

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Chitosan

2.1.1 Definisi

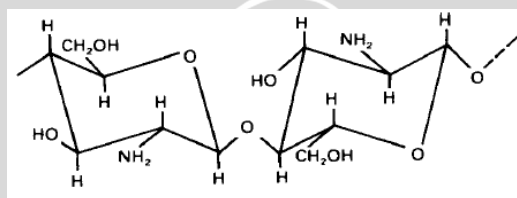
Chitosan merupakan turunan deasetilasi kitin, biopolimer yang paling berlimpah di alam setelah selulosa dan ditemukan dalam cangkang krustasea dan dinding dari jamur. Chitosan terdiri dari kandungan heteropolisakarida biner yang terdiri dari (1-4)-2-terkait acetamide-2-deoksi-bd-glukopiranososa dan 2-amino-2-deoksi-bd-glukopiranososa residu (Thatte, 2004). Kitin dengan derajat deasetilasi dari 65-70% atau di atas umumnya dikenal sebagai chitosan. Berat molekul chitosan dapat berkisar antara 10.000 hingga 2 juta Dalton. Chitosan merupakan terdegradasi in vivo melalui hidrolisis enzimatik oleh lisozim yang biasanya diproduksi oleh makrofag (Thatte, 2004).



Gambar 2.1 Chitosan dari cangkang kepiting (<http://www.poskosehat.com/chitosan-mengungkap-keajaiban-serat-cangkang-kepiting/> diakses 24 Maret 2015)

2.1.2 Struktur

Chitosan merupakan polimer alam yang diperoleh dari deasetilasi kitin. Struktur chitosan adalah poli [β -(1,4)-D-glukosamin] yang terdiri dari satu amin primer dan dua gugus hidroksil bebas pada tiap unit bangun. Chitosan memiliki beberapa keuntungan dalam pengembangan mikro/nanopartikel misalnya mengandung sejumlah gugus amin bebas bermuatan positif yang dapat digunakan untuk reaksi sambung silang dengan gugus lain bermuatan negatif, toksisitas rendah dan biokompatibel dengan jaringan tubuh (Agnihotri *et al.*, 2004).



Gambar 2.2 Struktur kimia chitosan (Agnihotri *et al.*, 2004)

2.1.3 Fungsi

Chitosan dikenal memiliki fungsi untuk mempercepat migrasi sel dan pematangan jaringan, yang mengarah ke penyembuhan luka, sehingga banyak penelitian yang berkaitan dengan chitosan ini sedang dilakukan di kedokteran gigi. Selain itu chitosan juga sebagai bahan perekat untuk bahan bioaktif seperti PDGF dan BMP, dan dengan demikian dapat secara luas digunakan secara klinis selain pengganti tulang dan sebagai pelindung (Aranaz *et al.*, 2009).

Jenis nano hidroksiapatit juga dapat melekat pada serat chitosan. Berukuran nano mungkin memiliki sifat khusus lainnya karena ukurannya yang kecil dan luas permukaan spesifik besar. Webster *et al* telah menunjukkan hal yang signifikan dalam lipatan protein adsorpsi dan adhesi pada osteoblas berukuran nano keramik. Penelitian lain telah menunjukkan bahwa komposit nano-

HA/chitosan dapat berfungsi sebagai substrat tiga-dimensi baik untuk penempelan sel *in vitro* dan migrasi dalam tulang rekayasa dan jaringan periodontal (Webster *et al.*, 2008).

2.2 Nanopartikel

2.2.1 Definisi

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel yang berbentuk padat dengan ukuran sekitar 10–100 nm (Mohanraj, 2006). Pembuatan teknologi nanopartikel ini sangat bergantung pada metode preparasi yang dilakukan, baik itu dalam bentuk nanopartikel, *nanosphere*, atau nanokapsul. Nanopartikel dalam sistem pengantaran obat berperan sebagai pembawa (*carrier*) dengan cara melarutkan, menjebak, mengenkapsulasi, atau menempelkan obat di dalam matriksnya (Mohanraj, 2006).

2.2.2 Sifat Fisik Nanopartikel

Nanopartikel memiliki sifat fisik yang berbeda dengan partikel yang berukuran mikro. Terdapat dua faktor utama yang menyebabkan perbedaan sifat fisik nanopartikel dengan mikropartikel. Kedua faktor utama tersebut adalah adanya peningkatan rasio luas permukaan terhadap volume dan ukuran partikel bergerak ke dalam bidang di mana efek quantum predominan (Rybachuk *et al.*, 2009).

