

***Leukocyte Polymorfonuclear Response with Pulp Exposure on Day 1, 3 and 7
(Invivo Study on Molar Teeth Sprague Dawley)***

Respon Leukosit Polimorfonuklear Pada Gigi Dengan Pulpa Terbuka Hari 1, 3 dan 7 (Studi *Invivo* pada Gigi Molar *Sprague Dawley*)

Novi Safitri¹ Sartika Puspita²

¹Mahasiswa Prodi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Dosen Prodi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

Cavity is a caries lesion or hole on the teeth. Cavities that are formed by means of iatrogenic are commonly found when operator accidentally caused a perforation on a pulp roof during preparation. As a result, the pulp will experience irritation which in turns causes pulp inflammation. Pulp inflammation response is marked by the infiltration of polymorphonuclear (PMN) leukocyte cells in the affected area. PMN cells will increase as the wound worsens through a process in which PMN migrates to the tissues which are undergoing an inflammation and starts to phagocytes bacterias and dead tissue cells.

The aim of this study is to find out the differences of PMN leukocytes response in pulp exposure as iatrogenic on day 1, 3 and 7.

The method of this study is pure laboratory experimental which was done on animals by in vivo. The subjects are 9 adult sprague dawley teeth aged 3-4 months, weighing 250-300 gram. The data obtained are the results of histologic observation with ordinal scale which is by seeing the PMN score on 400x magnification. The PMN score were taken once during the study which is during the post intervention. The data were then analysed by using Kruskal Wallis. The results showed score of PMN in group day 1 is 2 which have meaning cell inflammation of PMN near with injury, on day 3 is 3 which have meaning moderate inflammation at 2/3 of pulp tissue and on day 7 is 4 which have meaning severe inflammation at entire the pulp tissue or abscesses. The analysis of the results of the study give a p value of 0.047, meaning there is a significant difference of PMN leukocyte response in pulp with exposure on day 1, 3 and 7.

It can be concluded that there is an increase of PMN leukocyte response score with pulp exposure on day 1, 3 and 7.

Keywords: mechanical injury, pulp inflammation, PMN cell

INTISARI

Kavitas adalah lesi karies atau lubang pada gigi. Terbentuknya kavitas secara *iatrogenic* sering dijumpai pada saat operator melakukan preparasi dan tidak sengaja memberikan jejas yang mengakibatkan perforasi atap pulpa. Akibatnya, pulpa akan mengalami iritasi dan mengakibatkan inflamasi pulpa. Respon inflamasi pulpa ditandai adanya infiltrasi sel leukosit polimorfonuklear di daerah jejas. Sel PMN akan terus meningkat apabila luka bertambah parah melalui proses bermigrasinya sel PMN ke jaringan yang mengalami radang dan memulai fagositosis bakteri dan sel jaringan yang mati.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan respon leukosit polimorfonuklear pada pulpa terbuka secara iatrogenik hari ke 1, 3, dan 7.

Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratoris murni yang dilakukan pada hewan uji secara *in vivo*. Bahan uji sebanyak 9 gigi tikus jantan galur *Sprague Dawley* sehat yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 250-300 gram. Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan secara histologis dengan skala ordinal yaitu melihat skor sel PMN pada perbesaran 400x. Data skor PMN diambil satu kali selama penelitian yaitu saat post perlakuan. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis*.

Hasil penelitian ini adalah skor PMN hari ke-1 sebesar 2 yaitu respon inflamasi ringan sel PMN dekat jejas, hari ke-3 sebesar 3 yaitu respon inflamasi sedang sel PMN timbul di dua pertiga jaringan pulpa dan hari ke-7 sebesar 4 yaitu respon inflamasi berat pada semua jaringan pulpa atau adanya abses. Analisis hasil penelitian mengenai lamanya pulpa terbuka terhadap skor PMN pada gigi molar kanan rahang atas tikus *Sprague Dawley* setelah diberikan jejas mekanis menghasilkan nilai $p=0,047$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna pada respon inflamasi sel leukosit polimorfonuklear pada gigi dengan pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7.

