

DISERTASI

**MODULASI EKSPRESI TRPM-8, TNF- α , BCL-2 DAN
ALKALIN PHOSPHATASE SEL PULPA SETELAH APLIKASI
HIDROKSI APATIT DAN DENTIN BONDING**



SUKATON

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018**

DISERTASI

**MODULASI EKSPRESI TRPM-8, TNF- α , BCL-2 DAN ALKALIN
PHOSPHATASE SEL PULPA SETELAH APLIKASI HIDROKSI
APATIT DAN DENTIN BONDING**

SUKATON

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018**

ii

**MODULASI EKSPRESI TRPM-8, TNF- α , BCL-2 DAN ALKALIN
PHOSPHATASE SEL PULPA SETELAH APLIKASI
HIDROKSI APATIT DAN DENTIN BONDING**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Dan diuji dihadapan panitia ujian akhir tahap II (Terbuka)**

**Hari : Rabu
Tanggal : 10 Januari 2018
Jam : 10.00 Wib**

**SUKATON
091070140**

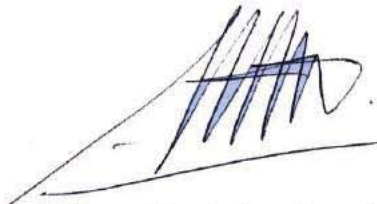
**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018**

LEMBAR PENGESAHAN

**DISERTASI TELAH DIUJI DALAM UJIAN TERBUKA II
PADA TANGGAL 10 JANUARI 2018**

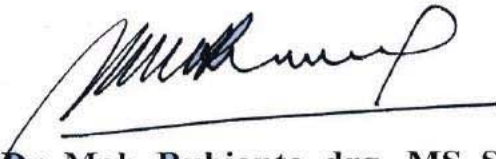
Oleh:

Promotor,



Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS, SpKG (K)
NIP. 195108101978021002

Kopromotor,



Prof. Dr. Moh. Rubianto, drg., MS, SpPerio (K)
NIP. 195009081978021001

**Disertasi ini telah diuji dan
Dinilai oleh panitia penguji ujian tahap I (Tertutup)
pada tanggal 4 Desember 2017**

Panitia penguji:

Ketua : 1. Dr. Soenarjo, dr., MS., MSc

Anggota : 2. Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS, SpKG(K)
3. Prof. Dr. M Rubianto, drg., MS, SpPerio (K)
4. Prof. Dr. Soeprapto Maat, Drs., MS., Apt
5. Prof. Dr. Soemarno, dr., DMM., SpMK (K)
6. Dr. Harjono Utomo, drg., SpOrtho
7. Dr. Retno Puji Rahayu, drg., MKes

**Ditetapkan dengan surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Airlangga**

**Nomor : 330/UN3.1.1/KD/2017
Tanggal : 4 Desember 2017**

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga disertasi ini dapat terselesaikan. Penyelesaian disertasi ini tidak lepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, maka dari itu dengan hati yang tulus dan penuh rasa syukur, terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada yang terhormat :

Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., MS., SpKG (K) sebagai promotor yang selalu memberikan perhatian dan penuh kesabaran membimbing, memotivasi, membantu, memperluas wawasan keilmuan serta memberikan saran dan dukungan moril secara terus menerus, sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Semoga Tuhan selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.

Prof. Dr. Moh. Rubianto, drg., MS, SpPerio (K) sebagai kopromotor yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dengan penuh kesabaran dan perhatian, memperluas wawasan keilmuan, memotivasi secara terus menerus, sehingga disertasi ini dapat terselesaikan. Semoga Tuhan selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada beliau.

Pemerintah Republik Indonesia Cq. Kemendikbud yang telah memberikan kesempatan dan bantuan Beasiswa Program Pasca Sarjana (BPPS).

Rektor dan mantan Rektor Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program doktor dalam ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan dan Mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, serta seluruh jajaran baik pimpinan maupun staf program studi S3 Fakultas Kedokteran dan Program doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan pada saya untuk menjadi mahasiswa program pendidikan doktor.