Peningkatan rasio luas permukaan terhadap volume merupakan peningkatan bertahap pada partikel yang lebih kecil, mengarah pada peningkatan sifat atom terhadap permukaan partikel. Efek kedua sifat tersebut adalah partikel diisolasi dan berinteraksi dengan material lainnya. Luas permukaan yang besar dari nanopartikel juga menghasilkan banyak interaksi antar material. Sifat nanopartikel yang utama adalah adanya peningkatan kekuatan atau peningkatan

resistensi kimia maupun panas. Luas permukaan merupakan faktor penting pada katalis dan struktur seperti elektroda dalam meningkatkan kemampuan menghasilkan energi pada bahan bakar dan baterai. Selain itu nanopartikel memiliki permeabilitas tinggi sehingga mudah berdifusi ke dalam jaringan (Holister *et al.*, 2003).

2.2.3 Kegunaan dalam Dunia Medis

Nanopartikel dapat digunakan sebagai pengantar obat melalui berbagai jalur pengiriman serta sangat penting dalam pengantaran obat secara intravena sehingga dapat melewati pembuluh darah terkecil secara aman. Penggunaan nanopartikel juga dapat memperluas permukaan obat sehingga meningkatkan kelarutan obat dalam sistem pengantaran obat melalui saluran pernapasan (Jain, 2006).

Pemanfaatan nanopartikel di bidang kedokteran gigi dikenal dengan istilah *nanodentistry*. *Nanodentistry* mampu meningkatkan kemungkinan pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut yang komprehensif dengan menggunakan nanomaterial. Penggunaan nanomaterial memiliki peluang potensial di bidang kedokteran gigi misalnya pada anestesi lokal, penyembuhan permanen gigi hipersensitivitas, orthodonsia serta perawatan kesehatan rongga mulut dengan menggunakan *dentifrobots* mekanik. Selain itu terdapat juga nanokomposit, nanoenkapsulasi serta baru-baru ini juga telah dilakukan penelitian tentang nano hidroksiapatit (Rybachuk *et al.*, 2009).

Pemanfaatan nanopartikel lainnya di bidang kedokteran gigi adalah kuaterner amonium poli (etilen imina) (QA-PEI) yang dikembangkan untuk aktivitas antibakteri tambahan resin komposit restoratif. QA-PEI nanopartikel benar-benar menghambat pertumbuhan *S.mutans* dan aktivitas antibakteri yang dimilikinya

berlangsung minimal 3 bulan. Selain itu terdapat pula penggabungan nanopartikel perak nitrat dan perak (AgNPs) yang secara signifikan mengurangi adhesi *C.albicans* ke permukaan resin akrilik, menunjukkan bahwa bahan gigi tiruan AgNPs-gabungan dasar dapat menjadi pilihan yang potensial untuk mencegah stomatitis gigi tiruan (Hamouda, 2012).

2.3 Nano chitosan

Salah satu teknologi yang sedang berkembang saat ini adalah teknologi nanopartikel. Nano teknologi begitu penting karena sifat-sifat material yang meliputi sifat fisik, kimiawi dan biologi berubah secara drastis ketika dimensi material tersebut masuk ke dalam skala nanometer (Wilson, 2004). Nanopartikel bisa lebih efektif penggunaannya akibat luas permukaan partikel yang meningkat secara signifikan. Hal ini membuat partikel-partikelnya sangat reaktif atau katalitik. Materi konvensional (*bulk*) memiliki ukuran bubuk dari ratusan mikron sampai sentimeter, sedangkan nanomaterial yang disebut *nanopowder* (bubuk nano) mempunyai ukuran bubuk 1-100 nm. Nanomaterial dapat dibuat secara sederhana dengan metode *ball milling* (Wilson, 2004).

