

Kode/ Nama Rumpun Ilmu: 331/ Ilmu Kedokteran Gigi

EXECUTIVE SUMMARY

PENELITIAN DOSEN PEMULA

**EKSPRESI *TUMOR NECROSIS FACTOR- α* DAN *INTERLEUKIN-1 β*
SEBAGAI RESPON PULPA SETELAH APLIKASI ASAM FOSFAT 37%
DAN *ETHYLENE DIAMINE TETRAACETIC ACID* 19%**

TIM PENGUSUL

drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc 0024048203

**Dibiayai oleh
DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2014
No. DIPA-023.04.2.414995S/2014**

**UNIVERSITAS JEMBER
NOVEMBER, 2014**

EXECUTIVE SUMMARY

Judul : Ekspresi *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan *Interleukin-1 β* (IL-1 β) sebagai Respon Pulpa Setelah Aplikasi Asam Fosfat 37% dan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* 19%

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc

NIDN : 0024048203

Sumber Dana : DIPA Universitas Jember

Diseminasi : belum ada

Alamat surel (e-mail) : nadiefatima@gmail.com

Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jember, 10 November 2014

Ketua,

drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc
NIP. 198204242008012022

**EKSPRESI TUMOR NECROSIS FACTOR- α DAN INTERLEUKIN-1 β
SEBAGAI RESPON PULPA SETELAH APLIKASI ASAM FOSFAT 37%
DAN ETHYLENE DIAMINE TETRAACETIC ACID 19%**

Nadie Fatimatuzzahro

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Intisari

Tindakan preparasi kavitas yang bertujuan untuk menghilangkan karies atau dentin yang terinfeksi dan membuat ruang untuk bahan restorasi, menghasilkan *smear layer*. Penggunaan bahan etsa seperti asam fosfat dan *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) pada sistem restorasi adhesif bertujuan untuk menghilangkan *smear layer* dan mempersiapkan permukaan dentin untuk menerima bahan restorasi. Penetrasi bahan etsa melalui tubulus dentin dapat berperan sebagai iritan kimia bagi sel-sel pada pulpa. Sitokin yang merupakan regulator kunci respon inflamasi adalah interleukin-1 (IL-1 α , IL-1 β) dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan molekul ini terbukti berperan penting dalam respon pulpa terhadap infeksi atau iritan. Pada kondisi normal tidak terdapat ekspresi TNF- α dan IL-1 β . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi TNF- α dan IL-1 β sebagai respon pulpa terhadap aplikasi asam fosfat 37% dan EDTA 19%.

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 12 ekor tikus *Sprague Dawley* tiap kelompok dengan pembagian 3 subjek untuk masing-masing kelompok hari pengamatan (1, 3, 5, dan 7 hari setelah perlakuan) dan 3 ekor untuk kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan). Gigi molar satu rahang atas dipreparasi pada permukaan oklusal menggunakan *diamond round bur* dengan kedalaman 0,5 mm. Pada kelompok perlakuan I, diaplikasikan gel asam fosfat 37%, kelompok perlakuan II diaplikasikan EDTA 19% dan kelompok perlakuan III hanya dibilas akuades. Kavitas dikeringkan dengan *cotton pellet* kemudian ditumpat dengan semen ionomer kaca fuji IX. Dekapitasi hewan coba pada hari ke-1, 3, 5, dan 7 setelah perlakuan. Pembuatan preparat histologis dan dilakukan pengecatan imunohistokimia (IHC) dengan *rabbit anti rat TNF- α polyclonal antibody* dan *rabbit anti rat IL-1 β polyclonal antibody*.

Hasil penelitian menunjukkan TNF- α terkespresi paling kuat pada hari ke-1 dan IL-1 β terkespresi paling kuat pada hari ke-3. *Tumor necrosis factor- α* dan IL-1 β terkespresi dengan intensitas yang lebih kuat pada kelompok asam fosfat 37% dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa aplikasi bahan etsa memicu ekspresi TNF- α dan IL-1 β pada pulpa, dan asam fosfat 37% menyebabkan inflamasi yang lebih parah dibandingkan EDTA 19%.

Kata kunci: asam fosfat 37%, EDTA 19%, inflamasi, TNF- α , IL-1 β

Abstract

Cavity preparation is aimed to eliminate caries or infected dentin, produced a smear layer. Etching agents such as phosphoric acid and ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) which are widely used in adhesive restoration system aimed to eliminate the smear layer and prepare the dentin surface to receive restorative materials; however, these agents may induce inflammation of dental pulp. Large penetration of etching material through dentinal tubules can act as a chemical irritant to the cells of pulp. Interleukin-1 (IL-1 α , IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) are a key regulator cytokines of the inflammatory response and these molecules have important role in pulp response to infection or irritants. there was no expression of TNF- α and IL-1 β in normal conditions and upregulated during inflammation. The purpose of this study was to determine TNF- α and IL-1 β expression in pulp response to the application of phosphoric acid 37% and EDTA 19%.