Kesimpulan penelitian ini terdapat peningkatan skor respon leukosit polimorfonuklear pada gigi dengan pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7.

Kata kunci: Jejas mekanis, Inflamasi pulpa, Sel PMN

PENDAHULUAN

Kesehatan secara umum tidak terlepas dari kesehatan gigi dan mulut karena rongga mulut merupakan pintu gerbang utama masuknya nutrisi. Gigi dan mulut harus mendapat perhatian yang optimal.⁴ Kavitas adalah lesi karies atau lubang pada gigi.⁵ Kavitas pada gigi dapat disebabkan oleh karies, trauma, abrasi, erosi, atrisi dan preparasi kavitas. Terbentuknya kavitas secara *iatrogenic* sering dijumpai pada saat operator melakukan preparasi dan tidak sengaja memberikan jejas yang mengakibatkan perforasi atap pulpa.¹⁹

Pulpa gigi adalah jaringan lunak yang terletak di tengah-tengah gigi. Jaringan ini adalah jaringan pembentuk, penyongkong dan merupakan integral dari dentin yang mengelilinginya. Cedera pada pulpa bisa menimbulkan ketidaknyamanan dan penyakit.¹⁹

Inflamasi adalah mekanisme alami yang dibutuhkan untuk memperbaiki adanya kelainan struktur dan fungsi jaringan sebagai pertahanan adanya tanda bahaya seperti kerusakan jaringan, invasi mikroorganisme.¹²

Proses peradangan pulpa yang terbuka termasuk proses inflamasi. Proses inflamasi adalah respon terhadap suatu cedera dan mekanisme pertahanan pulpa yang dibutuhkan untuk memperbaiki struktur dan fungsi jaringan pulpa. Respon inflamasi pulpa ditandai dengan adanya infiltrasi sel leukosit polimorfonuklear di area yang terpapar.¹⁵

Inflamasi pulpa gigi dan jaringan periradikular dapat akut atau kronis. Inflamasi akut adalah respon awal dan segera terhadap penyebab cedera yang berlangsung singkat, berakhir dalam beberapa jam atau hari dengan gambaran utama adanya eksudasi cairan dan protein plasma (udem) dan migrasi leukosit PMN terutama neutrofil.¹⁸ Proses ini memiliki tiga komponen utama yaitu perubahan vaskular yang mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi), perubahan struktural yang memungkinkan protein plasma untuk meningkatkan sirkulasi (peningkatan permeabilitas vaskular) dan migrasi leukosit dari mikrosirkulasi dan akumulasinya di daerah yang mengalami cedera.¹¹

Inflamasi kronis adalah radang yang berlangsung lama disertai gambaran histologis berupa limfosit, makrofag, penambahan pembuluh darah, fibrosis dan jaringan nekrosis.¹⁸ Inflamasi kronis dapat berhenti sendiri namun bisa berkepanjangan. Inflamasi kronis terjadi jika proses inflamasi akut gagal dan antigen menetap, persisten dan memicu berbagai penyakit.¹⁰ Bila keadaan menjadi terkontrol, neutrofil tidak dikerahkan lagi dan berdegenerasi. Kemudian dikerahkan sel mononuklear. Pada stadium ini dikerahkan monosit, makrofag, limfosit dan sel plasma yang memberikan gambaran patologik dari inflamasi kronik.²

Sel PMN merupakan sel utama yang dikerahkan pada saat terjadinya peradangan yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel PMN sebagai respon terhadap kemotaksis yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Sel PMN akan terus meningkat apabila radang bertambah parah melalui proses yaitu bermigrasinya sel PMN ke jaringan yang mengalami radang dan memulai fagositosis. Benda yang di fagosit adalah bakteri dan sel jaringan yang mati.⁷ Sel PMN mempunyai inti bersegmen dalam bentuk bermacam-macam, seperti kacang, tapal kuda, dan lain-lain. Sel ini memiliki diameter 10-12 μm . Segmen/lobus dari inti berkisar 2-4 buah. Inti

terisi penuh oleh butir-butir khromatin padat sehingga sangat mengikat zat warna basa menjadi biru atau ungu.¹⁹

