

**EKSPRESI TRAF-6 DAN NaV-1.7
SEL SARAF PADA EKSPERIMENTAL FLARE UP
PASCA EKSTIRPASI JARINGAN PULPA GIGI**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

PUTU YURI DIVINA

021918036324

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

LEMBAR PENGESAHAN

**EKSPRESI TRAF-6 DAN NaV-1.7 SEL SARAF
PADA EKSPERIMENTAL FLARE UP PASCA EKSTIRPASI
JARINGAN PULPA GIGI**

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya**

Oleh:

**Putu Yuri Divina
NIM.021918036324**

Menyetujui

Dosen Pembimbing Utama



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

Dosen Pembimbing Serta



**Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP. 197210072005012001**

**Mengetahui
Ketua Program Studi**



**Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(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 : Rabu

Tanggal : 15 Juni 2022

PANITIA PENGUJI:

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

Anggota : 2. Dr. Dian Agustin W, drg., Sp. KG (K)
3. Nanik Zubaidah, drg M.Kes., Sp. KG (K)
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M. Kes., Sp. KG (K)
5. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp. KG (K)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Putu Yuri Divina

NIM : 021918036324

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 TRAF-6 DAN NaV-1.7 SEL SARAF PADA EKSPERIMENTAL FLARE UP PASCA EKSTIRPASI JARINGAN PULPA GIGI

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, 15 Juni 2022

Yang menyatakan,



Putu Yuri Divina
NIM 021918036324

UCAPAN TERIMA KASIH

Rasa syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga karya tulis akhir yang berjudul “Ekspresi TRAF-6 Dan NAV-1.7 Sel Saraf Pada Eksperimental Flare Up Pasca Ekstirpasi Jaringan Pulpa Gigi” ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

Pada kesempatan ini saya menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT.,Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Wakil Dekan 1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, dan selaku mantan Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
4. Dr. Muhamad Lutfi, drg., M.Kes selaku Wakil Dekan 2 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
5. Andra Rizqiawan, drg., PhD., Sp.BM., FICS selaku Wakil Dekan 3 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang telah memberi

kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

6. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Ketua Departemen Ilmu Konservasi Gigi, yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini. Beliau juga selaku Pembimbing Serta yang telah memberikan bimbingan, masukan, motivasi dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
7. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Konservasi Gigi, yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini. Beliau juga selaku Dosen Wali dan Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
8. Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
9. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes, Sp.KG (K) selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memfasilitasi dan memberikan ijin di awal hingga berjalannya proses pembuatan karya tulis ini
10. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS., Sp KG (K), selaku ketua penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.

11. drg. Nanik Zubaidah, M.Kes., Sp. KG (K), selaku anggota penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
12. Dr. Dian Agustin W., drg., Sp. KG (K), selaku anggota penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
13. Direktur Jenderal Tenaga Kesehatan Kementerian Kesehatan RI yang telah memberikan bantuan biaya pendidikan.
14. Suami, orang tua dan anak tercinta atas segala cinta, doa, bimbingan, dukungan dan pengorbanan yang diberikan selama ini.
15. Teman-teman Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi angkatan 2019 atas semangat dan bantuan yang diberikan.
16. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya karya tulis akhir ini.

Karya tulis akhir ini masih jauh dari sempurna, karenanya kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga karya tulis akhir ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 15 Juni 2022