Twelve Sprague Dawley rats used in each group and divided into 3 subjects for each day of observation group (1, 3, 5, and 7 days after treatment) and 3 subjects for the control group (untreated). Maxillary first molar teeth were prepared on the occlusal surface using diamond round bur with a depth of 0.5 mm. 37% phosphoric acid, 19% EDTA and distilled water were applied on the surface of the cavity of the teeth in group I, II, and III subsequently. Cavity dried with a cotton pellet and then of filled with glass ionomer cement fuji IX. The rats were sacrificed at 1, 3, 5 and 7 days after the treatment. Immunohistochemistry was performed using rabbit anti-rat TNF- α antibody and rabbit polyclonal anti-rat IL-1 β polyclonal antibody.

Strongest expression of TNF- α showed on day 1 after the treatment and IL-1 β is expressed most strongly on 3 days after the treatment. 37% phosphoric acid stimulated stronger expression of TNF- α and IL-1 β than other groups. This indicates that the etching material application triggers the expression of TNF- α and IL-1 β in the pulp, and 37% phosphoric acid induces severe inflammation more than 19% EDTA.

Keyword: 37% phosphoric acid, 19% EDTA, inflammation, TNF- α , IL-1 β

Pendahuluan

Karies adalah penyakit infeksi mikroba pada gigi yang menyebabkan terurai dan rusaknya jaringan keras gigi. Lesi karies disebabkan antara lain oleh bakteri *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* dan *Actinomyces*. Bakteri tersebut mampu memetabolisme karbohidrat dan menghasilkan lingkungan asam sehingga menyebabkan demineralisasi struktur gigi kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya.^{1,2}

Destruksi gigi oleh karena karies atau faktor lain, membutuhkan restorasi untuk menggantikan substansi gigi yang hilang sehingga akan mengembalikan bentuk, fungsi dan estetika. Walmsley dkk. membagi restorasi menjadi 2 kelompok berdasarkan bahan dan teknik penempatan restorasi berupa restorasi adhesif dan non adhesif.³ Restorasi adhesif menggunakan resin komposit dan ionomer kaca, lebih banyak digunakan dibandingkan restorasi non adhesif dengan amalgam. Selain karena alasan estetik, keuntungan desain

preparasi kavitas untuk bahan restorasi adhesif adalah tidak memerlukan preparasi retensi seperti *undercut*. Hal ini meminimalkan pembuangan jaringan terlalu banyak dan mengurangi terbukanya tubulus dentin.⁴

Jaringan gigi terutama dentin-pulpa bereaksi terhadap semua rangsangan yang mengenai gigi. Rangsangan dapat berupa karies, trauma, maupun semua tindakan dalam prosedur restorasi, mulai dari preparasi, pembersihan dan pengeringan kavitas, serta penempatan dan pemolesannya.⁵ Penggunaan bahan-bahan selama prosedur restorasi seperti larutan asam, pembersih dentin, dan zat-zat yang terdapat pada bahan tambal termasuk rangsangan kimiawi yang dapat menyebabkan inflamasi pada pulpa.⁶ Iritan kimia dapat berpenetrasi melalui tubulus dentin dan mengaktifasi sistem pertahanan *host* untuk mengeliminasi iritan, dengan memicu mekanisme selular seperti perubahan vaskular, aktivasi sel-sel inflamasi, dan ekspresi mediator kimia.⁷

Inflamasi merupakan respon perlindungan *host* yang bertujuan untuk menghilangkan penyebab jejas serta sel-sel dan jaringan nekrotik. Inflamasi bekerja dengan menghancurkan atau menetralkan agen berbahaya (misalnya mikroba dan iritan), sehingga akhirnya terjadi proses penyembuhan dan perbaikan jaringan. Sitokin adalah polipeptida yang berfungsi sebagai mediator inflamasi dan respon imun. Beberapa sitokin merangsang prekursor sumsum tulang untuk menghasilkan leukosit, sehingga menggantikan sel-sel yang mati selama peradangan. Sitokin utama pada inflamasi adalah TNF- α dan IL-1 β yang diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi, sel mast, sel endotel, dan beberapa jenis sel lain seperti odontoblas dan fibroblas. Peran utama TNF- α dan IL-1 β pada inflamasi dengan merangsang ekspresi molekul adhesi pada sel endotel, mengakibatkan peningkatan perlekatan dan migrasi leukosit, dan meningkatkan produksi sitokin lain. TNF- α juga menyebabkan agregasi dan aktivasi neutrofil, dan IL-1 β mengaktifkan fibroblas jaringan, mengakibatkan peningkatan proliferasi dan produksi matriks ekstraseluler.⁸

Hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya diketahui bahwa asam fosfat 37% dan EDTA 19% sebagai bahan etsa terbukti meningkatkan ekspresi MMP-8.⁹ Menurut Sorsa dkk., pada kondisi normal terdapat ekspresi MMP-8 dalam jumlah rendah dan akan meningkat pada kondisi inflamasi. Peningkatan ekspresi MMP-8 oleh sel odontoblas dan fibroblas pulpa diduga diinduksi adanya sitokin pro inflamasi seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan interleukin-1 β (IL-1 β) yang dihasilkan oleh sel odontoblas dan makrofag.¹⁰

Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui efek bahan etsa asam fosfat 37% dan EDTA 19% terhadap ekspresi sitokin pro inflamasi TNF- α dan IL-1 β pada pulpa gigi, sehingga dapat menjadi pertimbangan dalam memilih bahan yang aman terhadap pulpa.