Ketua Program Studi Program Doktor Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., M.Sc., Sp.PD-KR

Dan mantan Ketua Ketua Program Studi Program Doktor Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Teddy Ontoseno , dr., Sp. A (K)., Sp. JP., AKK., yang telah memberikan dukungan dalam membantu memperlancar proses akademik selama mengikuti Pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Dr.R. Darmawan Setijanto, drg.,MKes., PhD dan mantan Dekan Prof. R.M. Coen Pramono, drg.SU.Sp BM (K), FICS dan Prof. Dr. Ruslan Effendy,drg.,MS., SpKG (K) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor Ilmu Kedokteran, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Dr. Ira Widjiastuti drg.,MKes.,SpKG (K) selaku Ketua Departemen Konservasi Gigi dan M. Rulianto, drg., MS., SpKG (K) mantan Ketua Departemen Konservasi Gigi dan seluruh staf Departemen Konservasi Gigi.

Dr. Soenarjo, dr., MS., MSc dan Dr. Harsono drh, MSi sebagai konsultan di bidang metodologi penelitian dan statistika yang telah dengan sabar membimbing saya dalam memperkaya pemahaman tentang metode penelitian dan analisis statistika serta aplikasinya dalam penelitian saya, sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini, saya menghaturkan terima kasih yang sebesar – besarnya.

Prof. Dr. Soemarno.dr., DMM.,SpMK (K) selaku staf Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang memberikan bimbingan, arahan dan masukan terselesainya disertasi ini , saya menghaturkan terima kasih yang sebesar – besarnya.

Prof. Dr. Soeprapto Maat, Drs.,MS., Apt, Dr.Haryono Utomo, drg.,Sp.Ort dan Dr. Retno Puji Rahayu, drg.,MKes yang terus mendorong, memotivasi dan memberi masukan yang sangat bermanfaat dalam melanjutkan studi doctoral.

Seluruh staf pengajar Departemen konservasi gigi, fakultas kedokteran gigi Universitas Airlangga, atas dukungan dan pengertiannya selama saya menempuh pendidikan.

Dr. Erma Safitri, drh., MSi, temankau yang baik yang telah banyak berbagi ilmu dan pengalamannya dibidang penelitian dan yang selalu bersedia membantu saya dalam menyelesaikan pendidikan doctor ini.

Teman-teman kempasser peserta didik program doktor Universitas Airlangga angkatan tahun 2010/2011 yang selalu menjadi penyemangat saya atas segala kerjasama, kekompakan, serta saling mendukung dalam suka dan duka selama bersama-sama menjalani pendidikan.

Dalam kesempatan ini saya menyampaikan rasa hormat yang setinggi – tingginya kepada: Kedua orang tua saya (Almarhum), yang telah mengasuh, mendidik, dan memberikan teladan yang baik dan penuh kasih sayang. Juga mertua

saya ayahanda HM. Soetedjo dan ibunda Hj. RA. Soedarsih yang telah memberikan perhatian, doa dan kasih sayang. Juga kepada saudara – saudara kandung dan saudara- saudara ipar saya yang telah memberikan dukungan dan doa.

Istri tercinta Dra. Ec. Dyah Ratnawati H, MM. yang setia mendampingi, mengijinkan, memberi dukungan, semangat, dan menjalani dengan penuh pengertian sehingga saya dapat menyelesaikan program pendidikan doktor. Kedua anak saya Dipta Tejo N dan Deavita Dinari, drg. yang telah memacu semangat, memberi dukungan dan doa kepada saya sehingga dapat menyelesaikan pendidikan doktor ini.

Terima kasih saya sampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah memotivasi dan membantu sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan.

Besar harapan saya, semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan kedokteran gigi dalam bidang ilmu konservasi gigi, Semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayahNya untuk kita semua, Aamiin.

Surabaya, Januari 2018

Sukatun,

RINGKASAN

Karies gigi kelas V yang sudah melibatkan permukaan dentin dapat melanjutkan ke arah hipersensitif. Meningkatnya hipersensitivitas dentin oleh tumpatan komposit yang mengandung HEMA dan oleh perubahan temperatur rongga mulut merangsang reaksi peradangan kronis pada pulpa gigi. Pada lesi servikal gigi yang cukup dalam dan tubulus dentin yang terbuka diperlukan bahan untuk memblokir rangsangan. Upaya pada penelitian ini dilakukan pemberian hidroksi apatit (HA). Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian hidroksi apatit dan 2-Hidroksi Etil Metakrilat selama 3 dan 6 hari terhadap kematian pulpa gigi dan menganalisis mata rantai terjadinya modulasi ekspresi TRPM-8, TNF- α , BCL-2, dan ALP.

