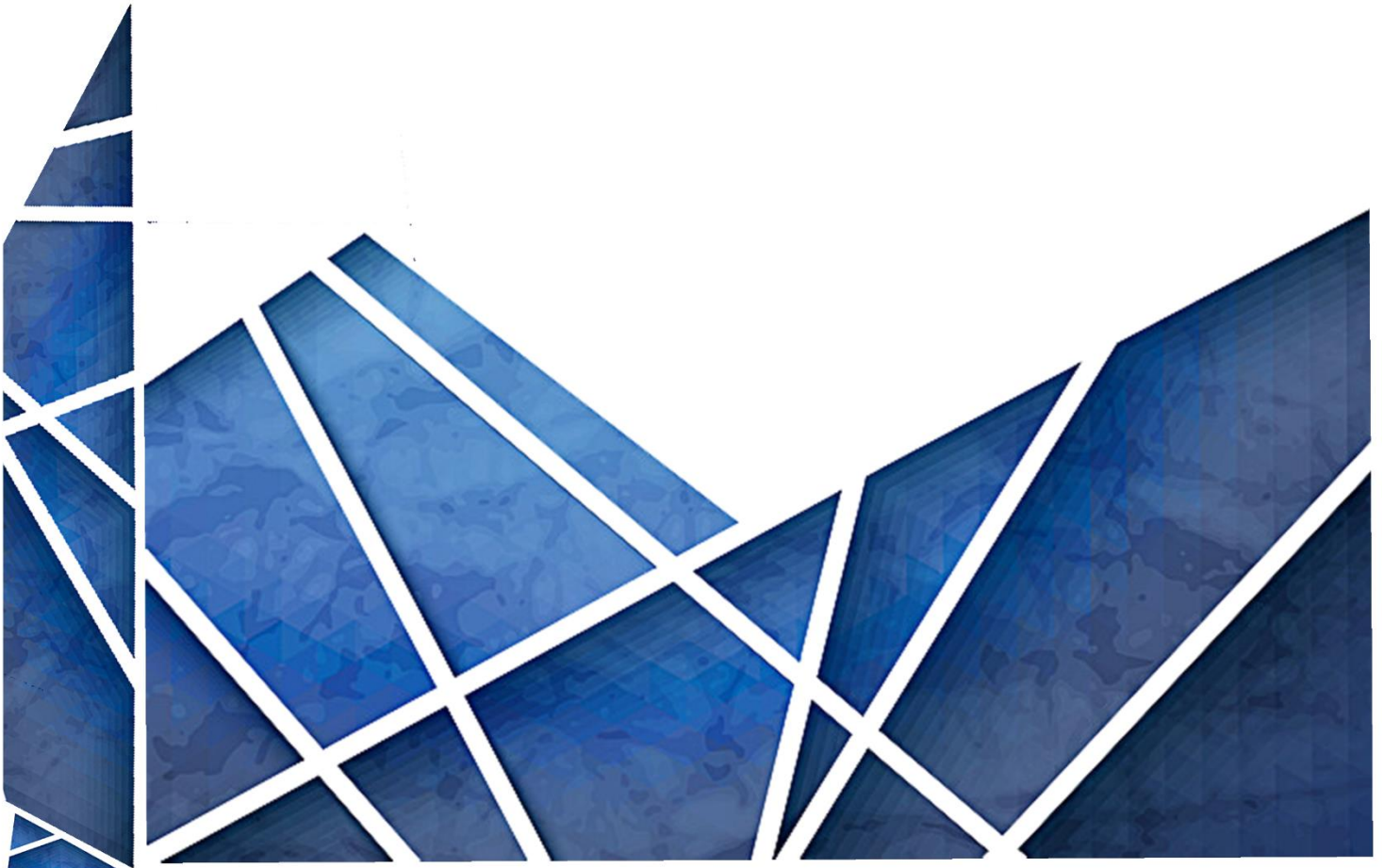
**VOL.13 NO.2 AUGUST 2019**

p-ISSN : 1907-5987

e-ISSN : 2615-1790

# **DENTA**

**JURNAL KEDOKTERAN GIGI**



**SUSUNAN REDAKSI**

*Editor in Chief*

Widyasri Prananingrum

*Executive Editor*

Noengki Prameswari

*Duty Editor*

Agni Febrina Pargaputri, Dian Damaiyanti, Fitria Rahmitasari,  
Widyastuti, Arya Barahmanta, Meinar Nur Ashrin,  
Anne Agustina Suwargiani, Anis Irmawati, Nunuk Purwanti

*Editorial Staff and Administrator*

Carissa Endianasari, Fitri Puji Rahayu

*Peer Review*

Udijanto Tedjosongko, Son mee kyoung, Eha Renwi Astuti,  
Syamsulina Revianti, Rima Parwatisari, Arifzan Razak, Sarianoferni,  
Dian Mulawarmanti, Mei Syafriadi, Soetjipto

Jurnal Kedokteran Gigi diterbitkan setiap bulan Februari dan Agustus oleh  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah.

---

**ALAMAT REDAKSI**

Cp. Carissa Endianasari

Fakultas Kedokteran Gigi-Universitas Hang Tuah

Jl. Arief Rahman Hakim 150 Surabaya

Telp. 031-5945864, 5945894 psw 219/220 Fax. 031-5946261

E-mail: [journal.denta@hangtuah.ac.id](mailto:journal.denta@hangtuah.ac.id) / [jurnal.denta@gmail.com](mailto:jurnal.denta@gmail.com)

<http://journal-denta.hangtuah.ac.id/>

**DAFTAR ISI**

<b>Susunan Redaksi</b>	<b>i</b>
<b>Daftar Isi</b>	<b>ii</b>
<b>Degrees of Epithelial Dysplasia in Tounge induced by Candida albicans in Immunosupressed Condition</b> <i>Dwi Andriani, Agni Febrina Pargaputri, Syamsulina Revianti</i>	<b>1-6</b>
<b>Efek Terapi Sardinella longiceps Terhadap Tinggi Tulang Kortikal Mandibula Tikus Model Periodontitis</b> <i>Nur Octavia, Widyastuti, Dianty Saptaswari, Dian Widya Damaiyanti</i>	<b>7-15</b>
<b>Effect of Apple Gel Extract Application (Malus Domestica) On Dental Calcium Solubility</b> <i>Delyana Fitria Dewi, Martha Mozartha, Rini Bikarindrasari</i>	<b>16-23</b>
<b>Effect of Domestic Chicken Eggshell Paste Against Dental Email</b> <i>Any Setyawati, Febri Silviana</i>	<b>24-30</b>
<b>Effectiveness of Java Chili Extract (Piper retrofractum Vahl.) to Leukocyte Reduction on Wistar Rats with Traumatic Ulcers.</b> <i>Rizky Nurhidayah, Risyandi Anwar, Lisa Oktaviana Mayasari.</i>	<b>31-36</b>
<b>Efectivity Of Adding Hydroxypatite for Reducing Porosity on Heat Cured Acrylic Resin Base</b> <i>Ronaldo Triputra Chondro, Chaterina Diyah Nanik K., Rima Parwati Sari</i>	<b>37-42</b>
<b>Sialostent for Warthon’s Duct Repair in Submandibular Sialolithiasis in Pediatric Patient</b> <i>Yosaphat Bayu Rosanto, Maria Goreti Widiastuti, Poerwati Soetji Rahajoe</i>	<b>43-48</b>

**DAFTAR ISI**

**The effectiveness of Cacao bean extract toward tooth extraction healing on macrophages**

*Atik Kurniawati, Zainul Cholid, Melati Harum Pertiwi*

**49-57**

## RESEARCH ARTICLE

## Derajat Displasia Epitel pada Lidah yang Diinduksi *Candida Albicans* dengan Kondisi Imunosupresi

(Degrees of Epithelial Dysplasia in Tounge induced by  
*Candida albicans* in Immunosupressed Condition )

Dwi Andriani\*, Agni Febrina Pargaputri\*, Syamsulina Revianti\*

\*Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya Indonesia

### ABSTRACT

**Background:** *Candida albicans* is a common opportunistic pathogen that play a significant role in Oral candidiasis and mucosal carcinogenesis. Several studies found that *Candida* sp. associated with dysplastic alteration in the epithelium. *Candida* present in oral cavity with epithelial change is one of predisposing factor of candida infection and lead to atypia to dysplasia. Immunosuppression condition is predisposition factor of oral candidal infection. **Objective:** To investigate the degree of epithelial dysplasia in tounge induced by *Candida albicans* in immunosupressed condition. **Methods:** This study was true experimental with posttest-only control group design. Sixteen healthy male *Rattus novergicus* (Wistar), 12 weeks and 200-250 g weight, were immunosuppressed through oral administration of dexamethasone and tetracycline for 21 days and induced with *C.albicans* (ATCC-10231) 1-Mc.Farland. The subjects were divided into 4 groups (n=4/group): healthy (HG), immunosuppressed (IG), Immunosupressed+*Candida albicans* (ICG), and nystatin treatment(NG). The subjects were treated for 14 days, later the rats were euthanized and their tongue being biopsied. Epithelial dysplasia was subjected to HE examination, observed under a microscope (400x magnification) and statistically analyzed (Kruskall wallis, Mann withey,  $p<0.05$ ). **Result:** Epithelial dysplasia of IG was the heaviest than other group. No eptithelial change were found in group HG. Significant differences existed between HG with other groups; IG with ICG; ICG with NG ( $p<0.05$ ). No significant differences was present between IG and NG ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** There was epithelial change in the tongue both in immunosupressed condition with or without induction *Candida albicans*. Degree of epithelial dysplasia in tounge induced by *Candida albicans* in immunosupressed condition group was the heaviest than other group.

**Keywords:** Epithelial dysplasia, immunosupressed condition, Oral candidiasis

**Correspondence:** Dwi Andriani, Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Jl Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Indonesia. Ph 031-71536336, e-mail address: [dwi.andriani@hangtuah.ac.id](mailto:dwi.andriani@hangtuah.ac.id).

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** *Candida albicans* merupakan oportunistik patogen yang berperan dalam Oral candidiasis dan karsinogenesis mukosa. Beberapa studi menemukan adanya hubungan *Candida Sp.* dengan perubahan displastik pada epitel. Kehadiran *Candida* di rongga mulut bersama dengan perubahan epitel dapat menjadi predisposisi infeksi candida dan dapat menyebabkan atypia epitel dan displasia. Kondisi immunosupresi merupakan faktor predisposisi infeksi jamur rongga mulut. **Tujuan:** Mengetahui derajat displasia pada lidah yang diinduksi *Candida albicans* dalam kondisi Immunosupresi. **Metode:** Jenis penelitian ini True experimental dengan posttest control only group design. Enam belas ekor *Rattus novvergicus* strain wistar, berusia 12minggu, berat rata-rata 250gr diimmunosupresi dengan pemberian dexamethasone dan tetrasiklin selama 21 hari dan kemudian diinduksi *C.albicans*(ATCC-10231) Mc.Farland 1. kelompok penelitian dibagi menjadi: kelompok sehat (HG), Immunosupresi (IG) Immunosupresi+Candida albicans (ICG) dan Nistatin (NG). Terapi diberikan selama 14 hari, setelah itu, lidah tikus dibiopsi dan korbakan. Pemeriksaan derajat displasia dengan pewarnaan Haematoxylin-eosin kemudian diamati dengan mikroskop(perbesaran 400x). Data dianalisis secara statistik dengan (Kruskall wallis, Mann withey,  $p<0.05$ ). **Hasil:** Epithelial dysplasia dari IG merupakan yang terberat. Tidak didapatkan perubahan epitel pada grup HG. Terdapat perbedaan signifikan antara HG dengan seluruh grup; IG dengan ICG; ICG dengan NG ( $p<0.05$ ). Tidak terdapat perbedaan signifikan antara IG dan NG ( $p > 0.05$ ). **Simpulan:** Ada perubahan epitel lidah pada lidah dalam kondisi immunosupresi baik tanpa atau dengan induksi *Candida albicans*. Derajat displasia pada lidah yang diinduksi oleh *Candida albicans* pada kondisi immunosupresi yang paling berat dibandingkan dengan grup lainnya.

**Kata Kunci:** Epitel displasia, Kondisi immunosupresi, Oral candidiasis

**Korespondensi:** Dwi Andriani, Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Jl Arif Rahman Hakim 150, Surabaya, Indonesia. Ph 031-71536336, e-mail address: dwi.andriani@hangtuah.ac.id

---

## PENDAHULUAN

*Candida albicans* merupakan flora normal pada rongga mulut dan dapat menyebabkan infeksi oportunistik pada kondisi fisiologis dan kondisi patologis, misalnya kehamilan, diabetes, penggunaan antibiotik spektrum luas dalam jangka panjang, dan pasien *immunocompromised*, contohnya AIDS. Faktor predisposisi terjadinya oral candidiasis yaitu xerostomia, terapi antibiotik, obat immunosupresif, *oral hygiene* yang buruk, malnutrisi, defisiensi vitamin, asam folat dan zat besi, keasaman saliva, perokok berat, dan *oral epithelial dysplasia*.<sup>1,2</sup> Oral Kandidiasis merupakan inflamasi

mukosa rongga mulut yang disebabkan oleh adanya invasi *Candida albicans*, dimana membutuhkan faktor predisposisi contohnya kondisi immunisupresi dan penggunaan antibiotik jangka panjang yang diimplikasikan pada penelitian sebelumnya.<sup>3-6</sup> *Candida sp.* juga berperan dan dihubungkan dengan karsinogenesis mukosa rongga mulut.<sup>7</sup> *Candida albicans* sering terdeteksi pada biofilm pada sisi yang terkena oral squamous cell carcinoma dimana lesi ini merupakan lesi premalignant.<sup>8</sup>

Pada penelitian sebelumnya, terdapat peningkatan ekspresi TLR-2 pada lidah tikus yang diinduksi *Candida albicans* dalam kondisi



immunosupresi, dimana diketahui TLR-2 berperan dalam pengenalan *Candida albicans*.<sup>4</sup> Penurunan jumlah limfosit dilaporkan pada tikus dengan *Oral candidiasis* dalam kondisi immunosupresi, dimana limfosit memiliki fungsi sebagai sistem kekebalan tubuh dan memproduksi antibodi.<sup>8</sup> Immunosupresi yang diinduksi oleh inflamasi kronis mendukung pembentukan tumor pada *Oral squamous cell carcinoma (OSCC)*, daripada memulai atau menginisiasi.<sup>10</sup>

Secara histopatologi, displasia menggambarkan epitelium yang abnormal. Sharma N et al. (2010)<sup>11</sup> Displasia adalah abnormal, proliferasi atipik yang ditemukan dalam epitelium. Oral epitel displasia (OED) berpotensi malignant dengan karakterisasi berbagaimacam derajat sel atipik.<sup>12</sup> Berdasarkan Shafer et al. (1983)<sup>13</sup> gambaran histopatologi dan perubahan sitologi displasia dari lapisan sel basal hingga kebagian atas dibagi menjadi : displasia ringan (grade I): menggambarkan proliferasi atipik atau sel basal immature diatas regio parabasal tetapi tidak mendekati lapisan ketiga epitelium; displasia sedang (grade II): memiliki gambaran yang sama dengan grade I hingga setengah atau sepertiga epitelium; displasia berat menggambarkan gambaran abnormal proliferasi dari lapisan basal hingga tiga lapisan atas epitelium.

Beberapa penelitian menghubungkan adanya kehadiran *Candida albicans* dengan derajat displasia. Tamgadje et al (2017)<sup>14</sup> melaporkan adanya hubungan *Candida sp.* dengan derajat displasia, dimana pada penelitian ini spesies *Candida* sebagian besar diamati pada pasien immunocompromised. Berbeda dengan Singh et al (2014)<sup>8</sup> yang

melaporkan tidak adanya korelasi antara adanya candida dan epitel displasia pada lesi mukosa.

Berdasarkan uraian diatas, melihat adanya hubungan *Candida sp.* dengan derajat displasia pada pasien immunocompromised, peneliti ingin mengetahui derajat displasia pada lidah yang diinduksi *Candida albicans* dalam kondisi Immunosupresi.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Oral Universitas Hang Tuah Surabaya. Hewan Coba yang digunakan pada penelitian ini *Rattus Novergicus Strain Wistar* dengan kriteria jenis kelamin jantan, berumur 12 minggu, berat badan 200-250gr, sehat dan tidak memiliki cacat fisik sejumlah 16 ekor. hewan coba tersebut diberi perlakuan model *Oral candidiasis* dalam kondisi immunosupresi.

Kondisi immunosupresi didapatkan dengan pemberian dexamethasone 0,5mg/ day dan tetrasiklin 1%/day per oral selama 7 hari. Pada hari ke-8 dosis dikurangi hingga 10% untuk dexamethasone dan tetrasiklin tetap 1%. Pada hari ke-8 hingga ke-20 tikus diinduksi dengan *C. albicans* ATCC-10231 sebanyak 0,5cc Mc. Farland 1 ( $3 \times 10^8$  CFU/mL) diaplikasikan pada lidah sebanyak 3 kali seminggu selama 2 minggu.<sup>3-6,9,15</sup>

Kelompok hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok, antara lain: kelompok sehat (HG), Immunosupresi (IG) Immunosupresi+*Candida albicans* (ICG) dan Nistatin (NG).

Nistatin sebagai kontrol positif diberikan pada permukaan lidah pada waktu yang sama sehari 2 kali dan diberikan selama 14 hari. Setelah itu,

lidah tikus dibiopsi dan korbakan. Pemeriksaan derajat displasia dengan pewarnaan *Haematoxylin-eosin* kemudian diamati dengan mikroskop(perbesaran 400x).

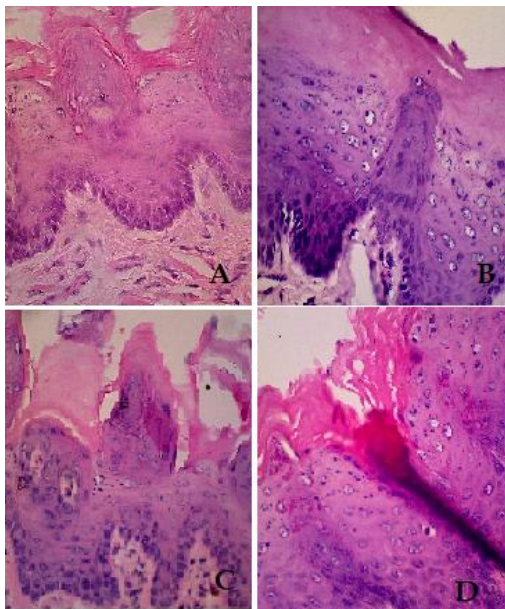
Skoring untuk derajat displasia berdasarkan Shafer et al. (1983).<sup>13,16</sup>

- 1 : tidak terdapat displasia/ normal
- 2 : displasia ringan
- 3 : displasia sedang
- 4 : displasia berat

Nilai skoring didata dengan mencari modus dan mediannya, kemudian data dianalisis secara statistik dengan (*Kruskall wallis, Mann withey,  $p < 0.05$* ).

## HASIL

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mengetahui derajat displasia pada lidah yang diinduksi *Candida albicans* dalam kondisi Immunosupresi. Dari hasil penelitian ini didapatkan gambaran HPA sebagai berikut:



**Gambar 1.** Gambaran HPA

- A. Kelompok Sehat (HG); B. Kelompok Immunosupresi (IG); C. Kelompok Immunosupresi dengan candidiasis (ICG); D. Kelompok Immunosupresi dengan

candidiasis yang diterapi dengan nistatin (NG)

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskop didapatkan derajat dysplasia antar kelompok sebagai berikut :

**Tabel 1.** Nilai Modus dan Median Derajat dysplasia epitel lidah

Kelompok	Replikasi	Modus	Median
HG	4	1	1
IG	4	2	2
ICG	4	4	4
NG	4	3	2.5

Dari table 1 pada kelompok HG memiliki nilai modus dan median yaitu 1 yang artinya tidak ada derajat dysplasia atau normal. Pada kelompok IG memiliki nilai modus dan median 2 yang menunjukkan adanya dysplasia ringan. Nilai ICG didapatkan nilai modus dan median 4 yang menunjukkan adanya dysplasia berat. Untuk NG didapatkan nilai modus 3 dan median 2.5 yang menunjukkan nilai dysplasia sedang.

Data tersebut kemudian dilakukan uji beda untuk mengetahui perbedaan masing- masing kelompok. Karena data merupakan ratio, uji beda yang dilakukan dengan Uji Kruskal wallis ( $p < 0.05$ ) dan dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna antar kelompok. Dari analisis post hoc Mann Withney diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikasi  $p < 0.05$ , antara kelompok HG dengan IG, ICG, dan NG.; kelompok IG dengan ICG; kelompok ICG dengan NG. Tidak terdapat perbedaan bermakna  $P > 0.05$  antara Kelompok IG dan NG.



## PEMBAHASAN

Penilaian histopatologis untuk keberadaan oral epitel displasia saat ini dianggap sebagai *gold standart* ntuk memprediksi transformasi keganasan.<sup>16</sup> Perubahan epitel dan adanya *Candida* pada rongga mulut menjadi factor predisposisi infeksi candida.<sup>8</sup> Penelitian ini berdasarkan nilai modus, menunjukkan kelompok sehat memiliki skor 1 atau normal, immunosupresi memiliki derajat dysplasia ringan (skor 2), kelompok immunosupresi dengan *Oral candidiasis* memiliki derajat dysplasia berat (skor 4), immunosupresi dengan *Oral candidiasis* dengan terapi nystatin memiliki derajat dysplasia sedang (skor 3).