Bahan dan Metode Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, yang dilakukan di Laboratorium Histologi dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Seluruh prosedur penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Ethylene diamine tetraacetic acid 19% dibuat dengan melarutkan 19 gram serbuk EDTA (berat molekul 372,24 gram/mol) dalam akuades sampai volume 100 cc, aduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larut, saring dengan kertas saring, pH disesuaikan hingga 7,4.

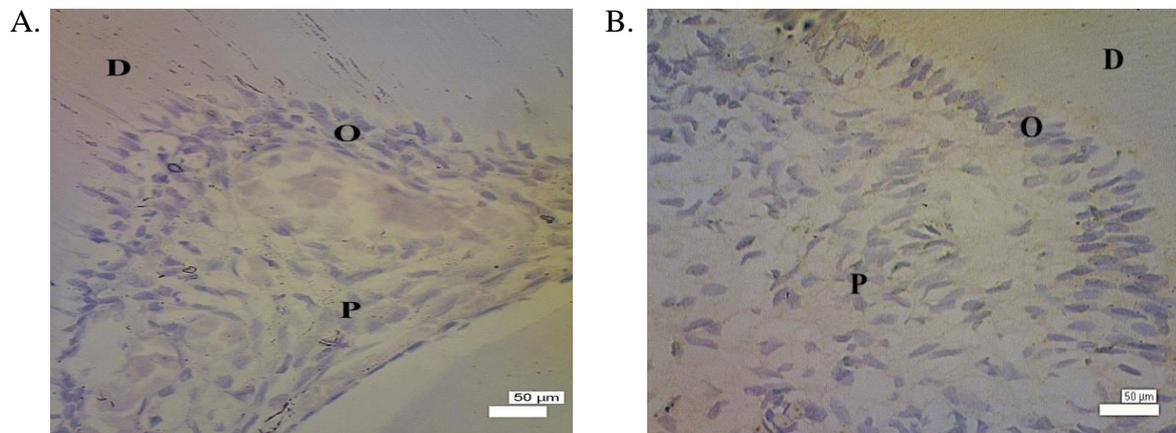
Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 12 ekor tikus *Sprague Dawley* tiap kelompok dengan pembagian 3 subjek untuk masing-masing kelompok hari pengamatan (1, 3, 5, dan 7 hari setelah perlakuan) dan 3 ekor untuk kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan). Sebelum dilakukan preparasi kavitas, hewan coba dianastesi secara intramuskular dengan ketamine HCl 0,2 ml/200 gram berat badan. Gigi molar satu rahang atas dipreparasi pada permukaan oklusal menggunakan *diamond round bur* 0,9 (Edenta, Switzerland) dengan kedalaman 0,5 mm. Pada kelompok perlakuan I, diaplikasikan EDTA 19% pada kavitas selama 30 detik menggunakan *microbrush*, selanjutnya bilas dengan akuades selama 30 detik.¹¹ Kelompok perlakuan II, diaplikasikan gel asam fosfat 37% (Dentamerica, USA) pada kavitas selama 20 detik, selanjutnya bilas dengan akuades selama 30 detik. Kelompok perlakuan III, kavitas hanya dibilas akuades selama 30 detik. Kavitas dikeringkan dengan *cotton pellet* kemudian ditumpat dengan semen ionomer kaca fuji IX.

Pada hari ke-1, 3, 5, dan 7 setelah perlakuan, dilakukan dekapitasi hewan coba. Rahang pada bagian gigi molar yang telah diberi perlakuan diambil dan difiksasi dengan *buffered* formalin 10% selama 24 jam. Spesimen kemudian didekalsifikasi menggunakan EDTA 10% pH 7,4 selama 4 minggu pada suhu 4°C. Setelah lunak, spesimen ditanam dalam parafin, dan dipotong dengan ketebalan 3 µm untuk pengecatan imunohistokimia (IHC) dengan *rabbit anti rat TNF-α polyclonal antibody* dan *rabbit anti rat IL-1β polyclonal antibody*.

Pengamatan intensitas warna coklat yang menunjukkan positif ekspresi TNF-α dan IL-1β dilakukan dengan skoring. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x pada 3 lapang pandang yang berbeda area di bawah jejas (preparasi kavitas).