Nano chitosan yaitu chitosan yang memiliki partikel yang berbentuk padat dengan ukuran sekitar 1 – 100 nm. Chitosan dalam bentuk nanopartikel ini bersifat netral, tidak toksik, dan memiliki stabilitas yang konstan. Nanopartikel ini digunakan dalam berbagai rute, yaitu dalam aplikasi parental, mucosal misal oral, nasal, dan ocular mucosa yang sangat tidak invasif. Baru-baru ini, nanopartikel yang berasal dari bahan polimer digunakan sebagai sistem pengantaran obat yang potensial karena kemampuan penyebarannya di dalam organ tubuh selama waktu

tertentu, dan kemampuannya untuk mengantarkan protein atau peptida (Mohanraj, 2006).

2.4 Pulpitis Reversibel

Pulpitis reversibel adalah kondisi inflamasi pulpa ringan sampai sedang. Secara histopatologi terdapat hyperemia ke perubahan inflamasi ringan terbatas pada daerah tubuli dentin. Secara mikroskopis terlihat dentin reparatif yang pergerakan lambat, gangguan lapisan odontoblas, pembesaran pembuluh darah, ekstrasvasasi cairan edema, dan sel inflamasi (Tarigan, 2006). Penyebab dari pulpitis reversibel antara lain trauma, syok termal, dehidrasi kavitas, penempatan restorasi yang iritatif, stimulus kimiawi infeksi bakteri (Tarigan, 2006).

Pulpitis reversibel dilihat dari imun humoral terlihat *IgM* meningkat, tetapi *IgG* dan *IgA* tetap rendah. Hal ini menunjukkan bahwa reaksi imun pada pulpitis reversibel masih rendah, tetapi masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan gigi sehat, dan menunjukkan adanya unsur protektif (Cohen, 2000).

Jaringan pulpa yang sudah mengalami proses radang masih mungkin untuk disembuhkan (Widodo, 2003). Diagnosis pulpitis reversibel merupakan jaringan pulpa yang sudah mengalami proses radang tidak perlu dibuang dengan perawatan *pulpektomi*, tetapi masih dapat disembuhkan dengan perawatan *pulp capping* (Widodo, 2005).

2.5 Pulp Capping

Pulp capping didefinisikan sebagai aplikasi dari satu atau beberapa lapis bahan pelindung di atas pulpa vital yang terbuka (Tronstad, 2008). Vitalitas kompleks pulpa-dentin, baik selama homeostasis jaringan dan setelah cedera,

tergantung pada aktivitas sel pulpa dan proses sinyal yang mengatur perilaku sel-sel ini. Penyerapan faktor pertumbuhan dalam matriks dentin selama pembentukan jaringan berkontribusi untuk sinyal peristiwa reparatif (Smith, 2003). Intervensi terapi dengan faktor pertumbuhan rekombinan juga menyediakan kemungkinan untuk mengontrol aktivitas sel selama perbaikan. Perbaikan jaringan gigi (*tissue engineering*) dengan memanfaatkan sumber endogen maupun eksogen dapat memberikan kesempatan yang menarik dalam pendekatan biologis baru (Smith, 2003).

Odontoblas merupakan sel pertama yang mengenali sinyal dari TGF- β_1 dan bakteri dalam dentin karies. Peran TGF- β_1 dalam respon modulasi odontoblas untuk bakteri mulut menunjukkan bahwa respon tergantung pada tingkat ekspresi reseptor pengenalan mikroba TLR₂ dan TLR₄ pada permukaan sel. *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, dan *Fusobacterium nucleatum* diaktifkan oleh TLRs, tetapi TLR₄ memainkan peran yang lebih besar. TGF- β_1 menghambat ekspresi TLR₂ dan TLR₄ dan tanggapan odontoblas dilemahkan. Hasil menunjukkan bahwa keseimbangan antara TLR-dimediasi peradangan dan TGF- β_1 aktivitas anti-inflamasi memainkan peran penting dalam peradangan pulpa (Horst, 2009).

