

Fibroblast Responses on Pulp Exposure Day 1, 3, and 7 (In Vivo Study on Molar teeth Sprague Dawley)

Respon Sel Fibroblas pada Pulpa Terbuka Hari 1, 3, dan 7 (Kajian In Vivo pada Gigi Molar Sprague Dawley)

Megawati¹ Sartika Puspita²

¹Mahasiswa Prodi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Dosen Prodi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

During cavity preparation and the removal of carious dentin, it is possible to happen the exposure of dental pulp accidentally, it named pulp exposure by iatrogenic factor. Pulp exposure can make the irritation of the pulp then causing pulp necrosis. Fibroblast is predominant cell of pulp that involved in degradation process and active during pulp damage.

The aim of this study is to know fibroblast cell responses in pulp with exposure condition caused by iatrogenic factor on day 1, 3 and 7.

The study was an experimental laboratory research in vivo which used 9 Sprague Dawley male rats was divided into 3 groups base on pulp exposure duration, there was group day-1, day-3 and day-7. Maxillary right molar was given iatrogenic injury by round bur and explore. Number of fibroblast was observed after made of preparat with Hematoxylin eosin.

The results showed the average number of fibroblasts in group day 1 more, with a value of 3,67 compared with the group day 3 with the value of 2,33. Average of fibroblast most founded in group day 7 with a value of 13,67. Data from each group were analyzed using normality, homogeneity, one way annova and tukey test. Analysis result on influence of pulp exposure time to number of fibroblast cell of right molar maxillary Sprague Dawley post experiment (mechanic injury given) shows result with p value=0,011, Thus, it can be concluded that there is a significant difference between time exposure and number of fibroblast.

The conclusion of this study is fibroblast respon of molar Sprague Dawley rat which pulp exposed by iatrogenic day 1, 3, and 7 has significant differentiation statistically with p value <0,05.

Keywords: Fibroblast, Iatrogenic Exposure, Pulp.

INTISARI

Terbentuknya kavitas secara *iatrogenic* sering dijumpai pada saat operator melakukan preparasi kavitas dan pembuangan jaringan karies pada dentin sehingga dapat memungkinkan pulpa terbuka. Pulpa terbuka dapat mengakibatkan iritasi hingga nekrose pulpa. Fibroblas merupakan sel utama pulpa yang terlibat dalam proses degradasi dan aktif saat jaringan mengalami kerusakan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui respon sel fibroblas pada pulpa terbuka secara mekanis pada hari ke 1, 3, dan 7.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris murni *in vivo* menggunakan 9 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan durasi pulpa terbuka, yaitu kelompok 1 hari, 3 hari dan 7 hari. Gigi molar kanan rahang atas setiap tikus diberi jejas mekanis menggunakan bur bulat dan sonde. Jumlah sel fibroblas diamati setelah dibuatkan preparat histologis dengan pewarnaan Hematoksilin eosin.

Hasil penelitian menunjukkan jumlah rerata sel fibroblas pada kelompok hari ke-1 lebih banyak dengan nilai 3,67 dibandingkan dengan kelompok hari ke-3 dengan nilai 2,33. Jumlah rerata sel fibroblas paling banyak pada kelompok hari ke-7, dengan nilai 13,67. Data dari masing-masing kelompok dianalisa menggunakan uji normalitas, uji homogenitas, uji *one way annova*, dan uji *tukey*. Hasil penelitian mengenai lamanya pulpa terbuka terhadap jumlah sel fibroblas pada gigi molar kanan rahang atas tikus *Sprague Dawley* setelah diberikan jejas mekanis menghasilkan nilai $p=0,011$, yang artinya terdapat perbedaan bermakna respon fibroblas dengan pulpa terbuka hari ke 1, 3, dan 7.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah respon sel fibroblas pada gigi tikus *Sprague Dawley* dengan pulpa terbuka hari 1, 3, dan 7 memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik dengan nilai $p<0,05$.

Kata kunci: Fibroblas, Jejas Mekanis, Pulpa.