Hasil

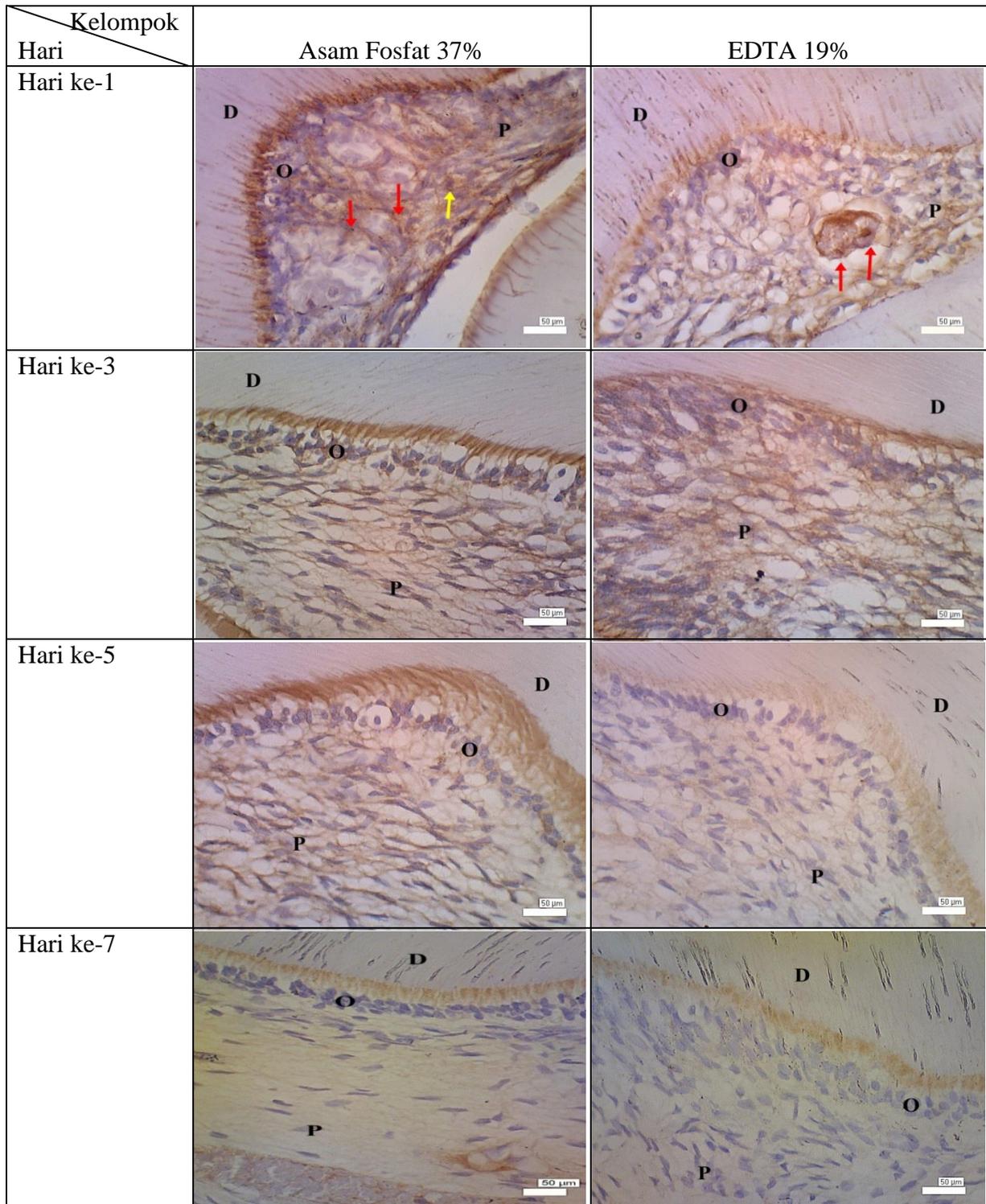
Hasil pemeriksaan imunohistokimia anti TNF- α dan IL-1 β ditandai dengan pewarnaan coklat pada sitoplasma sel odontoblas, sel fibroblas maupun pada matriks ekstraseluler pulpa dengan intensitas yang bervariasi. Semakin kuat intensitas warna coklat berarti semakin kuat ekspresi TNF- α dan IL-1 β . Pada gigi yang tidak diberi perlakuan, tidak tampak adanya pewarnaan coklat (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi normal, tidak terdapat ekspresi TNF- α dan IL-1 β pada pulpa.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis pulpa gigi normal yang tidak diberi perlakuan dengan pengecatan imunohistokimia tampak negatif ekspresi TNF- α (A) dan IL-1 β (B). D= dentin, O= odontoblas, P= pulpa.