Jenis penelitian adalah penelitian murni yang dilakukan pada hewan coba tikus strain wistar. Rancangan penelitian berupa *The Randomized* dengan rancangan faktorial dan randomisasi acak kelompok sebagai desain penelitian. Jumlah sampel 42 dibagi 7 kelompok sebagai berikut : Kelompok O₁ = pengamatan penelitian pada hari ke 1 dan Kelompok O₂ – O₄ – O₆ = pengamatan penelitian pada hari ke 3 dan Kelompok O₃ – O₅ – O₇ = pengamatan penelitian pada hari ke 6, perlakuan berdasarkan : jumlah ekspresi TRPM-8, TNF- α , BCL-2 dan Alkaline phosphatase dengan metode imunohistokimia (menggunakan *Rat anti-TRPM-8*, *Rat anti-TNF- α* , *Rat anti-BCL-2* dan *Rat anti-Alkaline phosphatase monoclonal antibody primary antibodies*), dan pengukuran hambatan *apoptosis* berdasarkan pemeriksaan perbaikan jaringan pulpa secara histopatologis anatomi (HPA) dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Uji statistik one way Anova.

Hasil penelitian adalah : ekspresi TRPM-8 dan TNF- α paling tinggi pada pemberian HEMA. Adapun ekspresi BCL2 dan ALP paling tinggi pada pemberian HA.

Ekspresi BCL-2 pada pemberian HA menunjukkan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6. Demikian juga pada pemberian HA dan HEMA. Ekspresi BCL-2 pada pemberian HEMA hari 1 berbeda secara signifikan dibandingkan hari 3, tetapi tidak berbeda secara signifikan antara hari 3 dibanding hari 6.

Ekspresi ALP pada pemberian HA menunjukkan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6. Demikian juga pada pemberian HA dan HEMA menunjukkan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6, namun tidak berbeda antara hari 3 dengan hari 6. Ekspresi ALP pada pemberian HEMA hari 1 berbeda signifikan dibandingkan hari 3, tetapi tidak berbeda secara signifikan antara hari 3 dibanding hari 6.

Temuan baru dari penelitian ini adalah : Aplikasi HA dan komposit pada hari ke-3 dan ke-6 menyebabkan penurunan ekspresi TRPM-8 dan TNF- α , disertai peningkatan BCL-2 dan ALP pada jaringan pulpa gigi tikus, kemungkinan terjadi regenerasi jaringan pulpa. Aplikasi HEMA dan komposit pada hari ke-3 dan ke-6 perlakuan menyebabkan peningkatan ekspresi TRPM-8 dan TNF- α , disertai penurunan ekspresi BCL-2 dan ALP pada jaringan pulpa gigi tikus, sehingga terjadi apoptosis (pulpitis irreversible). Aplikasi HA-HEMA, dan komposit pada hari ke-3 dan ke-6

perlakuan menyebabkan penurunan ekspresi TRPM-8 dan TNF- α , disertai peningkatan BCL-2 dan ALP pada jaringan pulpa sehingga terjadi regenerasi jaringan pulpa (pulpitis reversible).

SUMMARY

Dental grade caries that already involves the surface of the dentin may progress towards hypersensitivity. Increased dentine hypersensitivity by composite injections containing HEMA and by changes in the temperature of the oral cavity stimulates the chronic inflammatory reaction of the dental pulp. In a deep cervical lesion of the tooth and an open dentin tubule is required the material to block the stimulus. Efforts in this study were administered hydroxy apatite (HA).

This type of research is a pure study conducted on animal experiments of wistar strain rats. The research design was pretest-posttest control group design true experimental laboratories with factorial design and randomized randomization of the group as a research design. In this study, 7 groups were divided as follows: Group O1 = observation of the research on day 1 and Group O2 - O4 - O6 = observation of the research on day 3 and Group O3 - O5 - O7 = observation research on day 6, treatment based on: number of expression TRPM-8, TNF- α , BCL-2 and Alkaline phosphatase by immunohistochemical method (using anti-TRPM-8 Rat, anti-TNF- α Rat, anti-BCL-2 Rat and Rat anti-Alkaline phosphatase monoclonal antibody primary antibodies), and apoptotic inhibition measurements based on anatomical histopathologic (HPA) pulp tissue repair with Hematoxylin Eosin (HE) staining.

The results of the study were: TRPM-8 and TNF- α expression was highest in HEMA administration. The BCL2 and ALP expression was highest in the administration of HA.

