

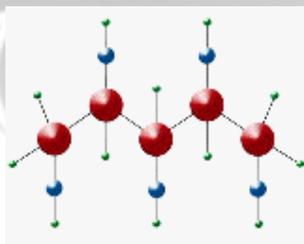
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Xylitol

Xylitol diketahui sebagai salah satu bahan kimia organik sejak pertama kali diolah pada tahun 1891 oleh para ahli kimia di Jerman.² Setelah Perang Dunia II, para peneliti dari Jepang, Jerman, dan Uni Sovyet memulai mengembangkan penelitian mengenai xylitol.⁴ Berdasarkan pengembangan tersebut, sifat biologis xylitol diketahui dapat mengalami transportasi pasif ke dalam sel tanpa insulin.^{2,4} Pada tahun 1960, xylitol digunakan sebagai pemanis untuk diet bagi pasien diabetes dan nutrisi cairan parenteral (terapi pemberian nutrisi intravena/ infus) bagi pasien dengan resistensi insulin di Jerman, Switzerland, Uni Sovyet, dan Jepang.^{1,2,4} Pada sekitar tahun 1970, peran xylitol dalam menghambat pembentukan karies gigi ditemukan pertama kali oleh para peneliti Universitas Turku Finlandia.¹

Xylitol adalah gula alkohol alami yang memiliki 5 atom karbon dan 5 grup hidroksil sehingga dapat disebut sebagai pentitol.⁴ Struktur kimia xylitol dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur Kimia Molekul Xylitol²¹

Xylitol merupakan substansi natural yang banyak diproduksi oleh alam.² Xylitol dapat ditemukan dalam jumlah banyak pada pohon *birch* ditemukan juga dalam jumlah sedikit pada *raspberry*, *strawberry*, *yellow*

plum, beras, gandum, dan berbagai kacang-kacangan^{1-4,6} Bahkan xylitol secara alami diproduksi didalam tubuh manusia melalui proses metabolisme glukosa.^{2,4} Xylitol diproduksi didalam tubuh manusia lebih dari 15 gram perhari selama metabolisme normal.^{2,4}



Gambar 2.2. Pohon *Birch*²²

Xylitol memiliki karakteristik yang mirip dengan gula pada umumnya, yaitu: memiliki rasa yang manis dan secara fisik terlihat mirip seperti gula.² Ciri lain dari xylitol adalah adanya sensasi dingin yang menyegarkan saat dikonsumsi.^{4,6} Walaupun memiliki banyak kemiripan dengan gula pada umumnya, sebenarnya xylitol digolongkan sebagai polialkohol (poliol) sehingga tidak dapat secara langsung digolongkan bersama dengan gula karbohidrat lain (sukrosa, gula jagung, D-fruktosa, D-glukosa, dll), yang dikategorikan dalam monosakarida dan disakarida.⁴ Legitimasi yang dapat membuat poliol disebut sebagai gula adalah hubungan biokimianya yang mirip dengan gula lainnya, dan poliol dapat dibentuk dan berubah menjadi gula (contoh: aldosa dan ketosa).⁴ Beberapa ensiklopedia kimia mendefinisikan gula sebagai karbohidrat manis yang berbentuk kristal, sehingga mematahkan legitimasi xylitol sebagai gula.⁴

Xylitol diserap dan digunakan dalam tubuh secara perlahan.² Xylitol biasanya secara alami akan terbentuk dalam metabolisme glukosa pada manusia.^{2,4} Hal tersebut juga terjadi pada metabolisme beberapa hewan, tumbuhan, bahkan mikroorganisme.⁴ Pada manusia, kadar xylitol

dalam darah dapat mencapai 0,03-0,06 mg/ 100 ml dan dalam urin diekskresikan 0,3 mg/jam.⁴ Hal tersebut tidak mengalami perbedaan yang signifikan pada subyek diabetes dan normal.⁴ Penyerapan xylitol dalam tubuh dapat mengalami adaptasi dalam jumlah total dosis yang dikonsumsi perhari.^{2,4} Pada subyek yang belum beradaptasi baik dengan penyerapan xylitol, dosis 0,5 g/kg berat badan akan membuat subyek mengalami diare osmotik.⁴ Namun pada subyek yang telah beradaptasi baik dengan dengan xylitol dapat menerima dosis ≥ 200 g/hari tanpa mengalami diare.⁴