Penulis

ABSTRACT**EXPRESSION OF TRAF-6 AND NaV-1.7 NERVE CELLS ON FLARE UP
EXPERIMENTAL AFTER DENTAL PULP TISSUE EXTIRPATION**

Background: Root canal treatment is required to treat pulp tissue inflammation like irreversible pulpitis and pulp necrosis. In between or after root canal treatment sessions, there were possibilities of pain occurrence known as endodontic flare up which often take place 24 hours after treatment. Pain may result because of NaV-1.7 excitation in the TRAF-6 pathway. Pulp diagnosis that frequently flares up is still up for discussion. **Objective:** Immunohistochemically explain the flare up mechanism of neuron dental pulp cells after LPS induced and pulp tissue extirpation by expression of TRAF-6 and NaV-1.7. **Method:** A total of 30 *Sprague Dawley* rats were divided into 3 groups of 10 rats each (control, treatment 1 group, and treatment 2 group). The control group received no treatment in the mandibular incisors and was terminated after 24 hours. The second group was treatment group 1, had access opening and pulp tissue extirpation, then it was terminated 24 hours later. The third group, designated treatment group 2, underwent access opening, LPS *Porphyromonas gingivalis* induction, left for 48 hours for inflammation process then had pulp tissue extirpation, and terminated 24 hours later. Next, immunohistochemistry stained slide were prepared to observe the expression of TRAF-6 and NaV-1.7. **Results:** Following the removal of pulp tissue (treatment 1 group), TRAF-6 and NaV-1.7 levels were increased. Following LPS induction and pulp tissue extirpation (treatment 2 group), TRAF-6 and NaV-1.7 levels were decreased. **Conclusion:** From a neuroimmunological perspective, quality of neuron pulp cells was affecting endodontic flare up. Pulp tissue with mild inflammation was more likely to experience a flare-up than pulp tissue with severe inflammation.

Keywords: *Flare up*, TRAF-6, NaV-1.7, nerve cells

ABSTRAK

**EKSPRESI TRAF-6 DAN NaV-1.7 SEL SARAF PADA
EKSPERIMENTAL FLARE UP PASCA EKSTIRPASI JARINGAN
PULPA GIGI**

Latar Belakang: Inflamasi jaringan pulpa seperti pulpitis *irreversible* dan nekrosis pulpa memerlukan perawatan saluran akar. Pada sesi diantara perawatan dan saat selesainya perawatan terdapat kemungkinan timbulnya rasa nyeri disebut *flare up* yang sering terjadi 24 jam setelah perawatan saluran akar. Rasa nyeri dapat berlangsung karena tereksitasinya NaV-1.7 melalui jalur TRAF-6. Diagnosa pulpa yang mendasari terjadinya *flare up* masih menjadi perdebatan. **Tujuan:** Menjelaskan terjadinya *flare up* pada sel saraf jaringan pulpa gigi secara imunohistokimia setelah pemberian LPS dan perlakuan ekstirpasi pulpa berdasarkan ekspresi TRAF-6 dan NaV-1.7. **Metode:** 30 ekor tikus *Sprague Dawley* dibagi menjadi 3 kelompok (kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2) masing - masing 10 ekor. Pada gigi insisif rahang bawah kelompok kontrol tidak diberi perlakuan hanya diterminasi setelah 24 jam. Kelompok perlakuan 1 dilakukan akses opening dan ekstirpasi jaringan pulpa kemudian diterminasi setelah 24 jam. Kelompok perlakuan 2 dilakukan akses opening dan induksi LPS *Porphyromonas gingivalis*, dibiarkan selama 48 jam untuk menciptakan kondisi inflamasi, berikutnya dilakukan ekstirpasi pulpa dan 24 jam kemudian diterminasi. Selanjutnya dibuatkan *slide* preparat dan pengecatan imunohistokimia untuk pengamatan marker TRAF-6 dan NaV-1.7. **Hasil:** Terjadi peningkatan TRAF-6 dan NaV-1.7 setelah ekstirpasi jaringan pulpa (kelompok perlakuan 1). Terjadi penurunan TRAF-6 dan NaV-1.7 setelah pemberian LPS dan ekstirpasi jaringan pulpa (kelompok perlakuan 2). **Kesimpulan:** Secara neuroimmunologis insiden *flare up* lebih berpotensi terjadi pada pulpa yang kualitasnya lebih baik (inflamasinya lebih rendah) dibandingkan dengan pulpa yang terinflamasi lebih parah.