Pada banyak keadaan luka, terbukanya pulpa merupakan suatu hal yang tak dapat dihindarkan dan berhubungan dengan suatu respon inflamasi, kemudian terjadi beberapa tahap berikut :

- a. Haemostasis dan formasi dari *blood clot*
- b. Respon iflamasi
- c. Proliferasi sel
- d. Re-modelling jaringan

Proses penyembuhan pada jaringan penghubung selalu ditandai dengan keempat langkah di atas. Kegagalan dalam menanggulangi proses inflamasi akan berakibat pada inflamasi kronis dan tak jarang akan berakhir dengan nekrosis pulpa. Jaringan pulpa yang terbuka ditandai dengan adanya debris nekrotik, formasi *blood clot* dan respon seluler termasuk meningkatnya infiltrasi dari neutrofil. Matsuo mengkategorikan kronologi dari proses penyembuhan setelah dilakukan *pulp capping* dengan kalsium hidroksida (Matsuo, 1996) sebagai berikut :

- a. Fase eksudat (3-5 hari)
- b. Fase proliferasi (3-7 hari)
- c. Formasi osteodentin (5-14 hari)
- d. Fase dentin tubuler (14 hari lebih)

Setelah 3-6 hari, lapisan inflamasi akan digantikan oleh jaringan granulasi. Jaringan ini akan menutupi luka dan mengandung banyak fibroblas serta terbentuknya kapiler darah baru (Fitzgerald, 1985 dalam Takashi, 2010). *Extra Cellular Matrix* (ECM) baru dan mineralisasi akan terlihat selama proses penyembuhan (Schroder dan Granath, 1972 dalam David E, 2006). Deposit mineral pertama kali ditemukan di dalam gelembung matriks, mengindikasikan meningkatnya persamaan antara dentinogenesis reparatif dan pembentukan lapisan dentin. Pada hari ke 11, akan terbentuk matriks baru dikelilingi sel kuboid dan beberapa sel yang mengandung diferensiasi odontoblas. Pada hari ke 14, sell akan membentuk pagar sel identik yang serupa seperti dentin primer atau sekunder (Mjor *et al.*, 1972 dalam Takashi, 2010). Pada 1 bulan, terbentuk jembatan dentin dan lapisan nekrotik yang terbentuk saat respon inflamasi (Fitzgerald, 1985 dalam Takashi, 2010).

Dentin reparatif selama proses penyembuhan pulpa membutuhkan sel progenitor dan diferensiasi dari odontoblas. Terbentuknya sel odontoblas yang baru merupakan hasil dari proliferasi dan diferensiasi dari sel progenitor. Selama degradasi dentin beberapa sitokin, termasuk *growth factor*, dilepas dari dentin dan juga dari ECM pulpa. Sitokin memainkan peran penting dalam regulasi pembentukan sel progenitor, proliferasi sel dan diferensiasi dari sel dentin baru. Keluarga TGF- β diidentifikasi telah mempunyai banyak peran dalam perbaikan jaringan dentin. Diferensiasi dari sel odontoblas baru juga terjadi setelah dilakukan *pulp capping* dengan jaringan fibroblas dan *growth factor* (bFGF), TGF- β_1 , dan BMP-7 (Haskel *et al.*, 1978 dalam Gonzales, 2001).



Gambar 2.3 Gambaran histologi sel odontoblas (Lippincott, 2008)

2.6 Proses Pembentukan Odontoblas

Odontoblas adalah sel pulpa yang paling khas. Odontoblas ini membentuk lapisan tunggal di periferinya dan mensintesis matrik yang kemudian termineralisasi dan menjadi dentin. Di bagian mahkota ruang pulpa yang jumlahnya paling banyak dan berbentuk kubus serta relatif besar sekitar 45.000 dan 65.000/mm³. Di daerah serviks dan bagian tengah-tengah akar lebih sedikit

dan bentuknya lebih gepeng (skuamosa). Odontoblas adalah sel akhir yang tidak mengalami pembelahan sel. Odontoblas masih dapat bertahan terhadap cedera ringan, seperti atrisi atau karies awal dan sekresi matrik dentin reaksioner. Pada keadaan ini odontoblas dapat membentuk odontoblas baru menggantikan odontoblas lama yang hilang akibat cedera. Tumbuhnya odontoblas baru terjadi jika zona kaya akan sel sudah ada preodontoblas. Preodontoblas adalah sel yang telah terdiferensiasi sebagian sepanjang garis odontoblas. Preodontoblas ini akan bermigrasi ke tempat terjadinya cedera dan melanjutkan diferensiasinya pada tempat tersebut (Torneck *et al.*, 2008). Proses pergantian di atas belum diketahui faktor penyebabnya, diperkirakan faktor pertumbuhan *bone morphogenic protein* (BMP) dan *transforming growth factor* β (TGF- β) berkombinasi dengan jaringan lain mengawali perubahan tersebut. Untuk merespon dan menstimulasi permukaan pulpa dentin, odontoblas baru dikumpulkan dan didiferensiasikan pada lokasi cedera untuk mensintesis dentin reparatif tubular yang terhubung dengan osteodentin. Dentin reparatif ini akan menyediakan sebuah “jembatan” jaringan termineralisasi dengan segera di bawah jaringan yang mengalami kerusakan secara meluas, sebagai cara untuk menyelamatkan vitalitas pulpa (Torneck *et al.*, 2008).