Dalam dosis besar (misalnya 50-70 g/hari), 1/3 dari jumlah yang dikonsumsi akan diserap dan dimetabolisme di hati.^{2,4} Sisanya akan berada di saluran intestinal dan mengalami pemecahan molekul menjadi asam lemak rantai pendek yang kemudian diserap dan digunakan oleh tubuh.^{2,4} Dalam metabolismenya, xylitol akan mengikuti metabolisme karbohidrat dan sebagian akan diubah menjadi glikogen, dioksidasi menjadi karbon dioksida dan air, atau digunakan sebagai material untuk pembentukan substansi dalam proses biosintesis, misalnya lemak.⁴ Xylitol mengalami metabolisme yang lambat sehingga jumlah total dosis yang diterima tidak akan melebihi kapasitas metabolisme individu.⁴

Beberapa sumber mengatakan bahwa xylitol aman untuk dikonsumsi.^{1,2,4} JECFA (gabungan komite ahli WHO dan FAO) pada tahun 1983 dan FDA pada tahun 1986 mengeluarkan rekomendasi bahwa xylitol aman untuk dikonsumsi.^{1,2,4} Dengan mengkonsumsi xylitol, banyak keuntungan yang bisa diperoleh, yaitu:

- a) Xylitol merupakan pemanis alami (bukan pemanis sintetis seperti aspartam) yang memiliki rasa manis setara dengan sukrosa, 2 kali lebih manis dari sorbitol, dan memiliki sensasi dingin di mulut yang menyegarkan.^{1-4,6}
- b) Konsumsi xylitol akan menghasilkan 40% kalori dan 75% karbohidrat yang lebih rendah dari sukrosa.^{1,4}
- c) Xylitol merupakan antikariogenik dan non-kariogenik.^{1-4,6-9,21}
- d) Xylitol dapat menjadi gula yang ideal dan tepat untuk diet bagi pasien diabetes, atlet, pasien dengan kebersihan mulut yang buruk, dll.^{2,4,9}

- e) Xylitol dapat juga dipergunakan untuk mengatasi infeksi telinga, hidung, dan tenggorokan, juga dapat mencegah terjadinya *acute otitis media*.^{2,4,11,23}

Terdapat beberapa resiko yang dapat muncul karena mengkonsumsi xylitol, yaitu:

- a) Xylitol dapat menyebabkan sakit perut, diare, *oral erosive eczema*, bahkan dapat terjadi gagal ginjal akut saat dikonsumsi secara berlebihan.⁷
- b) Xylitol juga dilaporkan sangat berbahaya pada anjing.¹⁰ Xylitol dengan dosis 0,2-0,4 g/kg berat badan anjing dapat menyebabkan munculnya tanda-tanda hipoglikemia pada anjing yang dapat terjadi 30 menit setelah konsumsi xylitol.¹⁰ Bahkan xylitol dengan dosis lebih dari 1,5 g/kg berat badan anjing dapat menyebabkan nekrosis pada sel hati anjing dan dapat berujung dengan kematian akibat kegagalan fungsi hati.¹⁰

2.2 Sel Pulpa Gigi

Pulpa gigi adalah jaringan ikat jarang yang terdapat dalam rongga pulpa gigi.¹² Rongga pulpa gigi dikelilingi oleh dinding dentin (kecuali pada foramennya) yang memiliki saluran tubulus dentin dengan diameter \pm 0,9 μ m - 2,5 μ m diantara ujung-ujungnya.^{16,17} Jaringan ikat pada pulpa gigi memiliki banyak pembuluh darah dan saraf.¹² Pulpa gigi terdiri dari sel-sel, komponen ekstrasel (substansi dasar dan serat fiber), pembuluh darah, dan saraf.¹³ Sel-sel yang terdapat pada pulpa gigi adalah:

- Odontoblast

Sel-sel odontoblast adalah sel-sel yang memiliki tingkat diferensiasi yang paling tinggi pada jaringan pulpa gigi.¹⁴ Odontoblast menghasilkan komponen matriks organik predentin dan dentin, juga mensintesis bermacam-macam protein non-kolagen, seperti: sialoprotein tulang, sialoprotein dentin, osteonektin, dll.¹⁴

- Fibroblast

Sel-sel fibroblast adalah sel-sel jaringan ikat dengan jumlah paling banyak dan dapat ditemukan diseluruh jaringan pulpa gigi, walaupun memiliki kecenderungan konsentrasi tinggi di zona kaya sel.^{14,15} Sel-sel fibroblast dapat mensintesis dan mempertahankan jumlah matriks jaringan ikat pada pulpa gigi.^{14,15}

- Mesenkim yang tak terdiferensiasi

Sel-sel ini banyak terdapat di zona kaya sel dan di inti pulpa gigi yang memiliki banyak pembuluh darah.^{14,15} Sel-sel ini dapat berdiferensiasi tergantung stimulus yang diterima, mungkin membentuk odontoblast atau fibroblast.^{14,15}

- Imun

Sel-sel imun terdiri dari sel-sel limfosit, sel-sel makrofag, dan sel-sel dendritik yang berperan aktif dalam membentuk pertahanan pulpa gigi.^{14,15}

Komponen ekstrasel yang terdapat pada jaringan pulpa gigi adalah:

- ✓ Serat kolagen

Serat-serat kolagen yang terdapat dalam pulpa gigi adalah serat-serat kolagen tipe I, III, dan V.¹⁵

- ✓ Substansi dasar

Substansi dasar pulpa gigi terdiri dari glikosaminoglikan, proteoglikan, dan air.¹³⁻¹⁵

Jaringan pulpa gigi memiliki sistem vaskularisasi berupa saluran pembuluh darah yang masuk dan keluar melewati foramen apikalis gigi.¹⁵ Jenis pembuluh darah yang berada di pulpa gigi adalah pembuluh darah aferen (arteriola) dan pembuluh darah eferen (venula).¹⁵

Pulpa gigi memiliki 5 fungsi yaitu:

1. Induktif

Pulpa gigi menginduksi dan mengembangkan odontoblast dan dentin.¹⁴ Setelah terbentuk, odontoblast dan dentin menginduksi pembentukan email dan dentin.¹⁴

2. Formatif

Odontoblast berperan aktif dalam pembentukan dentin primer, sekunder, dan tersier.¹⁴

3. Nutritif

Pulpa gigi memberi asupan nutrisi dan air yang diperlukan untuk pembentukan dentin melalui tubulus dentin.¹⁴

4. Defensif

Pulpa gigi membentuk pertahanan berupa respon imunologis dan pembentukan dentin tersier sebagai respon terhadap iritan /substansi asing.¹⁴

5. Sensatif

Pulpa gigi dapat memberikan sensasi nyeri karena stimulus panas dan mekanis melalui sistem sarafnya.¹⁴

Pulpa gigi dapat mengalami perubahan morfologis dan fisiologis secara perlahan akibat faktor patofisiologis (karies, trauma, penyakit periodontal, bahan kimia, dll) dan faktor kronologis (usia).¹⁵ Perubahan morfologis dapat berupa pengecilan rongga pulpa gigi dan penurunan jumlah sel pulpa gigi, sedangkan perubahan fisiologis yang mungkin terjadi adalah penurunan vaskularisasi pulpa gigi akibat penurunan permeabilitas dentin.¹⁵

2.3 Kultur Sel

Kultur sel pertama kali diaplikasikan pada awal abad ke-20.¹⁸ Kultur sel digunakan sebagai metode untuk mempelajari sifat sel-sel hidup yang bebas dari variasi sistemik yang mungkin muncul pada keadaan homeostasis normal.¹⁸⁻²⁰