Penelitian mengenai respon leukosit polimorfonuklear pada gigi dengan pulpa terbuka secara iatrogenik belum pernah dilakukan. Hal tersebut mendasari peneliti untuk melakukan penelitian dengan judul respon leukosit polimorfonuklear pada gigi dengan pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris murni yang dilakukan secara *invivo* pada hewan uji. Penelitian hewan uji dilakukan di Laboratorium Hewan Uji dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Sembilan tikus jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat badan 250-300 gram dan berumur 3-4 bulan digunakan dalam penelitian ini. Semua tikus diberi pakan BR-2 dan air minum *ad libitum*. Jumlah sampel masing-masing hari adalah 3 gigi (n=3) dan total sampel sebanyak 9 gigi. Setiap 1 ekor tikus diambil 1 gigi yaitu gigi molar rahang atas kanan, sehingga penelitian ini menggunakan 3 ekor tikus pada masing-masing hari.

Alat yang akan dipergunakan terlebih dahulu didisinfeksi dengan menggunakan alkohol 95%. Semua tikus dianestesi secara intramuskuler dengan *ketamin* (65 mg/kg BB) dan *Xylazine-HCL* (7 mg/kg BB). Permukaan oklusal gigi yang akan dibur didisinfeksi dan dibersihkan dengan *cotton pellet* yang sebelumnya dicelup ke dalam larutan alkohol 70%. Setelah efek anestesi bekerja, gigi molar pertama kanan rahang atas bagian mesial diberikan jejas mekanis dengan kedalaman 1-1,2 mm dari arah oklusal dengan menggunakan *round bur* no. 10 dengan diameter 1 mm² dengan kecepatan rendah hingga perforasi pulpa dan aplikasi sonde.

Masing-masing 3 gigi tikus dikorbankan dalam waktu 1, 3 dan 7 hari setelah perlakuan. Setelah itu dilakukan dekapitasi rahang kanan atas tikus dan 9 gigi di fiksasi dalam larutan formalin 10 % selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan proses dekalsifikasi menggunakan larutan asam formic selama 1 minggu. Spesimen gigi ditanam ke dalam parafin kemudian dipotong menggunakan mikrotom secara longitudinal dengan ketebalan 4 µm.

Untuk melihat ada atau tidaknya sel inflamasi pada pulpa gigi, maka dilakukan pewarnaan *hematoxylin eosin*. Adapun prosedurnya adalah sebagai berikut: deparafinisasi dengan menggunakan larutan *xylol* dan alkohol, yang dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan alkohol lalu dicuci dengan air mengalir, dibilas dengan aquades dan dilap. Kemudian, kaca benda dimasukkan kedalam hematoksilin Meyer's dan dicuci dengan air mengalir serta dibilas dengan aquades, selanjutnya proses pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan kaca benda ke dalam eosin dan dibilas dengan aquades, kemudian pewarnaan dinilai dibawah mikroskop cahaya. Bila pewarnaan telah dianggap baik, maka langkah selanjutnya yaitu proses dehidrasi dengan alkohol secara bertingkat kemudian dilap. Setelah itu, dimasukkan ke dalam larutan *xylol* dan terakhir *object glass* ditutup dengan *deck glass* dan dilakukan pengamatan sel polimorfonuklear dengan mikroskop cahaya (Olympus, Japan) perbesaran 400x.¹⁶

Respons inflamasi dievaluasi berdasarkan ada atau tidaknya leukosit polimorfonuklear (PMN). Penilaiannya dibagi atas 4 skor yaitu skor 1 = tidak ada atau ada beberapa sel inflamasi tersebar yang berdekatan dengan luka pulpa; skor 2 = reaksi inflamasi ringan yang ditandai oleh adanya polimorfonuklear (PMN) atau leukosit mononuklear dekat jejas; skor 3 = reaksi inflamasi sedang ditandai dengan polimorfonuklear (PMN) atau leukosit mononuklear yang timbul pada dua pertiga jaringan pulpa radikuler yang tersisa; skor 4 = terdapat infiltrasi sel peradangan yang berat pada semua pulpa radikuler atau adanya abses.⁸

Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan secara histologis dengan skala ordinal yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan statistik non-parametrik. Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan respon inflamasi pada setiap periode waktu dilakukan analisis dengan uji *Kruskal Wallis* (SPSS 15.0 software).