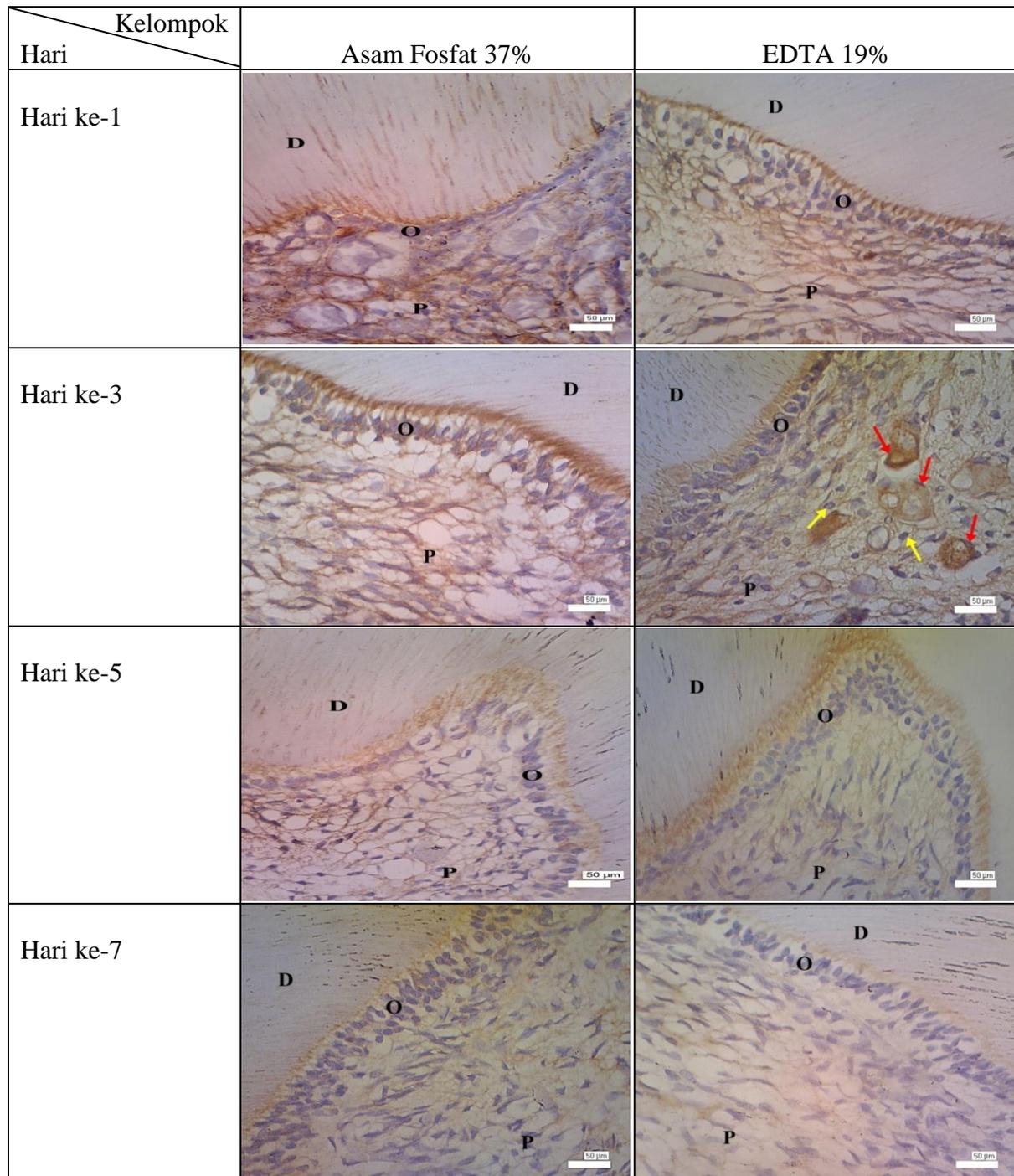
Hasil pemeriksaan histologis dengan pengecatan imunohistokimia pada pulpa gigi setelah aplikasi asam fosfat 37%, EDTA 19% dan akuades tampak sel odontoblas di bawah kavitas menunjukkan ekspresi TNF- α dan IL-1 β dengan intensitas warna yang lebih kuat dibanding area lainnya. Beberapa sel makrofag dan sel endotel juga tampak mengekspresikan TNF- α dan IL-1 β . Kelompok yang diaplikasikan asam fosfat 37% menunjukkan ekspresi TNF- α dan IL-1 β dengan intensitas yang lebih kuat dibandingkan kelompok yang diaplikasikan EDTA 19% dan akuades. Hasil pengamatan pada semua kelompok, intensitas ekspresi TNF- α paling kuat ditemukan pada hari ke-1 setelah perlakuan dan semakin berkurang seiring dengan bertambahnya hari pengamatan (Gambar 2) sedangkan Intensitas ekspresi IL-1 β pada semua kelompok, paling kuat ditemukan pada hari ke-3 setelah perlakuan (Gambar 3).

Hasil pemeriksaan histologis pada pulpa gigi setelah aplikasi asam fosfat 37% dan EDTA 19% dengan pengecatan imunohistokimia anti TNF- α ditunjukkan pada Gambar 2.