PENDAHULUAN

Pulpa adalah jaringan lunak pada gigi yang berasal dari jaringan mesenkim.¹ Fungsi primer pulpa adalah formatif yakni membentuk odontoblas terkait dengan perkembangan gigi geligi, setelah itu pulpa melaksanakan fungsi sekundernya yakni fungsi yang terkait dengan sensitivitas gigi, hidrasi dan pertahanan. Iritasi pulpa dapat menimbulkan ketidaknyamanan dan penyakit.²

Terbentuknya kavitas dapat memungkinkan terjadinya iritasi jaringan pulpa, sehingga mengakibatkan inflamasi. Terbentuknya kavitas secara *iatrogenic* sering dijumpai pada saat operator melakukan preparasi kavitas dan pembuangan jaringan karies dentin yang dapat memungkinkan pulpa terbuka.³

Secara garis besar, proses penyembuhan jejas terdiri 3 fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling.⁴ Fase proliferasi dibuktikan dengan angiogenesis, deposisi jaringan kolagen, pembentukan jaringan granulasi, dan migrasi sel epitel. Pembentukan jaringan granulasi melibatkan sel fibroblas. Banyak penelitian yang menyebutkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel fibroblas pada jaringan yang mengalami inflamasi setelah pemberian suatu bahan penyembuh/obat. Namun, perlu dilakukan penelitian terhadap respon alami sel fibroblas pada pulpa yang mengalami inflamasi tanpa diberikan suatu bahan penyembuh.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penting dilakukan penelitian untuk mengetahui respon sel fibroblas pada gigi dengan pulpa terbuka hari 1, 3, dan 7.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental labortoris murni untuk mengetahui respon sel fibroblas terhadap lamanya pulpa terbuka secara iatrogenic yaitu diberi jejas mekanis berupa pengeburan dan sonde pada oklusal gigi molar kanan tikus strain *Sprague Dawley*.

Sampel yang diuji adalah Sembilan ekor tikus strain *Sprague Dawley* dengan tiga ekor pada masing-masing kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan dipilih berdasarkan lamanya pulpa terbuka, yaitu: kelompok hari ke 1, hari ke 3 dan hari ke 7.

Sebagai kriteria inklusi adalah tikus putih strain *Sprague Dawley* jantan yang berusia 3-4 bulan dan memiliki berat badan 250-300 gram. Adapun tikus yang sakit, cacat, tidak bergerak aktif dan mati sebelum penelitian berakhir, dikeluarkan dari sampel penelitian.

Sebagai variabel bebas adalah pulpa terbuka secara iatrogenik dengan waktu 1 hari, 3 hari, 7 hari, sedangkan variabel tergantung berupa jumlah sel fibroblas yang berada pada area

yang sama dengan pengamatan sel PMN. Variabel terkendali meliputi usia, jenis kelamin, berat badan, pola diit, tempat penelitian, alat penelitian dan kedalaman jejas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah masker, *handscoen*, *gloves*, larutan anestesi diazepam, cotton bud, cotton ball, kassa, tissue, povidon iodine, bahan fiksasi buffer formalin 10 %, larutan desinfektan alkohol 70%, alkohol usap, bahan dekalsifikasi asam formic, hematoxylin eosin.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, timbangan, spuit injeksi, round bur no 10 diameter 1 mm², handpiece, cawan bengkok, Lup, Sonde, pinset anatomis, pinset sirugis, pisau, scapel, botol, label, spidol, dan mikroskop cahaya perbeseran 400x.

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Hewan Uji UMY, laboratorium PA UGM, dan laboratorium Histologi UMY. Waktu penelitian dari bulan September sampai Oktober 2015.

Pelaksanannya diawali dengan pemelihan tikus putih jantan yang sehat, kemudian dilakukan aklimatisasi tikus selama 3 hari sebelum perlakuan. Selama aklimatisasi tikus hanya diberi air putih dan pakan pellet.