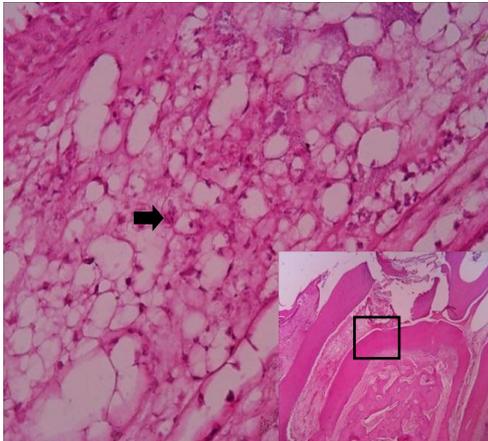
HASIL

Hasil pengamatan mengenai respon leukosit polimorfonuklear pada gigi dengan pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7 dapat dilihat pada tabel 1. Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan secara histologis dengan skala ordinal.

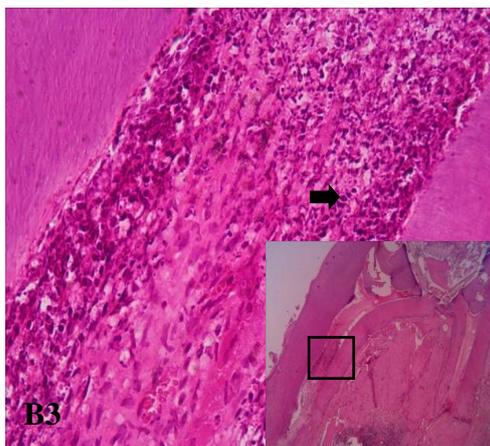
Tabel 1. Hasil Pengamatan Sel Leukosit Polimorfonuklear Pada Pulpa Terbuka Yang Terdapat Jejas Mekanis Pada Hari 1, 3 dan 7.

Preparat Subyek	Skor PMN	Keterangan
A1	2	Reaksi inflamasi ringan yang ditandai oleh adanya leukosit polimorfonuklear (PMN) dekat jejas
B1	2	Reaksi inflamasi ringan yang ditandai oleh adanya leukosit polimorfonuklear (PMN) dekat jejas
C1	3	Reaksi inflamasi sedang ditandai dengan polimorfonuklear (PMN) atau leukosit mononuklear yang timbul pada dua pertiga jaringan pulpa radikuler
A3	4	Terdapat infiltrasi sel peradangan yang berat pada semua pulpa radikuler atau adanya abses
B3	3	Reaksi inflamasi sedang ditandai dengan polimorfonuklear (PMN) atau leukosit mononuklear yang timbul pada dua pertiga jaringan pulpa radikuler
C3	3	Reaksi inflamasi sedang ditandai dengan polimorfonuklear (PMN) atau leukosit mononuklear yang timbul pada dua pertiga jaringan pulpa radikuler
A7	4	Terdapat infiltrasi sel peradangan yang berat pada semua pulpa radikuler atau adanya abses
B7	4	Terdapat infiltrasi sel peradangan yang berat pada semua pulpa radikuler atau adanya abses
C7	4	Terdapat infiltrasi sel peradangan yang berat pada semua pulpa radikuler atau adanya abses

