

# PENGARUH APLIKASI H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35 % PADA GINGIVA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)

A.A KOMPIANG MARTINI

Bagian Radiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar

E-mail: kompyangmartini@yahoo.com

## ABSTRACT

Teeth whitening technique has been known since 1989. The in-office bleaching techniques using hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> useful as tooth whitening experience discoloration or staining on the teeth. However, if the use of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) is not done carefully it can lead to irritation of the soft tissues of the oral cavity. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) is toxic and side effects are irritation of the gingiva to cause inflammation of gingiva. Gingivitis caused by various factors both exogenous and endogenous factors. Endogenous factors such as tartar, tooth crowding, hormonal, stress and microorganisms, exogenous factors caused by mechanical trauma, thermal, chemical, infection and malnutrition. Gingivitis is a complex response of tissue to injury that involves changes in the cells, humoral, and which is an inflammatory vascular. Neutrophils are the most prominent cells in acute inflammation. Neutrophil granules derived from neutral in sitoplasma. Based these problems, preliminary research proved that induction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can cause inflammation of the gingiva. This is evidenced by the preliminary study using 6 male rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain, divided into two groups: a control group (normal mice without induction H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%) and treatment groups (rats with induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%). The research was carried out as randomized Post test only control group design. The results showed the average number of neutrophils in the control group (11 cells per five field of view), while the treatment group (119 cells per five field of view). This shows that the treatment group contained significantly increase neutrophil cells.

Keywords: Gingivitis, Neutrofil, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

## PENDAHULUAN

Dental bleaching saat sekarang ini sangat banyak digunakan dalam memperoleh senyuman gigi yang putih, dental bleaching adalah salah satu tindakan konservasi gigi dalam memperbaiki warna gigi yang mengalami diskolorasi atau staining pada gigi baik yang disebabkan oleh faktor eksternal maupun internal. Hal ini menarik keinginan seseorang dalam mencari perawatan estetik gigi.

Perawatan dental bleaching dapat dilakukan oleh pasien di dalam rumah (*home bleaching*) dan dilakukan di praktek dokter gigi (*office bleaching*), hidrogen peroksida merupakan bahan pemutih gigi yang sering digunakan pada tehnik office bleaching sedangkan pada tehnik *home bleaching* menggunakan bahan pemutih *karbamide peroksida*. Hidrogen peroksida mempunyai struktur kimia (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Konsentrasi yang digunakan 15% sampai 35%.<sup>1</sup>

Hidrogen peroksida mempunyai sifat reaktif untuk melarutkan senyawa-senyawa dikolorasi pada gigi. Sifat reaktif dari hidrogen peroksida ini dapat menimbulkan efek samping pada rongga mulut, baik pada gigi yang dilakukan perawatan pemutihan ataupun pada jaringan lunak rongga mulut. Secara umum dapat menimbulkan gigi sensitif dan iritasi pada gingiva.<sup>2</sup>

Gingiva adalah membran mukosa yang melekat erat pada periosteum tulang maksila dan mandibula. Gingiva fungsi utamanya melindungi jaringan yang dibawahnya. Pada orang dewasa, gingiva normal menutupi tulang alveolar dan akar gigi, sampai pada perbatasan *cemento enamel junction*.<sup>3</sup>

Gingiva terdiri dari epithelium berlapis pipih (*Epithelium squamous stratified*) di atasnya dan di bawahnya berisi jaringan ikat berinti di tengah. Walaupun epithelium berisi lebih banyak matriks seluler, jaringan ikat memiliki lebih sedikit matriks seluler dan terutama terdiri dari serat-serat kolagen dan substansi dasar.<sup>3</sup>

Jaringan ikat gingiva terdiri dari lamina propria yang terdiri dari dua lapisan : lapisan papillary dan lapisan retikular. Lamina propria mengandung beberapa sel-sel yang berbeda fibroblas, makrofag, sel mast, dan inflammatory sel.<sup>4</sup> Jaringan ikat mempunyai substansi seluler dan ekstraseluler yang terpisah terdiri dari dari serat-serat dan substansi dasar.<sup>3</sup>