Perlakuan diawali dengan penimbangan berat badan masing-masing tikus untuk mengetahui dosis larutan anestesi, setelah itu tikus satu persatu diberi larutan anestesi intra subkutan dengan dosis yang telah ditentukan. Setelah efek anestesi bekerja, gigi molar kanan rahang atas tikus dibur dibagian mesial sedalam ukuran bur, lalu gigi disonde sekali. Proses tersebut diawali pada kelompok tikus hari ke 7. Empat hari berikutnya perlakuan dilakukan pada kelompok tikus hari ke 3, dua hari berikutnya atau sehari sebelum dekapitasi rahang perlakuan dilakukan pada kelompok tikus hari ke 1, sehingga dekapitasi rahang pada seluruh kelompok dilakukan pada hari yang sama. Setelah itu, seluruh sampel dibuatkan preparat dengan pengecatan HE di laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran UGM. Setelah preparat selesai, dilakukan analisa sel fibroblas menggunakan mikroskop cahaya di laboratorium histologi FKIK UMY. Data didapatkan dengan cara menghitung sel fibroblas yang berada pada area yang sama dengan pengamatan sel PMN (perhitungan dengan 4 lapang pandang).

Normalitas data diuji menggunakan uji *saphiro wilk* ($N < 50$) sedangkan homogenitas data diuji menggunakan *levene test*. Setelah didapatkan pesebaran data yang normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji anava satu arah untuk mengetahui perbedaan respon sel fibroblas pada hari ke 1, 3, dan 7. Selanjutnya untuk melihat signifikansi perbedaan jumlah sel fibroblas masing-masing kelompok digunakan uji Tukey.

HASIL

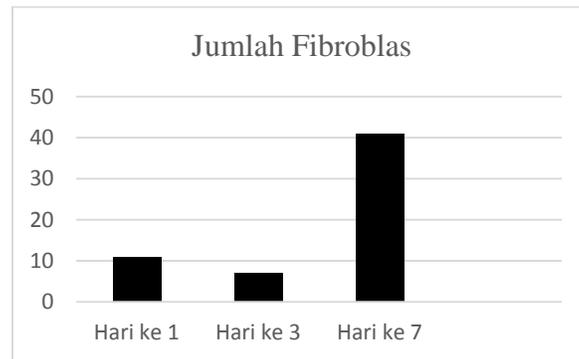
Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mencatat jumlah sel fibroblas di area sekitar ditemukannya PMN pada pulpa.

Tabel 1. Jumlah, Rerata dan Standar Deviasi (SD) Fibroblas pada Pulpa Terbuka Hari 1, 3, dan 7

Kelompok	Jumlah Fibroblas	Rerata \pm SD
1	11	3.6667 \pm 3.51188
3	7	2.3333 \pm 2.51661
7	41	13.6667 \pm 3.78594

Tabel menunjukkan rerata jumlah fibroblas seluruh kelompok setelah diberi perlakuan berupa jejas mekanis. Rerata jumlah fibroblas kelompok hari ke 1 sebesar 3.6667 \pm 3.51188 kelompok hari ke 3 sebesar 2.3333 \pm 2.51661, dan kelompok hari ke 7 sebesar 13.6667 \pm 3.78594.

Tabel diatas dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan jumlah fibroblas dari hari pertama ke tiga, dan mengalami peningkatan pada hari ke tujuh. Untuk keterangan lebih mendalam mengenai perubahan jumlah sel fibroblas masing-masing kelompok subjek setelah diberi perlakuan, dapat dilihat grafik dibawah ini:



Gambar 1. Perbandingan Jumlah Fibroblast hari ke 1,3, dan 7.

Uji statistik yang digunakan untuk mengetahui perbedaan lamanya pulpa terbuka terhadap jumlah sel fibroblas adalah *one-way* ANOVA karena menggunakan lebih dari 2 sampel kelompok yang tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji statistik *one-way* ANOVA terlebih dahulu harus melakukan uji normalitas dan uji variansi untuk memenuhi syarat dari uji statistik tersebut.

Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Apabila nilai $p > 0,05$ maka data tersebut memiliki distribusi normal.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ yang memiliki arti data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji variansi data, apabila didapatkan nilai $p > 0,05$

maka data berasal dari variansi yang sama. Hasil uji variansi data didapatkan nilai probabilitas 0,678 atau $p > 0,05$ yang berarti setiap kelompok mempunyai variansi yang sama. Dengan demikian, uji normalitas dan asumsi kesamaan variansi untuk *one-way* ANOVA terpenuhi. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah lamanya pulpa terbuka akibat jejas mekanis selama 1 hari, 3 hari dan 7 hari memiliki perbedaan yang bermakna terhadap respon sel fibroblas, seperti terlihat pada tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil analisa statistik uji one way annova perbedaan respon fibroblas pulpa terbuka pada hari 1, 3, dan 7.