Kompleks pulpa dentin memiliki potensi regeneratif alami utama dalam pembentukan dentin tersier. Odontoblas mungkin bertahan terhadap cedera ringan, seperti atrisi atau karies awal dan sekresi matrik dentin reaksioner. Namun, pada trauma dengan intensitas yang lebih besar, seperti karies tingkat lanjut atau prosedur restoratif dapat menyebabkan kematian odontoblas. Cedera pulpa mengakibatkan kematian dan inflamasi sel. Derajat inflamasinya sebanding dengan intensitas dan keparahan jaringan yang rusak. Cedera ringan seperti

karies awal, preparasi kavitas yang dangkal atau trauma ringan mengakibatkan inflamasi yang sedikit atau tidak sama sekali pada pulpa. Karies dalam, prosedur operatif yang luas atau iritasi yang persisten dapat menyebabkan perubahan inflamasi lebih parah. Respon pulpa terhadap cedera berkisar dari inflamasi sementara (pulpitis reversibel) dan pulpitis irreversibel sampai dengan nekrosis pulpa total. Perubahan ini sering muncul tanpa keluhan. Secara patologis, pulpitis (inflamasi pulpa) dibagi menjadi dua yaitu pulpitis reversibel dan irreversibel (Nakanishi *et al.*, 2002).

Karies yang terjadi di tubulus dentin (daerah antara dentin lunak dan keras) menjadi penghambat karena peran kristal besar. Tahap pertama, asam yang dihasilkan oleh bakteri melarutkan mineral yang masuk ke dalam dentin melalui intertubular. Cairan tubulus menjadi jenuh dengan kalsium magnesium dan ion fosfat. Lesi berlangsung ketika tingkat aktivitas metabolisme dari bakteri berkurang. Jika asam kurang diproduksi maka tahap kedua dapat terjadi.

Tahap kedua, larutan jenuh endapan menghasilkan kristal besar trikalsium fosfat. Kristal ini relatif larut namun demikian memblokir tubuli dentin. Tahap ketiga, proses dimana odontoblas dilindungi oleh kristal besar memblokir tubula dan mengeluarkan kolagen tipe II serta fibronektin ke dalam tubulus dentin. Bentuk seperti piring kristal hidroksiapatit yang terakumulasi, yang kurang larut dari fosfat trikalsium membuat pemblokiran tubula lebih efektif. Pertumbuhan kristal yang sama terjadi juga di dentin intertubular (Grossman, 1995). Morfogenik tulang sitokin protein ditambahkan, proses terjadi lebih cepat dan jembatan terbentuk setelah 14 hari dan 21 hari di bawah pelapik pulpa. Proliferasi dan diferensiasi terbentuknya odontoblas sehingga memicu terbentuknya dentin reparatif merupakan indikator keberhasilan dari *pulp capping* (Tronstad, 2008).

2.7 Dentin Reparatif

Dentin adalah substansi mirip tulang yang terdiri dari matriks ekstraseluler termineralisasi yang disekresi oleh odontoblas. Komponen utama dari matriks ekstraseluler adalah kolagen, sedangkan sepuluh persennya adalah zat non kolagen yang terutama terdiri dari asam *phosphoprotein*. Ketika komponen kolagen sebagian besar mengendapkan kristal hidroksiapatit, komponen non kolagen terlibat dalam inisiasi mineralisasi dan laju pertumbuhan apatit. Komponen protein non kolagen pada matriks dentin saat ini mulai diidentifikasi dan ditandai, terutama pada proses kloning DNA (Massa *et al.*, 2005).

