

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi bahan *pulp capping* berupa nano chitosan terhadap peningkatan jumlah proliferasi sel odontoblas dalam membentuk dentin reparatif pada gigi molar tikus wistar (*Rattus novergicus*). Hasil pengamatan secara umum menunjukkan nilai rata-rata jumlah sel odontoblas yang lebih tinggi pada kelompok perlakuan. Jumlah sel odontoblas pada kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hasil penelitian didapatkan bahwa jumlah sel odontoblas pada kelompok tikus *strain wistar* kontrol berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok tikus *strain wistar* yang diberi perlakuan. Hasil pengamatan kelompok tikus *strain wistar* kontrol negatif didapatkan jumlah sel odontoblas berada dalam jumlah normal, sedangkan pada kelompok tikus *strain wistar* yang diberi perlakuan 1 dan 2 terdapat peningkatan jumlah odontoblas pada hari ke-30 dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pada kelompok tikus *strain wistar* kontrol positif tidak didapatkan peningkatan jumlah sel odontoblas yang signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1.

Pada kelompok kontrol positif yang diberi bahan berupa MTA terjadi jumlah peningkatan sel odontoblas dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena respon inflamasi jaringan pulpa yang diberi bahan MTA lebih rendah meskipun MTA dan eugenol mempunyai mekanisme aksi yang serupa. Segera setelah diberi bahan MTA, MTA secara signifikan mengurangi keasaman pH (kurang lebih 10,2) daripada eugenol. Selama *setting time* selama 4 jam, pH

dalam MTA dapat meningkat menjadi 12,5. Perbedaan antara pH awal dari MTA dan eugenol terlihat ketika bahan diberikan dan berkontak dengan jaringan pulpa (Eduardo *et al.*, 2008). Komposisi MTA terdiri dari *tricalcium silicate*, *dicalcium silicate*, *tricalcium aluminate*, *tetracalcium aluminoferrite*, *calcium sulphate* dan *bismuth oxide*. Bahan MTA ini memiliki kandungan bioaktif yang secara esensial bisa menstimulasi pelepasan bakteri dalam pulpa. Saat digunakan MTA harus dicampur dengan air yang steril agar bisa merekat dengan baik pada jaringan pulpa gigi (Steffen, 2009).

Sejak diperkenalkan tahun 1993, MTA merupakan salah satu bahan kedokteran gigi yang serbaguna dan biokompatibel. *Mineral Trioxide Aggregate* (MTA) adalah bahan yang paling banyak direkomendasikan untuk menggantikan *formocresol* dan dirancang dengan komponen fisik yang cocok untuk perawatan pulpotomi serta relatif mudah digunakan dalam kondisi apapun. Sebagai bahan yang mempunyai *sealing ability*, MTA mampu memperbaiki perforasi pada furkasi di saluran akar gigi dan mampu mengurangi kontaminasi bakteri. *Mineral Trioxide Aggregate* (MTA) juga merupakan bahan dengan biokompatibel yang tinggi serta dapat menginduksi reaksi penyembuhan jaringan dengan sangat baik. MTA mempunyai daya penetrasi terhadap mikroorganisme tinggi. Selain itu, kandungan fisik dan kimia dari MTA ternyata lebih baik dibandingkan dengan eugenol (Steffen, 2009). MTA mengandung ion kalsium yang menyebabkan sifat pH basa dan berpengaruh terhadap jaringan. Lepasnya ion kalsium terjadi beberapa hari setelah inisiasi hidrasi dan *setting* pada MTA. Ion kalsium ini mengalir ke dentin yang mengalami jejas yang konsentrasinya terus meningkat (Sarkar, 2005)

Peningkatan jumlah sel odontoblas pada kelompok perlakuan disebabkan oleh pengaruh dari pemberian chitosan. Menurut Tsunemori *et al*, chitosan

menstimulasi sel fibroblas untuk mengeluarkan sitokin inflamasi kemotaksis, khususnya interleukin-8 (IL-8). Setelah 5 hari, proliferasi sel fibroblas terus berlanjut, dan beberapa sel odontoblas tampak pada tepi dari sel fibroblas yang berproliferasi. Pada preparat histologi ditemukan bahwa chitosan dapat menginduksi migrasi dari leukosit polimorfonuklear dan makrofag ke dalam jaringan yang diberikan paparan chitosan dalam tahap awal. Polimer chitosan merangsang pembentukan jaringan keras dentin (Tsunemori *et al.*, 2005)

Pada kelompok perlakuan yang diberi bahan nano chitosan terjadi jumlah peningkatan sel odontoblas dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan chitosan, MTA dan eugenol. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Byung-Do Chun *et al* (2011) bahwa chitosan merupakan kandidat terbaik untuk matriks elastomerik. Biopolimer dari chitosan sangat biokompatibel dan *biodegradable* serta osteokonduktif. Chitosan juga tidak mengandung *toxic* dan mempercepat *wound healing*. Selain itu, dapat meningkatkan adesi sel dan proliferasi serta mempercepat aktivitas dari *growth factors* (Fang Li *et al.*, 2012). Ketika chitosan diubah ukuran partikelnya menjadi nano, chitosan dapat bekerja melakukan rangsangan (*exited*) dalam sistem sel yang ada karena ukuran permukaan nanopartikel lebih luas sehingga efektif meningkatkan bioaktivitas bahan tersebut untuk merangsang pertumbuhan sel, termasuk sel odontoblas yang menjadi pengamatan dalam penelitian ini.