Jumlah Fibroblas	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	230.222	2	115.111	10.465	*.011
Within Groups	66.000	6	11.000		
Total	296.222	8			

Keterangan: tanda (*) menunjukkan $p < 0.05$ yang berarti terdapat perbedaan signifikan

Hasil uji *one-way* ANOVA menunjukkan nilai probabilitas sebesar 0,011 atau $p < 0,05$. Hal ini membuktikan secara statistik bahwa terdapat perbedaan yang signifikan durasi lamanya pulpa terbuka terhadap jumlah respon sel fibroblas. Untuk mengetahui seberapa besar signifikansi setiap kelompok, maka perlu dilakukan uji Tukey karena pada penelitian ini menggunakan lebih dari tiga perlakuan. Uji ini digunakan untuk menentukan perbedaan dari masing-masing kelompok uji. Hasil uji Tukey dapat dilihat pada table 3 berikut ini.

Tabel 3. Uji Tukey HSD untuk menentukan signifikansi antar kelompok

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J) Lower Bound	Sig. Lower Bound
1.00	3.00	1.33333	.877
	7.00	-10.00000(*)	.024
3.00	1.00	-1.33333	.877
	7.00	-11.33333(*)	.014
7.00	1.00	10.00000(*)	.024
	3.00	11.33333(*)	.014

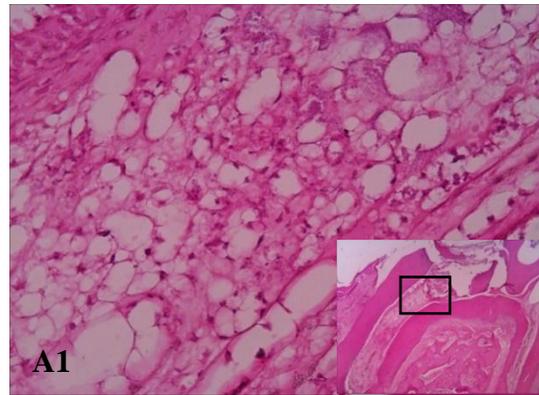
Keterangan: tanda (*) menunjukkan $p < 0.05$ yang berarti terdapat perbedaan rerata signifikan

Hasil uji statistik Tukey menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan hari ke 1 dan 3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan, karena nilai $p > 0,05$, sedangkan pada kelompok perlakuan hari ke 7 menunjukkan perbedaan yang signifikan $p < 0,05$ terhadap kelompok perlakuan hari ke 1 dan 3, begitu pula sebaliknya pada kelompok perlakuan hari ke 1 dan 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan $p < 0,05$ terhadap kelompok perlakuan hari ke 7.

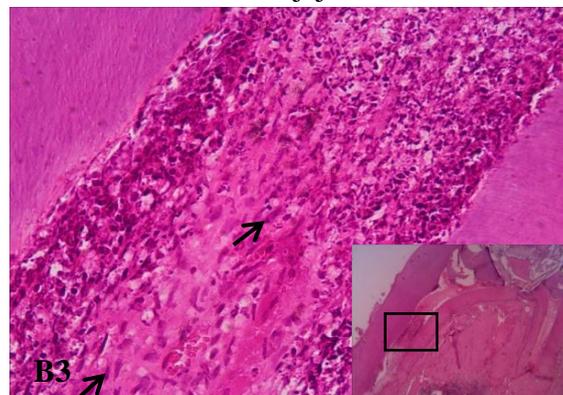
PEMBAHASAN

Perhitungan dilakukan dengan cara menghitung sel fibroblas yang berada pada area yang sama dengan pengamatan PMN (4 lapang pandang), diantaranya preparat subjek A1 di dekat jejas saluran pulpa mesial, preparat subjek B1 di dekat jejas saluran pulpa mesial, preparat subjek C1 di 2/3 saluran pulpa mesial, preparat subjek A3 di 1/3 saluran pulpa distal, preparat subjek B3 di 2/3 saluran pulpa mesial, preparat subjek C3 di 2/3 saluran pulpa mesial, preparat subjek A7 di 1/3 saluran pulpa distal, preparat subjek B7 di 1/3 saluran pulpa distal, preparat subjek C7 di 1/3 saluran pulpa mesial.