Bila dibandingkan dengan kelompok sehat, kelompok immunosupresi memiliki derajat dysplasia ringan. Hal ini menunjukkan penggunaan kortikosteroid memicu terjadinya displasia ringan. Tamer et al (2018)<sup>17</sup> melaporkan adanya displasia pada mukosa hidung pada pengguna kortikosteroid topikal. Pada kelompok immunosupresi dengan *Oral candidiasis* memiliki derajat dysplasia berat dibandingkan dengan kelompok sehat. Hal ini menunjukkan bahwa adanya candida memperparah derajat dysplasia. Dilaporkan adanya peran *Candida* sp. pada seluruh derajat displasia dan peningkatan jumlah koloni candida sejalan dengan peningkatan derajat displasia.<sup>14</sup> Peningkatan jumlah koloni candida juga dikaitkan dengan keadaan pasien immunokompromis.<sup>18</sup>

Pada penelitian ini pemberian terapi dapat menurunkan derajat dysplasia. Pada pemberian terapi nystatin, dapat menurunkan derajat dysplasia dari berat menjadi sedang. Nystatin sebagai pengobatan lini

pertama *Oral candidiasis* memiliki mekanisme kerja dengan cara mengikat ergosterol dalam membran sel candida sehingga terjadi perubahan pada permeabilitas membran sel yang mengakibatkan keluarnya berbagai molekul adesi yang diperlukan untuk membantu perlekatan pada sel host.<sup>19</sup> Obat antifungal yang efektif untuk pengobatan *oral cancerous* dan *oral precancerous* dengan *Candida albicans* adalah amphotericin B dan nystatin dengan resistensi yang tinggi terhadap *Candida albicans* adalah fluconazole.<sup>20</sup>

## SIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Ada perubahan epitel lidah pada lidah dalam kondisi immunosupresi baik tanpa atau dengan induksi *Candida albicans*. Pada kondisi immunosupresi tanpa induksi Derajat displasia pada lidah yang diinduksi *Candida albicans* terjadi displasia ringan. Adanya induksi *Candida albicans* dan kondisi Immunosupresi memperparah displasia dan tampak pada grup merupakan displasia yang paling berat dibandingkan dengan grup lainnya. Pemberian terapi nistatin dapat menurunkan derajat displasia epitel.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Aboellil, A.H. and Al-Tuwaijri, M. Effect of some alternative medicine and biological factors on *Candida albicans* in Saudi Arabia. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2010; 1, pp:100-107.
2. Subha, T.S. and Gnanamani, A. Candida biofilm perfusion using active fractions of *Acorus calamus*. *J Anim Plant Sci*, 2009; 4(2), pp:363-71.
3. Andriani, D. and Pargaputri, A.F. Enhance of IL-22 expression in *Oral candidiasis* Immunosupressed Model with *Acanthus ilicifolius* Extract Therapy. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019; 217 (1), pp:

- 012056). IOP Publishing.
4. Andriani, D. and Pargaputri, A.F. The effects of *Acanthus ilicifolius* chloroform extract on TLR-2 expression of macrophages in *Oral candidiasis*. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 2018 51(4), pp:205-209.
  5. Andriani D, Setianingtyas D, Nafi'ah. The Effect of *Acanthus ilicifolius* Extract On Anticandida Albicans Antibody in Wistar Rats with Oral Candidiasis Immunosuppressed Model. *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi*. 2017; 1;11(1),pp:35.
  6. Andriani D, Revianti S, Parisihni K. Effects of *Stichopus Hermanii* Ethanolic Extract On Tlr-2 And Il-17 Expression In Rats With Oral Candidiasis Immunosuppressed Model. *Proceeding Book Dentisphere3*. Agustus 2016. Pp. 185-192
  7. Tamgadge, S., Tamgadge, A., Pillai, A., Chande, M., Acharya, S., Kamat, N. Association of *Candida sp.* with the Degrees of Dysplasia and Oral Cancer: A Study by Calcofluor White under Fluorescent Microscopy. *Iranian journal of pathology*, 2017;12(4), pp:348–355.
  8. Singh SK, Gupta A, Rajan SY, et al. Correlation of presence of *Candida* and epithelial dysplasia in oral mucosal lesions. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(10), pp:ZC31–ZC35. doi:10.7860/JCDR/2014/9872.4956
  9. Pargaputri AF, Andriani D. The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy to the Amount of Lymphocytes in *Oral candidiasis* Immunosuppressed Model. *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi*. 2019 Jul 5;12(2):117.
  10. Sun, Y., Liu, N., Guan, X., Wu, H., Sun, Z. and Zeng, H. 2016. Immunosuppression induced by chronic inflammation and the progression to oral squamous cell carcinoma. *Mediators of inflammation*, 2016.
  11. Sharma N, Hosmani JV, Tiwari V. Epithelial Dysplasia: different grading system and its applications. *J Int Oral Health* 2010; pp:1-16.
  12. Pereira JDS, Goyal P, Goyal I, Kaur H, Jindal S. Oral epithelial dysplasia. *J Dent Sci Oral Rehabilitation* 2012;23-25.
  13. Jain A, Chandurkar KP, Umale V, Srivastava R. Dysplasia in Oral Cavity: A Review. *Int J Oral Health Med Res* 2016;2(6), pp:107-109
  14. Tamgadge S, Tamgadge A, Pillai A, Chande M, Acharya S, Kamat N. Association of *Candida sp.* with the Degrees of Dysplasia and Oral Cancer: A Study by Calcofluor White under Fluorescent Microscopy. *Iran J Pathol*. 2017;12(4),pp:348–355.
  15. Setyawan G, Andriani D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Methanol Daun *Acanthus ilicifolius* Topikal Terhadap Jumlah Makrofag Pada Penyembuhan Model *Oral Candidiasis* Dengan Kondisi Imunosupresi. *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi*. 2019; 1;13(1), pp:61.
  16. Ranganathan K, Kavitha L. Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*. 2019;23(1), pp:19.
  17. Tamer F, Koc E, Gun T, Ergin C. Nasal mucosal dysplasia induced by topical corticosteroids with benzalkonium chloride. *Indian dermatology online journal*. 2018;9(2), pp:126.
  18. Neville B. Oral and maxillofacial pathology. 3rd ed. St. Louis, Mo: Saunders/Elsevier; 2009.
  19. Djajusman SK, Tedjosongko U, Irmawati I. Daya hambat xylitol dan nistation terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (in vitro)(Inhibition effect of xylitol and nistatin combination on *Candida albicans* growth (in vitro)). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2014;47(3), pp:164-7.
  20. Bansal R, Pallagatti S, Sheikh S, Aggarwal A, Gupta D, Singh R. Candidal species identification in malignant and potentially malignant oral lesions with antifungal resistance patterns. *Contemporary clinical dentistry*. 2018;9(Suppl 2), pp:S309.

## RESEARCH ARTICLE

## Efek Terapi *Sardinella longiceps* Terhadap Tinggi Tulang Kortikal Mandibula Tikus Model Periodontitis

Nur Octavia\*, Widyastuti\*, Dianty Saptaswari\*, Dian Widya Damaiyanti\*\*

\*Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

\*\* Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

### ABSTRACT

**Background:** Periodontitis begins with accumulation of pathogenic plaque containing bacteria and toxins. Subgingival bacteria found in chronic periodontitis are one of them is *Porphyromonas gingivalis*. *Porphyromonas gingivalis* bacteria causes progressive damage to the supporting tissues of the teeth, especially the alveolar bone. Alternative medicine that can be used is with herbal ingredients, namely *Sardinella longiceps*. *Sardinella longiceps* contains omega 3 (DHA and EPA) which inhibits proinflammatory cytokines thereby accelerating the process of bone regeneration. **Objective:** This study aims to determine whether the administration of gel (*Sardinella longiceps*) affects the height of the cortical bone of the mandibular periodontitis-induced rat *Porphyromonas gingivalis*. **Research Methods:** 25 male Wistar rats were divided into 5 groups. P0 is the normal group that is not treated. P+ is a group induced by *Porphyromonas gingivalis*. P1, P2, P3 are the groups induced by *Porphyromonas gingivalis* and given *Sardinella longiceps* gel with concentrations of 10%, 20%, 40% respectively. On the 55th day all model mice were treated and mandibular cortical bone height was measured using a digital caliper in the interdental region of the 1st molar and left lingual molars from the apex of the alveolar bone to the mandibular base. The data obtained were analyzed by one way ANOVA followed by LSD ( $p = 0.05$ ). **Results:** Statistical tests showed the mean height of mandibular cortical bone was P0 ( $5.21 \pm 0.21$ ), P+ ( $4.67 \pm 0.25$ ), P1 ( $5.12 \pm 0.14$ ), P2 ( $5.51 \pm 0.12$ ), and P3 ( $5.88 \pm 0.13$ ). There was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between treatment groups and positive control groups ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** *Sardinella longiceps* affects the height of the cortical bone of the periodontitis rats model induced by *Porphyromonas gingivalis* bacteria. The most effective in the group of *sardinella longiceps* gel with a concentration of 40%.

**Keywords:** *Sardinella longiceps*, mandibular cortical bone height, *Porphyromonas gingivalis*

**Correspondence:** Dianty Saptaswari, Department of Periodontia, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Phone. (+62) 5912191. E-mail: [anthie.dent@gmail.com](mailto:anthie.dent@gmail.com)

## ABSTRAK

**Latar belakang:** Periodontitis diawali akumulasi plak yang mengandung bakteri dan toksin yang bersifat patogenik. Bakteri subgingival yang ditemukan pada penyakit periodontitis kronis salah satunya adalah *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* mengakibatkan kerusakan progresif pada jaringan pendukung gigi terutama tulang alveolar. Pengobatan alternatif yang dapat digunakan adalah dengan bahan herbal, yaitu *Sardinella longiceps*. *Sardinella longiceps* mengandung omega 3 (DHA dan EPA) yang menghambat sitokin pro inflamatori sehingga mempercepat proses regenerasi tulang. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian gel (*Sardinella longiceps*) berpengaruh terhadap tinggi tulang kortikal mandibula tikus model periodontitis yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. **Metode Penelitian:** 25 tikus Wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok. P0 merupakan kelompok normal yang tidak diberi perlakuan. P+ merupakan kelompok yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis*. P1, P2, P3 merupakan kelompok yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis* dan diberi gel *Sardinella longiceps* masing-masing dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%. Hari ke-55 semua tikus model diberi perlakuan dan tinggi tulang kortikal mandibula diukur menggunakan kaliper digital di daerah interdental gigi molar 1 dan molar 2 kiri bagian lingual dari titik puncak tulang alveolar ke basis mandibula. Data yang diperoleh dianalisis dengan one way ANOVA dilanjutkan LSD ( $p=0.05$ ). **Hasil:** Uji statistik menunjukkan rerata tinggi tulang kortikal mandibula didapatkan P0( $5,21\pm 0,21$ ), P+ ( $4,67\pm 0,25$ ), P1 ( $5,12\pm 0,14$ ), P2 ( $5,51\pm 0,12$ ), dan P3 ( $5,88\pm 0,13$ ). Terdapat perbedaan signifikan ( $p<0.05$ ) antar kelompok perlakuan dengan kelompok control positif ( $p<0.05$ ). **Simpulan:** Pemberian gel (*Sardinella longiceps*) berpengaruh terhadap tinggi tulang kortikal mandibula tikus model periodontitis yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Paling efektif pada kelompok gel *sardinella longiceps* dengan konsentrasi 40%.

**Kata kunci :** *Sardinella longiceps*, Tinggi tulang kortikal mandibular, *Porphyromonas gingivalis*

**Korespondensi:** Dianty Saptaswari, Department of Periodontia, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Phone. (+62) 5912191. E-mail: anthie.dent@gmail.com

---

## PENDAHULUAN

Berdasarkan hasil studi morbiditas Riset Kesehatan Dasar prevalensi nasional masalah gigi dan mulut adalah 25,9%.<sup>1</sup> Periodontitis adalah penyakit terbanyak kedua setelah karies, prevalensi untuk jaringan periodontal sehat sebanyak 4,79% atau 34614 orang, sedangkan jaringan tidak sehat sebesar 95,21% atau 687715 orang.<sup>2</sup> Periodontitis kronis mempunyai prevalensi cukup tinggi pada orang dewasa umumnya berumur lebih dari 35 tahun.<sup>3</sup>

Periodontitis kronis adalah inflamasi jaringan periodontal yang ditandai dengan adanya migrasi epitel jungSIONAL ke apikal, kehilangan perlekatan dan puncak tulang alveolar.<sup>4</sup> Bakteri subgingival yang ditemukan pada penyakit periodontitis kronis salah satunya adalah *Porphyromonas gingivalis*.<sup>5</sup> Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri melanogenik, nonsakarolitik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes*.<sup>6</sup>

Periodontitis diawali akumulasi plak yang mengandung bakteri dan toksin yang bersifat patogenik. Bakteri plak gigi akan menghasilkan produk, seperti asam lemak, peptida seperti *N-formilmethionyl-leucyl-phenylalanine* (FMLP) dan *lipopolisakarida* (LPS) yang akan berdifusi ke dalam lapisan epitel gingiva. Kemudian merangsang sel epitel, makrofag dan fibroblast untuk memproduksi mediator inflamasi.<sup>7</sup>

Mediator spesifik inflamasi pada penyakit periodontal berupa sitokin IL-1 $\beta$  dan TNF  $\alpha$  akan meregulasi ekspresi dari *Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B Ligand* (RANKL) dan *Osteoprotegerin* (OPG) pada osteoblast.<sup>3</sup> RANKL dan OPG akan berikatan dengan *Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B* (RANK) untuk menstimulasi diferensiasi dan aktivasi osteoklas.<sup>8</sup>

Apabila sel osteoklas jumlahnya lebih banyak dari osteoblas maka terjadi resorpsi tulang.<sup>7</sup>

Perawatan periodontitis adalah menghilangkan patogen periodontal, umumnya dilakukan secara kimia menggunakan obat-obatan dan secara mekanis dengan *Scaling Root Planing* (SRP) yaitu menghilangkan deposit keras dan lunak serta bakteri yang menempel pada permukaan gigi dan subgingiva, sehingga mengeliminasi bakteri, pembersihan patogen periodontal dan produknya dengan SRP kadang-kadang tidak maksimal karena terdapat bagian yang tidak dapat diakses oleh alat SRP, sehingga pemberian antimikroba secara sistemik

per oral ataupun lokal dianjurkan untuk meningkatkan hasil terapi SRP.<sup>9</sup>

Tetrasiklin, minosiklin, metronidazole dan khlorheksidin merupakan contoh obat-obatan yang efektif terhadap perawatan periodontal.<sup>10</sup> Akan tetapi, penggunaan antibiotik memiliki kekurangan, seperti menyebabkan timbulnya alergi, toksisitas, dan resistensi pada penggunaan jangka panjang.<sup>11</sup> Berdasarkan pertimbangan perawatan tersebut yang mendasari peneliti untuk melakukan perawatan dengan pemberian gel *Sardinella longiceps*.

*Sardinella longiceps* mengandung banyak protein, flavonoid, mineral, lemak dengan omega-3 *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yaitu EPA (*eicosapentaenoic*) acid dan *docosahexaenoic* (DHA) yang baik untuk kesehatan. *Sardinella longiceps* mengandung EPA 13,70% dan acid DHA 8,91%.<sup>12</sup> Kandungan flavonoid pada minyak ikan mempunyai aktivitas antimikroba pada beberapa bakteri dengan cara berperan untuk menghambat peroksidasi lipid sehingga efektif dalam membunuh bakteri *Phorphyromonas gingivalis* sehingga dapat menurunkan produksi LPS dan mengakibatkan penurunan peradangan. Kandungan EPA dan DHA dapat menekan produksi sitokin pro inflamatori, inhibitor makrofag.<sup>13</sup>

Berdasarkan uraian di atas, pengaruh *Sardinella longiceps* dapat berperan sebagai imunomodulator dan anti bakteri menjadi alasan yang kuat sebagai terapi suportif untuk periodontitis kronis, sehingga peneliti ingin melakukan penelitian mengenai



pengaruh *Sardinella longiceps* terhadap resorpsi vertikal tulang kortikal mandibula pada tikus model yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Peneliti ingin menggunakan sediaan bentuk gel dikarenakan gel memiliki beberapa keuntungan seperti langsung pada target, tidak melalui metabolisme lintas pertama dan gel mampu menembus lapisan hipodermis yang baik untuk kondisi yang membutuhkan penetrasi obat.<sup>14</sup>

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true eksperimental* menggunakan hewan coba menggunakan 25 ekor *Rattus norvegicus strain wistar*, dengan kriteria yaitu kelamin jantan, umur 3 bulan, berat badan 250-300 gram.

Dua puluh lima ekor *Rattus norvegicus strain wistar* dibagi dalam 5 kelompok yaitu: satu kelompok kontrol normal (P0), kelompok kontrol positif hanya diinduksi *Porphyromonas gingivalis* (P+), dan tiga kelompok perlakuan menggunakan gel *Sardinella longiceps* dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40%. Kelompok P1, P2, P3 diadaptasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Semua tikus diberi kanamisin (20 mg) dan ampisilin (20 mg) setiap hari selama 4 hari dalam air minum, dan rongga mulut diusap dengan *chlorhexidine gluconate* 0,12% sebagai antiseptik untuk menekan flora normal tikus secara acak didistribusikan ke dalam kelompok dan diikuti oleh infeksi oral. Selanjutnya, induksi bakteri menggunakan

*Porphyromonas gingivalis* dengan diberi 2 ml dari  $1 \times 10^9$  sel/ml bakteri hidup dalam PBS dan dilakukan secara peroral. Selain itu bakteri dioleskan menggunakan *microbrush* di sepanjang sulkus gingiva dan anus. Frekuensi induksi *Porphyromonas gingivalis* adalah sebanyak 3 kali dalam 4 hari. Kemudian inkubasi selama 30 hari dihitung semenjak pemberian bakteri pertama.

Gel *Sardinella longiceps* diberikan secara topikal yang diberikan sebanyak 1 ml/hari selama 14 hari pada sulkus gingiva rahang bawah tikus wistar dengan menggunakan spuit dan diratakan menggunakan *microbrush*. Terapi dilakukan selama 14 hari karena sesuai dengan lama proses angiogenesis, induksi osteoblas, dan menanggulangi proses kekeliruan operator.

Prosedur terminasi dan pengambilan sediaan dilakukan 1 hari setelah terapi, tikus wistar diinjeksi menggunakan ketamin untuk terminasi dengan dosis 10 mg/kg BB 0,2 mL diazepam. Semua hewan coba dikorbankan dan diambil tulang mandibulanya dengan menyertakan gigi, gingiva, jaringan periodontal, dan tulang alveolar. Setelah itu dilakukan pengukuran tinggi tulang menggunakan kaliper. Setelah didapatkan hasil data pengukuran, dilakukan tabulasi dan analisa data menggunakan uji *one-way Anova* dan uji LSD.

## HASIL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis



secara deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil.

**Tabel 1.** Rata-rata dan simpangan baku tinggi tulang kortikal mandibula

Kelompok	Rata-rata ± Standar Deviasi (mm)
P0	5,21 ±0,21
P+	4,67 ±0,25
P1	5,12 ±0,14
P2	5,51 ±0,12
P3	5,88 ±0,13

Berdasarkan tabel 1, diketahui bahwa tinggi tulang kortikal mandibula tertinggi terdapat pada kelompok P3, sedangkan tinggi tulang kortikal mandibula terendah pada kelompok P+.

Sebelum melakukan analisis data hasil penelitian, maka data diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, hasil data diketahui didapatkan hasil yang signifikan pada setiap kelompok perlakuan. Nilai signifikansi > 0.05, yang artinya berdistribusi normal. Selanjutnya uji homogenitas menggunakan *Levene statistic*, diketahui bahwa tinggi tulang kortikal mandibula memiliki varians yang homogen karena  $p=0.977$  ( $p>0.05$ ).

Hasil data di atas diketahui memiliki distribusi data yang normal dan memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, uji dilanjutkan dengan menggunakan uji *one way ANOVA* mengetahui adanya perbedaan pada tiap kelompok baik secara terpisah maupun bersama-sama.

**Tabel 2.** Hasil uji statistik *one way ANOVA*

Variabel	Sig.
Tinggi Tulang Kortikal Mandibula	0,000*

Keterangan: \* $p>0.05$

Pada uji *one way ANOVA*, diperoleh nilai  $p=0.000$  ( $p<0.05$ ) yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan.

Selanjutnya, untuk melihat perbedaan tinggi tulang kortikal mandibula masing-masing kelompok perlakuan, maka dilakukan pengujian *LSD* dengan signifikansi  $p<0.05$ .

**Tabel 3.** Tabel hasil uji *LSD*

Rerata Kelompok (mm)	P+	P1	P2	P3
(5,21)	0,00 0*	0,45 6	0,02 2*	0,00 0*
(4,67)	0,00 1*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*
(5,12)		0,00 4*	0,00 0*	0,00 0*
(5,51)			0,00 5*	0,00 5*

Keterangan : \* $p<0.05$

Berdasarkan tabel 3 didapatkan bahwa resorpsi vertikal tulang kortikal mandibula kelompok P1, P2, dan P3 signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P0 ( $p<0.05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diinduksi bakteri dan diberikan terapi secara topikal menggunakan gel *Sardinella longiceps* dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% memberikan efek terapi terhadap tinggi tulang kortikal mandibula dibanding

dengan kelompok tikus yang tidak diberikan terapi. Selanjutnya efek terapi tinggi tulang kortikal mandibula kelompok P1, P2, dan P3 signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P- ( $p < 0.05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan terapi secara topikal menggunakan gel *Sardinella longiceps* dapat memberikan efek terhadap tinggi tulang kortikal mandibula.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek proteksi pemberian *Sardinella longiceps* dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% terhadap tinggi tulang kortikal mandibula pada tikus model yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus novogicus strain wistar*) jenis kelamin jantan, berat badan antara 200-250 gram. Tikus Wistar dipilih sebagai hewan coba karena memiliki sistem fisiologis dan metabolisme mirip dengan manusia dan berjenis kelamin jantan agar tidak dipengaruhi faktor hormonal.<sup>15</sup> Penelitian ini menggunakan gel *Sardinella Longiceps* pada tulang kortikal mandibular tikus.<sup>16</sup>

Berdasarkan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada efek terapi terhadap tinggi tulang kortikal mandibular pada kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol positif yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. pada kelompok kontrol positif yang

diinduksi *Porphyromonas gingivalis* mengalami penurunan dibanding dengan tinggi tulang kortikal mandibula tikus kontrol normal. Hal ini menunjukkan bahwa induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada kontrol positif menyebabkan terjadinya resorpsi tulang. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dapat melepaskan LPS (Lipopolisakarida). LPS dari bakteri kemudian masuk ke dalam *junctional epithelium* melalui celah gingiva yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi sehingga muncul sel radang (makrofag). Sel radang memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, GM, CSF yang menyebabkan akumulasi dan aktivitas PMN meningkat.<sup>17</sup>

Kelompok dengan induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* tanpa terapi gel *Sardinella longiceps* memiliki hasil rerata lebih rendah dibandingkan kelompok induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan terapi gel *Sardinella longiceps* 10%, 20%, dan 40%. Hal ini menunjukkan terapi gel *Sardinella longiceps* dapat memiliki efek terapi dengan berkurangnya resorpsi ditandai dengan tinggi tulang kortikal mandibula lebih tinggi, berdasarkan penelitian Safitri (2012) pemberian *Sardinella longiceps* berpengaruh dalam menurunkan tingkat resorpsi tulang alveolar pada tikus Wistar jantan yang mengalami periodontitis. Pemberian terapi gel *Sardinella longiceps* yang mengandung EPA dan DHA dapat menghambat apoptosis sel osteoblas, sehingga jumlah sel osteoblas meningkat dan sel osteoklas menurun, sehingga tingkat

resorpsi tulang alveolar mengalami penurunan.<sup>18</sup>

Berbagai komponen dalam ekstrak *Sardinella longiceps* memberikan gambaran pada penelitian ini terbukti bahwa tikus kelompok *Sardinella longiceps* 10%, *Sardinella longiceps* 20%, dan *Sardinella longiceps* 40% yang telah diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan diterapi dengan pemberian gel *Sardinella longiceps* masing-masing dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% mampu mencegah resorpsi tulang alveolar lebih lanjut yang ditandai dengan adanya tinggi tulang mandibula yang signifikan lebih tinggi bila dibandingkan dengan tikus kelompok kontrol negatif. Dengan pemberian *Sardinella longiceps* yang mengandung omega-3 dapat menurunkan tingkat resorpsi tulang alveolar, oleh karena terjadinya penurunan jumlah aktivitas preosteoklas serta osteoklas. Diet minyak ikan yang banyak mengandung n-3 PUFA khususnya EPA dan DHA dapat memberikan efek keseimbangan kalsium memperbaiki jaringan yang rusak, efek osteoblastogenesis dan aktivitas osteoblas, perubahan fungsi membran terbukti menurunkan mediator resorpsi tulang yaitu prostaglandin maupun sitokin proinflamasi yaitu IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$ . Penurunan PGE2, IL-6, IL-1 maupun TNF- $\alpha$  menyebabkan produksi preosteoklas menurun sehingga menghambat pembentukan osteoklas yang menghambat penyembuhan tulang.<sup>19</sup>

Pada kelompok kontrol normal tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok gel *Sardinella longiceps* 10%. Hal ini menunjukkan bahwa terapi gel *Sardinella longiceps* telah mampu mengembalikan tinggi tulang kortikal mandibula pada keadaan normal. Pada kelompok kontrol normal signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan gel *Sardinella longiceps* 20% dan *Sardinella longiceps* 40% hal ini menunjukkan bahwa terapi gel *Sardinella longiceps* pada kelompok *Sardinella longiceps* 20% dan *Sardinella longiceps* 40% mempengaruhi resorpsi tinggi tulang kortikal mandibula yaitu dengan adanya penambahan tinggi tulang kortikal mandibula pada kelompok tersebut dibandingkan dengan kelompok normal. Hal ini dapat terjadi karena, 1 hari tikus sama dengan 27 hari manusia, sehingga tikus usia 3 bulan setara dengan manusia usia 6-12 tahun yang artinya terjadi masa pertumbuhan.<sup>20</sup> Hormon pertumbuhan bekerja langsung pada osteoblas dengan reseptor hormon untuk merangsang aktivitas sehingga meningkatkan sintesis kolagen, *osteocalcin* dan alkali fosfat menyebabkan peningkatan IGF-I dan II, faktor-faktor ini merangsang proliferasi dan diferensiasi osteoblas, sehingga proses pertumbuhan jaringan dapat berlangsung dengan baik.<sup>21</sup> Faktor lain yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak kandungan senyawa aktif pada *Sardinella longiceps*. Zat-zat aktif itu salah satunya adalah flavonoid yang

mempunyai aktivitas antimikroba pada beberapa bakteri, seperti bakteri gram negatif anaerob dengan cara berperan untuk menghambat peroksidasi lipid, selain itu tanpa adanya aktivitas bakteri gram negatif anaerob maka proses inflamasi dapat terhambat.<sup>22 23</sup>

Berdasarkan hasil penelitian terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok *Sardinella longiceps* 10%, *Sardinella longiceps* 20%, dan *Sardinella longiceps* 40%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi gel *Sardinella longiceps* dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40% menunjukkan perbedaan yang signifikan antar konsentrasi dan dikatakan memiliki hasil yang berbeda terhadap resorpsi tinggi tulang kortikal mandibula. Pada kelompok *Sardinella longiceps* 10% terjadi efek penyembuhan, sedangkan pada kelompok *Sardinella longiceps* 20% dan kelompok *Sardinella longiceps* 40% memberikan efek pertumbuhan terhadap tinggi tulang kortikal mandibula.