Hal ini sesuai dengan penelitian Jong Eun Lee dkk, chitosan dapat mengikat protein kecil, seperti *transforming growth factor* (TGF- β 1) dan dengan mudah berdifusi ke dalam scaffold. Selain itu, sifat kationik alamiah dari chitosan yang mampu membentuk ikatan ion kompleks dengan berbagai substansi anionik dalam lingkungan yang asam. Karakteristik ini berguna sebagai retensi atau

akumulasi secara biologis molekul aktif dari matriks chitosan. TGF- β 1 mempunyai banyak tindakan biologis, seperti meningkatkan proliferasi dan diferensiasi seluler serta menstimulasi produksi ECM (*Extra Cellular Matrix*) (Jong Eun Lee *et al.*, 2004). Ketika chitosan mengikat protein TGF- β 1, terjadi peningkatan proliferasi sel odontoblas sehingga dentin reparatif terbentuk lebih cepat yang mengarah pada penutupan dinding pulpa yang terbuka.

Chitosan juga berpengaruh pada proses peningkatan jumlah sel odontoblas oleh karena zat-zat aktif yang terkandung di dalam chitosan, yaitu *D-Glucosamine hydrochloride* (bentuk sederhana dari chitosan) sebagai monomer chitosan yang mudah diproduksi dengan menghidrolisis chitosan dengan hidroklorit (Tsunemori *et al.*, 2005). Lebih jauh monomer chitosan dapat meningkatkan proliferasi sel dalam tingkat m-RNA dan aktivitas ALP secara signifikan. ALP (*Alkaline Phosphatase*) merupakan protein yang disekresikan oleh sel odontoblas dan merangsang kalsifikasi. *Scaffold* chitosan dapat berguna sebagai bahan *pulp capping* untuk menyediakan matriks sebagai adesi dari sel odontoblas *endogenous*. Dikarenakan sifatnya yang unik dan karakteristik kimia dari chitosan tersebut, chitosan dapat dibuat dengan mikrosfer, membran dan *scaffold* untuk keperluan farmako dan teknik jaringan (Fang Li *et al.*, 2012).

Nano chitosan telah menjadi pilihan yang baik sebagai bahan polimer dalam pengembangan sistem farmako yang baru dan terapi *drug release* dengan meningkatkan biodistribusi, spesifisitas, dan sensitivitas serta mengurangi toksisitas farmakologi. Nano chitosan diketahui telah sesuai untuk rute non invasif pemberian obat, seperti hidung, mulut, mata dan paru-paru. Hal ini disebabkan oleh peningkatan efek absorpsi chitosan. Selain itu, nano chitosan telah digunakan sebagai vektor non viral dalam terapi gen dan menunjukkan efek *adjuvant* dalam

vaksin. Penyerapan dan bioavailabilitas dari obat yang terenkapsulasi ke dalam nano chitosan dapat meningkat sehingga dapat digunakan untuk menyalurkan gen obat, senyawa protein serta komponen lain dan dapat melindungi dari degradasi enzim *in vivo* secara efektif (Peniche, 2011). Nano chitosan dapat meningkatkan DNA dan bioavailabilitas obat sebagai pembawa (*carrier*), meningkatkan kontrol dari pengeluaran biomaterial, mengurangi toksisitas, dan dapat digunakan pada kondisi apapun tanpa pelarut (Chen MC, 2013).

Nano chitosan dapat digunakan untuk mengubah transkrip protein dan menyesuaikan dengan nilai setiap parameter obat. Nano chitosan juga memiliki stabilitas yang tinggi, *packing* protein tinggi yang efisien, dapat digunakan sebagai bubuk *lyophilized*, serta mudah untuk disimpan (Chen F, 2009). Ukuran partikel berupa nano telah terbukti memegang peranan penting dalam memperoleh hasil yang optimal secara *in vitro* dan *in vivo*. Sebuah partikel berukuran nano juga memiliki dampak yang penting pada sistem pengiriman obat secara *in vivo*. Penurunan ukuran partikel dapat meningkatkan rasio permukaan terhadap volume dan luas permukaan spesifik yang dapat mengoptimalkan bioavailabilitas dari molekul yang sulit larut dalam air. Partikel yang berukuran lebih kecil akan tampak memiliki interaksi antar muka yang efisien dengan membran sel dibandingkan dengan partikel yang memiliki ukuran yang lebih besar karena endositosis dari partikel ukuran kecil tersebut. Partikel yang berukuran kecil juga dapat meningkatkan efektivitas dalam sistem pengantaran obat. Nanopartikel dapat memperpanjang waktu paruh obat dan meningkatkan efektivitas melalui injeksi intravena (Qi L, 2006).

Dari hasil penelitian ini, pengaplikasian bahan *pulp capping* berupa nano chitosan didapatkan peningkatan jumlah proliferasi sel odontoblas dalam

membentuk dentin reparatif pada gigi molar tikus *strain wistar* secara signifikan. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa paparan nano chitosan dapat meningkatkan proliferasi sel odontoblas dalam membentuk dentin reparatif dibandingkan dengan chitosan dan MTA pada pulpa terbuka gigi molar tikus wistar.