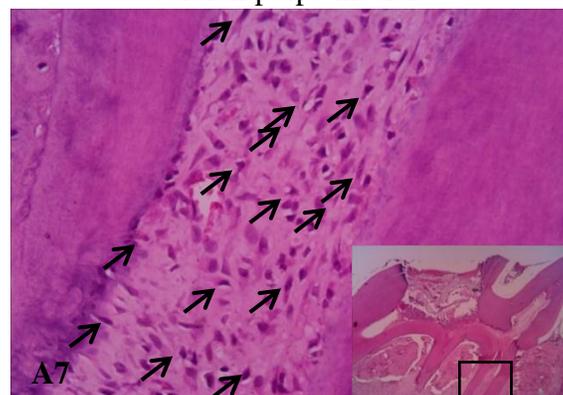
Untuk mengetahui gambaran sel fibroblas pulpa terbuka pada hari 1, 3, dan 7 dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2. Gambaran mikroskopik pulpa terbuka kelompok hari ke-1 dengan jumlah fibroblas sebanyak 7 terlihat pada area dekat jejas



Gambar 3. Gambaran mikroskopik pulpa terbuka kelompok hari ke-3 dengan jumlah fibroblas sebanyak 2 terlihat pada area 2/3 saluran pulpa mesial



Gambar 4. Gambaran mikroskopik pulpa terbuka kelompok hari ke-7 dengan jumlah fibroblas sebanyak 18 terlihat pada area 1/3 saluran pulpa distal

Analisis data penelitian ini didapatkan persebaran data yang normal, sehingga analisa menggunakan uji anava satu arah untuk mengetahui perbedaan respon sel fibroblas pada hari ke 1, 3, dan 7. Uji anava satu arah merupakan uji untuk data numerik.

Terjadi penurunan jumlah fibroblas hari ke 3 dan terjadi peningkatan jumlah fibroblas hari ke 7. Dari analisis menggunakan uji anava satu arah didapatkan hasil $p < 0,05$ pada pengujian antara kelompok hari ke 1, 3, dan 7, yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna mengenai lamanya pulpa terbuka terhadap jumlah fibroblas. Untuk menentukan kelompok mana dengan jumlah fibroblas paling signifikan dilakukan uji Tukey.

Uji Tukey dilakukan dengan membandingkan kelompok tikus hari ke 1 dengan kelompok tikus hari ke 3 dan ke 7, kemudian membandingkan kelompok tikus hari ke 3 dengan kelompok tikus hari ke 7. Dari hasil uji tersebut didapatkan nilai $p < 0,05$ pada perbandingan kelompok hari ke 7 dengan kelompok hari ke 1 dan hari ke 3. Nilai $p > 0,05$ pada perbandingan kelompok hari ke 1 dengan kelompok hari ke 3. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok hari ke 7 dengan kelompok hari ke 1 dan hari ke 3, sedangkan antara kelompok hari ke 1 dengan kelompok hari ke 3 tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistic.

Jumlah sel fibroblas hari ke 1 dan ke 3 tidak sebanyak jika dibandingkan dengan jumlah sel fibroblas hari ke 7. Hal ini dikarenakan pada hari ke-1 mulai terjadi inflamasi (gambar 2) dan hari ke-3 fase inflamasi berlanjut yang dibuktikan terdapat banyak sel polimorfonuklear (gambar 3). Menurut Primatika (2006)⁵, fase proliferasi fibroblas dimulai dari hari ke 3 apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, namun dalam penelitian ini fase inflamasi berlangsung lama dikarenakan jaringan pulpa dibiarkan terbuka tanpa diberikan suatu bahan penutup.