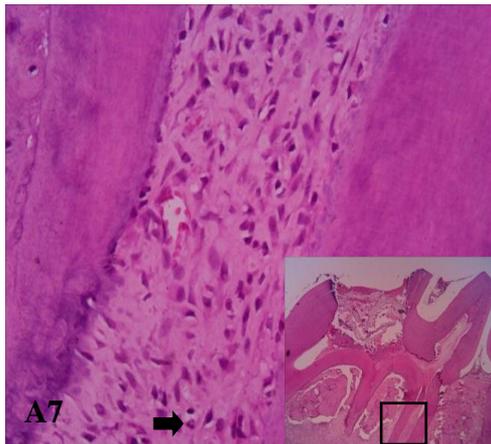
Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan skor PMN pada hari ke 1, 3 dan 7. Untuk mengetahui gambaran sel PMN pada pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7 dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Foto mikroskopik pulpa terbuka kelompok hari ke 1 dengan skor 2 ditandai adanya respon inflamasi ringan sel leukosit polimorfonuklear (PMN) dekat jejas (tanda panah) dengan pewarnaan HE.



Gambar 2. Foto mikroskopik pulpa terbuka kelompok hari ke 3 dengan skor 3 ditandai adanya respon inflamasi sedang sel leukosit polimorfonuklear (PMN) yang timbul pada dua pertiga jaringan pulpa radikuler (tanda panah) dengan pewarnaan HE.



Gambar 3. Foto mikroskopik pulpa terbuka kelompok hari ke 7 dengan skor 4 ditandai adanya respon inflamasi yang berat pada semua jaringan pulpa radikuler atau adanya abses (tanda panah) dengan pewarnaan HE.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan respon sel inflamasi leukosit polimorfonuklear pada hari 1, 3 dan 7, dilakukan analisa statistik uji *Kruskal Wallis* (SPSS 15.0 software) dan hasilnya dapat dibaca pada tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Hasil analisa statistik Uji *Kruskal Wallis* perbedaan respon inflamasi pulpa terbuka pada hari 1, 3 dan 7.

	skor PMN
Chi-Square	6.212
Df	2
Asympt. Sig.	.047*

Keterangan: * Terdapat perbedaan bermakna respon sel PMN dengan sig 0.47 ($p < 0,05$)

Hasil analisis *Kruskal Wallis* pada tabel 3 diketahui bahwa terdapat signifikansi sebesar 0,047 ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna pada respon inflamasi sel leukosit polimorfonuklear pada gigi dengan pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7.

PEMBAHASAN

Penelitian mengenai respon leukosit polimorfonuklear pada pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7 masih mengalami peradangan akut ditandai dengan meningkatnya skor sel PMN sebagai respon terhadap kemo-taksis yang dihasilkan oleh mikroorganismenya. Hal ini dikarenakan pada 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.¹⁴

Sel PMN hari ke 1 memiliki skor 2 yaitu reaksi inflamasi ringan yang ditandai oleh adanya leukosit polimorfonuklear (PMN) dekat jejas. Hal ini merupakan peradangan akut sebagai respons dini terhadap jejas. Selanjutnya dalam beberapa jam sel-sel leukosit yang berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh menempel ke sel endotel dan bermigrasi ke tempat cedera sebagai respon kemotaksis yang dihasilkan mikroorganisme.¹³ Sesaat setelah cedera terjadi pelepasan beberapa substansi histamin, serotonin, derivat asam arakidonat yang mengakibatkan peningkatan aliran darah (vasodilatasi), peningkatan permeabilitas vaskular dan migrasi leukosit dari mikrosirkulasi dan akumulasinya di daerah yang mengalami cedera.¹

Sel PMN hari ke 3 memiliki skor 3 yaitu reaksi inflamasi sedang ditandai dengan leukosit polimorfonuklear (PMN) yang timbul pada dua pertiga jaringan pulpa radikuler. Pada hari ke 3 terjadi proses inflamasi sedang menuju berat dimana sel PMN terus meningkat karena netrofil merupakan sel pertama yang terakumulasi di daerah radang pada jam-jam pertama sampai 3 hari selama proses inflamasi.⁶

Pada hari ke 7 sel PMN memiliki skor 4 yaitu terdapat peradangan yang berat pada semua pulpa radikuler atau adanya abses. Keadaan ini terjadi jika respon inflamasi leukosit polimorfonuklear tidak mampu mengatasi jejas. Pada abses, eksudat yang terbentuk bersifat purulen oleh karena adanya infeksi bakteri yang membentuk pus. Pus tersusun dari air dan zat-zat terlarut, adanya PMN yang mati dan jaringan nekrotik.³

