

**EKSPRESI TNF- α DAN *CYTOCHROME C*
PASCA PEMBERIAN LPS PADA APOPTOSIS
SEL SARAF JARINGAN PULPA GIGI PADA JALUR
EKSTRINSIK DAN INTRINSIK**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

EDDO SUPRIYANTO

021918036319

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**EKSPRESI TNF- α DAN CYTOCHROME C
PASCA PEMBERIAN LPS PADA APOPTOSIS
SEL SARAFJARINGAN PULPA GIGI PADA JALUR
EKSTRINSIK DAN INTRINSIK**

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Gigi Program Studi Spesialis Konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya**

oleh:

**Eddo Supriyanto
NIM.021918036319**

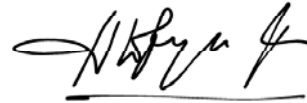
Menyetujui

Dosen Pembimbing Utama



**Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes.,SpKG(K)
NIP. 19710621999031001**

Dosen Pembimbing Serta



**Dr. Dian Agustin W., drg., Sp KG (K)
NIP. 197108201999032001**

**Mengetahui
Ketua Program Studi**



**Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes.,SpKG(K)
NIP. 19710621999031001**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

KARYA TULIS AKHIR

Karya tulis akhir ini telah diuji

Hari : Kamis

Tanggal : 9 Juni 2022

PANITIA PENGUJI:

Ketua : 1. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., Sp. KG (K)

Anggota : 2. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M. Kes., Sp. KG (K)

3. Dr. Nirawati Pribadi, drg., M.Kes., Sp. KG (K)

4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M. Kes., Sp. KG (K)

5. Dr. Dian Agustin W., drg., Sp. KG (K)

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Eddo Supriyanto

NIM : 021918036319

Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi

Jenjang : Spesialis (Sp)

Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan karya tulis akhir yang berjudul :

EKSPRESI TNF- α DAN *CYTOCHROME C* PASCA PEMBERIAN LPS PADA APOPTOSIS SEL SARAF JARINGAN PULPA GIGI PADA JALUR EKSTRINSIK DAN INTRINSIK

Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 9 Juni 2022
Yang membuat pernyataan



Eddo Supriyanto,
NIM 021918036319

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur pada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga karya tulis akhiryang berjudul “Ekspresi TNF- α dan *Cytochrome C* Pasca Pemberian LPS pada Apoptosis Sel Saraf Jaringan Pulpa Gigi pada Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik” dapat terselesaikan.

Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT.,Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis akhir pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. MH, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2015-2020 yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2018-2020 yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini.
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Koordinator Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi dan Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes, Sp.KG (K) selaku Koordinator Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi

Gigi periode 2018-2020 yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini.

5. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Dosen Wali dan Pembimbing Utama karya tulis akhir yang telah memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam pembuatan karya tulis akhir.
6. Dr. Dian Agustin W., drg., Sp. KG (K) selaku Pembimbing Serta dan Ari Subiyanto, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Pembimbing Serta sebelumnya yang telah memberikan bimbingan, masukan, motivasi dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir.
7. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., Sp KG (K), selaku Ketua Penguji dan Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes, Sp.KG (K) dan Dr. Nirawati Pribadi, drg., M.Kes., Sp. KG (K) selaku Penguji yang telah meluangkan waktu membimbing dan memberikan masukan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini.
8. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Bagian Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.
9. Istri, Kedua Orangtua dan Anak saya tercinta atas segala cinta, doa, bimbingan, dukungan dan pengorbanan yang diberikan selama ini.
10. Direktur Rumah Sakit Islam Sunan Kudus beserta jajarannya yang telah memberikan izin dan bantuan untuk menempuh pendidikan dokter gigi spesialis konservasi gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

11. Teman-teman program pendidikan dokter gigi spesialis konservasi gigi angkatan 2019 atas semangat dan bantuan yang diberikan.
12. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.
13. Semua pihak yang telah membantu penulis yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Menyadari bahwa karya tulis akhir ini masih jauh dari sempurna, penulis mengharapkan kritik dan sarannya. Diharapkan karya tulis akhir ini dapat memberi manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 9 Juni 2022

Penulis

ABSTRACT

EXPRESSION of TNF- α AND CYTOCHROME C POST LPS INDUCTION IN NERVE CELL OF DENTAL PULP TISSUE APOPTOTIC IN EXTRINSIC AND INTRINSIC PATHWAY