Keradangan pada gingiva atau gingivitis disebabkan oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen disebabkan oleh karang gigi, debris, gigi berjejal, hormonal, stress dan mikroorganisme. Faktor eksogen disebabkan oleh trauma mekanis, thermis, kimia, infeksi dan malnutrisi. Bahan kimia yang mengenai mukosa gingiva dapat menimbulkan iritasi dan memicu aktifitas biologis pada gingiva, aktifitas biologis menimbulkan peradangan pada gingiva. Secara histologis memperlihatkan peningkatan sel radang dan vaskularisasi.<sup>5,6</sup>

Gingivitis merupakan suatu respon kompleks jaringan terhadap cedera yang melibatkan perubahan sel, humoral, dan vaskular yang merupakan suatu inflamasi. Inflamasi akut sebagian besar diperantarai oleh granulosit polimorfonuklear yang juga disebut neutrofil. Sel ini berasal dari granula netral dalam

sitoplasmanya dan banyak terdapat pada peradangan akut.<sup>3,7</sup>

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka peneliti ingin mengetahui lebih lanjut tentang peningkatan neutrofil pada gingivitis tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%.

### MEKANISME HIDROGEN PEROKSIDA DAPAT MENGAKIBATKAN IRITASI PADA GINGIVA

Hidrogen peroksida merupakan senyawa kimia yang digunakan dalam pemutihan gigi dalam berbagai konsentrasi. Hidrogen peroksida memiliki unsur hidrogen dan oksigen (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) memiliki sifat oksidator yang sangat kuat. Hidrogen peroksida merupakan cairan bening, tidak berwarna dan tidak berbau. Hidrogen peroksida bersifat larut dalam air dan menyebabkan suasana asam. Secara spontan hidrogen peroksida dapat terurai menjadi air dan oksigen. Konsentrasi hidrogen peroksida bersifat bakteristatik dan dapat bersifat mutagenik sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada ikatan DNA.<sup>8</sup>

Pemutihan gigi sangat populer saat ini, masyarakat sudah banyak menerima perawatan pemutihan gigi dengan tehnik in-office bleaching. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menyebabkan radikal bebas, berinteraksi dengan pigmen molekul yang memproduksi efek pemutihan. Mekanisme pemutihan gigi tidak sepenuhnya dipahami, secara umum pemutihan pada gigi hampir mirip dengan pewarna tekstil dan pemutih kertas. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai *bleaching gel* mengeluarkan radikal bebas selama berkontak dengan email dan dentin setelah diaplikasikan, dimana H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> memecah ikatan ganda dari konfigurasi dan ukuran molekul pigmen.<sup>9</sup>

Hidrogen peroksida dapat menimbulkan efek samping pada jaringan lunak terutama pada gingiva yang berkontak dengan bahan *bleaching*, iritasi gingiva dilaporkan dapat terjadi pada tehnik *bleaching* dalam konsentrasi 5%-50%. Hal ini memperlihatkan peradangan dari yang ringan sampai tingkat paling parah. Hal ini dapat timbul 3 hari setelah melakukan *bleaching*.<sup>9</sup>

Pada mukosa gingiva yang berkontak dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% akan terasa seperti terbakar. Hal ini tentu saja akan menimbulkan iritasi pada gingiva sampai pada proses peradangan. Tanda peradangan secara klinis pada mukosa gingiva akan mengalami kemerahan, rasa panas, pembengkakan, nyeri dan sampai terjadi kehilangan fungsi. proses peradangan merupakan respon awal yang melalui tiga tahap, (1). Bertambahnya pasokan pembuluh darah, (2). Bertambahnya permeabilitas pembuluh darah, (3) Migrasi aktif sel fagosit ke daerah yang terlibat. Proses peradangan ini kan menyebabkan peningkatan sel radang pada daerah terjadi iritasi gingiva.<sup>3,4,7</sup>