Kultur sel dapat diperoleh melalui beberapa metode, yaitu:

a) Kultur Primer

Kultur primer diawali dengan pengambilan jaringan secara langsung dari suatu organisme dan menempatkannya pada lingkungan kultur yang tepat bagi pertumbuhannya.^{18-20,24}

b) Subkultur

Subkultur dilakukan setelah kultur primer dengan cara mengkultur kembali sebagian hasil kultur primer.¹⁸ Hal tersebut dilakukan untuk memperbanyak hasil kultur dan memberikan ruang yang cukup bagi populasi sel untuk melanjutkan pertumbuhannya.¹⁸

c) Membeli atau meminjam

Selain mengkultur sendiri, kultur sel bisa didapatkan dengan membeli dari bank sel atau meminjam dari laboratorium lain.¹⁸

Secara morfologis, kultur sel dapat tumbuh dalam bentuk sel-sel terpisah yang mengambang dalam medium (*suspension culture systems*) atau membentuk lapisan tipis yang menempel pada wadah kultur (*monolayer culture systems*).^{18,20} Medium kultur terdiri dari beberapa komposisi dasar, yaitu: garam inorganik, karbohidrat, asam amino, vitamin, asam lemak, protein, serum, dan ditambahkan antibiotik dan antifungal untuk mencegah kontaminasi bakteri dan jamur.^{18,20,24}

Kultur sel memiliki beberapa fungsi, yaitu:

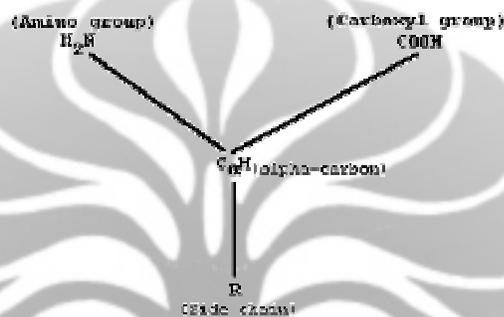
- a) Menciptakan sistem model pembelajaran yang ideal bagi ilmu pengetahuan tentang: (1) biokimia dan biologi sel, (2) interaksi antara bakteri dan sel, (3) efek obat-obatan terhadap sel, (4) proses dan pemicu penuaan, (5) nutrisi.¹⁸
- b) Sebagai bahan uji toksisitas obat, kosmetik, dan kimia untuk meningkatkan akurasi sebelum dicoba secara *in vivo*.^{18,19}
- c) Untuk bahan penelitian kanker.¹⁸ Sel normal dan sel kanker dapat muncul saat dikultur karena efek kimia, virus, dan radiasi.¹⁸
- d) Untuk bahan uji coba genetik, penelitian virologi, pengembangan produk hasil mikroorganisme, dll.¹⁸

Manfaat yang bisa didapat dari metode kultur sel adalah:

- a) Operator dapat dengan baik mengontrol kondisi lingkungan kultur, yaitu: pH, temperatur, osmolaritas, dan tekanan gas O₂ dan CO₂.^{18,19}
- b) Meningkatkan homogenitas sel.¹⁹
- c) Hasil kultur dapat disimpan di nitrogen cair, dll.^{19,24}

2.4 Profil Protein

Protein adalah ikatan panjang polipeptida yang mempunyai fungsi yang spesifik.²⁵⁻²⁷ Sebuah molekul protein adalah sebuah polimer dengan unit yang terdiri dari asam karboksilik, asam amino, dan atom hidrogen yang terhubung pada sebuah atom karbon yang berada ditengah.^{25,26} Atom karbon yang berada ditengah tersebut disebut atom *C-alpha* (*alpha-carbon*).^{25,26,28,29} Struktur kimia dasar protein dapat dilihat pada gambar 2.3.²⁴



Gambar 2.3. Struktur Kimia Dasar Protein²⁴

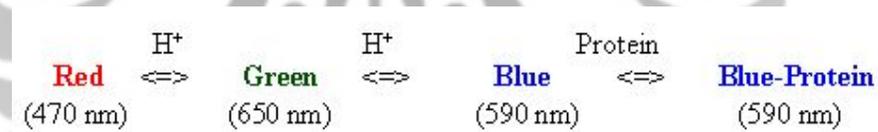
Tiap unit polimer akan berulang dan berulang lagi hingga membentuk rantai yang panjang.²⁵ Panjang rantai protein yang terpendek terdiri dari 100 asam amino dan terpanjang mencapai 1000 asam amino.^{25,26} Asam amino yang terdapat di alam hanya sejumlah 20 jenis.²⁵⁻³⁰ Namun 20 jenis asam amino tersebut dapat membuat jutaan jenis rangkaian asam amino yang berarti juga membentuk jutaan macam protein dengan ciri spesifik yang terdapat di alam.²⁶