Background: Inflammation of the pulp tissue or pulpitis and pulp necrosis must be treated with root canal treatment. Flare ups are possible between root canal treatment sessions. Pulp quality is closely related to the diagnosis of pulp tissue, which can affect the occurrence of flare ups. Apoptosis is a process of cell death that reduces the number of unwanted cells that can affect the quality of the pulp. **Objective:** Analyzing the occurrence of neuronal cell apoptosis in dental pulp tissue immunohistochemically after LPS induced using TNF- α and Cytochrome C expression. **Method:** 32 Spraque Dawley rats was divided into 2 groups. In the mandibular incisors, the control group only had access opening, while the treatment group had access opening and induction of LPS *Porphyromonas gingivalis*. Each group was terminated after 48 hours. Then make preparation slides and Immunohistochemistry painting for observation TNF- α and Cytochrome C expression. **Results:** There was a significant difference between the groups, with TNF- α and Cytochrome C expression increasing after LPS induced compared to the control group. There was a decrease in the number of nerve cells after LPS induced. **Conclusion:** Apoptosis of nerve cells of dental pulp tissue is dominantly influenced by the extrinsic pathway played by TNF- α .

Keywords: Apoptosis ,TNF- α , Cytochrome C, nerve cells

ABSTRAK

EKSPRESI TNF- α DAN *CYTOCHROME C* PASCA PEMBERIAN LPS PADA APOPTOSIS SEL SARAF JARINGAN PULPA GIGI PADA JALUR EKSTRINSIK DAN INTRINSIK

Latar Belakang: Inflamasi jaringan pulpa atau pulpitis dan nekrosis pulpa harus dilakukan perawatan berupa perawatan saluran akar. Di antara sesi perawatan saluran akar, terdapat kemungkinan terjadinya *flare up*. Kualitas pulpa sangat berhubungan dengan diagnosa jaringan pulpa yang dapat mempengaruhi terjadinya *flare up*. Apoptosis merupakan proses kematian sel untuk mengurangi jumlah sel yang tidak diinginkan sehingga dapat mempengaruhi kualitas pulpa.

Tujuan: Menganalisa terjadinya apoptosis sel saraf pada jaringan pulpa gigi secara imunohistokimia setelah pemberian LPS berdasarkan ekspresi TNF- α dan *Cytochrome C*. **Metode:** 32 ekor tikus Sprague Dawley dibagi menjadi 2 kelompok. Pada gigi incisive rahang bawah kelompok kontrol hanya dilakukan akses opening, kelompok perlakuan dilakukan akses opening dan induksi LPS *Porphyromonas gingivalis*. Masing-masing kelompok diterminasi setelah 48 jam. Kemudian dibuatkan *slide* preparat dan pengecatan Imunohistokimia untuk Pengamatan TNF- α dan *Cytochrome C*. **Hasil:** Terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok, terjadi peningkatan ekspresi TNF- α dan *Cytochrome C* setelah pemberian LPS dibandingkan kelompok kontrol. Terjadi penurunan jumlah sel saraf setelah pemberian LPS. **Kesimpulan:** Apoptosis sel saraf jaringan pulpa gigi lebih dominan dipengaruhi oleh jalur ekstrinsik yang diperankan oleh TNF- α .

Kata Kunci: Apoptosis , TNF- α , *Cytochrome C*, sel saraf

DAFTAR ISI

Cover.....	i
Lembar Pengesahan	ii
Penetapan Panitia Penguji.....	iii
Pernyataan Orisinalitas.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Abstract	viii
Abstrak	ix
Daftar Isi.....	x
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Tabel	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	10
1.3 Tujuan	10
1.3.1 Tujuan Umum.....	10
1.3.2 Tujuan Khusus.....	10
1.4 Manfaat	11
1.4.1 Manfaat Teoritis	11
1.4.2 Manfaat Praktis	11
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Inflamasi Jaringan Pulpa dan Periapikal gigi	12
2.2 Perawatan Saluran Akar	13
2.3 Rasa Nyeri Selama Perawatan Saluran Akar.....	15
2.4 Lipopolisakarida	16
2.5 Saraf Pulpa.....	18
2.5.1 Saraf Sensori	19
2.6 Trauma pada Pulpa Gigi.....	22
2.7 Toll-Like Receptor (TLR)	22
2.8 Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α).....	25