### BAHAN DAN METODE

Pada penelitian pendahuluan yang dilakukan pada mukosa gingiva tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*, *Strain Wistar*) menyatakan bahwa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35 % dapat menyebabkan iritasi pada gingiva, penelitian pendahuluan menggunakan 6 ekor tikus yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol ( tikus

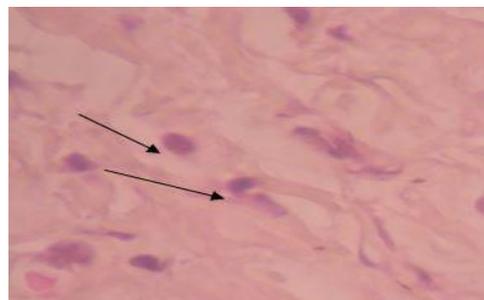
yang tidak diinduksi) kelompok perlakuan (diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%). Jenis penelitian experimental, rancangan penelitian *Post test only controle group*. Lokasi penelitian di Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Umum dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar.

Tikus putih jantan berumur 2-2,5 bulan, seluruh sampel dioleskan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% adalah bahan pemutih gigi yang sering digunakan sebagai *advance formula whitening gel in office bleaching* dalam penelitian ini bertujuan sebagai induksi gingiva, pengolesan dilakukan sebanyak 2 kali 5 menit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% dengan menggunakan *microbrush* pada mukosa gingiva yang sebelumnya disinfeksi dengan alkohol 70%. Semua tikus di anastesi secara im (intramuskular) dengan xylazine (7 mg/ Kg BB ) dicampur dengan ketamin (65 mg/Kg BB).<sup>10</sup>

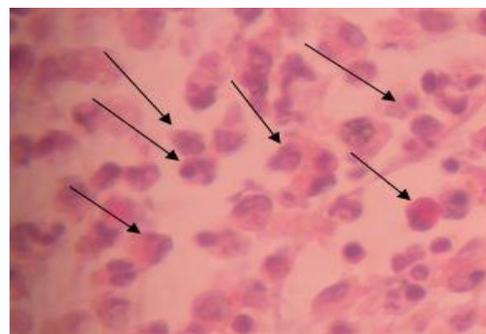
Pemeriksaan mikroskopis pada sediaan pereparat jaringan gingiva tikus yang mengalami gingivitis dengan pengecatan *Harris HematoxyllinEosin*, menggunakan mikroskop elektrik dengan pembesaran 400x pada lima lapang pandang. Masing-masing sediaan dinilai dengan menghitung jumlah sel-sel radang neutrofil pada lima lapang pandang pada setiap mikroskopis dan sisa jaringan yang tidak digunakan dikubur secara manusiawi.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pendahuluan terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*, *Strain Wistar*) tampak perbedaan jumlah neutrofil pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan secara histologis yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Jumlah neutrofil pada kelompok kontrol.



Gambar 2. Jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan (diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%).

Pada kelompok kontrol menggunakan 3 ekor tikus putih jantan (*Rattus Novergicus*, *Strain Wistar*) didapatkan rerata 11 sel per lima lapang pandang. Pada kelompok perlakuan yang diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% dengan menggunakan 3 ekor tikus didapatkan rerata 119 sel per lima lapang pandang.

Berdasarkan penelitian di atas bahwa terdapat peningkatan sel radang neutrofil pada kelompok perlakuan yang diinduksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35% *in-office bleaching*. Neutrofil /*Polymorphonuclear leukocytes* (*polys*, *neutrophils*) sekitar 60% sampai 70% dari seluruh leukosit dalam darah dan merupakan sel paling menonjol pada proses inflamasi akut.