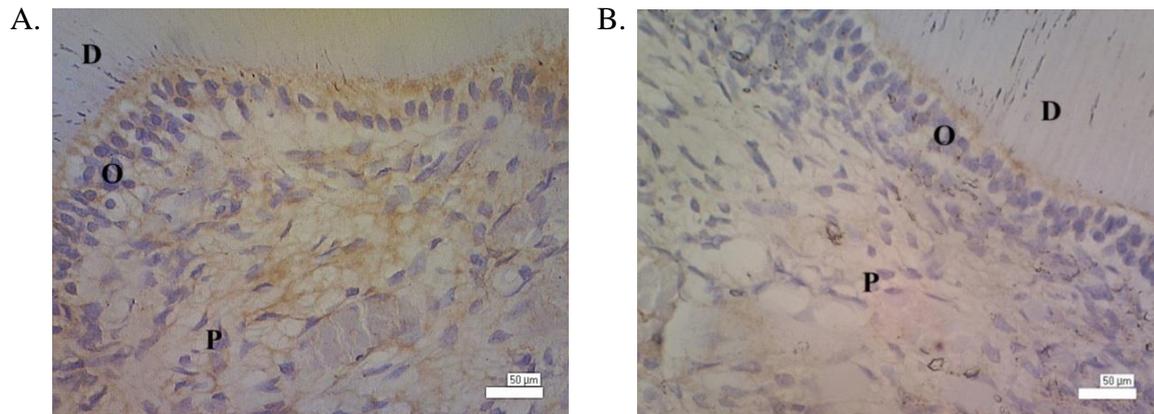
Gambar 2. Gambaran mikroskopis pulpa dengan pengecatan imunohistokimia, ekspresi TNF- α pada kelompok asam fosfat 37% tampak lebih kuat dibandingkan EDTA 19% pada semua kelompok hari. Ekspresi TNF- α paling kuat ditemukan pada hari ke-1 setelah perlakuan pada sitoplasma sel odontoblas, sel fibroblas dan matriks ekstraseluler pulpa. Tampak sel makrofag (panah kuning) dan sel endotel (panah merah) juga positif mengekspresikan TNF- α . D= dentin, O= odontoblas, P= pulpa.

Hasil pengecatan imunohistokimia anti IL-1 β pada pulpa gigi setelah aplikasi asam fosfat 37% dan EDTA 19% ditunjukkan dengan warna coklat yang tampak pada sitoplasma dan prosesus sel odontoblas, sel fibroblas dan matriks ekstraseluler pulpa (Gambar 3).



Gambar 3. Gambaran mikroskopis pulpa dengan pengecatan imunohistokimia tampak ekspresi IL-1 β dengan intensitas paling kuat pada hari ke-3 setelah perlakuan. Ekspresi IL-1 β pada kelompok asam fosfat 37% lebih kuat dibandingkan EDTA 19%. Tampak sel makrofag (panah kuning) dan sel endotel (panah merah) juga positif mengekspresikan IL-1 β . D= dentin, O= odontoblas, P= pulpa.

Pada kelompok akuades tampak ekspresi positif TNF- α dan IL-1 β dengan intensitas lemah pada semua hari perlakuan (Gambar 4).



Gambar 4. Gambaran mikroskopis ruang pulpa pada kelompok akuades dengan pengecatan imunohistokimia tampak TNF- α (A) dan IL-1 β (B) terekspresi dengan intensitas lemah. D= dentin, O= odontoblas, P= pulpa

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan adanya ekspresi positif TNF- α dan IL-1 β dibanding gigi normal, baik pada kelompok yang diaplikasikan asam fosfat 37%, EDTA 19% maupun akuades. Hal ini mengindikasikan bahwa preparasi kavitas dan aplikasi bahan etsa menyebabkan terjadinya inflamasi. Inflamasi adalah proses yang diatur secara ketat dimulai berikut cedera jaringan atau infeksi. Fungsi utamanya adalah untuk menghilangkan patogen/agen merugikan dan jaringan yang rusak, dengan tujuan memulihkan homeostasis jaringan. Respon inflamasi terhadap patogen diatur oleh sitokin dan kemokin pro-inflamasi yang mengatur kematian sel, permeabilitas endotel, infiltrasi sel-sel darah ke jaringan yang meradang, dan menginduksi produksi protein fase akut.¹²

Sitokin yang merupakan regulator kunci respon inflamasi adalah interleukin-1 (IL-1 α , IL-1 β) dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan molekul ini terbukti berperan penting dalam respon pulpa terhadap infeksi atau agen yang merugikan. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan kadar interleukin dalam jaringan pulpa, termasuk peningkatan IL-1 β . Pelepasan sitokin pro-inflamasi dalam jaringan yang terinfeksi/terpapar agen yang merugikan akan menghasilkan pembentukan gradien kemotaktik yang menyebabkan migrasi dan aktivasi sel sistem kekebalan tubuh.¹³

Hasil penelitian ini menunjukkan aplikasi asam fosfat 37% menyebabkan inflamasi lebih parah yang ditandai dengan peningkatan ekspresi TNF- α dan IL-1 β dengan intensitas yang lebih kuat dibandingkan EDTA 19%. Ekspresi positif tampak pada sitoplasma dan

proses sel odontoblas, sel fibroblas pulpa dan matriks ekstraseluler pulpa. Secara fisiologis pulpa gigi terdiri dari populasi sel heterogen yang bertanggung jawab untuk pemeliharaan, pertahanan dan perbaikan. Jenis sel yang diidentifikasi pada pulpa yaitu fibroblas, yang merupakan jenis sel dominan, serta sel-sel inflamasi dan sistem kekebalan tubuh, termasuk sel dendritik, neutrofil, makrofag, limfosit dan odontoblas.¹³ Odontoblas membentuk lapisan perifer pada pulpa gigi, merupakan sel yang pertama kali merespon terhadap adanya rangsangan eksternal. Sitokin TNF- α dan IL-1 β disekresikan oleh odontoblas dan sel-sel kekebalan tubuh dalam menanggapi rangsangan dengan menarik sel-sel imun serta memulai dan memodulasi respon inflamasi.¹⁴