Konsentrasi terapi *Sardinella longiceps* yang mampu memberikan efek terapi terhadap tinggi tulang kortikal mandibula terbesar adalah pada konsentrasi 40%, dibandingkan dengan 10% dan 20%. Gel *Sardinella longiceps* konsentrasi 40% mempunyai efek terapi terhadap tinggi tulang yang lebih efektif pada tikus yang diinduksi *Phorphyromonas Gingivalis*

## SIMPULAN

Terapi gel *Sardinella Longiceps* dapat memberikan efek terapi pada

tinggi tulang kortikal mandibular pada tikus yang diinduksi *Porphyromonas gingivalis*, dengan dosis paling efektif adalah gel *Sardinella Longiceps* 40%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. RISKESDAS. Riset Kesehatan Dasar. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013.
2. Mawaddah N, Arbianti K, Niluh Ringga W. Perbedaan Indeks Kebutuhan Perawatan Periodontal (Cpitr) Anak Normal Dan Anak Tunarungu. *Odonto Dental Journal*. 2017; 4(1). Pp: 44-49.
3. Newman Mg, Takei HH, Klokkevold Pr, Caranza FA. Caranza's Clinical Periodontology, 11<sup>th</sup> ed., Philadelphia: WB Saunders Company; 2012. Pp: 41, 100, 161, 197, 201, 205,241, 265, 290, 430.
4. Hamrun N, Hatta M. Polimorfisme Gen Vitamin D Receptor pada Penderita Periodontitis Kronis. *JST Kesehatan*. 2011; 1(2). Pp: 165-167.
5. Saputri TO, Zala HQ, Arnanda BB, Ardhani R. Saliva as an Early Detection Tool for Chronic Obstructive Pulmonary Disease Risk in Patients with Periodontitis. *Journal of Dentistry*. 2010; 17(3). Pp: 87-95.
6. Kusumawardani B, Pujiastuti P, Sari DS. Uji biokimiawi sistem API 20 A mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. *Jurnal PDGI UNEJ*. 2010; 59(23). Pp:110-114.
7. Yustina AR, Suardita K, Agustin D. Peningkatan Jumlah Osteoklas pada Keradangan Periapikal akibat Induksi Lipopolisakarida *Phorphyromonas Gingivalis*. *JPB*. 2012; 14(3). Pp: 140-144.
8. Hikmah N, Shita ADP. Peran RANKL Pada Proses Resorpsi Tulang Alveolar Kondisi Diabetes. *Stomatognathic (J. K. G. Unej)*. 2013; 10(3). Pp: 105-109.
9. Andriani I. Efektifitas Antara ScallingRoot Planning (SRP) dengan dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacinper Oral Pada Penderita Periodontitis. *IDJ*. 2012; 1(2). Pp: 81-88.
10. Zulfa L, Mustaqimah DN. Terapi Periodontal Non-bedah. *Dentofosa* 2011; 10(1). Pp: 36-41.

11. Sari RP dan Sugiharto Y. The anti-inflammation effects of *Sardinella longiceps* oils against oedema paw of *Rattus novergicus* strain wistar induced with 1% *carrageenan*. *Dental Journal*. 2010; 43(3). Pp: 113-6.
12. Indayani DE. Analisis Maturasi Gigi pada Tikus yang Mengonsumsi *Sardinella longiceps* (*sardinella longiceps*) pada Masa Amelogenesis. FKG UNEJ. 2016; pp: 250-251.
13. Indayani DE. *Sardinella longiceps* (*Sardinella longiceps*), Menurunkan Apoptosis Osteoblas pada Tulang Alveolaris Tikus Wistar. *Dental Journal*. 2013; 46(4). Pp: 185-189.
14. Saptarini NM dan Herawati IE. Comparative Antioxidant Activity On The *Ficus benjamina* and *Annona reticulata* Leaves. *International Journal of public Health Science (IJPHS)*. 2015; 4 (1). Pp: 21-26.
15. Ridwan E. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Artikel Pengembangan Pendidikan Keprofesional Berkelanjutan (P2KB)*. 2013; 63(3). Pp: 2-16.
16. Zecchin KG, Kellermann MG, Sobral LM, Silva SD, Graner E, Lopes MA, Nishimoto I, Kowalsaki LP, Coletta RD. Myofibroblasts in the stroma of oral squamous cell carcinoma are associated with poor prognosis. *Histopathology*. 2007; 51(6). Pp: 849-853.
17. Dahiya P, Kamal R, Gruptan R, Putri A. Oxidative Stress in Chronis Periodontitis. *Chronical of Young Scientist Journal*. 2012; 2(4). Pp: 179-181.
18. Puspitaningrum DH. Pengaruh Pemberian *Sardinella longiceps* (*Sardinella longiceps*) dan Vitamin C Terhadap Jumlah Osteoklas pada Tikus Wistar yang Mengalami Periodontitis. Skripsi. FKG:UNEJ; 2012. Pp: 34.
19. Divilia D, Sari RP, Teguh PB. Efektivitas Kombinasi Grafting Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) dan *Sardinella longiceps* (*Sardinella longiceps*) Terhadap Penurunan Jumlah Osteoklas Pada Proses Bone Repair. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 2015; 9(1). Pp: 21-23
20. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6). Pp:624-30.
21. Kini U, Nandeesh BN. *Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism*. Springer; 2012.
22. Lumbessy, M., Abidjulu, J., & Paendong, J. J. Uji Total Flavonoid Pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Di Desa Waitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2013; 2(1). Pp: 50, 55.
23. Kurniawan A, Budimawan, Darma R. The direction of Development of Fish Processing and Marketing Center in Kecamatan Lekok Pasuruan Regency. Thesis. 2013. Pp: 24-27

## RESEARCH ARTICLE

## Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Apel (*Malus Domestica*) Terhadap Kelarutan Kalsium Gigi

### (Effect Of Apple Gel Extract Application (*Malus Domestica*) On Dental Calcium Solubility)

Delyana Fitria Dewi\*, Martha Mozartha\*, Rini Bikarindrasari\*\*

\*Department of Dental Material, Dentistry Study Program, Faculty of Medicine Universitas Sriwijaya

\*\* RSKGM Provinsi Sumatera Selatan, Palembang, Indonesia

#### ABSTRACT

**Background:** Tooth discoloration is a common problem in dentistry. One of non-invasive treatment is tooth whitening using 10% carbamide peroxide, however these materials had been reported to cause negative impacts on the tooth. Apples are natural sources that have potential to be used as tooth whitening agent. **Objective:** to determine the effect of apple gel extract (*Malus domestica*) as an alternative material of home bleaching on dental calcium solubility. **Methods:** Thirty two premolar teeth were each sectioned into 2 parts and mounted on wax, and divided into 4 groups. The lingual part of the tooth was used to measure the calcium content (pretest) using atomic absorption spectrophotometry, then the bleaching procedure was done on the buccal part of the tooth. Ten percent of carbamide peroxide was applied to group A (control). Apple gel extract (AGE) was made by soxhletation method and used as treatment group. AGE 25%, 50%, and 75% was applied to group B, C, and D respectively. Afterwards all specimens were immersed in distilled water. The calcium content was measured (post test) after 14 days interval. **Result:** The differences between pre and post-test of calcium solubility for group A ( $0,37\pm 0,10$ ); B ( $0,20\pm 0,07$ ); C ( $0,28\pm 0,06$ ); and D ( $0,33\pm 0,05$ ). The result of statistical test showed that there were significant differences between the control group and the treatment group that was group B. **Conclusion:** The application of apple gel extract as an alternative material of home bleaching can dissolve tooth calcium.

**Keywords:** apple gel extract, calcium solubility, home bleaching

**Correspondence:** Martha Mozartha, Dental Material Department, Dentistry Study Program Medical Faculty Sriwijaya University, +6287795591525, [marthamozartha@fk.unsri.ac.id](mailto:marthamozartha@fk.unsri.ac.id)

---

#### PENDAHULUAN

Estetika gigi sangat penting bagi pasien, terutama pada pasien yang mengalami perubahan warna gigi. Perubahan warna gigi ini dipengaruhi oleh faktor ekstrinsik dan intrinsik. Dengan semakin meningkatnya perkembangan kedokteran gigi estetik,

terdapat beberapa pilihan perawatan diskolorasi gigi yang bersifat konservatif. Di antaranya mikroabrasi, makroabrasi, veneer, dan dental bleaching.<sup>1</sup>

Prosedur pemutihan gigi di rumah dengan pantauan dokter gigi



(*home bleaching*) telah digunakan secara luas karena prosesnya sederhana dan efektif untuk menghilangkan *stain* intrinsik maupun ekstrinsik. Bahan yang lazim digunakan untuk prosedur ini adalah berbahan dasar peroksida, yaitu karbamid peroksida dengan konsentrasi 10-22% atau hidrogen peroksida 5.5-7.5%.<sup>2</sup> Meski memberikan hasil yang efektif, penggunaan karbamid peroksida dapat menimbulkan efek samping yang merugikan, di antaranya sensitivitas gigi pasca perawatan dan iritasi pada mukosa.<sup>3</sup> Selain itu, karbamid peroksida akan terurai menjadi hidrogen peroksida dan urea. Urea dapat menyebabkan denaturasi enamel dan amelogenin, yaitu protein yang terkandung dalam komponen matriks di antara prisma email gigi. Hal ini dapat meningkatkan permeabilitas email dan menginduksi perubahan mikrostruktur pada email. Sasaki dalam penelitiannya menyatakan bahwa bahan pemutih yang mengandung karbamid peroksida 10% menyebabkan perubahan pada mikromorfologi email 14 hari pasca *bleaching*.<sup>2</sup>

Penelitian terus dilakukan dalam upaya mencari bahan alternatif lain yang diharapkan tidak bersifat toksik, lebih aman dan lebih sedikit efek samping untuk digunakan sebagai bahan *home bleaching*, misalnya seperti penggunaan buah stroberi. Margaretha dkk. menyatakan bahwa penggunaan pasta stroberi pada gigi selama 2 minggu dapat memutih gigi yang berubah warna, dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan gel karbamid peroksida 10%.<sup>4</sup> Ini sejalan dengan penelitian Pramesti dkk yang mengemukakan bahwa aplikasi jus stroberi menampakkan efek pemutihan pada gigi.<sup>5</sup>

Stroberi mengandung berbagai asam organik, seperti asam sitrat, askorbat, tartarat, elagat dan malat, dan keberadaan asam organik ini mempengaruhi keasaman buah. Pada buah stroberi yang matang, asam organik terbanyak adalah asam sitrat dengan ph berkisar 3.2, sementara kandungan asam malat lebih rendah.<sup>6</sup> Asam organik ini dihubungkan dengan kemampuannya dalam pemutihan gigi, namun di sisi lain suatu penelitian melaporkan bahwa aplikasi pasta buah stroberi menyebabkan terjadinya penurunan kekerasan permukaan email,<sup>7</sup> serta penurunan kadar kalsium gigi.<sup>8</sup>

Selain buah stroberi, sumber alami lainnya yang berpotensi sebagai bahan pemutih gigi alami adalah buah apel (*Malus domestica*). Keasaman buah apel yang dibudidayakan sebagian besar ditentukan oleh asam malat yang merupakan asam organik utama pada buah apel, yang mencapai 90% dari asam organik total. Asam sitrat serta asam organik lainnya juga ditemukan dalam buah apel matang, namun konsentrasinya lebih rendah.<sup>9</sup> Dalam penelitian Stephanie dkk, perendaman gigi tiga kali sehari selama seminggu dalam jus buah apel menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol, meski efek pemutihan ini lebih rendah dibandingkan jus stroberi.<sup>10</sup>

Di Indonesia, buah apel banyak dibudidayakan khususnya di Batu, Jawa Timur, dengan berbagai varietas di antaranya varietas Anna, Rome Beauty, dan Manalagi. Rosidah dkk menganalisis efektivitas jus ketiga varietas tersebut dengan konsentrasi masing-masing 75% sebagai pemutih gigi alami eksternal, hasilnya menunjukkan perubahan warna gigi paling tinggi terdapat pada kelompok perendaman menggunakan buah apel varietas Anna.<sup>11</sup> Sejauh ini belum ada

penelitian tentang pengaruh aplikasi gel ekstrak apel (*Malus domestica*) terhadap kelarutan kalsium gigi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah aplikasi gel ekstrak apel varietas Anna (*Malus domestica*) pada permukaan gigi dapat mempengaruhi jaringan keras gigi, khususnya kadar kalsium dalam gigi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorik yang menggunakan metode *pre test and post test group design*, bertempat di Laboratorium Analisa dan Instrumen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya Indralaya dan Laboratorium Pengujian Terpadu Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya Indralaya.

Subjek penelitian adalah gigi premolar satu rahang atas dan rahang bawah permanen yang diperoleh dari beberapa tempat praktik dokter gigi dan puskesmas di kota Palembang dengan kriteria gigi bebas karies dan tidak terdapat fraktur mikro. Total sampel berjumlah 32 gigi yang dibagi menjadi 4 kelompok (n=8 sampel). Satu kelompok sebagai kontrol yaitu mahkota gigi diaplikasikan karbamid peroksida 10%, dan tiga kelompok perlakuan yaitu mahkota gigi diaplikasikan gel ekstrak apel masing-masing dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%.

### Persiapan sampel gigi

Gigi yang telah diekstraksi dibersihkan dari kalkulus dan kotoran lainnya menggunakan *scaler* manual, kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik yang berisi akuades dan disimpan dalam lemari pendingin. Selanjutnya mahkota gigi dipisahkan dari akar gigi secara horizontal dengan

batas *cemento email junction* (CEJ), kemudian mahkota dipotong secara vertikal pada arah mesiodistal sehingga memisahkan mahkota menjadi dua bagian yaitu bagian bukal dan lingual dengan menggunakan *diamond separating disc* dan irigasi menggunakan air. Potongan gigi ditanam dalam *wax*, lalu pengukuran kelarutan kalsium gigi awal dilakukan pada bagian lingual menggunakan alat spektrofotometri serapan atom (*pre test*).

### Pembuatan Gel Ekstrak Apel

Buah apel varietas Anna sebanyak 2 kg dicuci bersih dipotong dalam ukuran kecil, dikeringkan dalam *dry heat oven* dengan suhu 40°C selama kurang lebih 17 jam hingga diperoleh buah apel kering lalu dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi bubuk. Sebanyak 500 gram bubuk dibungkus dengan kertas saring, diikat dengan benang dan dimasukkan ke dalam alat soklet. Pelarut etanol 70% dimasukkan ke dalam labu soklet sebanyak 750 ml. Sokletasi dilakukan dengan suhu pemanasan 60°-70°C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi. Ekstrak cair kemudian diuapkan sampai bebas dari pelarut etanol menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 83°C selama 3 jam hingga didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100%, kemudian diencerkan dengan akuades hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan. Ekstrak apel dengan berbagai konsentrasi yang telah diperoleh tersebut kemudian dibuat menjadi sediaan gel sesuai dengan formulasi yang tertera pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Formulasi Pembuatan Gel Ekstrak Apel<sup>13</sup>

Nama Bahan	Formulasi Gel Ekstrak Apel 25%	Formulasi Gel Ekstrak Apel 50%	Formulasi Gel Ekstrak Apel 75%
Na CMC	5	5	5
Gliserin	10	10	10
Propilen glikol	5	5	5
Ekstrak apel	25	50	75
Akuades ad	100	100	100
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

### Perlakuan Sampel Gigi

Sampel gigi dikeluarkan dari inkubator lalu dikeringkan dengan tisu, kemudian gel ekstrak apel ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dioleskan pada permukaan email di bagian bukal gigi menggunakan *brush*, ditingkatkan selama 2 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C. Setelah itu sampel gigi dibilas dengan air mengalir selama 20 detik dan dikeringkan dengan tisu, lalu dimasukkan kembali ke dalam wadah plastik kemudian direndam akuades sebanyak 10 ml dan disimpan di inkubator pada suhu 37°C selama 22 jam. Prosedur ini dilakukan setiap hari selama 14 hari. Kemudian dilakukan pengukuran kelarutan kalsium gigi

menggunakan alat spektrofotometri serapan atom (*post test*). Selanjutnya dilakukan pembuatan larutan standar kalsium, dan disimpan dalam wadah botol steril yang ditutup rapat dan diberi label.

### Pengukuran Kelarutan Kalsium Gigi

Sampel gigi dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dihaluskan menjadi bubuk lalu didestruksi kering menggunakan oven dengan suhu 300°C selama  $\pm 1$  jam, kemudian dilarutkan HNO<sub>3</sub> 6,5% sebanyak 10 ml di dalam erlenmeyer dan dipanaskan di atas *hotplate* selama 5 menit dan disaring ke dalam labu ukur menggunakan kertas saring *whatman* no. 1. Kemudian dilakukan analisis kadar kalsium terlarut dari larutan standar kalsium dan larutan sampel gigi tersebut menggunakan alat spektrofotometri serapan atom dengan lampu katoda kalsium dan panjang gelombang kalsium yaitu 422,7 nm. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik.

### HASIL

Data hasil pengukuran kadar kalsium gigi sebelum perlakuan dan setelah perlakuan bahan *dental bleaching* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Kadar kalsium gigi sebelum perlakuan dan setelah perlakuan bahan *dental bleaching*

Kelompok Perlakuan	N	Nilai Rata-Rata (ppm)		Selisih Nilai Rata-Rata (ppm)
		Sebelum	Setelah	
Carbamid peroksida 10%	8	11,83 $\pm$ 3,08	11,46 $\pm$ 3,12	0,37 $\pm$ 0,10
GEA 25%	8	11,31 $\pm$ 3,48	11,11 $\pm$ 3,45	0,20 $\pm$ 0,07
GEA 50%	8	11,78 $\pm$ 1,74	11,50 $\pm$ 1,73	0,28 $\pm$ 0,06
GEA 75%	8	11,42 $\pm$ 3,86	11,08 $\pm$ 3,86	0,33 $\pm$ 0,05

Keterangan = GEA : Gel Ekstrak Apel

Hasil yang diperoleh pada Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat penurunan kadar kalsium gigi antara sebelum perlakuan dan setelah perlakuan menggunakan bahan *dental bleaching*. Data kemudian diuji dengan uji normalitas (*Shapiro Wilk*) dan uji homogenitas (*Levene's test*). Hasilnya menunjukkan nilai  $p > 0,05$  untuk kedua uji tersebut sehingga membuktikan bahwa data bersifat normal dan homogen. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan *paired t-test* antar kelompok sebelum perlakuan dengan kelompok setelah perlakuan. *Paired t-test* dilakukan untuk melihat signifikansi perubahan kadar kalsium gigi sebelum dan setelah aplikasi bahan *dental bleaching*. Hasil *paired t-test* dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil *Paired T-test*

Kelompok	P Value
Carbamid peroksida 10%	,000
GEA 25%	,000
GEA 50%	,000
GEA 75%	,000

Keterangan = GEA : Gel Ekstrak Apel

Hasil *paired t-test* pada Tabel 3 menunjukkan angka probabilitas 0,000 ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kadar kalsium gigi sebelum dan setelah aplikasi bahan karbamid peroksida pada kelompok kontrol dan gel ekstrak apel (GEA) pada kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan *one way ANOVA* yang dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata kelarutan kalsium gigi antar kelompok yang signifikan (Tabel 4).

**Tabel 4.** Hasil uji *one way ANOVA*

	Sig.
<i>Between Groups</i>	,001

Hasil uji *one way ANOVA* yang menggunakan data selisih nilai rata-rata menunjukkan angka probabilitas 0,001 ( $p < 0,05$ ) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kelarutan kalsium gigi yang signifikan. Uji *post hoc LSD* kemudian dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang menunjukkan perbedaan nilai kelarutan kalsium gigi yang signifikan (Tabel 5).

**Tabel 5.** Hasil uji *post hoc LSD*

Kelompok Penelitian	CP 10	GEA 25%	GEA 50%	GEA 75%
	(Kontrol)	(Kontrol)	(Kontrol)	(Kontrol)
Carbamid peroksida 10% (Kontrol)		,000*	,100	,333
GEA 25%			,029*	,001*
GEA 50%				,200
GEA 75%				

Keterangan:

\*: menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada uji *post hoc LSD* ( $p < 0,05$ ).

Hasil uji *post hoc LSD* pada Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai kelarutan kalsium gigi yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kelompok kontrol dengan kelompok GEA 25%. Selain itu juga terdapat perbedaan bermakna antara kelompok GEA 25% dengan kelompok GEA 50%, dan dengan kelompok GEA 75%. Kelompok C yang diaplikasi GEA 50% tidak menunjukkan perbedaan nilai kelarutan kalsium gigi

yang signifikan dengan kelompok A yang diaplikasi karbamid peroksida 10%, dan kelompok D yang diaplikasi GEA 75%.