BCL-2 expression on HA administration showed an improvement pattern from day 1, day 3 and day 6. Similarly, the administration of HA and HEMA. BCL-2 expression on day 1 HEMA administration was significantly different from day 3, but did not differ significantly between day 3 versus day 6.

The expression of ALP in HA administration shows an improvement pattern from day 1, day 3 and day 6. Similarly, the administration of HA and HEMA showed an improvement pattern from day 1, day 3 and day 6, but did not differ between day 3 and day 6. ALP expression in day 1 HEMA administration was significantly different than day 3, but did not differ significantly between day 3 versus day 6.

The new findings of this study were: HA and composite applications on day 3 and 6 led to decreased expression of TRPM-8 and TNF- α , along with increased BCL-2 and ALP in mouse pulp tissue, the possibility of pulp tissue regeneration. HEMA and composite applications on day 3 and 6 treatments. causing increased expression of TRPM-8 and TNF- α , along with a decrease in BCL-2 and ALP expression in mouse tooth tissues, resulting in apoptosis (irreversible pulpitis). HA-HEMA, and composite applications on day 3 and 6 treatments resulted in decreased expression of TRPM-8 and TNF- α , along with increased BCL-2 and ALP in pulp tissue resulting in pulmonary reversible tissue regeneration.

ABSTRAK

Latar belakang.

Meningkatnya hipersensitivitas dentin oleh tumpatan komposit yang mengandung HEMA di dalam rongga mulut diikuti oleh perubahan temperatur makanan dan minuman akan merangsang reaksi peradangan kronis pada pulpa gigi. Pada lesi servikal gigi yang cukup dalam dan tubulus dentin yang terbuka maka diperlukan bahan untuk memblokir rangsangan. Upaya pada penelitian ini dilakukan pemberian hidroksi apatit (HA). Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian hidroksi apatit dan 2-Hidroksi Etil Metakrilat pada hari ke 1, 3 dan 6 terhadap kematian pulpa gigi dan menganalisis mata rantai terjadinya modulasi ekspresi TRPM-8, TNF- α , BCL-2, dan ALP.

METODE

Pada penelitian ini 42 gigi tikus Wistar daerah servikal gigi insisivus rahang bawah dipreparasi tidak perforasi kemudian dilakukan pemberian HEMA, HA, dan HA - HEMA pada hari ke 1, 3, 6. Ekspresi TRPM-8, TNF- α , BCL-2, dan alkaline phosphatase terdeteksi secara immunohistokimia masing masing sel odontoblas pulpa. Jenis penelitian Randomized dan uji statistic Anova.

HASIL

Hasil penelitian yang didapat adalah : ekspresi TRPM-8 dan TNF- α paling tinggi pada pemberian HEMA dan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6 . Adapun ekspresi BCL2 dan ALP paling tinggi pada pemberian HA.

Ekspresi BCL-2 dan ALP paling tinggi pada pemberian HA dan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6 diikuti pemberian HA - HEMA.

Ekspresi ALP pada perlakuan HA menunjukkan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6. Demikian juga pada perlakuan HA - HEMA menunjukkan pola peningkatan dari hari 1, hari 3 dan hari 6, yang secara sangat signifikan berbeda antara hari 1 dengan hari 3 , namun tidak berbeda antara hari 3 dengan hari 6

KESIMPULAN

Temuan baru dari penelitian ini adalah : Aplikasi HA dan komposit pada hari ke-3 dan ke-6 perlakuan menyebabkan penurunan ekspresi TRPM-8 dan TNF- α , disertai peningkatan BCL-2 dan ALP pada jaringan pulpa gigi tikus mencegah apoptosis odontoblas dan meningkatkan perbaikan kerusakan dentin , sehingga terjadi regenerasi jaringan pulpa (pulpitis reversible). Aplikasi HEMA dan komposit pada hari ke-3 dan ke-6 perlakuan menyebabkan peningkatan ekspresi TRPM-8 dan TNF- α , disertai penurunan ekspresi BCL-2 dan ALP pada jaringan pulpa gigi tikus, sehingga terjadi apoptosis (pulpitis irreversible). Aplikasi HA-HEMA, dan komposit pada hari ke-3 dan ke-6 perlakuan menyebabkan penurunan ekspresi TRPM-8 dan TNF- α , disertai peningkatan BCL-2 dan ALP pada jaringan pulpa gigi tikus sehingga terjadi regenerasi jaringan pulpa (pulpitis reversible),

KATA KUNCI : Odontoblas, fibroblast, Alkalin phosphatase, 2-Hidroksi Etil Metakrilat, hidroksi apatit, kalsium hidroksida.