Pada penelitian ini tampak ekspresi TNF- α paling kuat pada hari ke-1 setelah perlakuan, sedangkan ekspresi IL-1 β paling kuat tampak pada hari ke-3 setelah perlakuan. Hal ini sesuai dengan Bletsa dkk. yang menyatakan bahwa TNF- α menginduksi produksi IL-1, dan IL-1 menstimulasi sendiri sintesisnya sebagai umpan balik positif. Pada kondisi inflamasi, IL-1 dan TNF- α diekspresikan dalam jumlah besar oleh makrofag serta oleh banyak jenis lain sel, termasuk fibroblas.¹⁵ Makrofag dan sel endotel juga tampak mengekspresikan TNF- α dan IL-1 β pada penelitian ini. Penetrasi bahan etsa dapat berperan sebagai iritan kimia bagi sel-sel pada pulpa merupakan sinyal bagi makrofag sehingga teraktivasi dan akan mensekresi sitokin antara lain IL-1 β dan TNF- α .¹⁶ Menurut Kumar dkk., makrofag dan sel endotel merespon iritan/rangsangan yang merugikan dengan mengeluarkan sitokin antara lain TNF- α dan IL-1 β yang berkontribusi terhadap inflamasi.⁸

Tumor necrosis factor- α dan IL-1 β merupakan sitokin utama pada inflamasi, berperan menginduksi ekspresi molekul adhesi pada sel endotel seperti E-selectin, Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) dan Intracellular Cell Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) yang akan menyebabkan sel leukosit menempel pada dinding pembuluh darah dan bermigrasi ke jaringan untuk mengeliminasi iritan atau debris seluler.⁸ *Tumor necrosis factor- α* dapat menginduksi sel endotel dan sel dendritik untuk menghasilkan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) yang akan menyebabkan monosit keluar dari pembuluh darah menuju ke daerah inflamasi. Di jaringan, monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag.¹⁶

Hasil penelitian ini menunjukkan gambaran patologis yang ditandai dengan disorganisasi lapisan odontoblas dan berkurangnya populasi sel odontoblas. Odontoblas terletak pada tepi kamar pulpa sehingga merupakan sel yang pertama merespon terhadap jejas, termasuk preparasi kavitas dan aplikasi bahan etsa. Preparasi kavitas merupakan iritan mekanis bagi pulpa. Preparasi kavitas akan memotong prosesus odontoblas, hal ini memicu terjadinya inflamasi dan menimbulkan perubahan histologis pulpa.¹⁷ Gambaran patologis

yang dapat terjadi yaitu disorganisasi lapisan odontoblas dan berkurangnya jumlah sel odontoblas.¹⁸

Disorganisasi lapisan odontoblas yang terjadi lebih parah setelah aplikasi asam fosfat 37% dibandingkan EDTA 19%. Hal ini kemungkinan asam fosfat 37% lebih sitotoksik terhadap sel odontoblas oleh karena pH yang lebih rendah dibandingkan EDTA 19%. Menurut Yasuda dkk., toksisitas bahan etsa meningkat seiring dengan peningkatan keasaman.¹⁹ Hasil ini didukung penelitian About dkk. yang menunjukkan bahwa etsa pada dinding kavitas dengan asam fosfat menyebabkan pengurangan jumlah odontoblas yang lebih banyak dibandingkan EDTA.¹⁸

Kemungkinan lain yang menyebabkan berkurangnya jumlah odontoblas lebih banyak pada aplikasi asam fosfat 37% oleh karena peningkatan TNF- α dibandingkan EDTA 19%. Cooper dkk. menyatakan bahwa sitokin seperti TNF- α yang meningkat selama proses infeksi dan inflamasi, memiliki efek merusak pada jaringan pulpa dan dapat menginduksi kematian seluler.¹³ Penghentian inflamasi setelah penghilangan mikroba/iritan memungkinkan terjadinya perbaikan jaringan, tetapi produksi sitokin pro-inflamasi yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan jaringan ireversibel, inflamasi kronis dan/atau nekrosis jaringan.¹²

Hasil penelitian ini membuktikan terjadinya peningkatan ekspresi TNF- α dan IL-1 β setelah aplikasi asam fosfat 37% dan EDTA 19%. Hal ini mendukung hasil penelitian Fatimatuzzahro⁹ bahwa peningkatan ekspresi MMP-8 dibanding gigi normal baik pada kelompok yang diaplikasikan asam fosfat 37%, EDTA 19% maupun akuades dipengaruhi oleh peningkatan TNF- α dan IL-1 β . Seperti yang dikemukakan oleh Sorsa dkk., pada kondisi normal terdapat ekspresi MMP-8 dalam jumlah rendah dan akan meningkat pada kondisi inflamasi. Peningkatan ekspresi MMP-8 oleh sel odontoblas dan fibroblas pulpa dapat diinduksi adanya sitokin pro inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β yang dihasilkan oleh sel odontoblas dan makrofag.¹⁰

Kesimpulan

Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa asam fosfat 37% menyebabkan ekspresi TNF- α dan IL-1 β yang lebih kuat dibanding EDTA 19%. Ekspresi TNF- α paling kuat ditemukan pada hari ke-1 setelah perlakuan, sedangkan ekspresi IL-1 β paling kuat tampak pada hari ke-3 setelah perlakuan, dan semakin melemah (intensitas ringan) hingga hari ke-7 setelah perlakuan pada semua kelompok.