## PEMBAHASAN

Gigi yang mengalami diskolorasi dapat dirawat dengan prosedur *dental bleaching*, dengan menggunakan produk yang berbahan dasar peroksida. Larutan pemutih karbamid peroksida dengan konsentrasi 10% merupakan bahan standar yang digunakan untuk teknik pemutihan gigi di rumah (*home bleaching*). Studi yang meneliti pengaruh bahan pemutih gigi karbamid peroksida 10% terhadap jaringan keras gigi telah banyak dilakukan, dengan hasil yang bervariasi. Hal ini mengindikasikan bahwa banyak faktor yang mempengaruhi, di antaranya komponen-komponen yang terkandung dalam bahan pemutih dapat memainkan peranan dalam mengubah morfologi permukaan email.<sup>14</sup>

Adanya penurunan kadar kalsium gigi yang signifikan pada kelompok yang diaplikasikan karbamid peroksida 10% dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian Soares dkk, yang mendapati adanya penurunan kalsium dan fosfor setelah aplikasi karbamid peroksida 10% selama 14 hari.<sup>15</sup> Karbamid peroksida akan terurai menjadi hidrogen peroksida dan urea. Pada proses pemutihan gigi, hidrogen peroksida akan mengalami reaksi reduksi oksidasi dan berdifusi melalui matriks email gigi dan akan terurai menjadi perhidroksil ( $\text{HO}_2^-$ ) dan peroksida ( $\text{O}^-$ ).<sup>16</sup> Peroksida ( $\text{O}^-$ ) akan berikatan dengan  $\text{Ca}^{2+}$  yang terdapat pada hidroksiapatit membentuk  $\text{CaO}$ . Pengendapan  $\text{CaO}$  ini menimbulkan efek pemutihan pada gigi, namun ikatan ini sangat lemah sehingga ion  $\text{Ca}^{2+}$

kembali terlepas dan terjadi kelarutan kalsium gigi.<sup>17</sup>

Adanya efek samping akibat penggunaan bahan kimia sebagai pemutih gigi mendorong pemanfaatan bahan alami yang diharapkan memiliki kemampuan setara dalam memutihkan gigi namun dengan efek samping yang minimal. Hasil penelitian Puspasari dkk. menunjukkan bahwa jus apel dengan konsentrasi 75% memberikan efek pemutihan pada gigi pasca perendaman dalam larutan kopi.<sup>18</sup> Kemampuan ini dapat dihubungkan dengan adanya kandungan hidrogen peroksida dalam apel, yang merupakan senyawa oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan sebagai produk sampingan pada jaringan tanaman selama proses metabolisme normal maupun di bawah kondisi berbagai jenis stress. Lu dkk menggunakan metode *chemiluminescence* untuk menentukan konsentrasi  $\text{H}_2\text{O}_2$  pada buah apel (*Malus x domestica*) dan menemukan bahwa kandungan  $\text{H}_2\text{O}_2$  lebih tinggi pada kulit dibandingkan daging buahnya.<sup>19</sup>

Penelitian ini menggunakan gel ekstrak apel (GEA) dengan tiga konsentrasi yaitu 25%, 50% dan 75%. Kadar kalsium setelah aplikasi GEA pada seluruh kelompok perlakuan ini mengalami penurunan jika dibandingkan dengan nilai *pretest*, namun penurunan kadar kalsium ini lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu sampel yang diaplikasikan karbamid peroksida (Tabel 2). Kelarutan kalsium setelah aplikasi GEA dapat dihubungkan dengan asam organik yang terkandung dalam buah apel, yang menentukan derajat keasaman buah. Nour dkk mengevaluasi 15 kultivar apel dengan metode *reversed-phase HPLC* dan mengidentifikasi asam organik yang terkandung dalam apel yang terbanyak adalah asam malat. Asam sitrat dan



asam askorbat juga ditemukan, dengan konsentrasi yang lebih rendah.<sup>20</sup> pH dan konsentrasi asam berhubungan erat dengan erosi gigi. Gel ekstrak apel yang digunakan dalam penelitian ini memiliki pH yang rendah yaitu 3,0 sehingga dapat menyebabkan demineralisasi email gigi.

Dalam penelitian ini, semakin tinggi konsentrasi gel ekstrak apel yang diberikan maka kelarutan kalsium semakin besar. Hasil uji *post hoc* LSD pada Tabel 5 menunjukkan bahwa kelarutan kalsium pada kelompok GEA 25% berbeda bermakna dengan kelompok GEA 50%, begitu juga dengan GEA 75%. Semakin tinggi konsentrasi dari gel ekstrak apel yang diberikan, maka jumlah kandungan asam yang berdifusi ke dalam struktur gigi akan semakin banyak, sehingga proses demineralisasi gigi akan semakin meningkat. Kelarutan kalsium gigi pada gel ekstrak apel 25% menghasilkan kelarutan kalsium terendah dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, namun efektivitas pemutihannya masih perlu diteliti lebih lanjut.

Tingkat keasaman dan konsentrasi hidrogen peroksida pada buah apel dipengaruhi oleh banyak faktor di antaranya tingkat kematangan buah, jenis/varietas buah, kondisi tanah, dan masa panen.<sup>9,19</sup> Oleh karena itu potensi pemanfaatan buah apel sebagai bahan pemutih gigi masih membutuhkan penelitian lebih lanjut untuk menyeleksi jenis apel yang dapat memberikan efek pemutihan yang maksimal dengan efek samping yang minimal.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa aplikasi gel ekstrak apel 25%, 50%, dan

75% sebagai bahan alternatif *home bleaching* dapat melarutkan kalsium gigi, namun kelarutan kalsium gigi pada gel ekstrak apel 25% menghasilkan kelarutan kalsium yang lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Jyothi M, Girish K, Mounika A, Jyothirmayi BS, Bhargav K, Sonam A. Conservative Management of Discoloured Anterior Teeth – A Case Series. *Sch. J. Dent. Sci.*, 2016; 3(2),pp:58-62
2. Sasaki RT, Arcanjo AJ, Florio FM, Basting RT. Micromorphology And Microhardness Of Enamel After Treatment With Home-Use Bleaching Agents Containing 10% Carbamide Peroxide And 7.5% Hydrogen Peroxide. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(6):611-6
3. Meizarini A, Rianti D. Bahan Pemutih Gigi dengan Sertifikat ADA/ISO. *Dental Journal Majalah Kedokteran Gigi.* 2005; 38(2), pp: 73–76.
4. Margaretha J, Rianti D, Meizarini A. Perubahan Warna Enamel Gigi Setelah Aplikasi Pasta Buah Stroberi dan Gel Karbamid Peroksida 10%. *Material Dental Journal.* 2009; 1(1), pp: 16–20
5. Pramesti A, Jasrin TA, Hidayat OT. Teeth re-whitening effect of strawberry juice on coffee stained teeth *Padjadjaran Journal of Dentistry* 2013;25(1), pp:15-20.
6. Mahmood T, Anwar F, Abbas M, Boyce MC, Saari N. Compositional Variation in Sugars and Organic Acids at Different Maturity Stages in Selected Small Fruits from Pakistan. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13
7. Santoso P, Rianti D, Meizarini A.: Kekerasan permukaan email setelah aplikasi gel Dentofasial, Vol.8, No.2, Oktober 2009; pp:118-124
8. Yuniarti, Achadiyahani, Nani M. Penggunaan Pemutih Gigi Mengandung Hidrogen Peroksida 40% Dibanding dengan Strawberry (*Fragaria x ananassa*) terhadap Ketebalan Email, Kadar Kalsium, dan Kekuatan Tekan Gigi. *Global Medical and Health Communication.* 2016; pp:7–15.
9. Determination of Predominant Organic Acid Components in Malus Species: Correlation with Apple Domestication. *Metabolites* 2018, 8, 74; doi:10.3390/metabo804007
10. Stephanie et al. Differences in the tooth whitening effect between strawberry juice and apple juice in-vitro *Padjadjaran Journal of Dentistry* 2012;24(1) pp:65-70.



11. Rosidah NA, Erlita I, Ichrom MY. Perbandingan Efektivitas Jus Buah Apel (*Malus sylvestris Mill*) Sebagai Pemutih Gigi Alami Eksternal Berdasarkan Varietas. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 2017; 1(1), pp: 1-5.
12. Wiryani M, Sujatmiko B, Bikarindrasari R. Pengaruh Lama Aplikasi Bahan Remineralisasi Casein Phosphopeptide-Amorphous Phosphate Fluoride (CPP-ACPF) Terhadap Kekerasan Email. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2016; 2(3), pp: 2-3
13. Mappa T, Edy HJ, Kojong N. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucida (L.) H.B.K*) dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2013; 2(2), pp: 49-56
14. Türkün M, Sevgican F, Pehlivan Y, Aktener BO, Effects of 10% Carbamide Peroxide on the Enamel Surface Morphology: A Scanning Electron Microscopy Study. *Esthet Restor Dent*. 2002; 14, pp:238–244
15. Soares DG, Ribeiro APD, Sacono NT, Loguercio AD, Hebling J, Costa CA). Mineral Loss and Morphological Changes in Dental Enamel Induced by a 16% Carbamide Peroxide Bleaching Gel. *Brazilian Dental Journal*. 2013; 24(5), pp:517–521
16. Alma R, Adang F, Suprastiwi E, Usman M. Pemutihan Gigi Teknik Home Bleaching dengan Menggunakan Karbamid Peroksida. *IJD*. 2006, pp: 4-8
17. Syafriadi M, Noh TC. Pengukuran Kadar Kalsium Saliva Terlarut pada Gigi yang Dilakukan Eksternal Bleaching dan Dipapar dengan *Streptococcus Mutans*. *Jurnal PDGI*. 2014; 63(2), pp:3-4.
18. Puspasari N, Effendi M, Nugraeni Y. Effect of Apple Juice on Whitening Teeth After Immersion in Coffee Solution. *IDJ*. 2012; 1(2), pp: 17–19
19. Lu S, Song J, Palmer LC. A modified chemiluminescence method for hydrogen peroxide determination in apple fruit tissues. *Scientia Horticulturae* 120. 2009; pp:336–341
20. Nour V, Trandafir I, Ionica ME. Compositional characteristics of fruits of several apple (*Malus domestica* Borkh.). *Cultivars not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 38 (3) 2010; pp:228-233

## RESEARCH ARTICLE

## Pengaruh Pasta Cangkang Telur Ayam Negeri Terhadap Email Gigi

*(Effect of Domestic Chicken Eggshell Paste Against Dental Email)*

Any Setyawati\*, Febri Silviana\*\*

\*Program Studi Kedokteran Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

\*\*Program Pendidikan Dokter Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

### ABSTRACT

**Background:** Dental caries is caused by interactions between microorganisms, food, teeth, and time which can reduce the pH of the oral cavity to become acidic. The decrease in pH in the oral cavity can cause the demineralization process of teeth in the form of dissolved hydroxyapatite crystals which are the main constituents of tooth enamel. Hydroxyapatite which dissolves continuously can cause the formation of microporosity in tooth enamel. Domestic chicken eggshells contain high calcium carbonate. Calcium carbonate can be converted into hydroxyapatite through the precipitation method, so that hydroxyapatite produced from domestic chicken eggshells can be used as a substitute for hydroxyapatite enamel which is soluble due to the influence of acid. **Objective:** To determine the effect of domestic chicken eggshell paste on email. **Research Methods:** Types of experimental laboratory research. Five permanent premolar teeth were applied to acid etching for 60 seconds, so that enamel microporosity was formed and observation was carried out with a Scanning Electron Microscope (SEM). Furthermore, the application of chicken eggshell paste for 30 minutes for 14 days and observed by SEM. **Results:** a visible decrease in the enamel microporosity of tooth formed due to acid etching, in the form of email porosity closed after application of chicken eggshell paste for 14 days. **Conclusion:** domestic chicken eggshell paste can influence the surface of enamel.

**Keywords:** Eggshell paste, domestic chicken eggs, tooth enamel

**Correspondence:** Any Setyawati Bagian Konservasi Gigi Program Studi Kedokteran Gigi FKIK UMY, Jl., Brawijaya, Ringroad Lingkar Selatan, Tamantirto, Kasihan, Daerah Istimewa Yogyakarta. Telp. 08122717309 / (0274) 618123. E-mail: [evakg\\_96@yahoo.co.id](mailto:evakg_96@yahoo.co.id).

---

## PENDAHULUAN

Karies merupakan penyakit jaringan keras gigi yang diakibatkan oleh interaksi produk-produk mikroorganisme, saliva, email, dan bagian yang berasal dari makanan<sup>1</sup>. Keadaan ini menyebabkan menurunnya pH saliva menjadi asam sehingga dapat merusak struktur mineral gigi<sup>2</sup>. Mineral utama email gigi yaitu kalsium dan fosfat yang tersusun dalam Kristal hidroksiapatit<sup>3</sup>. Ion asam dapat berpenetrasi kedalam prisma email, sehingga dapat menyebabkan larutnya ion mineral yang berada dibawah permukaan gigi, hal ini disebut sebagai proses demineralisasi<sup>4</sup>. Proses demineralisasi menyebabkan terbentuknya porus pada email gigi. keadaan ini merupakan permulaan demineralisasi pada struktur dalam email gigi<sup>5</sup>.

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan, pembuatan hidroksiapatit telah banyak dikembangkan sebagai implan tulang maupun gigi yang rusak<sup>6</sup>. Sifat utama hidroksiapatit adalah biokompatibel, osteokonduktif, osteoinduktif, bioaktif, non inflamasi, non imunogenik dan memiliki kemampuan membentuk ikatan dengan sekitarnya<sup>7</sup>. Hidroksiapatit banyak dihasilkan dari bahan alami yang mengandung tinggi kalsium dalam bentuk kalsium karbonat<sup>8</sup>.

Dalam melakukan pemilihan bahan alami untuk sintesis hidroksiapatit didasarkan pada besarnya kandungan kalsium. Cangkang telur ayam negeri mengandung kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) paling tinggi yaitu 98,2 % dibandingkan cangkang telur bebek (28,26 %) dan cangkang telur puyuh (33,23 %) <sup>9</sup>.

Kalsium karbonat yang terdapat pada cangkang telur ayam dapat diubah menjadi hidroksiapatit atau senyawa kalsium, sehingga dapat digunakan sebagai pembentukan tulang dan gigi yang rusak<sup>10</sup>. Kalsium karbonat yang terdapat pada cangkang telur ayam negeri dapat dijadikan hidroksiapatit melalui metode sol gel, presipitasi kimia basah, metode hidrotermal

dan iradiasi gelombang mikro<sup>7</sup>. Pada penelitian yang akan dilakukan menggunakan metode presipitasi kimia basah. Hidroksiapatit berupa serbuk putih yang terbentuk melalui metode presipitasi digunakan sebagai bahan pengganti hidroksiapatit yang larut akibat demineralisasi email dan dijadikan dalam bentuk sediaan pasta agar pengaplikasian bahan terhadap permukaan gigi menjadi lebih mudah.

Untuk dapat melihat gambaran permukaan email gigi berupa mikroporositas setelah aplikasi etsa asam dan gambaran permukaan gigi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam dapat menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM) karena memiliki perbesaran obyektif sampai berjuta kali sehingga dapat melihat mikroporositas email gigi<sup>7</sup>.

Tujuan penelitian ini untuk melihat pengaruh pasta cangkang telur ayam negeri terhadap email gigi.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah *experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Teknologi Farmasi, Laboratorium Teknik Mesin, dan Ruang Skills Lab Terpadu Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 5 gigi premolar rahang atas dan bawah yang bebas karies. Mahkota gigi dipotong menggunakan separating disk arah mesio distal, pada sisi bukal gigi.

Proses presipitasi diawali dengan membersihkan cangkang telur ayam dari kotoran kemudian memisahkan selaput lendir putih yang berada di dalamnya. Cangkang telur ayam yang sudah bersih dikeringkan dengan suhu 110°C selama 2 jam, lalu dihancurkan hingga halus menggunakan blender kemudian disaring.

Setelah itu dilakukan kalsinasi dengan suhu 1000°C selama 5 jam. Pembuatan larutan kalsium dengan cara menggabungkan 2,6110 g CaO dengan 100 ml asam nitrat 65% dan 100 ml aquabides. Larutan yang dihasilkan diatur hingga menjadi pH 10 dengan menambahkan amonium hidroksida dan buffer. Setelah larutan kalsium dibuat, kemudian dilakukan pembuatan larutan fosfat dengan cara menggabungkan 3,9615g kristal diamonium hidrogen fosfat dan 10 ml aquabides. Setelah itu ditambahkan lagi aquabides sampai 100 ml. Selanjutnya dilakukan sintesis hidroksiapatit dengan cara memasukkan 100 ml larutan fosfat ke dalam larutan kalsium setetes demi tetes dengan pemanasan 40°C dan dengan kecepatan pengadukan 300 rpm. Pengadukan tetap dilanjutkan tanpa pemanasan selama 30 menit setelah larutan fosfat habis direaksikan. Selanjutnya dilakukan presipitasi atau penyaringan selama 24 jam. Hasil presipitasi disaring menggunakan kertas whatman no.42 lalu dicuci dengan aquabides. Setelah itu dikeringkan dengan suhu 110°C selama 5 jam, kemudian disintering pada suhu 1000°C selama 5 jam yang bertujuan mendapatkan hasil berupa serbuk putih halus yang mengandung hidroksiapatit.

Serbuk putih yang mengandung hidroksiapatit dibuat dalam sediaan pasta dengan cara memanaskan 1 ml aquades lalu menambahkan 0,25 gram nipagin dan 0,1 gram NaCMC. Hidroksiapatit hasil sintesis cangkang telur ayam dibasahi dengan 1 gram gliserol. Selanjutnya mencampurkan 0,05 gram mentol dengan alkohol hingga larut, setelah itu dicampur dengan kalsium hidroksiapatit yang sudah dibasahi dengan aquabides dan gliserol, selanjutnya ditambahkan nipagin dan NaCMC sehingga didapatkan hasil dalam sediaan pasta.

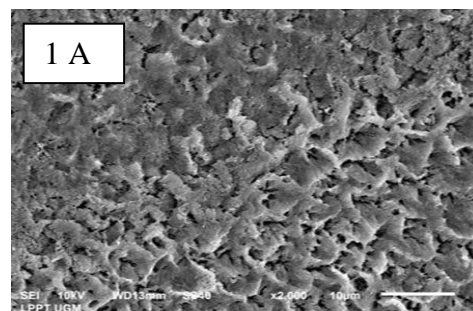
Sampel diberi perlakuan dengan pengolesan asam fosfat 37% pada permukaan bukal gigi selama 60 detik, kemudian permukaan sampel dilihat menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan perbesaran 2000 kali. Selanjutnya sampel diolesi pasta

cangkang telur ayam pada bagian bukal gigi selama 30 menit setiap harinya, dan dilakukan selama 14 hari kemudian dilihat menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM).

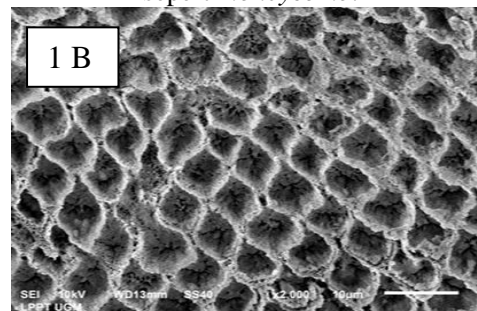
## HASIL

Pengamatan dilakukan dengan membandingkan hasil permukaan email gigi setelah diolesi etsa asam dan hasil permukaan email gigi setelah diolesi pasta cangkang telur ayam selama 2 minggu.

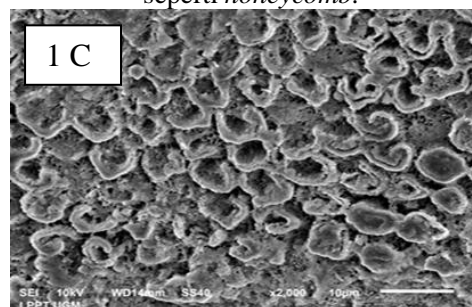
Hasil permukaan email gigi setelah aplikasi etsa asam selama 60 detik dan dilakukan pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* dengan perbesaran 2000x, tampak ada 5 macam gambaran pada 5 sampel sebagai berikut :



**Gambar 1A.** Permukaan email gigi berbentuk seperti *honeycomb*.

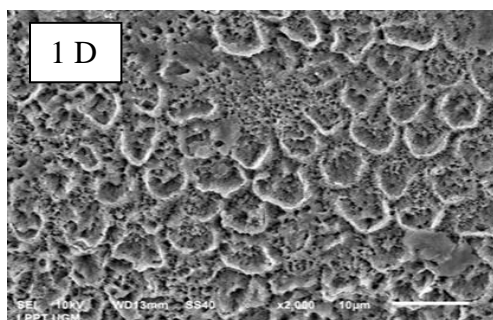


**Gambar 1B.** Permukaan email gigi berbentuk seperti *honeycomb*.

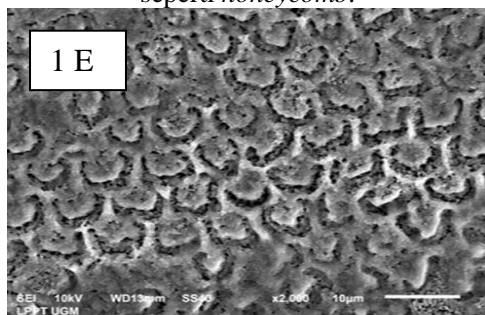


**Gambar 1C.** Permukaan email gigi, berbentuk seperti *honeycomb*.





**Gambar 1D.** Permukaan email gigi berbentuk seperti *honeycomb*.



**Gambar 1E.** Permukaan email gigi berbentuk seperti batu bulat.

Gambar gigi (1.A) Gambaran email gigi menunjukkan adanya permukaan yang halus dan kasar. Cekungan yang terdapat pada permukaan email gigi membentuk seperti sarang lebah (*honeycomb*).

Gambar gigi (1.B) Menunjukkan permukaan email gigi yang berbentuk seperti sarang lebah (*honeycomb*) yang merupakan tipe dari beberapa tipe permukaan email setelah etsa asam. Pada gambar (1.B) menunjukkan hilangnya kristal apatit lebih besar dibandingkan pada gambar (1.A) sehingga enamel rod lebih terlihat jelas pada gambar (1.B).

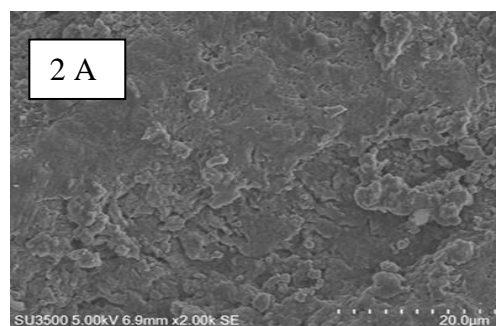
Gambar gigi (1.C) Menunjukkan adanya beberapa area yang halus dan area cekungan yang dalam pada pusat prisma permukaan email gigi. Permukaan email terlihat berbentuk seperti sarang lebah (*honeycomb*).