Kata Kunci: *Flare up* , TRAF-6, NaV-1.7, sel saraf pulpa.

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
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan	8
1.3.1 Tujuan Umum.....	8
1.3.2 Tujuan Khusus.....	8
1.4 Manfaat	9
1.4.1 Manfaat Teoritis	9
1.4.2 Manfaat Praktis	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Neuroimmunologi.....	10
2.2 Keradangan Jaringan Pulpa dan Periapikal Gigi	11
2.3 Rasa Nyeri Selama Perawatan Saluran Akar.....	12
2.4 Lipopolisakarida Bakteri <i>Porphyromonas Gingivalis</i>	14
2.5 Saraf Pulpa.....	16
2.6 <i>Toll-Like Receptor</i> (TLR).....	18
2.7 <i>Heat Shock Protein</i> (HSP).....	20
2.8 TRAF-6.....	25

2.9	<i>Voltege-Gated Sodium Channel (NaV)</i>	28
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL	31
3.1	Kerangka Konsep	31
3.2	Penjelasan Kerangka Konsep	33
3.3	Hipotesis Penelitian	35
BAB 4	METODE PENELITIAN	36
4.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	36
4.1.1	Jenis Penelitian	36
4.1.2	Rancangan Penelitian	36
4.2	Sampel Penelitian, Kriteria Inklusi dan Eksklusi Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	37
4.2.1	Unit analisis dan Sampel Penelitian	37
4.2.2	Besar Sampel Penelitian	37
4.2.3	Teknik pengambilan sampel	38
4.3	Variabel Penelitian	39
4.3.1	Variabel Bebas	39
4.3.2	Variabel Terikat	39
4.3.3	Variabel Kendali	39
4.4	Definisi Operasional	40
4.5	Bahan dan Alat Penelitian	41
4.5.1	Bahan Penelitian	41
4.5.2	Alat Penelitian	42
4.6	Cara Kerja	43
4.6.1	Cara injeksi LPS intrapulpa	43
4.6.2	Cara Ekstirpasi intrapulpa	44
4.6.3	Waktu dan Lokasi Penelitian	45
4.6.4	Persiapan Pembuatan Spesimen	45
4.6.5	Pembuatan Sediaan Blok Parafin	45
4.6.6	Prosedur Pengecatan Imunohistokimia	46
4.6.7	Penghitungan TRAF-6 dan NaV-1.7	47
4.6.8	Analisis Data	48
4.6.9	Alur Penelitian	49

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	50
5.1 Ekspresi TRAF-6	50
5.2 Ekspresi NaV-1.7.....	52
5.3 Gambaran Histologis TRAF-6	55
5.4 Gambaran Histologis NaV-1.7.....	55
BAB 6 PEMBAHASAN	56
6.1 Peningkatan TRAF-6 dan NaV-1.7 Setelah Ekstirpasi Jaringan Pulpa.....	56
6.2 Penurunan TRAF-6 dan NaV-1.7 Setelah Pemberian LPS dan Ekstirpasi Jaringan Pulpa.....	57
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	60
7. 1 Kesimpulan	60
7. 2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2.1 Jalur MAPK di Hilir TRAF-6	27
2. Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Jalur Ekstirpasi Jaringan Pulpa.....	31
3. Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Jalur LPS dan Ekstirpasi Jaringan Pulpa	32
4. Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian.....	36
5. Gambar 4.2 Alur Penelitian	49
6. Gambar 5.1 Grafik Ekspresi TRAF-6.....	52
7. Gambar 5.2 Grafik Ekspresi NaV-1.7.....	54
8. Gambar 5.3 Ekspresi TRAF-6 pada sel saraf pulpa gigi pada kelompok kontrol (K), kelompok Ekstirpasi Pulpa (P1), kelompok Ekstirpasi Pulpa dan Pemberian LPS (P2) dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali.....	55
9. Gambar 5.4 Ekspresi NaV-1.7 pada sel saraf pulpa gigi pada kelompok Kontrol (K), kelompok Ekstirpasi Pulpa (P1), kelompok Ekstirpasi Pulpa dan Pemberian LPS (P1) dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali.....	55