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa respon leukosit polimorfonuklear pada gigi molar Sprague Dawley dengan pulpa terbuka hari 1, 3 dan 7 menunjukkan peningkatan yang bermakna secara statistik dengan nilai $p < 0,05$. Dapat dilakukan sebagai dasar penelitian lanjutan dengan melakukan pengujian terhadap bahan aktif yang dapat mempercepat proses penyembuhan pulpa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Balqis, U., Rasmaidar, & Marwiyah. 2014. Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (*Spondias dulcis* F.) dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, 8 (1): 31-36
2. Baratawidjaja, K. 2004. *Imunologi Dasar edisi ke 6*. Jakarta: Balai pustaka. 153-158, 162-165.
3. Celloti, F and Laufer, S., 2001, *Inflammation, Healing and Repair Synopsis*, J. Phar. Res, 43 (5): 215-220
4. Chrismawaty E. Peran struktur mukosa rongga mulut dalam mekanisme blockade fisik terhadap iritan. *MIKGI*; 2006:V:244.
5. Dolan, J. 2008. *Mosby's Dental Dictionary Second Edition*. America: Lindan Duncan. 106.
6. Farida, R. 2003. *Reaksi Radang*, JKGUI, 10 (Edisi Khusus). 468-472
7. Fauziah, I. 2012. *Efektivitas Krim Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait) Terhadap Penyembuhan Gingivitis Melalui Pengamatan Sel PMN*. Karya Tulis Ilmiah. Yogyakarta: PSPDG UMY.
8. Giro, E. M., & Gondim, J. O. 2010. Response of Human Dental Pulp to Calcium Hydroxide Paste Preceded by a Corticosteroid/ Antibiotic Dressing Agent. *Braz J Oral Sci*, 9 (3): 337-344.

9. Hapsariani, K. 2014. *Efektifitas Salep Ekstrak Etanol Daun Kamboja (Plumeria accuminata Ait) Terhadap Penyembuhan Luka Gingiva*. Karya Tulis Ilmiah. Yogyakarta: PSPDG UMY
10. Hernawati, S. 2012. Mekanisme Signaling Transductin Inflamasi Kronis Dengan Kanker. *Dental Journal*, 2 (1): 1-9.
11. Kumar, Cotran, & Robbins. 2007. *Buku Ajar Patologi edisi 7*. Jakarta: EGC. 35-42.
12. Kunarti, S. 2008. Pulp Tissue Inflammation and angiogenesis after Pulp Capping with Transforming Growth Factor. *Dental Journal*, 41 (2): 88-90.
13. Nizar, M. (2012). *Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Limfosit Gingiva Tikus Wistar Jantan*. Skripsi: Universitas Jember
14. Pradita, A. U., A.P. Dhartono, C.A. Ramadhany, dan A. Taqwim. 2013. Periodontal Dressing-Containing Green Tea Epigallocatechin gallate Increases Fibroblasts Number in Gingival Artificial Wound Model. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(3): 68-72.
15. Puspita, S., Utoro, T., & Haniastuti, T. 2011. Inflammation Response of Mechanically Exposed Pulp After Direct Pulp Capping with Calcium Hydroxide Cement and Platelet Rich plasma. *Dentika Dental Journal*, 16 (2):171-174.
16. Sabir, A. 2005. Respons Inflamasi pada Pulpa Gigi Tikus Setelah Aplikasi Ekstrak Etanol Propolis (EEP). *Dental Journal*, 38 (2): 77-83.
17. Sabirin, I. P. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus galur Wistar. *MKB*, 45 (4): 226-233.
18. Sjamsuhidajat, R. 2010. *Buku Ajar Buku Ilmu Bedah Edisi 3*. Jakarta: EGC. 29-35, 95-97.
19. Walton, R. E., & Torabinejad, M. 2008. *Prinsip & Praktik Ilmu Endodonsia Edisi 3*. Jakarta: EGC. 10-11, 31-36, 41.