Dentin telah diyakini mempunyai sejarah evolusi yang panjang yang bermula dari asal usul vertebrata, bahkan dianggap sebagai salah satu karakteristik yang unik dari subfilum vertebrata. Hal ini terlihat dengan adanya berbagai jenis dentin yang menggambarkan secara signifikan kesimpulan hubungan filogenetik di antara vertebrata yang sudah punah hingga yang masih eksis. Perbandingan bentuk dentin telah didasarkan pada pengujian morfologi dan mikroskopis anatomi, yang dapat menimbulkan kesimpulan yang salah sebagai akibat dari konvergensi fenotipik. Utilitas dari dentin sebagai penanda filogenetik sangat dapat ditingkatkan dengan pesat dengan cara melengkapi morfologi oleh studi molekuler. Selain itu, evolusi molekuler dari berbagai protein yang membentuk dentin bisa sangat menarik dalam dirinya sendiri. Penelitian semacam itu selama ini terbatas pada deteksi reaksi silang dengan metode serologi imunologi. Reaksi silang tidak membuat homologi protein terutama yang berasal dari filum yang sangat berbeda (Massa *et al.*, 2005).

Sebagai sel induk untuk odontoblas, harus ada beberapa populasi sel dalam pulpa gigi/papila seperti lapisan sel keturunan odontoblas pada bagian

bawah permukaan sel di bawah lapisan pulpa gigi/sel parenkim papila. Seluruhnya berisi sel mesensimal yang tidak dibedakan atau dibedakan ulang. Sel yang mengekspresikan *sialoprotein dentine* (DSP) dan *gen phosphopryn* (DPP), di mana sebagai penanda spesifik untuk pembeda odontoblas, telah membuktikan dentin matrik protein 1 yang berlebih (DMP1) yang juga telah terdeteksi di dentin, tulang dan dari masing-masing sumber sel. Berdasarkan laporan tersebut, keberadaan sel-sel yang dapat dimasukkan untuk mengungkapkan penanda spesifik dan dapat mendorong odontoblas berdekatan dengan hidroksiapatit/trikalsium fosfat, sebagian mungkin mencerminkan kenyataan bahwa ketika sel-sel pulpa gigi tersebut yang berdekatan dengan permukaan jaringan mineralisasi, terjadi induksi odontoblas regeneratif. Bagaimanapun jenis sel yang berasal odontoblas regeneratif kurang dipahami. Selanjutnya, sinyal dan jalur oleh sel subodontoblas dibedakan menjadi odontoblas superfamili TGF- β , faktor pertumbuhan fibroblas (FGFs) dan faktor pertumbuhan insulin (IGFs). Dalam suatu sistem organ budaya *microenvironment* tiga dimensi yang menyediakan kondisi yang dibutuhkan untuk pembedaan odontoblas, diduga komponen membran basal TGF- β 1 yang disekresikan. Kemudian bersama-sama dengan penyerapan ECM disekitarnya substratum agar terisolasi oleh papila gigi yang memainkan peranan yang sama yang mungkin dimainkan oleh membran basal *in vivo* (Kikuchi *et al.*, 2004).

Dentin reparatif dikenal dengan dentin iregular atau dentin tersier, disusun oleh pulpa sebagai suatu reaksi terhadap rangsangan yang membahayakan. Rangsangan tersebut berupa karies, prosedur operatif, bahan restoratif, abrasi atau trauma yang dapat mencederai pulpa. Dentin reparatif ditumpuk di daerah yang mengalami cedera. Kecepatan, kualitas dan kuantitas dentin reparatif yang

ditumpuk tergantung keparahan dan lamanya cedera yang dialami odontoblas dan biasanya dihasilkan oleh odontoblas baru. Kompleks pulpa dentin memiliki potensi regeneratif alami utama dalam pembentukan dentin reparatif. Pada trauma dengan intensitas yang lebih besar, seperti karies tingkat lanjut atau prosedur restoratif, dapat menyebabkan kematian odontoblas (Torneck *et al.*, 2008).