DAFTAR TABEL

1. Tabel 5.1.1 Nilai Rerata, Simpangan Baku & Besar Sampel Ekspresi TRAF-6	50
2. Tabel 5.1.2 Hasil Uji Saphiro-Wilk dan Uji Levene Ekspresi TRAF-6	50
3. Tabel 5.1.3 Hasil Uji Tukey HSD Ekspresi TRAF-6	51
4. Tabel 5.2.1 Nilai rerata, simpangan baku dan besar sampel ekspresi NaV-1.7..	52
5. Tabel 5.2.2 Hasil Uji Saphiro-Wilk dan Uji Levene Ekspresi NaV-1.7.....	53
6. Tabel 5.2.3 Hasil Uji Tukey HSD Ekspresi NaV-1.7	53

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik	65
2. Lampiran 2. Perhitungan Besar Sample Penelitian.....	66
3. Lampiran 3. Data Sheet LPS <i>Porphyromonas gingivalis</i>	67
4. Lampiran 4. Data Sheet TRAF-6	68
5. Lampiran 5. Data Sheet NaV-1.7	69
6. Lampiran 6. Foto Penelitian.....	72
7. Lampiran 7. Hasil Uji Statistik	73
8. Lampiran 8. Pembacaan Immunohistokimia.....	80

DAFTAR SINGKATAN

AMP	: <i>Adenosin Monofosfat Siklik</i>
ASK1	: <i>Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1</i>
CNS	: <i>Central Nervous System</i>
DRG	: <i>Dorsal Root Ganglion</i>
ECSIT	: <i>Evolutionarily Conserved Signaling Intermediate in Toll Pathways</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
GMP	: <i>Guanosine Monofosfat Siklik</i>
HSF1	: <i>Heat Shock Factor 1</i>
HSP	: <i>Heat Shock Protein</i>
HSP70	: <i>Heat Shock Protein -70</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
IgM	: <i>Immunoglobulin M</i>
IHC	: <i>Immuno Histo Chemistry</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin 1 Beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IFN- β	: <i>Interferon β</i>
IRAK	: <i>IL-1 Receptor Associated Kinase</i>
IRF3	: <i>Interferon Regulatory Factor 3,</i>
JNK	: <i>c-jun N-terminal kinase</i>
LPS	: <i>Lipopolysacharide</i>
MAL	: <i>Protein Myd88 Adaptor-Like</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MAP3K	: <i>MAP Kinase Kinase Kinase</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MKs	: <i>MAPK-Activated Protein Kinases</i>
MNK	: <i>MAPK-Interacting Kinase</i>
MSK	: <i>Mitogen- Stress-Activated Kinase</i>

Myd88	: <i>Myeloid Differentiation Primary Response 88</i>
NaV-1.7	: <i>Voltage-Gated Sodium Channels 1.7</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
PAMPs	: <i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TAB2	: <i>TAK1-Biding Protein 2</i>
TAB3	: <i>TAK1-Binding Protein 3</i>
TAK1	: <i>Transforming Growth Factor B-Activated Kinase</i>
Th 1	: <i>T Helper 1</i>
TICAM-1	: <i>TIR Domain Containing Molecule</i>
TIR	: <i>toll/IR-1</i>
TIRAP	: <i>TIR Domain Containing adaptor Protein</i>
TLR4	: <i>Toll Like Receptor 4</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TRAF-6	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 6</i>
TRAM	: <i>TRIF-Related Adaptor Molecule</i>
Treg	: <i>T Regulator</i>
TRIF	: <i>TIR Domain-Containing Adaptor Protein Inducing Interferon-Beta</i>