Jaringan pulpa yang mengalami inflamasi tidak diberikan suatu bahan aktif yang dapat membantu proses penyembuhan luka dimana penggunaan bahan yang memiliki efek antiinflamasi, antibakteri, dan kemampuan regenerasi sel sekaligus dalam satu formulasi akan sangat efektif dalam mempercepat proses penyembuhan atau proses proliferasi.⁶

Jumlah fibroblas paling banyak ditemukan pada hari ke-7, hal ini dikarenakan dimungkinkan terjadinya peralihan dari inflamasi akut menjadi inflamasi kronis pada pulpa yang melibatkan sel fibroblas. Menurut Farida (2003) menyebutkan bahwa, radang kronis secara histologis ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi yang terdiri dari infiltrasi sel radang kronis, proliferasi pembuluh darah kapiler, dan proliferasi fibroblas.⁷

Jejas mekanis merupakan salah satu iritan yang dapat menyebabkan kerusakan pada pulpa. Jejas ringan hingga sedang pada gigi dapat merangsang odontoblas untuk memproduksi sklerosis tubular dan dentin reparatif, namun jejas yang menetap lama dan berat menyebabkan odontoblas mati sehingga respon inflamasi terinisiasi. Dinamika inflamasi pulpa tidak berbeda dengan inflamasi jaringan lainnya. Berdasarkan pada tingkat keparahan dan durasi suatu jejas, respon inflamasi pulpa dimulai dari pulpitis reversibel menjadi pulpitis ireversibel, selanjutnya nekrosis parsial menjadi nekrosis total.⁸

Inflamasi pulpa atau pulpitis merupakan reaksi pertahanan tubuh yang aktif dan kompleks meliputi respon vaskular, migrasi, dan pergerakan sel leukosit, dan reaksi sistemik karena adanya mikroba atau kerusakan jaringan. Respon inflamasi ini berhubungan dengan proses penyembuhan luka.⁹ Radang akut berlangsung (<48 jam) melibatkan sel leukosit yaitu neutrofil. Gambaran sel leukosit dapat dilihat pada gambar 3 yang menjelaskan bahwa masih terjadi radang akut.

Fase proliferasi dimulai pada hari ketiga pasca luka dan dapat berlangsung selama tiga minggu. Fase ini menunjukkan formasi dari jaringan granulasi yang mengandung sel keradangan, fibroblas, dan bakal pembuluh darah yang tertutup di dalam matriks yang longgar.¹⁰ Penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3 saat terjadi luka pada hari ke-3, yaitu terdapat fibroblas pada 2/3 saluran pulpa mesial.

Radang kronis berlangsung (>48 jam) dihubungkan dengan derajat kerusakan jaringan, pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 4 yaitu ditemukan fibroblas paling banyak pada area 1/3 apikal saluran pulpa distal yang menandakan bahwa telah terjadinya nekrosis parsial pada area 2/3 koronal saluran pulpa distal. Terjadinya radang kronis menunjukkan usaha tubuh melokalisasi agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi.⁹

Sel fibroblas merupakan sel utama pulpa dan pada saat jaringan mengalami perlukaan, sel fibroblas yang segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar yang membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Kumar *et al.*, 2005). Tipe kolagen yang disintesis oleh fibroblas di dalam pulpa adalah kolagen tipe I dan III (*reticular fibers*), diantara kedua tipe tersebut terdapat tipe V.¹¹

Menurut Seltzer & Bender (2002) menyebutkan bahwa aktivitas mitosis fibroblas relatif rendah pada jaringan ikat dewasa tetapi sangat aktif pada saat jaringan mengalami kerusakan.¹² Keterlibatan fibroblas dalam sistem imun tubuh salah satunya adalah memproduksi cytokines,

chemokines, rekrutmen sel ke area inflamasi sebagai proses perubahan inflamasi. Selain itu, fibroblas juga terlibat dalam proses degradasi pulpa dan mampu mensekresi komponen *Extra Cellular Matrix* (ECM). Fibroblas pulpa mampu memproduksi *growth factor* dan sitokin yang berperan sebagai pengontrol pertumbuhan dan respon terhadap jejas.¹³