2.9	<i>Cytochrome C</i>	27
2.10	Caspase 3	28
2.11	Apoptosis	30
2.11.1	Apoptosis Jalur Intrinsik	32
2.11.2	Apoptosis Jalur Ekstrinsik	33
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL	35
3.1	Kerangka Konsep	35
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep	36
3.3	Hipotesis Penelitian	37
BAB 4	METODE PENELITIAN	38
4.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	38
4.1.1	Jenis Penelitian	38
4.1.2	Rancangan Penelitian	38
4.2	Sampel Penelitian, Kriteria Inklusi dan Eksklusi Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampe	39
4.2.1	Unit analisis dan Sampel Penelitian	39
4.2.2	Besar Sampel Penelitian	39
4.2.3	Teknik pengambilan sampel	39
4.3	Variabel Penelitian	41
4.3.1	Variabel Bebas	41
4.3.2	Variabel Terikat	41
4.3.3	Variabel Kendali	41
4.4	Definisi Operasional	41
4.5	Bahan dan Alat Penelitian	43
4.5.1	Bahan Penelitian	43
4.5.2	Alat Penelitian	44
4.6	Cara Kerja	45
4.6.1	Cara injeksi LPS intrapulpa	45
4.6.2	Waktu dan Lokasi Penelitian	45
4.6.3	Persiapan Pembuatan Spesimen	46
4.6.4	Pembuatan Sediaan Blok Parafin	46
4.6.5	Prosedur Pengecatan Imunohistokimia	46

4.6.6 Penghitungan TNF- α dan <i>Cytochrome C</i>	48
4.6.7 Analisis Data.....	48
4.6.8 Alur Penelitian	50
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	51
5.1 Ekspresi TNF- α	51
5.2 Ekspresi <i>Cytochrome C</i>	53
5.3 Ekspresi Sel Saraf	54
5.4 Analisis jalur antar variabel TNF- α , <i>Cytochrome C</i> dan sel saraf.....	56
5.5 Hasil Pengamatan Histologi TNF- α	57
5.6 Hasil Pengamatan Histologi <i>Cytochrome C</i>	58
5.7 Hasil Pengamatan Histologi Jumlah sel saraf.....	60
BAB 6 PEMBAHASAN	62
6.1 Peningkatan TNF- α dan <i>Cytochrome C</i> setelah pemberian LPS.....	62
6.2 Penurunan jumlah sel saraf setelah pemberian LPS	65
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	68
7. 1 Kesimpulan	68
7. 2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	75

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 3.1 Kerangka konseptual jalur apoptosis	35
2. Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian.....	38
3. Gambar 4.2 Alur Penelitian	50
4. Gambar 5.1 Hasil pengukuran ekspresi TNF- α	52
5. Gambar 5.2 Hasil pengukuran ekspresi <i>Cytochrome C</i>	54
6. Gambar 5.3 Hasil pengukuran ekspresi Sel saraf	56
7. Gambar 5.4 Hubungan antar variabel TNF- α , <i>Cytochrome C</i> dan sel saraf pasca pemberian LPS	57
8. Gambar 5.5.1 Ekspresi TNF- α pada sel saraf pulpa gigi pada kelompok kontrol dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali	58
9. Gambar 5.5.2 Ekspresi TNF- α pada sel saraf pulpa gigi pada kelompok LPS dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali	58
10. Gambar 5.6.1 Ekspresi <i>Cytochrome C</i> pada sel saraf pulpa gigi pada kelompok kontrol dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali	59
11. Gambar 5.6.2 Ekspresi <i>Cytochrome C</i> pada sel saraf pulpa gigi pada kelompok LPS dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali	59
12. Gambar 5.7.1 Ekspresi jumlah sel saraf pulpa gigi pada kelompok kontrol dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali	60
13. Gambar 5.7.2 Ekspresi jumlah sel saraf pulpa gigi pada kelompok LPS dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali	60

DAFTAR TABEL

1. Tabel 5.1.1 Nilai rerata, simpangan baku dan besar sampel ekspresi TNF- α	51
2. Tabel 5.1.2 Hasil uji Kolmogorov Smirnov test ekspresi TNF- α	51
3. Tabel 5.1.3 Hasil Uji Independent T Test TNF- α	52
4. Tabel 5.2.1 Nilai rerata, simpangan baku dan besar sampel ekspresi <i>Cytochrome C</i>	53
5. Tabel 5.2.2 Hasil uji Kolmogorov Smirnov test ekspresi <i>Cytochrome C</i>	53
6. Tabel 5.2.3 Hasil Uji Independent T Test <i>Cytochrome C</i>	54
7. Tabel 5.3.1 Nilai rerata, simpangan baku dan besar sampel ekspresi sel saraf ..	54
8. Tabel 5.3.2 Hasil uji Kolmogorov Smirnov test ekspresi Sel saraf	55
9. Tabel 5.3.3 Hasil Uji Independent T Test sel saraf	55
10. Tabel 5.4.1 Nilai standardized coefficient dan p antar variabel untuk semua kelompok	56