Pada proses fisiologis, pembentukan sel tubular dentin diinduksi mengikuti pengendapan awal baik dari osteodentin amorf (reparatif) atau tubular dentin (dentinogenesis reaksioner). Pada penelitian, dentinogenesis dapat diinduksi oleh anggota superfamili *transforming growth factor- β* (TGF- β) dengan mengkombinasikan pertumbuhan tertentu dan diinduksi berdekatan dengan permukaan struktur ECM penyerapan substrat agar. Dentinogenesis juga dapat diinduksi berdekatan dengan ECM buatan atau hidroksiapatit/trikalsium fosfat yang dicangkokkan. Pulpa gigi/papila akan membantu menjaga proses dentinogenesis. Oleh karena itu, sel induk untuk odontoblas regeneratif harus ada dalam pulpa gigi/papila sebagai jaringan ikat di mana jaringan ini terdiri dari sel-sel mesenkimal yang tidak memiliki perbedaan, fibroblas pulpa, sel-sel yang terkait dengan penyediaan neurovaskular dan sel-sel sistem imun. Ketika sel-sel endotel vaskuler, sel mural dan sel-sel saraf perifer bersebelahan dengan berbagai jenis membran basal, dapat terjadi trans-diferensial. Populasi sel odontoblas berada pada zona kaya sel pada pulpa gigi. Lapisan sel turunan odontoblas juga di pinggir papila gigi seri. Selain itu, sel-sel imunokompeten pulpa juga dapat berkontribusi untuk dentinogenesis tersier pada replantasi molar. Populasi *stem cell* mampu merangsang odontoblas yang telah mengisolasinya dalam pulpa gigi manusia (Kikuchi *et al.*, 2004).

Matrik ekstraseluler dentin 90% terdiri dari fibril kolagen tipe I, yang menyediakan struktur kerangka yang mendefinisikan ruangan untuk mineral yang dibutuhkan. Kolagen sendiri tidak mempunyai kapasitas untuk menginduksi formasi matrik mineral khusus dari kalsium fosfat yang tidak mengendap secara spontan. Pada protein non kolagen yang memiliki properti menjepit kalsium dan fungsi seperti peningkat atau penghambat perpindahan mineral ke dalam pada percobaan *in vitro*. Mereka terdiri dari *dentin sialophosphoprotein* (DSPP) yang merupakan sebuah induk protein yang besar yang mengalami perpecahan menjadi dua produk, *dentin sialoprotein* (DSP) dan *dentin phosphoprotein* (DPP), dentin matrik protein 1, 2, 3 (DMP1, DMP2, DMP3) dan sedikit dari *osteopontin*, tulang *sialoprotein*, *osteonectin* dan *osteocalcin* (Kikuchi *et al.*, 2004).

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.8.1 Klasifikasi Ilmiah

Tikus putih atau mencit adalah tikus rumah dan binatang asli Asia, India dan Eropa Barat. Jenis ini sekarang ditemukan di seluruh dunia karena pengenalan oleh manusia. Tikus laboratorium berbeda dari tikus-tikus liar. Tikus laboratorium lebih tenang dan cenderung tidak menggigit, mereka dapat mentolerir untuk berkumpul dalam jumlah yang lebih besar, berkembang biak lebih awal, dan memproduksi lebih banyak keturunan. Tikus laboratorium yang digunakan adalah spesies tikus *Rattus norvegicus* yang dibesarkan dan disimpan untuk penelitian ilmiah. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) sering digunakan sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili dari kelas mamalia, yang mana manusia juga merupakan dari golongan mamalia sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme

bio-kimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah serta ekskresi menyerupai manusia.

Klasifikasi dari tikus putih :

Kerajaan : *Animalia*

Filum : *Chordata*

Subfilum : *Vertebrata*

Kelas : *Mammalia*

Ordo : *Rodentia*

Famili : *Muridae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *novergicus* (Kusumawati, 2004)



Gambar 2.4 Tikus strain wistar *Rattus novergicus*

(http://www.bioterio.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&id_ani=17&aract=sim/diakses 24 Maret 2015)

Tikus laboratorium adalah spesies tikus putih *Rattus novergicus* yang dibesarkan dan disimpan untuk penelitian ilmiah. Tikus laboratorium telah digunakan sebagai model hewan yang penting untuk penelitian di bidang psikologi, kedokteran dan bidang lainnya. Selama bertahun-tahun, tikus telah digunakan dalam banyak penelitian eksperimen yang telah menambah pemahaman tentang genetika, penyakit, pengaruh obat-obatan dan topik lain dalam kesehatan dan

kedokteran. Para ilmuwan telah memunculkan banyak galur tikus khusus untuk eksperimen. Sebagian besar berasal dari *wistar albino* yang masih digunakan secara luas (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Ada dua sifat utama yang membedakan tikus dengan hewan percobaan lainnya, yaitu tikus tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim pada tempat bermuara esofagus ke dalam lambung sehingga mempermudah proses pencekakan perlakuan menggunakan sonde lambung dan tidak mempunyai kantung empedu. Selain itu, tikus hanya mempunyai kelenjar keringat di telapak kaki (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