Menurut Tanya De L. Karlson (2007) asumsi mengenai fibroblas kini tidak hanya berperan dalam pembentukan ekstraseluler matriks, fibroblas juga berperan dalam proses imun secara langsung dengan memberikan signal terhadap proinflamasi ke area jejas dan mengatur peran leukosit pada saat infiltrasi ke area jejas.¹⁴

Proses inflamasi pada hari ke-7 (gambar 4) menjelaskan bahwa terjadinya peningkatan sel fibroblas dikarenakan pada saat radang kronis monosit memasuki jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag akan memfagosit jaringan yang rusak termasuk PMN yang telah mati dan akan menghasilkan *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF- β) yang membantu proliferasi fibroblas yang kemudian mencerna agen termasuk bakteri di dalam vakuolanya.⁹

KESIMPULAN

1. Terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas pada pulpa terbuka hari ke 1, 3, dan 7.
2. Respon sel fibroblas pada gigi molar *Sprague Dawley* dengan pulpa terbuka hari 1, 3, dan 7 memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik dengan nilai $p < 0,05$

SARAN

1. Dapat dilakukan sebagai dasar penelitian lanjutan dengan melakukan pengujian terhadap bahan aktif yang dapat mempercepat proses penyembuhan pulpa
2. Perlu dilakukan penelitian dengan teknik pengecatan histologis yang lebih spesifik.
3. Laboratorium hewan uji di FKIK UMY perlu dilakukan perawatan secara rutin agar kebersihan laboratorium lebih terjaga dan layak untuk melakukan penelitian *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Garg, N., dan Garg, A. 2008. *Textbook of Endodontics*. Selangor Darul Ehsa, UNIPRESS. Malaysia. 16-18.
2. Walton, R. E., dan Torabinejad, M. 2001. *Endodontics: Principles and Practice*. Third Edition. Elsevier Health Sciences, UK. Terjemahan Narlan Sumawita. 2008. Prinsip dan

- Praktik Ilmu Endodonsi alih Bahasa Narlan Sumawita. Edisi Ketiga. EGC. Jakarta. 14-16, 32-36.
3. Lu, Y., T. Liu, H. Li, dan G. Pi. 2008. Histological evaluation of direct pulp capping with a self-etching adhesive and calcium hydroxide on human pulp tissue. *International Endodontic Journal*, 41(8), 643–650.
 4. Jong W, S.R. 2005. Buku Ajar Ilmu Bedah. EGC. Jakarta. 67-68
 5. Primatika, A. D. 2006. Pengaruh Infiltrasi Anestetik Lokal Levobupivikain Terhadap Skor Histologi MHC Kelas I Pada Penyembuhan Luka. *Tesis*. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Anestesiologi UNDIP. Semarang. 32-38
 6. Pradita, A. U., A.P. Dhartono, C.A. Ramadhany, dan A. Taqvim. 2013. Periodontal Dressing-Containing Green Tea Epigallocatechin gallate Increases Fibroblasts Number in Gingival Artificial Wound Model. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(3), 68-72.
 7. Farida, R. 2003. *Reaksi Radang*. JKGUI. Jakarta. 72-468
 8. Yu, C. dan Abbott, P. V. 2007. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Australian dental journal*, 52(1 Suppl), S4–S16.
 9. Kumar, Vinay; Abbas, Abul; Fausto, N. 2005. *Robbins and Coutran Pathological Basis of Disease*. Elsevier. Philadelphia. 927-933
 10. Strauss, R.A. dan Fallon, S.D. 2004. Contemporary oral and maxillofacial surgery. *Dental Clinics of North America*, 48(4), 35–38, 40, 42–46
 11. Nanci, A. 2008. *Oral Histology Development Structure and Function*. Mosby Elsevier. St. Louis. 2-290
 12. Seltzer, S., dan Bender, I. 2002. *Seltzer and Bender's Dental Pulp*. Quintessence Publishing CO, Inc. China. 96-97, 101, 109.
 13. Kunarti, S. 2008. Pulp Tissue Inflammation and Angiogenesis After Pulp Capping with Transforming Growth Factor Beta1. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 88-90.
 14. Karlson, T.D. 2007. Regulation of mucosal inflammation by fibroblasts. *Thesis*. Department of Microbiology and Immunology Göteborgs Universitet. Sweden. 6-63.