Gambar gigi (1.D) Menunjukkan adanya cekungan pada pusat prisma email yang disebabkan karena hilangnya kristal apatit pada permukaan enamel rod sehingga enamel rod dapat terlihat. Hilangnya prisma email pada gambar (1.D) pasca pengaplikasian etsa asam tidak begitu dalam jika dibandingkan dengan hilangnya kristal apatit pada gambar (1.B) dan (1.C). Pada

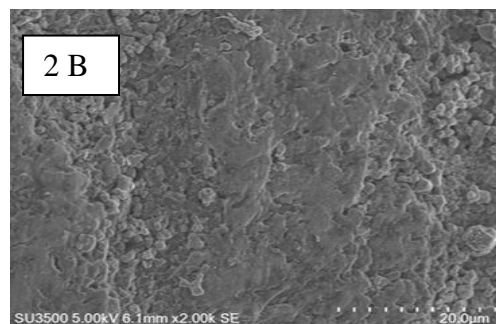
gambar (1.D) prisma email yang terlihat berbentuk seperti sarang lebah (*honeycomb*) merupakan tipe 1 dari beberapa tipe permukaan email gigi setelah etsa asam.

Gambar gigi (1.E) Menunjukkan adanya beberapa area yang halus dan area yang dalam seperti berbentuk huruf “u”. Area yang berbentuk seperti huruf “u” disebabkan karena hilangnya kristal apatit pada bagian perifer prisma atau kepala prisma dan interrod email, sedangkan pada bagian pusat prisma terlihat utuh sehingga memberikan tampilan seperti batu bulat yang merupakan tipe 2 dari beberapa tipe permukaan email gigi setelah etsa asam.

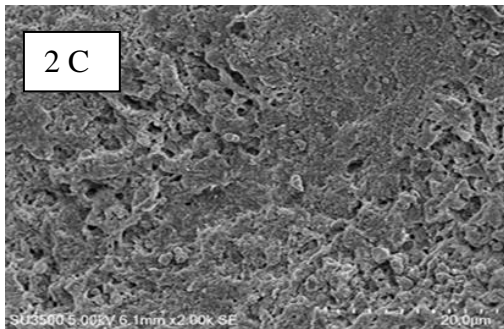
Hasil permukaan email gigi setelah aplikasi pasta cangkang telur selama 14 hari dan dilakukan pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* dengan perbesaran 2000x, adalah sebagai berikut :



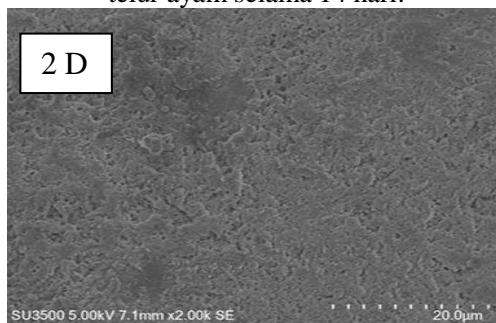
**Gambar 2A.** Permukaan email gigi (awalnya gambar 1A) setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam selama 14 hari.



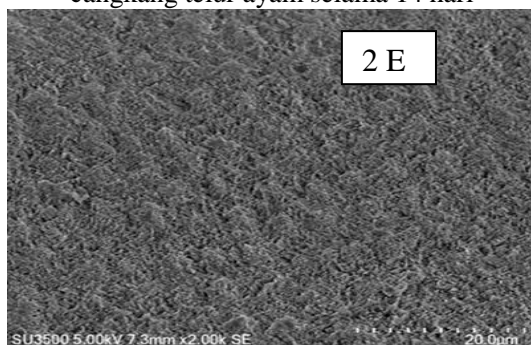
**Gambar 2B.** Permukaan email gigi (awalnya gambar 1B) setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam selama 14 hari



**Gambar 2C.** Permukaan email gigi (awalnya gambar 1C) setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam selama 14 hari.



**Gambar 2D.** Permukaan email gigi (awalnya gambar 1D) setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam selama 14 hari



**Gambar 2E.** Permukaan email gigi (awalnya gambar 1 E ) setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam selama 14 hari.

Pada gambar 2 menunjukkan gambaran permukaan email gigi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam. Terlihat struktur gigi dengan kekasaran dan porositas yang mulai berkurang berupa menutupnya porositas beberapa permukaan gigi dengan terlihat adanya permukaan yang halus pada email gigi. Terbentuknya mikroporositas yang disebabkan oleh etsa asam, memungkinkan kalsium berupa hidroksiapatit yang terdapat pada pasta cangkang telur ayam masuk ke dalam mikroporositas yang ada. Masuknya hidroksiapatit ini dapat menyebabkan

menutupnya mikroporositas permukaan email gigi, sehingga mengindikasikan terjadinya proses remineralisasi. Pada semua sampel gigi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam menunjukkan gambaran permukaan email gigi yang berbeda beda.

Pada gambar (2.A) tampak tertutupnya porositas dan permukaan email gigi yang terlihat kasar. Pada gambar (2.B) tampak tertutupnya porositas dengan permukaan email gigi yang terlihat kasar dan pada beberapa bagian yang masih terdapat porositas. Pada gambar (2.C) tampak tertutupnya porositas dengan permukaan email gigi yang terlihat kasar dan pada beberapa bagian masih terlihat jelas porositasnya dengan ukuran yang besar. Pada gambar (2.D) tampak tertutupnya porositas dengan permukaan struktur email gigi yang halus dan masih terdapat porositas di sekitarnya dengan ukuran yang kecil. Pada gambar (2.E) tampak permukaan struktur email gigi yang kembali halus.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang dilakukan pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM), permukaan email yang telah diaplikasikan asam fosfat 37%, memperlihatkan terjadinya pelarutan mineral email gigi sehingga struktur email gigi menjadi kasar, terdapat porositas, dan hilangnya sebagian prisma email. Asam fosfat 37% merupakan bahan yang digunakan dalam kedokteran gigi untuk mengetsa email dan dentin yang dapat menghasilkan permukaan berpori (porus), karena larutnya kristal apatit pada prisma email<sup>11</sup>.

Pada gambar 1 terlihat adanya porositas permukaan email gigi setelah aplikasi etsa asam. Pada gambar gigi (1.A), (1.B),(1.C), (1.D), menunjukkan hilangnya kristal apatit pada pusat prisma email, dan pada gambar gigi (1.E) menunjukkan hilangnya kristal apatit pada tepi atau pinggiran prisma email. Larutnya kristal apatit akibat terpaparnya etsa asam dapat menghasilkan beberapa pola pada



permukaan email gigi, seperti: tipe 1, larutnya kristal apatit pada pusat prisma email. Tipe 2, larutnya kristal apatit pada pinggiran prisma. Tipe 3, larutnya kristal apatit dengan pola demineralisasi yang tidak teratur<sup>11</sup>. Terdapat 5 pola permukaan gigi setelah aplikasi etsa asam: 1). Hilangnya kristal apatit pada inti prisma, sehingga menghasilkan gambaran seperti sarang lebah (*honeycombe*). 2). Hilangnya kristal apatit dari pinggiran prisma, sehingga menghasilkan gambaran seperti batu bulat. 3). Terdapat campuran pola tipe 1 dan tipe 2. 4). permukaan dan struktur email gigi terlihat seperti peta atau jaringan yang belum selesai. 5). Permukaan email gigi terlihat rata dan halus<sup>12</sup>. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh oleh peneliti ketika melakukan pengolesan etsa asam pada permukaan bukal email gigi, dengan hasil permukaan gigi berupa seperti sarang lebah pada gambar (1.A), (1.B) (1.C), (1.D) dan seperti batu bulat pada gambar (1.E).

Pada gambar 2 setelah dilakukan aplikasi pasta cangkang telur ayam selama 14 hari terjadi penurunan jumlah dan kedalaman mikroporositas email, yang disebabkan karena terjadinya proses remineralisasi. Bubuk cangkang telur ayam mengandung kalsium tinggi, yang berperan dalam proses remineralisasi gigi<sup>13</sup>. Ion fosfat dan kalsium berperan dalam pembentukan kembali kristal hidroksiapatit pada email gigi dalam proses remineralisasi<sup>14</sup>. Cangkang telur ayam dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembentukan hidroksiapatit melalui metode presipitasi, semakin meningkatnya kandungan hidroksiapatit maka morfologi porositasnya akan semakin bagus (menutup)<sup>15</sup>.

Hidroksiapatit adalah bahan keramik kalsium fosfat, yang merupakan bahan biomaterial untuk dapat meningkatkan peroses penyembuhan dalam fase anorganik jaringan keras tulang, dan gigi karena memiliki sifat biokompatibilitas yang baik<sup>4</sup>. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya perubahan struktur permukaan email gigi yaitu berkurangnya mikroporitas email gigi yang menandakan

kristal hidroksiapatit dapat berpenetrasi kedalam permukaan email sehingga terjadinya remineralisasi gigi. Remineralisasi dapat terjadi jika terdapat ion kalsium dan fosfat yang cukup, sehingga dapat menghambat penguraian hidroksiapatit dan melakukan pembentukan kembali kristal hidroksiapatit yang telah larut. Tingginya konsentrasi kalsium dan fosfat dapat meningkatkan presipitasi pada mikroporositas email, sehingga mikroporositas email dapat tertutup<sup>13</sup>.

## SIMPULAN

Pasta cangkang telur ayam negeri dapat berpengaruh terhadap email gigi. Porositas email gigi tampak berkurang setelah dilakukan pengolesan pasta cangkang telur ayam negeri selama 14 hari.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ramayanti, S, Purnakarya, I, Peran makanan terhadap kejadian karies gigi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2013; 7(2). Pp: 89-93.
2. Rahayu, YC, Peran agen remineralisasi pada lesi karies dini. *Jurnal kedokteran gigi unej*. 2013; 10(1). Pp: 25-30.
3. Syahrial, AA, Rahmadi, P, Putri, DK., Perbedaan kekerasan permukaan gigi akibat lama perendaman dengan jus jeruk (*Citrus sinensis*. Osb) secara in vitro. *Dentino (Jur. Ked. Gigi)*. 2016; 1(1). Pp: 1-5.
4. Dianti, F., Triaminingsih, S., Irawan, B.. Pengaruh pasta gigi siwak dan pasta gigi nano kalsium karbonat terhadap kekerasan email yang terdemineralisasi. 2014
5. Panigoro, S., Pangemanan, D.H.C., Juliatri, Kadar kalsium gigi yang terlarut pada perendaman minuman isotonik. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 2015: 3(2). Pp: 356-360.
6. Noviyanti, A.R., Haryono., Pandu, R., & Eddy, D.R. Cangkang telur ayam sebagai sumber kalsium dalam pembuatan hidroksiapatit untuk aplikasi graft tulang. *Chimica et Natura Acta*. 2017; 3(5). Pp: 107-111.
7. Rana, M., Akhtar, N., Rahman, S., Jamil, H.M., & Asaduzzaman, S.M., Extraction of hydroxyapatite from bovine and human cortical bone by thermal decomposition and effect of gamma radiation: a comparative study. *Int J Complement Alt Med*. 2017; 8(3). Pp: 1-10.
8. Fitriawan, M., Amalia. S.R., Saputra, B.A., Setyawati. E., Yulianto, A., & Aji, M.P., Sintesis hidroksiapatit berbahan dasar tulang sapi dengan metode pretipitasi sebagai kandidat pengganti graft berdasarkan compressive strength. 2014. Pp: 1-5

9. Saleha., Halik, M., Annisa, N., Sudirman., & Subear., Sintesis dan karakterisasi hidroksiapatit dari nanopartikel kalsium oksida (cao) cangkang telur untuk aplikasi dental implan. Prosiding Pertemuan Ilmiah XXIX HFI. Jateng & DIY. 2015.
10. Farzadi, A., Hasjin, M.S., Bakhshi, F., Aminian, A., Synthesis and characterization of hydroxyapatite/b-tricalcium phosphate nanocomposites using microwave irradiation. *Ceramics International*. 2011; 37. Pp: 65–71.
11. Diana, D., Florea, A., Mihai, C., Campeanu, R., Nicola, C., The use of scanning electron microscopy in evaluating the effect of a bleaching agent on the enamel surface. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2009; 50(3). Pp:435-440
12. Marchetti, E., Guida, A., Carlo, D.C., Guisepe, L., Eramo, S., The morphological effect of the acquired pellicle on acid-etched enamel: a scanning electron microscopy analysis. *OHDM*. 2014; 13(2). Pp: 1-6
13. Mony, B., Ebenezar, A.V., Ghani, M.F., Narayanan, A., S, A., & Mohan, A.G., Effect of chicken egg shell powder solution on early enamel carious lesions: an invitro preliminary study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015; 9(3). Pp: 30-32
14. Widyaningtyas, V., Rahayu, Y.C., Barid, I., Analisis peningkatan remineralisasi enamel gigi setelah direndam dalam susu kedelai murni (*Glycine max (L.) Merrill*) Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM). Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. 2014.
15. Apriningtyaswati, N., Barid, I., & Indahyani, D.E., Analisis efek ekstrak polifenol biji kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap ukuran dan morfologi *Streptococcus mutans* menggunakan scanning electron microscope (SEM). Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. 2012. Pp: 1-7.

## RESEARCH ARTICLE

## Efektivitas Ekstrak Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) Terhadap Penurunan Leukosit Tikus Wistar yang Mengalami Ulkus Traumatikus

(Effectiveness of Java Chili Extract [*Piper retrofractum* Vahl.] to Leukocyte Reduction on Wistar Rats with Traumatic Ulcers)

Rizky Nurhidayah\*, Risyandi Anwar\*, Lisa Oktaviana Mayasari\*

\* Pediatrics Dentistry Department, Faculty of Dentistry, Muhammadiyah Semarang University,

### ABSTRACT

**Background:** Oral traumatic ulcer is an ulcerative lesion of the oral mucosa caused by trauma. The prevalence of traumatic ulcers is quite high between the other oral lesions. Handling traumatic ulcer use corticosteroids that have the effect of increase the growth of *Candida sp.* in the oral cavity (candidiasis). **Objective:** To determine the effect of Java chili extract (*Piper retrofractum* Vahl.) on leukocyte reduction in Wistar rats with traumatic ulcer. **Methods:** This is experimental laboratory study with pre and post test with a control group design. The research sample using 20 male Wistar rats, weight  $\pm 150$  grams, 2-3 months old, divided into 4 treatment groups, (K1) group with untreated ulcers, (K2) rats with ulcers treated with iodine, (K3) rats with ulcers treated with java chili extract 50%, (K4) rats with ulcers treated with java chili extract 100%. The research was analyzed by different test with dependent sample t test. **Results:** The results showed a value of  $p < 0.05$  for all comparisons between the two groups showed that there were differences between the two groups compared have a significant difference in the number of leukocytes so it was known that Java chili extract decreased the number of leukocytes in Wistar rats with traumatic ulcers. **Conclusion:** Java chili extract (*Piper retrofractum* Vahl.) was effective in decreased the number of leukocytes in Wistar rats with traumatic ulcers.

**Keywords:** Java chili, leukocytes, traumatic ulcer.

**Correspondence:** Risyandi Anwar, Pediatrics Dentistry Department, Faculty of Dentistry, Muhammadiyah Semarang University, Kedungmundu Road 22 Semarang, Phone: +62-852-9505-9685, email: [riezdrngms@gmail.com](mailto:riezdrngms@gmail.com).

---

## PENDAHULUAN

Ulkus traumatikus merupakan lesi ulseratif pada mukosa mulut yang disebabkan oleh trauma. Lesi ini memiliki gambaran klinis dengan eksudat fibrin berwarna kekuningan di tengah dengan tepi eritema.<sup>1</sup> Etiologi yang paling sering menjadi penyebab ulkus traumatik adalah trauma mekanik atau fisik.<sup>2</sup> Contoh dari trauma fisik yaitu gigitan, plat ortodontik, sikat gigi, dan makanan. Lokasi yang sering kali terkena trauma fisik berupa gigitan adalah mukosa bukal, bibir, dan lidah.<sup>3</sup> Makanan yang tajam dan berpotensi melukai mukosa juga dapat menyebabkan ulkus traumatik.<sup>2</sup>

Pengobatan ulkus traumatikus dilakukan dengan penggunaan obat kortikosteroid topikal yang diketahui efektif menangani nyeri dan mempercepat durasi penyembuhan ulkus mulut<sup>3,4</sup>, tetapi penggunaan kortikosteroid dalam jangka panjang memiliki efek samping yaitu meningkatnya pertumbuhan *Candida sp.* dalam rongga mulut yang dapat menyebabkan kandidiasis.<sup>5,6</sup>

Cabe jawa mengandung antioksidan yang tinggi dan senyawa *piperine* yaitu senyawa yang dapat menstimulasi aliran saliva, mempengaruhi peningkatan aktifitas buffer yang ada di dalam saliva sehingga pH saliva juga akan meningkat dan membantu penyembuhan lesi karena memiliki sifat antipiretik, analgesik, antifungi, dan antibakteri.<sup>7,8</sup>

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan *pre and post test control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang untuk pengujian pada hewan coba yang akan dilakukan selama tujuh hari. Pengambilan data dilakukan pada bulan Mei tahun 2018. Alat yang digunakan yaitu alat destilasi uap dan air, evaporator, *Erlenmeyer*, pipet hematokrit, *hemocitometer*, *microtube*, *hand counter*, *microhematokrit*, EDTA, mikroskop, tabung *ependorf*, hematologi *analyzer*. Bahan yang digunakan yaitu gel ekstrak cabe jawa dengan konsentrasi 50% dan 100% serta iodine 10%. Bahan untuk pemeriksaan leukosit absolut yaitu reagen kit leukosit (TURK<sup>IR</sup> 0060544-B).

Pembuatan ekstrak cabe jawa yaitu dengan cara buah cabe jawa dikeringkan dibawah sinar matahari setelah itu ditimbang kemudian dihaluskan menggunakan alu. Setelah cabe jawa berbentuk serbuk, selanjutnya akan dilakukan proses maserasi 1x24 jam dengan pelarut metanol 100%, lalu disaring. Langkah terakhir yaitu dilakukan evaporasi menggunakan evaporator dengan suhu 40 derajat dan tekanan 337 mBar yang bertujuan untuk memekatkan larutan.<sup>9</sup>

Pengujian pada hewan coba dilakukan pada tikus *Wistar* yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu

kelompok I: 5 ekor tikus dengan ulkus yang tidak diobati, kelompok II: 5 ekor tikus dengan ulkus yang diobati dengan iodine 10%, kelompok III: 5 ekor tikus dengan ulkus yang diobati dengan gel ekstrak cabe jawa 50%, kelompok IV: 5 ekor dengan ulkus yang diobati dengan gel ekstrak cabe jawa 100%. Setiap kelompok perlakuan, gel diaplikasikan dengan cara dioleskan pada ulkus.

Pembuatan ulkus dilakukan pada mukosa labial bawah tikus *Wistar* menggunakan *burnisher* berdiameter 2 mm yang dipanaskan diatas *Bunsen spiritus* hingga ujung *burnisher* berwarna merah menyala, kemudian disentuhkan ke mukosa labial bawah tikus selama 1 detik dengan kedalaman 2 mm.<sup>10</sup> Setelah 24 jam dilakukan observasi apakah sudah terbentuk ulkus atau tidak. Jika sudah terbentuk ulkus dilakukan pengambilan darah pada canthus sinus orbitalis mata tikus, yang bertujuan sebagai data awal sebelum dilakukan perlakuan. Tikus *Wistar* diberikan perlakuan selama tujuh hari. Setelah hari ketujuh, darah Tikus *Wistar* tiap kelompok akan diambil untuk dilakukan perhitungan jumlah leukosit absolutnya dengan cara dihitung total leukosit yang berada dalam 4 kotak besar. Leukosit tampak seperti bercak-bercak hitam. Rumus jumlah leukosit per  $\mu\text{m}$  adalah: sel-sel yang terhitung x 20 (1:20) x 10 (0,1mm) : 4 (jumlah kotak dalam  $\mu\text{m}^2$ ) atau jumlah sel yang terhitung dalam kotak dikalikan 50.

## HASIL

Hasil penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak cabe jawa terhadap penurunan

leukosit tikus wistar yang mengalami ulkus traumatikus, jumlah leukosit pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

**Tabel 1.** Rerata Jumlah Leukosit

Kelompok	Rerata jumlah leukosit (sel/mm <sup>3</sup> )	
	H2	H8
K1 (Kontrol negatif)	5875	10535
K2 (Iodine)	6126	5720
K3 (Gel ekstrak cabe jawa 50%)	5880	5244
K4 (Gel ekstrak cabe jawa 100%)	6242	4385

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa rerata jumlah leukosit pada hari kedua (pretest) dan hari ke delapan (posttest), pada kelompok kontrol negatif terdapat peningkatan jumlah leukosit pada H2 dibanding H8 sedangkan pada kelompok perlakuan baik iodine maupun ekstrak cabe jawa terdapat penurunan jumlah leukosit pada H2 dibanding H8. Kelompok kontrol negatif rerata jumlah leukositnya tertinggi diantara ketiga kelompok lainnya, hal ini dikarenakan ulkus traumatikus yang tidak diberikan pengobatan dapat menunda proses penyembuhan ulkus.

Penghitungan jumlah leukosit pada seluruh kelompok perlakuan yang berbeda tersebut selanjutnya dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dengan  $\alpha$  5% ( $p > 0,05$ ). Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dimana pada tiap kelompok perlakuan menunjukkan sebaran data yang normal ( $p > 0,05$ ) dengan demikian



seluruh data yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdistribusi normal.

Uji parametrik berikutnya menggunakan uji *Levene Test* guna mengetahui homogenitas dari data penelitian yang dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 3.** Hasil uji *Levene's test*

<i>Levene test</i>	K. Negatif	K. Positif	K. Perlakuan 1	K. Perlakuan 2
Sig	0,014**	0,477*	0,032**	0,128*

Keterangan: \* = varian data homogen dengan  $\alpha$  5% ( $p > 0,05$ ).

Hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene Test* didapati nilai signifikansi data pada keempat kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2 menunjukkan data bersifat homogen sehingga memenuhi persyaratan untuk dilanjutkan menggunakan Uji *dependent t-test* dilakukan dengan cara menghitung selisih antara pretest dan post test. dengan  $p > 0,05$ . Data penelitian yang dapat dilihat pada tabel berikut:

**Tabel 4.** Hasil uji *Dependent t-test*

Kelompok	Selisih $\bar{x} \pm SD$	P- Value
K. Negatif	-4660 $\pm$ 1753,89	0,004*
K. Positif	406,5 $\pm$ 183,16	0,008*
K. Perlakuan 1	636,2 $\pm$ 386,79	0,021*
K. Perlakuan 2	1856,6 $\pm$ 771,85	0,006*

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa jumlah leukosit pada kelompok kontrol negatif terdapat

peningkatan jumlah leukosit dengan rata-rata sebesar  $-4660 \pm 1753,89$ . Rata-rata jumlah leukosit pada kelompok kontrol positif didapati hasil dimana jumlah leukosit pada kelompok iodine mengalami penurunan jumlah leukosit dengan rata-rata sebesar  $406,5 \pm 183,16$ . Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak cabe jawa 50% didapati hasil dimana jumlah leukosit mengalami penurunan jumlah leukosit dengan rata-rata sebesar  $636,2 \pm 386,79$ . Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak cabe jawa 100% didapati hasil dimana jumlah leukosit mengalami penurunan jumlah leukosit dengan rata-rata sebesar  $1856,6 \pm 771,85$ . Tabel tersebut menunjukkan nilai  $p < 0,05$  untuk semua perbandingan antar dua kelompok yang menunjukkan bahwa antar dua kelompok yang dibandingkan memiliki perbedaan rerata jumlah leukosit yang bermakna sehingga diketahui bahwa ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) berpengaruh dalam menurunkan jumlah leukosit pada tikus *Wistar* dengan ulkus traumatikus, dalam hal ini kelompok perlakuan 2 lebih berpengaruh dalam menurunkan jumlah leukosit dibandingkan dengan kelompok lainnya.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian mengenai efektivitas ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) terhadap penurunan leukosit tikus *Wistar* yang mengalami ulkus traumatikus didapatkan kelompok yang diberi ekstrak cabe jawa konsentrasi 100% menunjukkan penurunan leukosit absolut tertinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol

negatif, kelompok kontrol positif dan ekstrak cabe jawa dengan konsentrasi 50%. Didapatkan nilai  $p < 0,05$  antara kelompok kontrol negatif terhadap kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) dan iodine berpengaruh terhadap penurunan rerata jumlah leukosit pada tikus dengan ulkus traumatikus dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan perlakuan.

Penelitian ini memakai iodine sebagai kontrol positif disebabkan karena iodine merupakan obat kumur terstandar yang sudah dipakai. Pengaruh ekstrak cabe jawa terhadap penurunan leukosit didapat dari kandungan cabe jawa berupa senyawa *piperine*, yang dapat menstimulasi aliran saliva, mempengaruhi peningkatan aktivitas buffer yang ada di dalam saliva sehingga pH saliva juga akan meningkat dan membantu penyembuhan lesi karena memiliki sifat antipiretik, analgesik, antifungi, dan antibakteri.<sup>1</sup>

Penurunan jumlah leukosit ini dikarenakan efek kandungan pada tanaman cabe jawa. Cabe jawa mengandung beberapa kandungan senyawa aktif yaitu saponin, flavonid, serta minyak atsiri. Hasil uji fitokimia pada ekstrak metanol cabe jawa menunjukkan hasil positif pada sterol, glikosida, flavonoid, tanin dan alkaloid, memiliki aktivitas antioksidan lebih besar, serta mengandung senyawa *piperine*<sup>9,10,11</sup>. Kandungan saponin dan flavonoid dalam cabe jawa dapat membantu proses penyembuhan luka karena berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba yang mempengaruhi penyembuhan luka juga mempercepat

epitelisasi<sup>12,13</sup>. Kandungan saponin dalam cabe jawa berperan dalam regenerasi jaringan dalam proses penyembuhan luka<sup>14</sup>.

Kandungan saponin mempunyai kemampuan sebagai pembersih atau antiseptik. Saponin dapat memicu *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan meningkatkan jumlah makrofag bermigrasi ke area luka sehingga meningkatkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di jaringan luka<sup>15</sup>. Kandungan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan juga antiinflamasi<sup>5,16</sup>. Onset nekrosis sel dikurangi oleh flavonoid dengan mengurangi lipid peroksidasi. Penghambatan lipid peroksidasi dapat meningkatkan viabilitas serat kolagen, sirkulasi darah, mencegah kerusakan sel dan meningkatkan sintesis DNA, sementara minyak atsiri mengandung *kavicol* dan *phenol* yang berguna sebagai antimikroba, antibakteri dan disinfektan<sup>17,18</sup>. Ekstrak cabe jawa dengan konsentrasi 100% paling efektif menurunkan jumlah leukosit, terlihat dari nilai signifikansi yang paling kecil dan selisih ( $1856,6 \pm 771,85$ ) yang paling besar ( $p\text{-value}=0,006$ ).

## SIMPULAN

Ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) efektif terhadap penurunan jumlah leukosit pada tikus *Wistar* yang mengalami ulkus traumatikus.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Laskaris G. *Color Atlas of Oral Diseases*. 3rd edition. Thieme: New York; 2003
2. Chanwitheesuk A, Teerawutgulrag A, and Rakariyatham N. *Screening of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds of Some Edibles Plants of Thailand*. Chiang Mai: Food Chem; 2005.
3. Coulthard P, Horner K, Sloan P, Theaker ED. *Master Dentistry: Oral and Maxillofacial Surgery, Oral and Maxillofacial Surgery Radiology, Pathology, and Oral Medicine*. Elsevier Science Limited: United Kingdom; 2013; pp:305-409.
4. Eisen D, dan Lynch DP. *Selecting Topical and Systemic Agents for Recurrent Aphthous Stomatitis*. USA; 2001. Cutis.
5. Harborne JB dan Williams CA. *Advances in Flavonoid Research Since 1992*. Phytochemistry; 2000; pp: 481-504.
6. Jadid N. dkk. *Antioxidant activities of different solvent extracts of Piper retrofractum Vahl. Using DPPH assay. AIP Conference Proceeding*; 2017. 1854.
7. Jadid N. dkk. *Proximate composition, nutritional values and phytochemical screening of Piper retrofractum Vahl. Fruits.*; 2018. 8(1): p. 37-43.
8. Kimura Y, Sumiyoshi M, Kawahira K, dan Sakanaka M. *Effects of Ginseng Saponins Isolated from Red Ginseng Roots on Burn Wound Healing in Mice*. British Journal of Pharmacology; 2006; 148: pp: 860-870.
9. Badan POM RI. *Acuan Sediaan Herbal*. Vol. 5. Edisi I. Direktorat Obat Asli Indonesia. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. 2010; pp:30-31.
10. Mujayanto R, Harijanti K, and Hernawan. *Topical application of 1% ZnSO<sub>4</sub> on oral ulcers increase the number of macrophages in normal or diabetic conditions of wistar rats*. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi); 2016; 49(3), pp:133-136. doi:http://dx.doi.org/10.20473/j.djmk.v49.i3.p:133-136
11. Musthapa I dan Gumilar GG. *Isolation of Piperin From the Fruit of Piper Retrofractum*; 2016; pp:6-9.
12. Myers SL dan Curran AE. *General and Oral Pathology For Dental Hygiene Practice*. F.A. Davis Company. Philadelphia. 2014; pp:46-7
13. Nafiu O, Mikhail A, Adewumi M, Yakubu, Toyin M. *Phytochemical and Mineral Constituents of Cochlospermum planchonii (Hook. Ef. X Planch) Root*. Bioresearch Bulletin. 2011; 5 pp:51-56
14. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral Maxillofacial Pathology*. 3rd Edition. Elsevier: New Delhi; 2009; p:178
15. Park dkk. *Protection of Burn-Induced Skin Injuries by the Flavonoid Kaempferol*. BMB Reports; 2010; 43(1) pp: 46-51.
16. Reddy BK, Gowda S, dan Arora AK. *Study of Wound Healing Activity of Aqueous and Alcoholic Bark Extracts of Acacia catechu on Rats*. RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences; 2011; 1(3) pp: 220-225
17. Saroja M, Santhi R dan Annapoorani S. *Wound Healing Activity of Flavonoid Fraction of Cynodon dactylon in Swiss Albino Mice*. International Research Journal of Pharmacy; 2012; 3(2): 230- 231.
18. Savage NW dan McCullough MJ. *Topical Corticosteroids in Dental Practice*. Aust. Dent. J; 2005.

## RESEARCH ARTICLE

## Efektivitas Penambahan Hidroksiapatit Terhadap Penurunan Porositas Basis Resin Akrilik Heat Cured

*(Effectivity Of Adding Hydroxyapatite for Reducing Porosity on Heat Cured Acrylic Resin Base)*

Ronaldo Triputra Chondro\*, Chaterina Diyah Nanik K.\*, Rima Parwati Sari\*\*

\*Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

\*\*Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

### ABSTACT

**Background:** Tooth loss can be treated by using dentures. Heat cured acrylic resins are the most common denture base materials but it has porosity that causing leftover food, plaque, bacteria, and Candida specially *Candida albicans* to adhere. Hydroxyapatite is chemical compound that can reduce residual monomer which causing porosity inside heat cured acrylic resin base denture. **Purpose:** to determine the effectivity of adding hydroxyapatite powder for reducing porosity of heat cured resins acrylic based denture. **Methods:** Sample were acrylic resin plate (20x10x4mm) divided into 4 groups, control group was acrylic resin without hydroxyapatite, and the treatment group was added with hydroxyapatite with concentration 2%, 5%, and 10%. After the polymerization are finished the sample was soaked on aquadest for 1 day and weighed using electronic weighing scale. The data tested with One Way ANOVA and followed by LSD test. **Results:** The average of porosity level on Control, treatment 1, treatment 2, treatment 3 group were 8,53%;7,75%,4,74%,5,55%. There are significant different in the porosity level between the control group and all treatment groups ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Hydroxyapatite with concentration 2%, 5%, and 10% showing effectivity on reducing porosity level on heat cured acrylic resins base plate

**Keywords:** Acrylic Resin, Hydroxyapatite, porosity level.

**Correspondence:** Chaterina Diyah Nanik K., Department of Prosthodontic, Faculty of Dentistry, Hang Tuah University, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Phone 081235678853, Email: [chaterina\\_drg@yahoo.com](mailto:chaterina_drg@yahoo.com)

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Kehilangan gigi dapat dilakukan perawatan dengan menggunakan gigi tiruan. Resin akrilik *heat cured* merupakan bahan basis gigi tiruan yang paling banyak digunakan namun memiliki kekurangan yaitu adanya porositas yang menyebabkan melekatnya sisa makanan, plak, mikro organisme, dan *Candida* terutama *Candida albicans*. Hidroksiapatit merupakan senyawa yang dapat menurunkan monomer sisa yang menjadi salah satu penyebab adanya porositas pada basis resin akrilik *heat cured*. **Tujuan:** untuk mengetahui efektivitas penambahan serbuk hidroksiapatit terhadap penurunan tingkat porositas pada basis gigi tiruan resin akrilik *heat cured*. **Metode:** Sampel yang digunakan adalah resin akrilik (10x4x4mm) yang dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok kontrol tanpa hidroksiapatit dan 3 kelompok perlakuan yang diberi hidroksiapatit 2%, 5%, dan 10%. Kemudian setelah dipolimerisasi sampel direndam pada aquadest selama 1 hari lalu ditimbang menggunakan timbangan elektronik. Data kemudian diolah dengan uji One Way Anova dan dilanjutkan dengan uji LSD. **Hasil:** Rata-rata tingkat porositas pada K, P1, P2, P3 adalah 8,53%; 7,75%; 4,74%; 5,55%. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan seluruh kelompok perlakuan ( $p < 0.05$ ). **Simpulan:** Hidroksiapatit dengan konsentrasi 2%, 5%, dan 10% menunjukkan efektivitas mengurangi tingkat porositas pada plat resin akrilik *heat cured*.

**Kata Kunci:** Hidroksiapatit, Porositas. Resin akrilik

**Korespondensi:** Chaterina Diyah Nanik K., Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Arif Rahman Hakim 150, Sukolilo, Surabaya, Telp 081235678853, Email: chaterina\_drg@yahoo.com

---

## PENDAHULUAN

Bahan dasar basis gigi tiruan lepasan yang paling sering dipakai adalah resin akrilik polimetil metakrilat jenis *heat cured*.<sup>1</sup> Hingga saat ini, resin akrilik *heat cured* masih menjadi pilihan utama sebagai bahan pembuat basis gigi tiruan lepasan dengan prevalensi penggunaan resin akrilik *heat cured* sebagai bahan basis gigi tiruan dari tahun 1940-an hingga saat ini adalah 95%.<sup>1</sup> Resin akrilik *heat cured* memiliki sejumlah keunggulan diantaranya mudah dimanipulasi, ekonomis, estetik yang cukup memuaskan, penyerapan air yang rendah, memiliki konduktivitas termal yang baik.<sup>2</sup> Namun resin akrilik juga memiliki kekurangan antara lain adanya

porositas yang dapat mempengaruhi kekasaran permukaan basis gigi tiruan resin akrilik *heat cured*.<sup>3</sup>

Berdasarkan penelitian oleh Lahama *et al* (2015), sebanyak 83,95% dari 81 pengguna gigi tiruan terkena *denture stomatitis*. Porositas pada akrilik dan adanya saliva didalam rongga mulut dapat membentuk pelikel yang menyebabkan sisa makanan, plak, mikroorganisme, dan *Candida* terutama *Candida albicans* mudah menempel pada permukaan basis gigi tiruan.<sup>5</sup> *Candida albicans* dapat melakukan penetrasi dan melekat pada permukaan basis gigi tiruan sehingga dapat melepaskan endotoksin yang dapat merusak mukosa rongga mulut dan menyebabkan terjadinya *denture stomatitis*.<sup>6</sup> Pengurangan porositas pada



basis gigi tiruan diharapkan mengurangi pelikel yang terbentuk sehingga jamur *Candida albicans* yang berpenetrasi ke dalam basis gigi tiruan menjadi berkurang dan akan menurunkan prevalensi terjadinya *denture stomatitis*.<sup>7</sup>

Porositas yang terjadi pada resin akrilik ada dua jenis yaitu *gaseous porosity* atau *internal porosity* dan *contraction porosity*. Porositas yang terbentuk pada bagian yang tebal dan jauh dari sumber panas disebut sebagai *gaseous porosity* atau *internal porosity*. *Gaseous porosity* terbentuk akibat penguapan monomer sisa yang tidak bereaksi sehingga terbentuk rongga udara yang disebut porositas.<sup>8</sup> *Gaseous porosity* merupakan gelembung gas yang terjadi pada permukaan bagian dalam lempeng akrilik dimana letaknya jauh dari sumber panas.<sup>9</sup>

Pada penelitian yang dilakukan oleh Hassan *et al* (2014) ditemukan bahwa penambahan 2% atau 5% hidroksiapatit ke plat resin akrilik *heat cured* meminimalisir monomer sisa dan menghasilkan tekstur yang lebih homogen tanpa reaksi kimia. Hassan *et al* (2014) mendapatkan bahwa penambahan hidroksiapatit sebanyak 5% masih menghasilkan monomer sisa yang cukup banyak walaupun sudah berkurang dari penambahan dengan konsentrasi 2%. Jumlah monomer ideal pada suatu basis resin akrilik *heat cured* adalah 0,2%-0,5%.<sup>9</sup> Kandungan monomer sisa yang larut dalam saliva dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi atau alergi terhadap jaringan rongga mulut.<sup>11</sup>

Hidroksiapatit digunakan pada basis resin akrilik karena hidroksiapatit memiliki termodinamik yang stabil, memiliki biokompatibilitas yang sangat baik, dan menjadi 65-70% komponen tulang sehingga hidroksiapatit tidak menyebabkan reaksi alergi.<sup>12</sup>

Sampai saat ini belum ada penelitian tentang penambahan hidroksiapatit untuk penurunan porositas resin akrilik *heat cured* sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan hidroksiapatit dengan konsentrasi 2%, 5% dan menambahkan satu kelompok perlakuan dengan konsentrasi hidroksiapatit 10% dalam menurunkan porositas basis resin akrilik *heat cured*.

## METODE PENELITIAN

Bahan dari penelitian ini adalah resin akrilik *heat cured* dan powder hidroksiapatit murni. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2018 di Departemen Teknik Material dan Metalurgi Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember dan Laboratorium Biomaterial Universitas Hang Tuah Surabaya.

Jenis penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan Rancangan penelitian *randomized post-test only control group design*. Unit eksperimen dalam penelitian ini ada 4 kelompok. Dimana 1 kelompok merupakan kelompok kontrol dan 3 kelompok sisanya merupakan kelompok yang diberi perlakuan. Satu kelompok di polimerisasi tanpa penambahan hidroksiapatit dan dijadikan sebagai kelompok kontrol, kelompok perlakuan pertama diberi penambahan hidroksiapatit 2% kemudian dipolimerisasikan, Kelompok perlakuan kedua diberi penambahan hidroksiapatit 5% kemudian dipolimerisasikan, dan kelompok perlakuan ketiga diberi penambahan hidroksiapatit 10% kemudian dipolimerisasikan.

Tahapan kerja dimulai dengan pembuatan *mould space* berukuran 21x11x5mm



**Gambar 1.**

Kemudian dilakukan penambahan hidroksiapatite pada kelompok P1, P2, dan P3.



**Gambar 2.**

Kemudian dilakukan pengisian akrilik heat cured pada *mould space* lalu di kering. Penghitungan persen hidroksiapatite dilakukan dengan menggunakan rumus:

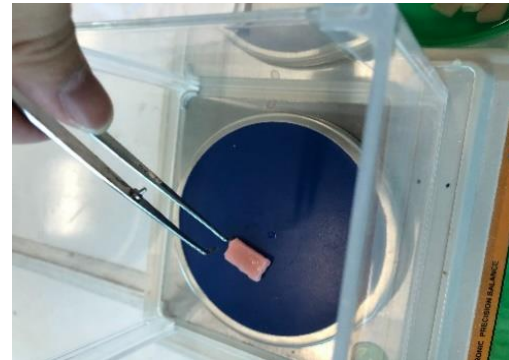
$$\%HA = \frac{\text{Massa Hidroksiapatit}}{\text{Massa Powder dan Liquid}} \times 99\%$$

Setelah akrilik dipolimerisasi tahap selanjutnya adalah penimbangan massa kering dengan menggunakan timbangan elektronik, lalu sample direndam dalam aquades selama 1 hari



**Gambar 3.**

Setelah 1 hari sample ditimbang untuk mendapatkan massa basah. Penghitungan porositas dilakukan menggunakan rumus Archimedes yaitu:



**Gambar 4.**

$$\phi = \frac{M_b - M_k}{M_k} \times 100\%$$

Keterangan:

$\phi$  = Persen Porositas dari sampel

$M_b$  = Massa Sampel Basah

$M_k$  = Massa Sampel Kering

Kemudian hasil dicatat dan dianalisis menggunakan SPSS 22.0.

### HASIL

Teknik pengambilan sample pada penelitian ini adalah *purposive sampling*.

Data yang diperoleh dari hasil penelitian (lampiran) ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif dengan tujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan ringkasan data guna memperjelas penyajian hasil.

**Tabel 1.**

Kelompok	Replikasi	Rerata± SD
K	7	8,53%±2,1%
P1	7	7,75%±1%
P2	7	4,74%±0,55%
P3	7	5,55%±0,69%

Setelah didapatkan data hasil penelitian, dilakukan penghitungan normalitas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk.

Hasil uji Shapiro-Wilk memiliki nilai signifikansi  $P > 0,05$  sehingga data hasil penelitian uji porositas basis resin akrilik *heat cured* dinyatakan normal.

Hasil Uji Homogenitas memiliki nilai signifikansi  $P > 0,05$  sehingga data dinyatakan homogen.

Setelah dinyatakan normal dan Homogen maka data dilakukan uji Analisis One Way ANOVA dengan *post hoc* LSD.

Hasil Uji One Way ANOVA diperoleh signifikansi  $P < 0,05$  sehingga terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol.

**Tabel 2.** Hasil Uji LSD

(I) Kelo mpok	(J) Kelo mpok	Mean Difference (I-J)	Sig.
K	P1	1,28571*	,023*
	P2	4,29571*	,000*
	P3	3,48571*	,000*
P1	P2	3,01000*	,000*
	P3	2,20000*	,000*
P2	P3	-,81000	,140

Hasil Uji LSD didapatkan perbedaan yang bermakna  $P < 0,05$  antar kelompok kecuali kelompok P2 dan P3.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas penambahan hidroksiapatit terhadap penurunan porositas plat resin akrilik *heat cured*. Senyawa hidroksiapatit ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ) merupakan senyawa yang memiliki struktur sangat halus serta tidak larut dalam saliva sehingga dan meninggalkan rongga udara karena partikel hidroksiapatit tidak larut pada saliva keluar dari plat resin akrilik *heat cured*.<sup>13,14</sup> Pada penelitian ini digunakan hidroksiapatit dengan konsentrasi 2%(P1), 5%(P2), dan 10%(P3). Pada penelitian ini juga dilakukan

penghitungan porositas resin akrilik *heat cured* tanpa penambahan hidroksiapatit sebagai kelompok kontrol. Salah satu sifat resin akrilik *heat cured* adalah menimbulkan porositas saat proses polimerisasi karena meninggalkan monomer sisa yang larut pada saliva saat digunakan oleh pasien.<sup>9</sup> Penelitian Hassan *et al* (2014) menyatakan bahwa hidroksiapatit dengan konsentrasi 2%, dan 5% dapat menurunkan monomer sisa pada plat resin akrilik *heat cured*.

Pada hasil penelitian kelompok kontrol mendapat rerata porositas sebesar 8.53%, kelompok P1 mendapat rerata porositas sebesar 7.75%, kelompok P2 mendapat rerata sebesar 4.74%, dan kelompok P3 mendapat rerata sebesar 5.55%. Terdapat beda signifikan antara kelompok P1 dengan K, hal ini disebabkan karena pada kelompok K tidak diberi hidroksiapatit sehingga monomer tidak ada yang terikat dengan hidroksiapatit. Sedangkan pada kelompok P1 terdapat hidroksiapatit yang mengikat monomer sehingga rerata porositas pada P1 lebih kecil daripada kelompok K. Hal ini juga terjadi pada kelompok P2 dan P3 terhadap kelompok K.

Terdapat beda signifikan antara kelompok P2 dan P1, hal ini disebabkan karena konsentrasi hidroksiapatit pada kelompok P1 lebih sedikit daripada kelompok P2 sehingga pada kelompok P2 monomer sisa yang terikat lebih banyak. Hal ini dibuktikan dengan hasil rerata kelompok P2 lebih kecil porositasnya dibandingkan dengan kelompok P1. Begitu pula dengan kelompok P3 dan P1.

Menurut hasil penelitian diperoleh hasil yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara P2 dan P3 dengan peningkatan porositas pada P3. Hal ini disebabkan karena penambahan partikel yang terlalu banyak dapat menyebabkan defek pada

bahan sehingga menyebabkan pengendapan partikel didalam resin, dan penambahan partikel yang berlebih ketika telah mencapai titik jenuh matriks akan menyebabkan diskontinuitas matriks resin.<sup>15</sup>

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan hidroksiapatit memiliki peran dalam menurunkan porositas plat resin akrilik *heat cured*.

## SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Penambahan hidroksiapatit pada saat polimerisasi resin akrilik *heat cured* efektif terhadap penurunan persen porositas pada plat resin akrilik *heat cured*. Penambahan konsentrasi 5% hidroksiapatit pada resin akrilik *heat cured* merupakan konsentrasi paling efektif dalam menurunkan porositas basis resin akrilik *heat cured*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Tandon R, Gupta S & Agarwal S. Denture Base Material: From Past To Future. *IJDS*. 2010; 2(2), pp. 33-8.
2. Carr, A. Mccracken'S Removable Partial Prosthodontics. In: London: Elsevier, 2010; pp. 103.
3. Fakhriyana E, Salim S & Rostini. Efektivitas Minyak Kayu Manis Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni. *Journal of Prosthodontics*, 2010; 1(2), pp. 19-23.
4. Lahama L, Wowor VN. & Waworuntu OA. Angka Kejadian Stomatitis Yang Diduga Sebagai Denture Stomatitis Pada Pengguna Gigi Tiruan Di Kelurahan Batu Kota Manado. *Mikrobiologi Fakultas Kedokteran*, 2015; 4(4), pp:71.
5. Lie FW, Salim S & Rostini. Pengaruh Sinamat Aldehid Minyak Kayu Manis Terhadap Kekuatan Impak Resin Akrilik. *Journal of Prosthodontics*, 2010; 1(2), pp:8-14.
6. Wijaya A, Endah A & Djahhari M. Daya Hambat Ekstrak Teh Hijau Terhadap Candida Albicans Rongga Mulut. *Oral Medicine Dental Journal*, 2011; 3(1), pp:1-4.
7. Gaib Z. Faktor – Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Terjadinya Kandidiasis Eritematosa Pada Pengguna Gigitiruan Lengkap. 2013; pp: 7.
8. Andrian D. Perubahan Warna Pada Lempeng Resin Akrilik Polimerisasi Panas Setelah Perendaman Dalam Ekstrak Daun Jambu Biji 30%. In: Medan: Universitas Sumatera Utara, 2015; pp:11.
9. Annusavice KJ. Phillips: Buku Ajar Ilmu Bahan Kedokteran Gigi. In: 10 ed. Michigan: Universitas Michigan, 1996; pp:94-108.
10. Hassan ZJ, Hatim NA & Taqa AA. Study The Ftir Of Hydroxyapatite Additive To Heat Cured Acrylic Resin. *Al Rafidain Dent J*, 14(1), 2014; pp:32-36.
11. Diansari V, Fitriyani S & Haridhi FM. Studi Pelepasan Monomer Sisa Dari Resin Akrilik Heat Cured. *Cakradonya Dent J*, 2016; 8(1), pp:1,62.
12. Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E & Jamshidi A. Synthesis Methods For Nanosized Hydroxyapatite With Diverse Structures. *Acta Biomaterialia*, 2013; 9, pp:7591-7621.
13. Fatimah DA. Sintesis Dan Karakterisasi Hidroksiapatit Sebagai Fase Diam Kolom Kromatografi Untuk Pemurnian Fikobiliprotein *Oscillatoria Sp.*. In: Bandar Lampung: Universitas Lampung, 2016; pp:1-4.
14. Mozartha M. Hidroksiapatit Dan Aplikasinya Di Bidang Kedokteran Gigi. *Cakradonya Dent J*, 2015; 7(2), pp: 836.
15. Handayani S. Pengaruh Penambahan Zirkonium Oksida Pada Bahan Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas Terhadap Kekuatan Impak Dan Transversal. In: Medan: Universitas Sumatera Utara, 2017; pp: 58

## CASE REPORT

## Sialostent for Warthon's Duct Repair in Submandibular Sialolithiasis in Pediatric Patient

Yosaphat Bayu Rosanto\*, Maria Goreti Widiastuti\*\*, Poerwati Soetji Rahajoe\*

\*Departement of Oral and Maxillofacial Surgery, Dentistry Faculty, Universitas Gadjah Mada

\*\*Departement of Oral and Maxillofacial Surgery, RSUP Dr. Sardjito

### ABSTRACT

**Background:** Sialolithiasis is disease found in the salivary glands which is marked by obstruction of salivary secretion by salivary gland stone. Submandibular gland is the highest predilection for sialolithiasis with 80% occurrence rate. The gland stones in Wharton's duct cause ductal stenosis and inflammation that causing pain. The main purpose of surgery on sialolithiasis is not only to take salivary gland stones, but the most important thing is to maintain the warthon duct as an outlet for the submandibular salivary glands. **Objective:** This paper explains case of sialolithiasis related to the management of Warthon's duct repair surgery with sialostent in pediatric. **Case:** A 5 years-old female patient came to our hospital with a complaint of swealing in the floor of the mouth for 2 weeks that sometimes disturbing when eating. Clinical examination revealed a mobile 5 mm swealing and inflamation in the floor of the mouth in the sublingual caruncle. Ultrasoundgraphy examination results showed a picture of a very hyperechoic circle measuring 3 mm. Patient was planned for surgical removal of gland stone and Warthon's duct repair with sialostent under general anesthesia. **Case management:** The suture technique for sialostent fixation is an important key to the success of this surgery, especially in children, because children often feel uncomfortable and want to remove this sialostent that appears intraorally. Result of this successful surgery is the Warthon's duct can be maintained without relapse. Good soft tissue healing and normal salivary gland function. There was no complications in this surgical result. Sialolithectomy in combination with sialostent is a promising method for repairing the Wharthon duct. **Conclusion:** This method is able to correct the unfavorable curvature of the Warthon duct, prevent stenosis, and avoid sublingual caruncle closure due to inflammatory and healing processes.

**Keywords:** Warthon's duct repair, ductoplasty, sialolithectomy, ultrasoundgraphy, submandibular salivary gland

**Correspondence:** Yosaphat Bayu Rosanto, Universitas Gadjah Mada. Jl. Denta 1, Sekip Utara, Bulaksumur, Caturtunggal, Depok, Sleman, DI. Yogyakarta. Phone: 081938648956. Email: [yosaphatbr@ugm.ac.id](mailto:yosaphatbr@ugm.ac.id).

---



## INTRODUCTION

Sialolithiasis is the most common salivary gland disorder. 1.2% unilateral salivary gland swelling is sialolithiasis. Submandibular glands are the most predilections of sialolithiasis, which is 80%, followed by 19% parotid gland and 1% sublingual gland<sup>[1]</sup>. Sialolithiasis generally appears between the ages of 30 and 60, and it rarely occurs in children. Sialolithiasis in children is only 3% of all cases of sialolithiasis have been reported. Men are twice as affected as women<sup>[2]</sup>. Since most cases of sialolithiasis in children are rarely discussed in the literature, this paper explains case of sialolithiasis in 5 years old child related to the management of Warthon's duct repair surgery with sialostent.

Sialolithiasis is a common disease in adults, rarely found in cases of children. Cases of pediatric sialolithiasis report no more than 150 reports<sup>[3,4]</sup>. This disease is the formation of glandular obstruction that is influenced by pH, mucin content, and  $Ca^{2+}$  concentration in saliva. The formation of stones in the salivary gland duct requires a long process. This is what causes cases of sialolithiasis rarely occur in pediatric. Debris, bacteria, and foreign substances can also cause the formation of glandular stones. However, the sublingual caruncle and Wharton's duct in children are very small. This is also one of the reasons sialolithiasis rarely occurs in children<sup>[5,6]</sup>.

The main purpose of surgery on sialolithiasis is not only to take salivary

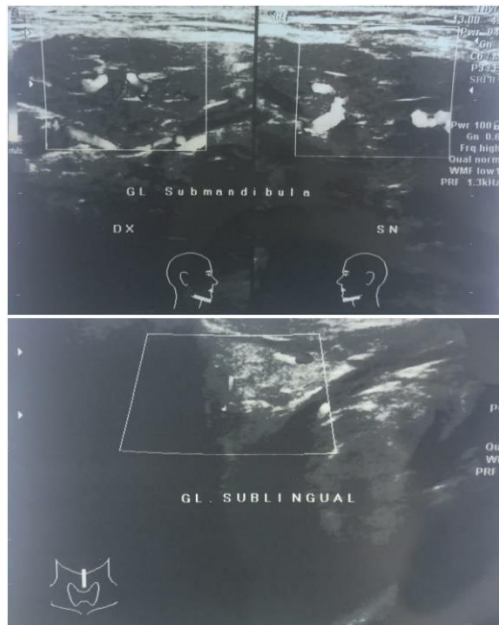
gland stones, but the most important thing is to maintain the warthon duct as an outlet for the submandibular salivary glands. After the gland stone is removed, sialostent is positioned, and fixed with surgical sutures. This needs to be done to avoid salivary stenosis and fistula, as well as to achieve recanalalization<sup>[7,8]</sup>.

## CASE AND CASE MANAGEMENT



**Figure 1.** Clinical examination revealed a mobile 5 mm swelling in the floor of the mouth in the sublingual caruncle.

A 5 years-old female patient came to our hospital with a complaint of swelling in the floor of the mouth for 2 weeks that sometimes disturbing when eating. Clinical examination revealed a mobile 5 mm swelling in the floor of the mouth in the sublingual caruncle. The color was yellowish-white with hard consistency. The mucosa around the swelling was red and little response of pain in palpation (Figure 1). The submandibular and sublingual lymphnode were normal and not palpable.



**Figure 2.** Submandibular and sublingual USG showed hyperechoic circle measuring 3 mm. Widening of the Wharton's duct was also detected.

Occlusal radiography didn't show abnormal radiopaque lesion, so we did ultrasoundgraphy on her sublingual and submandibular region. Ultrasonography is quite capable of detecting cases with suspected sialolithiasis. This examination can visualize stones in many cases of sialolithiasis and also the salivary gland itself<sup>[9]</sup>. Ultrasound examination results showed a very hyperechoic circle image measuring 3 mm (Figure 2).

A diagnosis of sialolithiasis was given base on clinical and radiological examination. Patient was planned for surgical removal of gland stone and Warthon's duct repair with siaolostent under general anesthesia.



**Figure 3.** Sialostent was placed intraductal after the gland stone was removed.

Before the incision was started, the Warthon's duct was ligated with silk at the distal of palpated stone gland. This step has to be done to prevent the gland stone move to the deeper site of the duct. Incision was made on the mucosa that covered the gland stone. After all the gland stone were taken out, the sialostent was inserted into the duct at least 2 cm inside the lumen of Warthon's duct. The sialostent was fixed intraorally with silk to keep it stay (Figure 3).



**Figure 4.** Illustration of Suturing Method



**Figure 5.** Sialostent was well placed ten days after surgery.



**Figure 6.** Sialostent was removed after ten days.



**Figure 7.** Ten days after surgery, the sublingual caruncle was created and fungsional well.

The suture technique is one of important part in this procedure (Figure 4). The suture must be adequate to maintain the sialostent in its position for at least 7 to 14 days. At the end of the procedure we did aspiration from the stent and the saliva was pulled out. This step was done to make sure the stent had been inserted to the Warthon's duct. We have discharged patients the first postoperative day. Antibiotic was administered for 6 days. Ten days after surgery, the sialostent was still in the warthon duct. The sialostent

was taken out, the healing was satisfactory and the duct still intact without relapse (Figure 5, 6, and 7).

## DISCUSSION

Sialolithiasis can be diagnosed based on clinical appearance. Occlusal radiography is a very useful examination in determining radiopaque stones. However, stones <3 mm in size will be difficult to see with this examination. In this case the occlusal radiography was examined, but the stone was not seen. Sialography is useful in patients who show signs of sialadenitis associated with radiolucent or deep submandibular/parotid stones. Sialography is contraindicated in acute infections or patients who have contrast validity.<sup>[10]</sup> Therefore, in this case ultrasound is the most appropriate choice to help establish the diagnosis. Ultrasonography has an accuracy of 99%, considered the gold standard in diagnosis. This examination can visualize stones in many cases of sialolithiasis and also the salivary gland itself<sup>[9]</sup>. Ultrasound examination results showed a picture of a hyperechoic circle measuring 3 mm.

The management of sialolith is based on its location and the symptoms associated with it. This paper explains case of sialolithiasis in 5 years old child related to the management of Warthon's duct repair surgery with sialostent. Surgery was done under general anesthesia. Surgery on sialolithiasis is not only to take salivary gland stones, but the most important thing is to maintain the warthon duct as an outlet for the submandibular salivary glands.

The choice of management of sialolithiasis is based on the size of the glandular stone and its location from

the sublingual caruncle. The size of glandular stones and Wharton's duct in children are generally small around <5 mm, so extraoral surgery is rarely performed. This is what distinguishes sialolithiasis in pediatric from adults. The principle of choosing sialolithiasis management in children and adults is no different<sup>[5,6]</sup>.

As we know before, the submandibular salivary gland is the highest predilection of sialolithiasis because it has curved upward duct against gravity around the lingual nerve and the mylohyoid muscle. Placement of the sialostent in the Wharton's duct can correct the unfavorable angle of Wharton's duct. The aim of this procedure is to prevent recurrence of new stone. Sialostent also prevent the obstruction of the ductal lumen by postoperative edema or unwanted healing of incision wound. Stenosis of the Wharton's duct also often occur when conventional surgery was done. The placement of the sialostent will keep the width of Wharton's duct lumen to prevent stenosis<sup>[11,12,13]</sup>.

Sialostent must be maintained for 7 to 14 days to provide oral mucosal healing time, which occurs quickly compared to the epithelium of the skin. This duration is also needed to restore the normal function of the submandibular salivary gland, which generally occurs for 7-21 days. This also provides an opportunity for calculus fragments, which may still be left behind when surgery, are pushed out by salivary flow. All of these things can prevent recurrence<sup>[14,15,16]</sup>. The healing was accompanied by a temporary external secretion of saliva from the wound immediately after removal of the sialostent.

Main goal of treatment for sialolithiasis is not just removing the

glandular stones. Preservation of the wharton duct is more important than that. Sialolithectomy in combination with sialostent is a promising method for repairing the Wharthon duct. This method is able to correct the unfavorable curvature of the Warthon duct, prevent stenosis, and avoid sublingual caruncle closure due to inflammatory and healing processes.

## CONCLUSION

The technique of fixing sialostent in pediatric sialolithiasis is a matter of concern for the child's comfort and stent retention in the oral cavity.

## REFERENCE

1. Batori M, Mariotta G, Chatelou H, Casella G, Casella MC. Diagnostic and surgical management of submandibular gland sialolithiasis: report of a stone of unusual size. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2005;9(1). pp:67-68.
2. Kuruvila VE, Bilahari N, Kumari B, James B. Submandibular sialolithiasis: Report of six cases. *J Pharm Bioallied Sci.* 2013;5(3). pp:240-242.
3. Waseem BZ, Fprte V. An unusual case of bilateral submandibular sialolithiasis in a young female patient. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2005;69. Pp:691-694
4. Bavesh D, Trivedi BD. Surgical removal of submandibular gland sialolithiasis in a 9-year-old girl: A case report. *Pediatr Dent J.* 2014;24. pp:111-114.
5. Chung MK, Jeong HS, Ko MH. Pediatric sialolithiasis: What is different from adult sialolithiasis? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007;71. pp:787-791.
6. Inui A, Itou R, Oyama T, Tamura Y, Kubota K, Kobayashi W. Comparison of sialolithiasis in pediatric and adult patients. *Oral Sci Int.* 2017;14(2). pp:37-39
7. Pagliuca G, Martellucci S, de Vincentiis M, Greco A, Fusconi M, de Virgilio A, Rosato C, Gallo A. Wharton's Duct Repair after Combined Sialolithectomy: Is Ductoplasty Necessary? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013;148(5). pp:775-777.
8. Marchal F. Removal of calculi or strictures in salivary ducts that cannot be removed by



- sialendoscopy. In: Myers EN, Ferris RL, eds. Salivary Gland Disorders. Berlin, Germany: Springer; 2007. pp:149-158.
9. Jäger L, Menauer F, Holzkecht N et-al. Sialolithiasis: MR sialography of the submandibular duct--an alternative to conventional sialography? Radiology. 2000;216 (3). pp: 665-671.
  10. Marchal F, Kurt AM, Dulguerov P, Lehmann W. Retrograde theory in sialolithiasis formation. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2001;127(1). pp:66-68.
  11. Nahlieli O, Hecht-Nakar L. Extracorporeal shockwave lithotripsy as an adjuvant therapy for sialoendoscopy. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005;34(1). pp:1-181.
  12. Nahlieli O. Complication of traditional and modern therapeutic salivary approaches. Acta Otorhinolaryngol Ital. 2017 Apr; 37(2). pp: 142–147.
  13. Novendra BP, Rahardjo, Rahajoe PS. Sialolithotomy and sialodochoplasty of giant sialolith in the submandibular duct: a case report. J Dentomaxillofac Sci. 2018;3(2). pp: 119-122.
  14. Nahlieli O, Shacham R, Bar T, Eliav E. Endoscopic mechanical retrieval of sialolithiasis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2003;95. pp:396-402.
  15. Brown JE. Minimally invasive techniques for the treatment of benign salivary gland obstruction. Cardiovasc Intervent Radiol. 2002;25. pp:345-351.
  16. Rotnág J, Zavázalová S, Vorobiov O, Astl J. Sialendoscopy and Combined Minimally Invasive Treatment for Large Parotid Stones. BioMed Res Int. 2016. Pp:1-6.



## RESEARCH ARTICLE

## Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.) terhadap Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi pada Sel Makrofag

*(The effectiveness of Cacao bean extract toward tooth extraction healing on macrophages)*

Atik Kurniawati\*, Zainul Cholid\*\*, Melati Harum Pertiwi\*\*

\* Departemen of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia

\*\* Departemen of Oro Maxillofacial, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia

\*\*\* Under graduate student, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia

### ABSTRACT

**Background:** Tooth extraction is a choice procedure that is often carried out in the field of dentistry. Tooth extraction can cause a cavity in the form of a tooth socket and tooth extraction wounds on the tissue around the socket followed by the body's response through wound healing. One of the process of wound healing namely the inflammatory phase. Macrophages are the most dominant cells in inflammation with the highest number on days 2 to 3. Polyphenols in cocoa beans have an active compound in the form of anti-inflammatory and antioxidants that are effective in accelerating the healing of wounds. **Purpose:** To determine the effect of giving the cocoa bean extract gel to the number of macrophage cells in the socket after tooth extraction male wistar rat on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> day. **Material and method:** This type of research is experimental laboratories. The samples used were 24 male Wistar rats which were then divided into 2 groups, namely the control group (sockets not given any treatment) and treatment groups (sockets were given 8% cocoa bean extract) on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> day post tooth extraction will be carried out decapitation. **Results:** The 8% cocoa bean extract gel had the potential to influence the number of macrophage cells in the socket after the tooth extraction of male Wistar rat on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> day caused an active compound in the cocoa **Conclusions:** the most effectiveness of the cocoa bean extract gel toward tooth extraction healing on the number of macrophage cells on the 3<sup>rd</sup> day

**Keywords:** Cacao, macrophages, tooth extraction.

**Correspondence:** Atik Kurniawati, Department of Oral Biology, Dental Faculty of Jember University, Jl. Kalimantan no. 56 Jember Indonesia 68121, 0331-333536, Email: [atik.fkg@unej.ac.id](mailto:atik.fkg@unej.ac.id)

## INTRODUCTION

Salah satu tindakan perawatan yang sering dilakukan dalam bidang kedokteran gigi adalah ekstraksi atau pencabutan gigi<sup>1</sup>. Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan pembedahan yang melibatkan jaringan keras seperti tulang dan jaringan lunak. Luka pada jaringan lunak selanjutnya diikuti dengan proses penyembuhan yang terjadi melalui tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling<sup>2,3</sup>. Beberapa jam setelah luka, terjadilah invasi sel inflamasi yaitu sel neutrofil atau sel polimorfonuklear (PMN) pada jaringan luka yang terjadi pada 6-24 jam pertama, kemudian sel polimorfonuklear (PMN) bermigrasi menuju daerah luka dan setelah 24-48 jam sel PMN akan digantikan dengan makrofag yang merupakan sel paling dominan pada inflamasi dengan jumlah paling tinggi pada hari ke-2 sampai hari ke-3. Makrofag akan tetap di dalam luka sampai penyembuhan berjalan sempurna dan makrofag berangsur-angsur akan menurun dan akan digantikan oleh limfosit<sup>2,3</sup>.

Makrofag merupakan unsur sel yang penting pada pembentukan jaringan granulasi yang berasal dari sel monosit. Monosit sendiri berasal dari sel progenitor di sumsum tulang. Makrofag berfungsi untuk memfagositosis patogen, sel-sel mati, beberapa komponen dalam matriks ekstraselular dan fibrin. Penurunan jumlah makrofag pada hari ke-5 menunjukkan bahwa proses inflamasi telah banyak berkurang<sup>1,4,5</sup>.

Salah satu tanaman yang diyakini memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan adalah kakao (*Theobroma cacao* L). Secara empiris, masyarakat mengenal coklat sebagai makanan anti stress. Dilaporkan bahwa orang yang mengkonsumsi coklat selama lebih dari tiga hari secara rutin dapat meningkatkan kualitas hidupnya menjadi lebih lama pada penderita kanker<sup>6</sup>. Peneliti lain menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol biji kakao 50% dapat meningkatkan aktivitas dan

kapasitas fagositosis sel makrofag peritonium mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis*<sup>9</sup>. Selain itu pemberian ekstrak biji kakao 8% dapat mempercepat penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada tikus wistar jantan dengan meningkatkan jumlah sel fibroblast<sup>7</sup>. Hal ini dikarenakan kakao banyak memiliki kandungan polifenol berupa katekin, epikatekin, antosianin, proantosianidin, asam-asam fenolat, tanin, dan flavonoid-flavonoid lainnya<sup>8</sup>. Flavonoid dan katekin memiliki fungsi sebagai antiinflamasi, proantosianidin berfungsi sebagai antibakteri dan epikatekin serta antosianin berfungsi sebagai antioksidan, sehingga akhir-akhir ini penelitian tentang kakao di bidang kesehatan berkembang pesat<sup>9</sup>. Akan tetapi penelitian tentang pemberian kakao dalam mempercepat proses penyembuhan luka pencabutan gigi melalui peran makrofag belum pernah dilaporkan. Berdasarkan uraian tersebut maka, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian gel ekstrak biji kakao 8% terhadap jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan pada hari ke-1, ke-2 dan ke-3

## MATERIALS AND METHODS

Penelitian ini sebelumnya sudah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik FKG Universitas Jember no152/UN.25.8/KEPK/DL/2018, merupakan penelitian *eksperimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember mulai bulan Juli – Agustus 2018. Pembuatan ekstrak biji kakao menggunakan metode maserasi yang dilanjutkan dengan pembuatan gel ekstrak biji kakao 8% dengan basis CMC-Na<sup>10,11</sup>. Sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus *Wistar* jantan yang kemudian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok

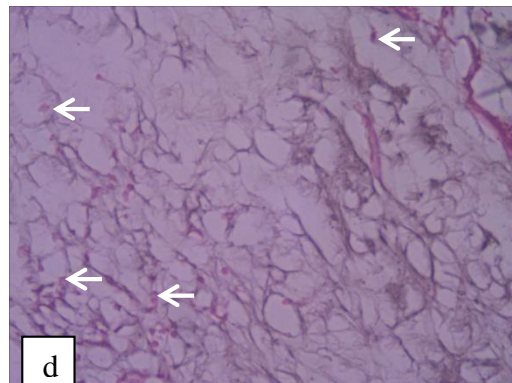
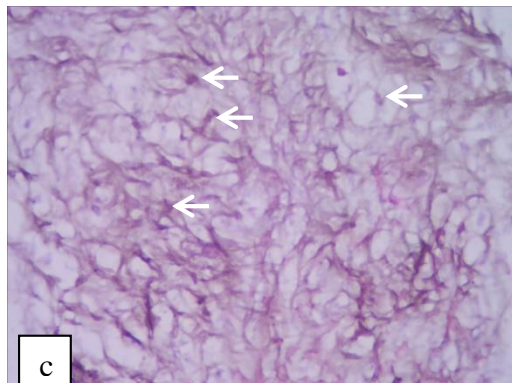
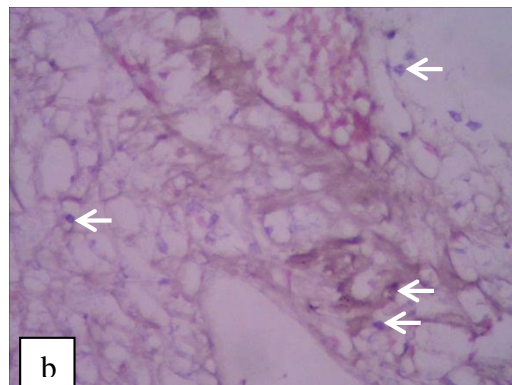
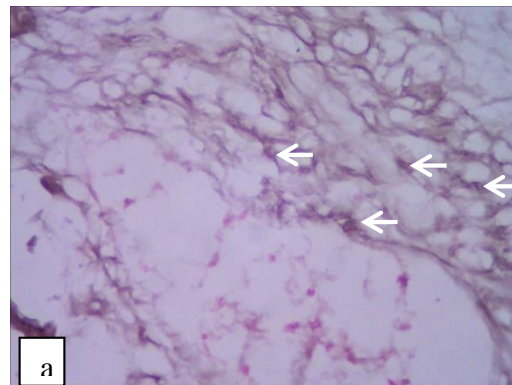
kontrol yang tidak diberikan perlakuan apapun dan kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) 8%. Semua sampel dilakukan anestesi terlebih dahulu menggunakan *ketamin* kemudian dilakukan pencabutan gigi molar satu kiri bawah. Pada kelompok kontrol, diberikan gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) 8% setiap harinya sampai sehari sebelum dilakukan dekaputasi.