Gingivitis atau radang pada gingiva dapat disebabkan oleh rangsangan fisik ataupun kimia, selain oleh karena metabolisme bakteri yang disebabkan oleh plak atau karang gigi. Proses peradangan ini sering ditandai dengan perubahan warna pada gingiva, dari pembengkakan berwarna pucat sampai berwarna magenta.<sup>6</sup>

Pemeriksaan mikroskopis pada daerah jaringan ikat di bawah *junctional epithelium*, terlihat perubahan morfologis dimana terjadi pelebaran kapiler kecil dan vena. Migrasi neutrofil terjadi 2 hari sampai 2 minggu setelah terjadi peradangan. Dengan bermigrasi melalui dinding kapiler (*diapedesis*, *emigrasi*) *polymorphonuclear neutrophils* (PMN) meninggalkan kapiler dan kemudian terjadi peningkatan jumlah PMN pada jaringan ikat, *junctional epithelium*, dan *gingival sulcus* dan pengeluaran cairan dari gingiva dan terdapat ekstravaskular protein.<sup>12</sup>

Karakteristik sel neutrofil seperti pemukul genderang yang disebut dengan *barr body* atau *sex chromosome* tetapi tidak selalu terlihat dalam setiap sel. Sel neutrofil berbentuk bulat dengan nukleus berlobus dengan diameter 9-12 µm. Kromatin tipis menghubungkan lobus satu sama lain, usia sel neutrofil dapat dilihat dari peningkatan jumlah lobus. Sel ini terbentuk dari mielosit sumsum tulang. Dengan pewarnaan *metilen biru-eosin* tidak memberikan warna merah (*eosinofilik*) maupun biru (*basofilik*), karena itu disebut neutrofil.<sup>13,14</sup>

Jika terjadi respon radang sel PMN pada pembuluh darah akan bergerak ke pusat radang dengan adanya pengaruh dari mediator radang (*prostaglandin*, *leukotrin*, *complemen-C5a*) yang disebut *chemotaksis*.<sup>15,16</sup> Kemudian plasma darah yang keluar dari pembuluh darah memungkinkan terjadinya pembentukan fibrin dan sel yang bergerak dari jaringan semuanya berkumpul pada daerah yang mengalami iritasi. Sel-sel PMN bergerombol pada pusat radang atau mengelilingi pusat radang dengan tujuan melokalisasi daerah radang disebut dengan *agregation*.

Sel-sel PMN memakan kuman atau sel-sel mati dan dicernakan oleh enzim katalitik dari lisosom yang disebut dengan *phagocytosis*. Beberapa tipe sel yang mengambil bagian dalam proses radang yaitu: sel polimorfonuklear/PMN (*granulosit*) terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil, Limfosit; monosit/makrofag dan sel plasma.<sup>15,16</sup>

Neutrofil mempunyai tiga tipe dilihat dari granula yang terdapat dalam sitoplasma dari neutrofil, yaitu: *spesific granules* ukurannya kecil (berdiameter

0,1 µm). Mengandung berbagai enzim dan agen farmakologis yang membantu neutrofil dalam menjalankan fungsi antimikroba. Dalam mikroskop elektron butiran ini tampak agak lonjong. *Azurophilic granules* mengandung *lysosomes* yang mengandung hidrolisa asam, *myeloperoxidase*, agen antibakteria lisozim, peningkatan permeabilitas protein bakteri, *cathepsin G*, *elastase*, *kollagenonspesifik*. *Tertiary granules* mengandung gelatin dan *cathepsin* serta glikoprotein yang dimasukkan ke dalam plasma.<sup>13,14</sup>

Fungsi neutrofil dalam memfagosit dan menyerang bakteri, neutrofil berinteraksi dengan agen kemotaksis untuk bermigrasi ke arah mikroorganisme. Mereka masuk melewati *venule postcapillary* pada daerah terjadinya inflamasi dan mengikuti berbagai *selectin molecules* dari sel-sel endotel pembuluh ini dengan menggunakan *selectin receptors*. Interaksi antara *selectin receptors* neutrofil dan *selectins* dari sel-sel endotel menyebabkan neutrofil memutar perlahan sepanjang lapisan endotel.<sup>7,13,14</sup>