2.8.2 Galur (*strain*) pada Tikus

Sebuah galur atau *strain* pada tikus adalah sebuah kelompok di mana semua anggota identik secara genetik. Pada tikus, ini dicapai melalui perkawinan sedarah. Memiliki populasi jenis ini akan mungkin untuk melakukan percobaan pada peran gen atau melakukan percobaan yang membuat pengecualian variasi dalam genetika sebagai faktor. Berikut ini adalah macam-macam galur pada tikus (Estina, 2010) :

a. Galur Wistar

Rattus norvegicus memiliki galur wistar. Jenis galur ini dikembangkan di Institut Wistar pada tahun 1906 untuk digunakan dalam biologi dan penelitian medis, merupakan galur tikus pertama dikembangkan sebagai model organisme pada laboratorium. Lebih dari separuh dari semua *strain* tikus laboratorium adalah keturunan dari koloni asli yang dikembangkan oleh Henry, fisiologi Donaldson J. Milton, administrator ilmiah Greenman, dan peneliti genetik / embriologi Helen Dean King. Tikus wistar saat ini

menjadi salah satu *strain* tikus yang paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium

b. Galur *Sprague Dawley*

Tikus jenis ini pertama kali diproduksi oleh peternakan Sprague Dawley (kemudian menjadi Perusahaan Animal Sprague Dawley) di Madison, Wisconsin. Fasilitas penangkaran dibeli pertama kali oleh Gibco dan kemudian oleh Harlan (sekarang Harlan Sprague Dawley) pada bulan Januari 1980. Rata-rata ukuran berat badan dewasa adalah 250-300g bagi betina dan 450-520g untuk jantan. Tikus ini biasanya memiliki ekor yang lebih panjang dari tikus wistar

c. Galur *Biobreeding Diabetes Prone* (atau Tikus BBDP)

Tikus BBDP adalah tikus yang berkembang secara spontan autoimun tipe 1 diabetes. Tikus BBDP digunakan sebagai hewan model untuk tipe 1 diabetes. Galur ini banyak merekapitulasi ulang beberapa fitur diabetes tipe 1 dan telah memberikan kontribusi yang besar kepada penelitian patogenesis T1D

d. Galur Jenis *Long Evans*

Galur ini dikembangkan oleh Drs. Long dan Evans pada tahun 1915 dengan menyilangkan beberapa wistar betina dengan abu-abu liar laki-laki. Long Evan tikus putih dengan tudung hitam atau kadang-kadang putih dengan kerudung cokelat. Tikus ini dimanfaatkan sebagai model serbaguna organisme, sering dalam perilaku dan penelitian obesitas

e. Galur *Zucker*

Tikus *Zucker* dibiakkan menjadi model untuk penelitian genetik pada obesitas dan hipertensi. Mereka dinamai setelah Lois M. Zucker dan

Theodore F. Zucker, peneliti pelopor dalam studi genetika obesitas. Ada dua jenis tikus Zucker: tikus *Zucker* ramping, dilambangkan sebagai sifat dan obesitas khas yang memiliki sifat resesif (*fa/fa*) dari reseptor leptin, yang mampu menimbang sampai dua kali lipat berat badan rata-rata. Tikus *Zucker* obese memiliki level lemak dan kolesterol tingkat tinggi dalam darah mereka, yang tahan insulin tanpa hiperglikemik

2.8.3 Anatomi Gigi Tikus

Tikus memiliki 4 gigi incisivus yang tajam untuk memotong makanan (2 incisivus atas dan 2 incisivus bawah). Tidak memiliki gigi caninus sehingga terdapat diastema yang luas, di antara gigi anterior dan gigi posteriornya. Gigi posterior terdiri dari gigi premolar dan molar berfungsi untuk mengunyah makanan (Vanderlip, 2003).



Gambar 2.5 Anatomi gigi tikus wistar *Rattus norvegicus* (Dammachke, 2010)