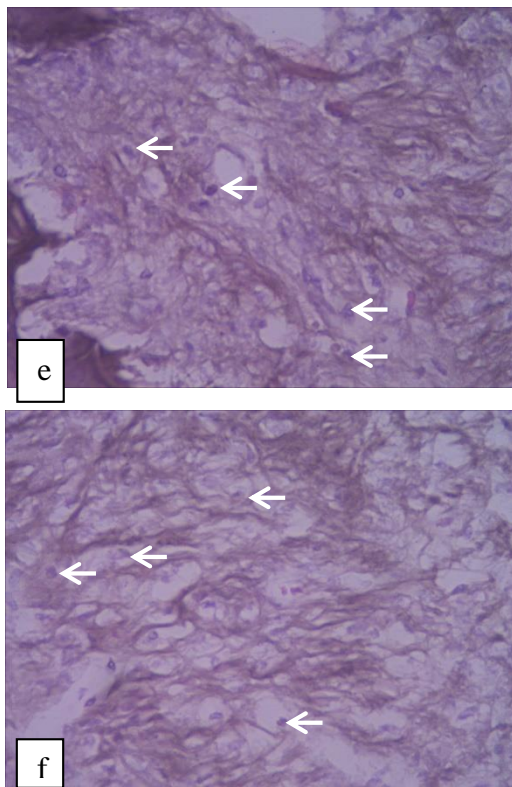
Pada hari ke-1, ke-3, dan hari ke-5 pasca pencabutan dilakukan dekaputasi. Kemudian dilakukan pembuatan preparat histologis dengan pemotongan arah bukal-lingual sehingga nantinya terlihat gambaran soket yang diapit oleh tulang alveolar. Preparat diwarnai dengan pengecatan *Hematoxylin Eosin*. Preparat yang telah jadi, diamati menggunakan mikroskop binokuler pembesaran 400x pada 3 lapang pandang yang berbeda yaitu pada 1/3 apikal pada soket gigi pada bagian mesial, distal dan central dengan menggunakan mikroskop binokuler.

Setelah didapatkan hasil perhitungan sel makrofag, maka dilakukan analisis data pada masing-masing variabel. Pertama, dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Anova*. Namun, apabila data tidak memenuhi asumsi normalitas maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*.

## RESULT

Hasil penelitian diamati pada mikroskop dan terlihat gambaran soket serta sel makrofag yang jumlahnya berbeda pada setiap kelompoknya hari ke-1, ke-3 dan ke-5 (Gambar 1).



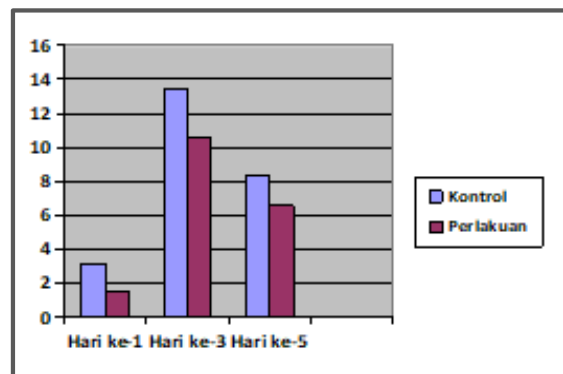


**Gambar 1.** Gambaran histologis sel makrofag pada soket tikus wistar jantan (panah putih) yang diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler pada perbesaran 400x dengan pewarnaan *Haematoxilin-eosin*. (A) Kelompok perlakuan Hari ke-1, (B) Kelompok perlakuan Hari ke-3, (C) Kelompok perlakuan Hari ke-5, (D) Kelompok kontrol hari ke-1, (E) Kelompok kontrol hari ke-3, dan (F) Kelompok kontrol hari ke-5.

Berdasarkan pengamatan dan perhitungan sel makrofag pada preparat histologis yang dilakukan, didapatkan jumlah rerata sel makrofag pada masing - masing kelompok yang dapat dilihat dalam tabel 1.

**Tabel 1.** Rerata (*mean*) dan standar deviasi (*SD*) jumlah makrofag tikus Wistar jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Pengamat an	Hari Ke 1 ( <i>mean</i> ± <i>SD</i> )	Hari Ke 3 ( <i>mean</i> ± <i>SD</i> )	Hari Ke 5 ( <i>mean</i> ± <i>SD</i> )
Kelompok Kontrol	3,1583 ± 0,13096	13,467 ± 0,2067	8,3900 ± 0,21393
Kelompok Perlakuan	1,4458 ± 0,09076	10,526 ± 0,1075	6,5272 ± 0,13796



**Gambar 2.** Histogram rata-rata jumlah sel makrofag masing-masing kelompok pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan.

Berdasarkan hasil analisis dengan *One-way Anova* menunjukkan bahwa jumlah sel makrofag pada semua masing-masing kelompok menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).



## DISCUSSION

Sediaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan dalam bentuk gel. Sediaan dalam bentuk gel dipilih karena bentuk gel mempunyai sifat yang menyejukkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit atau mukosa sehingga memberikan efek yang menyembuhkan [9]. *Gelling agent* yang digunakan adalah CMC-Na dengan konsentrasi 3-6% yang berbentuk serbuk granul putih yang memiliki sifat tidak berbau, tidak berasa, bersifat higroskopis, tidak dapat larut dalam aseton, etanol (95%), eter, dan toluene. Sediaan gel dengan basis CMC-Na memiliki kekurangan yaitu mudah terdispersi dalam air pada segala temperature, sehingga sediaan gel mudah larut dalam saliva yang berada di rongga mulut<sup>10,11</sup>.

Hasil rerata jumlah sel makrofag pada kelompok perlakuan pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 yang diberi gel ekstrak biji kakao 8% menunjukkan rata-rata jumlah sel makrofag lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5, hal ini dikarenakan pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dipengaruhi oleh adanya kandungan dari ekstrak biji kakao 8% ( $p < 0,05$ ) Senyawa aktif tersebut berupa flavonoid dan katekin yang mampu menurunkan jumlah makrofag dengan adanya kandungan antioksidan ini, sehingga dapat mempercepat proses inflamasi. Artinya dengan proses inflamasi yang tidak berkepanjangan, maka proses penyembuhan luka semakin cepat. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Fuadi *et al.* (2015) bahwa pemberian gel ekstrak biji kakao mempengaruhi proses penyembuhan pada luka bakar derajat dua<sup>12</sup>

Peran makrofag dalam penyembuhan luka melalui berbagai cara, antara lain kemampuannya dalam mengeliminasi neutrophil yang berisi debris dan mengawalinya sehingga neutrophil hilang dari daerah luka. Makrofag juga dapat memfagosit atau menginduksi apoptosis pada

neutrophil sehingga proses inflamasi menjadi lebih cepat dan selanjutnya memasuki fase penyembuhan. Hal ini merupakan titik peralihan peran makrofag yang semula dari pro-inflamasi menjadi pendukung perbaikan jaringan.<sup>13</sup> Pada saat luka, makrofag pro-inflamasi akan teraktivasi, sehingga mengeluarkan berbagai macam mediator dan sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-12, TNF $\alpha$ , *inducible nitric oxide synthase (iNOS)*. Selain itu makrofag juga memproduksi *chemoattractan* sehingga leukosit tambahan akan berdatangan menuju tempat luka, yang akhirnya luka menjadi lebih cepat sembuh<sup>14</sup> Selain itu, diduga karena adanya senyawa *caffeine*, yang merupakan *methylxanthine* yang menjadi bagian dari alkaloid. Alkaloid merupakan komponen utama pada berbagai makanan seperti kopi, coklat dan teh. Alkaloid berperan sebagai sumber antioksidan potensial. Saat terjadi luka pada jaringan, sel-sel yang rusak akan mengeluarkan *Reactive Oxygen Species (ROS)*, saat itu diperlukan antioksidan yang banyak untuk menghalau radikal bebas (ROS) sehingga luka akan cepat menutup. Sebenarnya anti-oksidan secara normal sudah diproduksi oleh tubuh, akan tetapi pada proses kerusakan jaringan, diperlukan jumlah anti-oksidan yang lebih sehingga proses penyembuhan menjadi lebih cepat<sup>15</sup>

Untuk hari pertama, jumlah makrofag lebih sedikit baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan, hal ini sesuai dengan penelitian dari Mutiara *et al.*, (2015) bahwa jumlah makrofag menurun pada penyembuhan luka fase proliferasi tikus putih kondisi hiperglikemia dengan pemberian hydrogel binahong<sup>16</sup>. Untuk kelompok kontrol, keberadaan makrofag memang sudah ada sejak beberapa menit setelah inflamasi dimulai dan akan menetap di jaringan yang mengalami inflamasi. Makrofag di jaringan sekitar inflamasi menjadi aktif dan mempunyai kemampuan membelah diri menjadi makrofag lebih banyak lagi untuk segera memulai respons kerjanya



membentuk lini pertama pertahanan tubuh<sup>17</sup>.

Pada kelompok perlakuan hari pertama terjadi penurunan makrofag dibandingkan dengan kelompok kontrol hari pertama. Hari pertama merupakan fase awal yaitu dalam 24 jam pertama, sel yang paling banyak bereaksi ialah netrofil atau lekosit polimorfonukleus (PMN) Makrofag mensekresikan protein yang dikenal dengan nama kemokin yang mempunyai kemampuan merekrut sel lain yang memiliki reseptor kemokin seperti neutrofil dan monosit (asal-usul makrofag) dari sirkulasi darah, neutrofil dan monosit dengan segera menuju area inflamasi sehingga jumlah neutrofil akan meningkat namun monosit yang bersirkulasi 10-20 jam di dalam sirkulasi darah ini berjumlah sedikit sehingga memerlukan asupan monosit dari sumsum tulang belakang untuk memperbanyak jumlahnya, datangnya bantuan ini menyebabkan jumlah makrofag jaringan akan semakin meningkat seiring proses inflamasi mengarah ke inflamasi kronis<sup>17</sup>, yakni ditunjukkan dengan peningkatan pada hari ke-3 karena mengalami fase inflamasi, kemudian mengalami penurunan kembali pada hari ke-5 dikarenakan jaringan yang mengalami inflamasi tersebut mulai memasuki tahap penyembuhan luka yaitu pada fase proliferasi dan hilangnya faktor yang mempengaruhi lamanya proses inflamasi<sup>18</sup>.

Kemokin merupakan salah satu reseptor, berupa protein yang disekresikan makrofag. Selain makrofag, kemokin juga dimiliki oleh neutrofil dan monosit. Kemokin mempunyai kemampuan merekrut sel lain yang memiliki reseptor tersebut untuk segera menuju area inflamasi sehingga jumlahnya meningkat. Untuk 10-20 jam setelah inflamasi, di dalam sirkulasi darah, jumlah neutrofil akan meningkat, namun monosit jumlahnya sedikit sehingga memerlukan pengiriman monosit dari sumsum tulang belakang, Datangnya monosit ini menyebabkan jumlah makrofag jaringan akan semakin meningkat, karena monosit

merupakan sel asal dari makrofag. Dalam perkembangannya menuju proses inflamasi kronis, pada hari ke-3 ditunjukkan dengan adanya peningkatan makrofag, kemudian mengalami penurunan kembali pada hari ke-5 dikarenakan jaringan yang mengalami inflamasi tersebut mulai memasuki tahap penyembuhan luka yaitu pada fase proliferasi yang selanjutnya digantikan oleh sel limfosit.<sup>17,18</sup>.

Peningkatan makrofag yang terjadi pada hari ke-3 pada kelompok kontrol dan perlakuan disebabkan karena fase penyembuhan luka memasuki pada fase akhir inflamasi dan awal fase proliferasi dimana sel yang dominan adalah sel makrofag. Hal ini sesuai dengan penelitian Budi dkk (2017), serta Mutiara *et al*,(2015) bahwa makrofag sebagai sel fagosit profesional akan membersihkan debris pada daerah luka dan jumlahnya meningkat pada hari ke-3<sup>1,16</sup>. Tingginya jumlah makrofag dibandingkan kelompok lain karena ekstrak biji kakao dapat menginduksi makrofag di sekitar luka. Pada proses imunologi non spesifik, makrofag berperan besar pada fagositosis antigen. Tingginya jumlah makrofag pada kelompok perlakuan hari ke-3 ini diduga melalui mekanisme bahwa flavonoid yang teridentifikasi pada ekstrak biji kakao adalah quercetin-3-O- $\alpha$ -D-arabinosid dan quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopuranosid<sup>19,20</sup>. Quercetin dapat berikatan dengan reseptor TLR-2 pada permukaan makrofag. Diketahui bahwa flavonoid *quercetin* dapat mempengaruhi aktivasi TLR-2 dan NF- $\kappa$ B<sup>21</sup>. Aktivasi NF- $\kappa$ B menyebabkan keluarnya sitokin pro-inflamasi seperti TNF alpha, IL-1B, IL-6 yang selanjutnya akan mengaktifasi makrofag<sup>22</sup>, sehingga jumlah makrofag menjadi meningkat. Akan tetapi peningkatan makrofag dalam jumlah yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peradangan yang berlebihan atau fibrosis. Disfungsi makrofag atau jumlah makrofag yang rendah dalam proses perbaikan jaringan menyebabkan penyembuhan luka tidak optimal,

terhambatnya proliferasi fibroblas dan angiogenesis<sup>18</sup>

Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi yakni berperan penting dalam menjaga permeabilitas serta meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler, flavonoid bekerja terutama pada endotelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hiperpermeabilitas dan edema, mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya inflamasi melalui dua cara yaitu menghambat asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel endothelial dan menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses inflamasi, terhambatnya pelepasan asam arakhidonat dapat menyebabkan kurang tersedianya substrat arakhidonat bagi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase, sehingga akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, endoperoksida, asam hidroksatetraenoat, dan leukotrin<sup>8</sup>. Penekanan jumlah tersebut mempengaruhi migrasi sel-sel inflamasi<sup>23</sup>.

Antioksidan merupakan kandungan yang paling banyak pada biji kakao dengan besar 43,5907% yang diperoleh dari hasil uji pada laboratorium analisis terpadu jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Negeri Jember. Kandungan polifenol 43,5907% termasuk besar, ada laporan bahwa polifenol kakao tiga kali lebih besar dari teh hijau yang sudah terkenal sebagai sumber antioksidan<sup>24</sup>. Fungsi utama antioksidan adalah menangkal radikal bebas sehingga timbulnya berbagai penyakit dapat dicegah seperti kanker, arterosklerosis, peradangan, penyakit kardiovaskular dan karies gigi<sup>25,26,27</sup>.

Biji kakao mengandung flavonoid yang memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase* (SOD) dan glutathion transferase<sup>28</sup> [19]. Flavonoid dapat menangkap radikal bebas dengan cara menghambat kerja enzim yang menghasilkan radikal bebas dan membentuk kelat dengan

logam-logam yang memacu terbentuknya radikal bebas sehingga reaksi radikal bebas dengan sel-sel normal seperti peroksidasi lemak dan kerusakan DNA dapat dicegah atau stres oksidatif tidak terjadi lagi<sup>29</sup> [20]. Flavonoid dapat berfungsi sebagai zat pengkelat dari logam-logam Cu dan Fe yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi Fenton. Reaksi ini termasuk reaksi perubahan Hidrogen Peroksida menjadi OH-. Proses kelat ini akan menurunkan aktivitas katalitik dari logam Cu dan Fe sehingga akan mengurangi terbentuknya radikal OH- dan secara otomatis akan menurunkan proses kerusakan DNA dan proses peroksidasi lemak (PUFA)<sup>30,31</sup> [21, 22]. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak biji kakao 8% mampu mempengaruhi jumlah sel makrofag dalam mempercepat proses penyembuhan luka pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5, akan tetapi hari ke-3 merupakan waktu paling efektif dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi melalui penurunan jumlah sel makrofag

## CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao, L*) efektif mempercepat proses penyembuhan luka pencabutan gigi tikus Wistar jantan dengan menurunkan jumlah sel makrofag pada hari ke-3. Selain efektivitas perlu dilakukan penelitian tentang stabilitas gel ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao, L*) terhadap proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

## ACKNOWLEDMENT

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Rektor Universitas Jember melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) yang telah memberikan

dana bantuan penelitian melalui Hibah Internal Pendukung IDB Universitas Jember

## REFERENCES

- Budi, H.S., P. Soesilowat, Z. Imanina. Gambaran histopatologi penyembuhan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2017;3(3): 122.
- Sugiaman, V.K. Peningkatan penyembuhan luka di mukosa oral melalui pemberian Aloe Vera (Linn.) secara topikal. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2011; 11(1): 79-70.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran, dan V. Kumar. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC; 2013.
- Zhang X, Goncalves R, Mosser D. The isolation and characterization of murine macrophages. *Curr Protoc Immunol*. 2008;14(1): 8.
- Nucera S, Bizziato D, Palma MD. The interplay between macrophages and angiogenesis in development tissue injury and regeneration. *Int. j. dev. Biol*. 2010;55:503-495.
- Wong SY, PL Lua. Effect of dark chocolate consumption on anxiety, depressive symptoms and health related quality of life status among cancer patients. *Health and Environment Journal*. 2012; (3): 35-27.
- Al Fa'izah, Z. Efektifitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan [Skripsi]. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; 2018.
- Misnawi, S., B. Jinap, Jamillah, dan S. Nazamid. Effect of incubation and polyphenol oxidase enrichment of unfermented and partly fermented dried cocoa beans on color, fermentation index and epicatechin content. *International Journal of Food Science and Technology*. 2002;3(8): 4-2.
- Agussalim. *Manfaat Biji Kakao untuk Kesehatan*. Sulawesi Tenggara : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian; 2011.
- Ansel, H.C. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi IV*. Jakarta : UI Press; 2005.
- Rowe, Raymond C, dkk. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6<sup>th</sup> Ed. USA: Pharmaceutical Press; 2009.
- Fuadi MI, Ulfa Elfiah, Misnawi. Jumlah fibroblast luka bakar derajat dua pada tikus dengan pemberian gel ekstrak etanol biji kakao dan silver sulfadiazine. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2015; 3.
- Koh TJ, Di Pierro LA. Inflammation and Wound Healing. *The Role of the macrophage*. *Expert Rev. Mol Med*. 2011;13:e23.
- Brancato SK, Albina JE. Wound macrophages as a key regulators of repair; origin, phenotype and function. *Am. J Pathol*. 2011;178(1):25-19.
- Bonyanian ZMR, Roselin B. Caffeine and its potential role in attenuating impaired wound healing. *Journal of Caffeine Research*. 2016; 5(4):141-8.
- Mutiara, GPI, Nurdiana, Yulian WU. 2015. Efektifitas Hidrogel Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap Penurunan Jumlah makrofag pada Fase Proliferasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Kondisi Hiperglikemia. *Majalah Kesehatan FKUB*. 2015; 2(1):40-29.
- Guyton, A. C. Dan Hall, J. E. "Text Book of Medical Physiology (1996)". Terjemahan Setiawan, I et al. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi kesebelas. Jakarta : EGC; 2008.
- Saraf, Sanjay. *Text Book Of Oral Pathology*. First Edition. New Delhi, India : Jaypee Brother Medical Publisher Ltd; 2006.
- Towaha J. Kandungan senyawa polifenol pada biji kakao dan kontribusinya terhadap kesehatan. *SIRINOV*. 2014;2(1): 16-1.
- Wollgast, J and E. Anklam. Review of polyphenols in *Theobroma cacao* : changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. 2000; 33: 447-423.
- Lim EK, Paul J, Najmeeyah B, Rebecca AD, Gordon B, Paul MK, 2013. Regio specific methylation of dietary flavonoid scaffold selectively enhances IL-1B, production following Toll Like Receptor 2 stimulation on THP 1 on monocytes. *Journal of Biology Chemistry*. 2013; 288(29): 21126-33.
- Posadas RL, I Ballester, Mascaraque, MD Suarez, A Zarzuelo, O Martinez, et al. Flavonoid exert distinct modulatory actions on cyclooxygenase 2 and NF-kB in an intestinal epithelial cell line (IEC18). *British Journal of Pharmacology*. 2010;160:1714-26.
- Sabir A. *Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi*. Dalam *Majalah Kedokteran Gigi*. Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III. FKG Unair. 2003:87-81.
- Agussalim. *Manfaat Biji Kakao untuk Kesehatan*. Sulawesi Tenggara : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian ; 2011.
- Ito, K., Y. N. Akamura, T. T. Okunaga, and D. I. Ijima. *Anti Cariogenic Properties of a Water Soluble Extract from Cacao*. *Enzyme*. 2003; 67 (12): 2567-73.
- Prior, R. L., and L. Gu. 2005. Occurrence and Biological Significance of Proanthocyanidins in the American Diet. *Phytochemistry*. 2005; 66: 2264-80. (18 SPEC. ISS.). doi:10.1016/j.phytochem.2005.03.025
- Hidayat, T.S.N. *Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar derajat Dua Dalam*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga; 2013.
- Pawarta, I.M.O. Adi. *Antioksidan*. Denpasar : Universitas Udayana; 2016.
- Valko, M., Mario I., Milan M., Christopher J.R. and Joshua T. *Role of oxygen radicals in DNA damage*

- and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004;266 : 37- 36.
30. Akhlaghi, M., Brian, B. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*.2009; 46:309–17.(2).
31. Li J, Li G, Hu JL, Fu XH, Zeng YJ, Zhou YG, Xiong G,. Chronic or high doze acute caffeine treatment protects mice against oleic acid-induced acute lung injury via an adenosine A2A receptor-independent mechanism. *Eur J Pharmacol*. 2011;654(3):303-295.