Protein dapat menjadi cerminan efek positif atau negatif suatu perlakuan terhadap sel dalam kultur sel. Efek positif akan membuat sel-sel dalam kultur sel tetap hidup dan berproliferasi sehingga menyebabkan jumlah sel dalam kultur sel meningkat yang berarti total protein sel juga meningkat, dan berlaku sebaliknya bagi efek negatif.³⁰ Untuk menilai protein total sel dalam kultur sel tersebut, maka digunakanlah metode spektroskopik.³¹ Sedangkan untuk menentukan profil protein yang terdapat dalam kultur sel dapat digunakan metode SDS PAGE.³²

2.5 Bradford Protein Assay

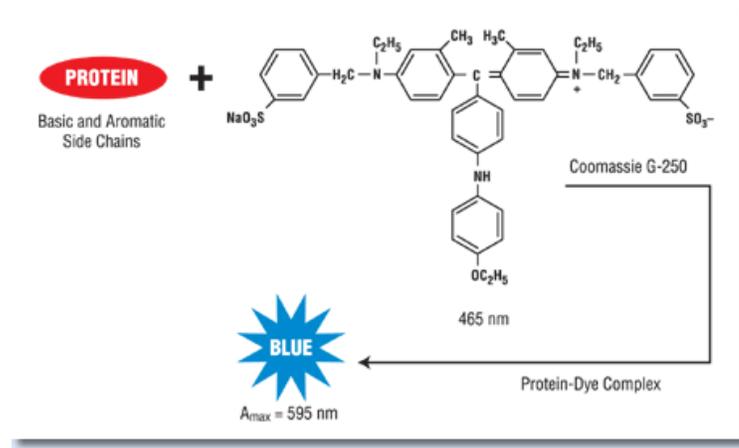
Bradford *protein assay* pertama kali ditemukan oleh Dr. Marion Bradford.³³⁻³⁵ Bradford *protein assay* merupakan salah satu jenis metode spektroskopik, yaitu metode untuk menentukan konsentrasi protein dalam larutan dengan bantuan cahaya yang akan diabsorpsi oleh ikatan protein dengan *reagent*.³¹ Bradford *protein assay* juga merupakan *Colorimetric assay* karena menggunakan *reagent* pewarna protein untuk menganalisis konsentrasi protein.³³⁻³⁶

Dasar dari Bradford *protein assay* adalah pembentukan ikatan asam amino/protein tertentu (khususnya arginin) dengan zat pewarna yang disebut *reagent* Bradford dalam suasana asam.³³ Zat pewarna yang paling cocok untuk digunakan pada Bradford *protein assay* adalah Coomassie Brilliant Blue G-250.³³⁻³⁵ Ikatan protein dengan zat pewarna akan mengubah warna dari merah kecoklatan (absorbansi maksimum 465nm) menjadi biru (absorbansi maksimum 610nm).^{34,35} Skema perubahan warna yang terjadi dapat terlihat pada gambar 2.4.³¹



Gambar 2.4. Skema Reaksi Perubahan Warna *Reagent* Bradford³¹

Penilaian optimal dengan spektrofotometer dapat dilakukan saat warna biru muncul dengan panjang gelombang 595nm.³³⁻³⁵ Jangkauan konsentrasi protein yang dapat terbaca antara 0,1-1,5 mg/ml larutan.³³⁻³⁶ Gambar 2.5 menjelaskan skema reaksi ikatan coomassie Brilliant Blue G-250 dengan protein.³⁵