ABSTRACT

BACKGROUND

Increased dentin hypersensitivity by composite restorations that contain HEMA in the oral cavity followed by changes in food and beverage temperature will stimulate chronic inflammatory reaction in the dental pulp. In a deep cervical lesion of the tooth and an open tubule dentine it is necessary to block the stimulus. Effort in this study was administer hydroxy apatite (HA).

METHOD

In this study 84 teeth of Winstar rats cervical area of mandibular incisor cavity were prepared not perforated then treated HEMA, HA, and HA-HEMA on day 1, 3, 6. TRPM-8 expression, TNF- α , BCL-2, and alkaline phosphatase were immunohistochemically detected in each pulp odontoblast cell.

RESULTS

The results of the study were: TRPM-8 and TNF- α expression were highest in HEMA administration and improvement pattern from day 1, day 3 and day 6. The BCL2 and ALP expression were highest in the administration of HA.

Expression of BCL-2 and ALP were highest in HA administration and an improvement pattern from day 1, day 3 and day 6 followed by HA-HEMA.

The expression of ALP in HA treatment showed an improvement pattern from day 1, day 3 and day 6. Similarly, HA-HEMA treatment showed an improvement pattern from day 1, day 3 and day 6, which significantly differed between day 1 and day 3, but not different between day 3 and 6.

CONCLUSION

The new findings of this study were: HA and composite applications on day 3 and 6 treatments caused decreased expression of TRPM-8 and TNF- α , along with increased BCL-2 and ALP in rats tooth tissue pulp preventing odontoblast apoptosis and improved improvement dentin damage, resulting in pulmonary tissue regeneration (pulpitis reversible). HEMA and composite applications on day 3 and 6 treatment led to increased expression of TRPM-8 and TNF- α , along with decreased BCL-2 and ALP expression in rats tooth tissues, resulting in apoptosis (irreversible pulpitis). HA-HEMA, and composite applications on day 3 and 6 treatments resulted in decreased expression of TRPM-8 and TNF- α , along with increased BCL-2 and ALP in rats pulp tissue resulting in pulmonary reversible tissue regeneration,

KEY WORDS: Odontoblas, fibroblasts, Alkaline phosphatase, 2-Hydroxy Ethyl Methacrylate, hydroxy apatite, calcium hydroxide.

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Pengesahan	iii
Penetapan Panitia	v
Ucapan terima kasih	vi
Ringkasan	x
Summary	xi
Abstract	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.3.1 Tujuan umum	7
1.3.2 Tujuan khusus	7
1.4. Manfaat Penelitian	8
1.4.1 Manfaat Teori	8
1.4.2 Manfaat aplikatif	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Pulpitis reversibel	9
2.1.1. Definisi	9
2.1.2 Etiologi	9
2.1.3 Mekanisme proses radang pulpa	10
2.1.4 Mekanisme nyeri pada pulpa	13
2.1.5 Hipersensitif dentin	17
2.7. 2-hidroksietil metakrilat (HEMA)	21
2.8 Formaldehid	21
2.8.1 Sifat Kimia Formaldehid Akibat Proses oksidasi HEMA	22
2.8.2 Reaksi formaldehid dengan protein	25
2.8.3 Pertimbangan Praktis Berkaitan dengan Formaldehida.....	25
2.8.4 Pelepasan Formaldehid kedalam Saliva.....	26
2.8.5 Penetrasi Formaldehid ke dalam Jaringan Pulpa.....	27
2.9 Hidroksi apatit	26
2.10 Transient receptor potential melastatin 8 (TRPM-8)	29
2.11 Tumor Necrotic Faktor Alpha (TNF- α)	27
2.12 B-Cell Lymposit 2 (BCL-2)	30
2.14 Alkaline phosphatase (AIP).....	33
2.15 Metode Alkaline Phosphatase anti Alkaline phosphatase...	30
2.11 IMunohistokimia	30
2.11.1 Metode Imunohistokimia	29

BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN....	35
	3.1. Kerangka Konseptual	35
	3.2. Penjelasan Kerangka Konseptual.....	36
	3.3. Hipotesis Penelitian	38
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	39
	4.1. Rancangan Penelitian	39
	4.2.1 Populasi Penelitian.....	41
	4.2.2 Sampel.....	41
	4.2.3 Besar Sampel	41
	4.4 Teknik pengambilan Sampel	42
	4.5. Variabel Penelitian	43
	4.5.1. Variabel Bebas (<i>Independent Variable</i>)	43
	4.5.2. Variabel Tergantung (<i>Dependent Variable</i>)	44
	4.5.3. Variabel Kendali	44
	4.6. Definisi Operasional Variabel Penelitian	44
	4.7. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	45
	4.8. Alur pelaksanaan penelitian	46
	4.9 Bahan dan Alat Penelitian	46
	4.9.1 Bahan Penelitian	46
	4.9.2 Alat Penelitian	47
	4.10 Prosedur Penelitian	48
	4.11. Imunohistokimia	49
	4.13 .Hambatan Destruksi Jaringan Pulpa secara Histopatologis Anatomi (HPA) dengan Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	51
	4.14. Pengumpulan dan Analisa Data.....	52
BAB 5	HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN	56
	5.1 Analisis Ekspresi TRPM-8	59
	5.2 Analisis Ekspresi TNF α	61
	5.3 Analisis Ekspresi BCL-2	65
	5.4 Analisis Ekspresi ALP	65
BAB 6	PEMBAHASAN	68
BAB 7	PENUTUP	79
	7.1. KESIMPULAN	79
	7.2 SARAN	80
	DAFTAR PUSTAKA	81
	LAMPIRAN	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1.	Mekanisme nyeri pada pulpa.....	13
2.2.	Mekanisme nyeri berdasar teori syaraf	18
2.3.	Mekanisme nyeri berdasar teori hidrodinamik	19
2.4.	Mekanisme nyeri berdasar teori odontoblas	20
2.5.	Tubulus dentin	21
2.6.	Tubulus dentin	21
2.7.	Mekanisme adanya rangsangan syaraf intra dental	21
2.8.	Pembentukan polimer formaldehida (atas), dan depolimerisasi dari paraformaldehyde (bawah).	23
2.9.	Reaksi fiksasi Formaldehid	26
2.10.	Perendaman kalsium hidroksi dalam larutan saline	28
2.11	Perndaman hidroksi apatit alam larutan saline	28
3.1.	Kerangka Konseptual.....	46
4.1.	Pola Rancangan Penelitian.....	39
4.2.	Diagram alur penelitian.....	46
5.1.	Pola keragaman perubahan konsentrasi TRPM-8	58
5.2.	Pola keragaman perubahan konsentrasi TNF- α	61
5.3.	Pola keragaman perubahan konsentrasi BCL-2.....	64
5.4	Pola keragaman perubahan konsentrasi ALP.....	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kelaikan Etik	87
Lampiran 2. Analisa data Tryal Penelitian	88
Lampiran 3. Foto Tryal Penelitian Hasil Pemeriksaan Histopatologi	90
Lampiran 4. Analisa Data TRPM-8	93
Lampiran 5. Analisa Data TNF- α	98
Lampiran 6. Analisa Data BCL-2	104
Lampiran 7. Analisa Data ALP	109

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: Alkaline phosphatase
BCL2	: B-cell lymphoma 2
Ca(OH) ₂	: Kalsium hidroksida
CGRP	: calcitonin growth reseptor peptida
HA	: Hidroksi Apatit
HEMA	: 2-Hidroksi Ethyl Metakrilat
5-HT	: 5- histamine serotonin
HCl	: Asam Chlorida
H ₂ O ₂	: Peroksida
HE	: <i>Haematoxylin Eosin</i>
HPA	: Histopatologi
IHC	: Immunohisto chemistry
ITD	: Institute of Tropical Disease
LPS	: lipopolisakarida
ml	: Milli liter
n	: besar sampel tiap ulangan
NK-1	: neurokinin-1
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
r	: replikasi
SP	: substansi P
TLR-4	: <i>toll like receptor 4</i>
TNF α	: <i>tumor nekrotic factor α</i>
TRP	: <i>Tranctient receptor potential</i>
TRPM8	: <i>Tranctient receptor potential melastanin 8</i>
μ g	: Mikro gram
μ ml	: Mikro mililiter
TGF- β	: Transforming growth factor β
PGE 2	: Prostaglandine E2
COX	: Cyclooxygenase