Neutrofil memperlambat migrasi mereka, *interleukin-1 (IL-1)* dan *tumor necrosis factor (TNF)* menginduksi sel endotel untuk mengekspos adhesi antar *molecul type 1 (ICAM-1)*, dimana *integrin molecules* dari neutrofil diikat. Neutrofil berhenti bermigrasi meskipun endotelium dari *postcapillary venule* memasuki jaringan ikat. Neutrofil sesekali menghancurkan mikroorganisme dengan fagositosis dengan pelepasan enzim hidrolitik. Neutrofil melepaskan leukotrin dalam membantu proses inflamasi.<sup>7,13,14</sup>

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian pendahuluan bahwa hidrogen peroksida dapat mengakibatkan iritasi pada gingiva tikus putih jantan *rattus norvegicus strain wistar* dan terdapat peningkatan sel radang neutrofil.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Matis BA, Cohran MA, Franco M, Al-Ammar W, Eckert GJ, Stropes M. Eight in-office toothwhitening system evaluated in vivo: apilot study. *Revista Romana DeStomatologie* 2007;3(3): 131-7.
2. Soares DG, Ribeiro APD, Vargas FDS, Hebling J, Costa CADS. Efficacy and cytotoxicity of a bleaching gel after short application times on dental enamel. *Clin Oral Invest* 2013;17: 1901-9.
3. Carranza FA, Takei H, Newman MG. The periodontal disease. In: Carranza FA, Forrest JL, Kenney EB, Klokkevold PR, Newman MG, Novak MJ, Preshaw P, Taeki HH. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10<sup>th</sup> ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2006. h. 154-7.
4. Nanci A, Martha JS. *The Cate's Oral Histology Development, Structure and Function*. 8<sup>th</sup>. St. Louis : Mosby ; 2008. h. 297-8.
5. Dumitrescu AL, Kobayashi J. *Genetic Variants in Periodontal Health and Disease*. Springer Dordrecht Heidelberg London-New york; 2010. h.1-9

6. Rickne CS, Gabriela W. *Woelfels's Dental Anatomy*. Lippincot Williams & Walkins Philadelphia; ; 2012.h. 195-231
7. Gray J. *Pertahanan Hospes dan Penyakit Periodontal*. In: Fedi P.F, Vernino A.R., Gray J.L., Silabus Periodonti (The Periodontic Syllabus), Amaliya, Jakarta : EGC ; 2005. h. 40-8
8. Amiatun. 2009, Pengaruh zat aktif pemutih gigi terhadap kekuatangeser perlekatan breket logam. Tesis. Medan: Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara; 2009.h.7-12.
9. Li Y, Greenwall. Safety issues of tooth whitening using peroxide-based materials. *British Dental Journal* 2013; 215(1): 29-33.
10. Istiadjid MES. *Buku Ajar Etik Penelitian Kesehatan*; Universitas Brawijaya Malang. Komisi Nasional etik Penelitian Kesehatan (KNEPK); 2011. h. 33-8.
11. Fiorellini JP, Ishikawa SO, Kim DM. The gingiva. In: Carranza FA, Forrest JL, Kenney EB, Klokkevold PR, Newman MG, Novak MJ, Preshaw P, Taeki HH. *Carranza's Clinical Periodontology*. 10<sup>th</sup> ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2006. h. 46-65
12. Damjanov, I. *Buku Teks Dan Atlas Berwarna Histopatologi*. Alih Bahasa: Pendit.B. Jakarta, Widya Medika; 2010 h.1-36
13. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. 2<sup>nd</sup> ed. London; W.B. Saunders Company; 2001.h. 398-406
14. Avery JK, Chiego DJ. *Essential of Oral Histology and Embryology; A Clinical Approach*. Elsevier; 3<sup>th</sup>ed.; 2006 h.191-93.
15. Sander MA. *Atlas Berwarna Patologi Anatomi*. Ed. Revisi: 2. Jakarta EGC; 2007. h.14-5.