Gambar 2.5. Skema Reaksi Coomassie (Bradford) Protein Assay³⁵

2.6 SDS PAGE

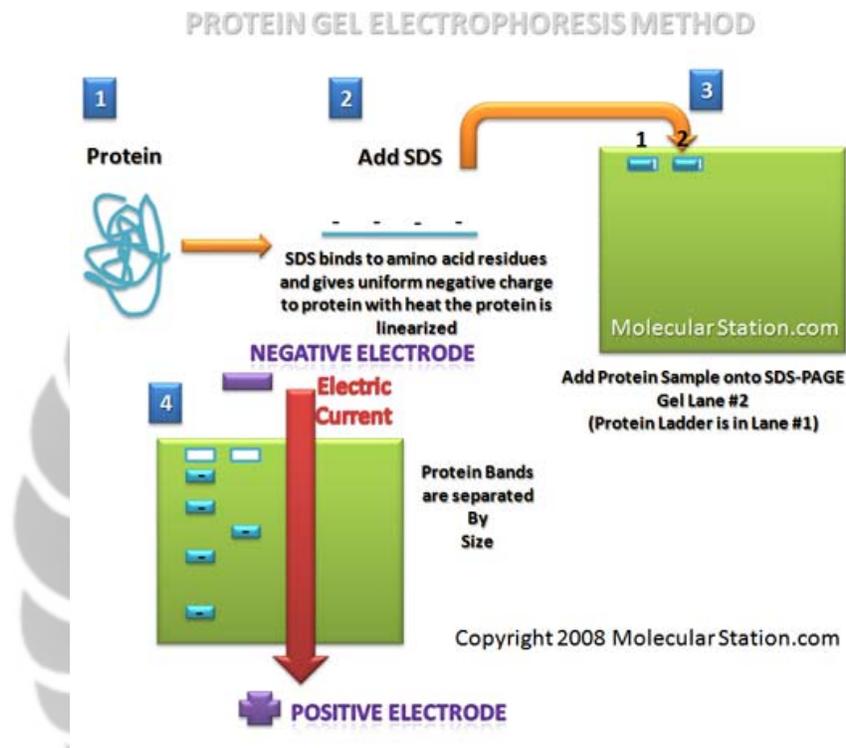
SDS PAGE merupakan singkatan dari *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*.^{32,37,38} SDS PAGE adalah teknik biologi molekular yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya.^{32,37,38} SDS PAGE juga dapat memisahkan molekul DNA dan RNA berdasarkan beratnya.³⁷

Sodium dodecyl sulfate (SDS) adalah deterjen anion yang dapat menyelubungi dan berikatan pada protein dengan perbandingan berat SDS : protein = 1,4 : 1.³⁸ Kemudian SDS akan mengubah sifat protein dan memberikan muatan negatif pada tiap-tiap protein sehingga protein akan bermigrasi berdasarkan berat molekulnya.^{37,38}

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) akan melakukan pemisahan selanjutnya dengan penyaringan berdasarkan berat molekul protein.³⁸ PAGE memiliki pori-pori yang dapat menghambat lewatnya molekul protein yang berukuran besar dan meloloskan molekul protein yang kecil sehingga terjadi pemisahan molekul protein berdasarkan berat molekulnya.^{37,38}

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan protein dengan menggunakan pengaruh medan listrik sehingga menyebabkan pergerakan protein yang disebut mobilitas elektroforetik.³⁷ Mobilitas elektroforetik juga dapat menyebabkan molekul-molekul kecil terpisah dalam klasifikasi

berat yang lebih terperinci lagi.³⁷ Hasil dari proses elektroforesis akan membentuk garis-garis pada PAGE yang terbentuk dari pengelompokan molekul-molekul protein berdasarkan berat molekulnya.³⁷ Skema metode SDS PAGE dapat dilihat pada gambar 2.6.³⁷



Gambar 2.6. Skema Metode SDS PAGE³⁷

Kerugian SDS PAGE dapat terjadi jika operator tidak memakai sarung tangan atau menggunakan pipet mulut ketika mengambil larutan akrilamid.³⁸ Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya akumulasi monomer akrilamid dalam tubuh yang berpotensi menghasilkan neurotoksin.³⁸

2.7 Kerangka Teori