Daftar Pustaka

1. Fejerskov, O. dan Kidd, E., 2008, *Dental Caries, The Disease and Its Clinical Management, Second Edition*, Oxford:Blackwell Munksgaard, hal. 4.
2. Roberson, TM., Harald O.H., Edward J.S. 2006, *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry, Fifth Edition*, St. Louis: Mosby Elsevier, hal. 68-69, 283-285.
3. Walmsley, A.D., Walsh, T.F., Lumley, P.J., Burke, F.J.T., Shortall, A.C., Hayes-Hall, R., dan Pretty, I.A., 2007, *Restorative Dentistry, Second edition*, Philadelphia: Elsevier, hal 76-78.
4. Summit, J.B., Robbins, J.W., Hilton, T., dan Schwartz, R., 2006, *Fundamentals of Operative Dentistry. A contemporary Approach. Third Edition*, Illinois: Quintessence Publishing Co., Inc., hal. 188-192.
5. Sundoro, E.H., 2005, *Serba-Serbi Ilmu Konservasi Gigi*, Jakarta: Universitas Indonesia Press, hal. 115-129.
6. Walton, R. dan Torabinejad, M., 2008, *Principles and Practice of Endodontics*, Terjemahan: Narlan Sumawinata, Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsi Edisi 3, Jakarta: EGC, hal. 10-20, 30-35.
7. Metzger, Z., 2000, "Macrophages in Periapical Lession", *Endod. Dent. Traumatol.*, 16: 1-8.
8. Kumar, V., Abbas, A., dan Fausto, N., 2006, *Robbins and Cotran, Pathologic Basis of Disease*, 8th edition, Philadelphia: Saunders, hal. 48-85.
9. Fatimatuzzahro, N., 2013, Ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 pada Pulpa Gigi setelah Aplikasi Ethylene Diamine Tetraacetic Acid 19% dan Asam Fosfat 37%, Laporan Penelitian Hibah Dosen Pemula.
10. Sorsa, T., Tjaderhane, L., dan Salo, T., 2004, "Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Oral Diseases", *Oral Diseases*, 10: 311-318.
11. Stape, T.H.S., Menezes, M.S., Barreto, B.C.F., Aguiar, F.H.B., Martins, L.R., dan Quagliatto, P.S., 2012, "Influence of Matrix Metalloproteinase Synthetic Inhibitors on Dentin Microtensile Bond Strength of Resin Cements", *Op. Dent.*, 37(4): 386-396.
12. Farges, J.C., Carrouel, F., Keller, J.F., Baudouin, C., Msika, P., Bleicher, F., dan Staquet, M.J., 2011. "Cytokine Production by Human Odontoblast-like Cells Upon Toll-like Receptor-2 Engagement", *Immunobiology*, 216:513–517.
13. Cooper, P.R., Takashi, Y., Graham, L.W., Simon, S., Imazato, S., dan Smith, A.J., 2010, "Inflammation-Regeneration Interplay in the Dentin-Pulp Complex", *J. Dent.*, 38: 687-697.

14. Horst, O.V., Horst, J.A., Samudrala, R., Dale, B.A., 2011, "Caries Induced Cytokine Network in The Odontoblast Layer of Human Teeth", BMC Immunology, 12:9. <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/12/9>.
15. Bletsa A., Berggreen E and Brudvik P. 2006. "Interleukin-1alpha and Tumor Necrosis Factor-Alpha Expression During the Early Phases of Orthodontic Tooth Movement in Rats", European Journal of Oral Sciences, 114: 423-429.
16. Hargreaves, M.K. dan Goodis, H.E., 2002, *Seltzer and Bender's Dental Pulp*, Carlos Stream: Quintessence Publishing Co.,Inc., hal. 13, 42, 54, 65, 69, 95-96, 137-139.
17. Singh, A. dan Velu, A.K., "Histological Changes in Pulp After Tooth Preparation with High Speed Handpieces and ER: YAG Laser: A Light Microscopic Analysis", J. Oral Laser Applications, 10: 37-44.
18. About, I., Murray, P.E., Franquin, J.C., Remusat, M., dan Smith, A.J., 2001, "The Effect of Cavity Restoration Variables on Odontoblast Cell Numbers and Dental Repair", J. Dent., 29:109-117.
19. Yasuda, Y., Inuyama, H., Maeda, H., Akamine, A., No'r, J.E., dan Saito, T., 2008, "Cytotoxicity of One-Step Dentin-Bonding Agents toward Dental Pulp and Odontoblast-Like Cells", J. Oral Rehab., 35: 940-946.