

## Peran Decellularized Dental Pulp Sebagai Kandidat Biomaterial Baru Dalam Regenerasi Pulpa : Tinjauan Literatur

(The Role of Decellularized Dental Pulp as a New Biomaterial Candidate in Pulp Regenerations : Literature Review)

Ariyati Retno Pratiwi<sup>1</sup>, Dinia Fitri Salsabila<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya, Indonesia

<sup>2</sup> Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya, Indonesia

### Abstrak

Nekrosis pulpa menjadi salah satu penyakit utama yang paling sering ditemukan pada gigi dan mulut. Perawatan saluran akar merupakan solusi utama untuk nekrosis pulpa, namun pelaksanaannya dapat menyebabkan kematian gigi dan infeksi berulang. Meregenerasi pulpa dengan mentransplantasikan *scaffold*, *stem cell*, dan *growth factor* pada saluran akar menjadi salah satu alternatif yang dapat ditawarkan untuk mengobati penyakit pulpa dengan mempertahankan gigi tetap vital. *Scaffold* memainkan peranan penting dalam regenerasi pulpa salah satunya *scaffold* ECM (*Extracellular Matrix*) berasal dari pulpa yang menggabungkan struktur kolagen mikro bersama dengan molekul bioaktif yang penting untuk regenerasi pulpa gigi dan mampu mendorong diferensiasi serta proliferasi dari *stem cell*. Literature review ini ditujukan untuk mengetahui peran *Decellularized Dental Pulp* sebagai kandidat biomaterial baru dalam regenerasi pulpa. Metode yang digunakan dalam review ini adalah *Systematic literature review* dengan menggunakan metode PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses*). *Decellularized Dental Pulp* memiliki peran dalam regenerasi pulpa.

**Kata Kunci:** *Decellularized dental pulp, Pulp Regeneration, Regenerative Endodontic, Scaffold*

### Abstract

*Pulp necrosis is one of the main diseases that are most often found in the teeth and mouth. Root canal treatment is the main solution for pulp necrosis, but its implementation can lead to tooth death and recurrent infections. Regenerating the pulp by transplanting scaffolds, stem cells, and growth factors into the root canal is an alternative that can be offered to treat pulpal disease by keeping the teeth vital. Scaffold plays an important role in pulp regeneration, one of which is the ECM scaffold derived from pulp which combines the micro-collagen structure along with bioactive molecules that are important for pulp regeneration and able to promote the differentiation and proliferation of stem cells. This literature review aimed to identify the role of decellularized dental pulp as a new biomaterial candidate in pulp regenerations. The method being used in this review is systematic literature review using the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) method. Decellularized Dental Pulp as a New Biomaterial Candidate has a role in pulp regeneration.*

**Keywords:** *Decellularized dental pulp, Pulp Regeneration, Regenerative Endodontic, Scaffold*

**Korespondensi (Correspondence):** Ariyati Retno Pratiwi, Universitas Brawijaya, Jl.Veteran, Malang, Indonesia,+62 856-4838-2882. Email: [ariyatiretno@ub.ac.id](mailto:ariyatiretno@ub.ac.id)

Penyakit pulpa dan periapikal merupakan penyakit utama dan juga paling sering ditemukan pada gigi dan mulut.<sup>1</sup> Risesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa 57,6% penduduk Indonesia mengalami masalah gigi dan mulut dan di antaranya yaitu nekrosis pulpa.<sup>2</sup> Nekrosis pulpa atau matinya jaringan pada pulpa gigi dapat disebabkan oleh trauma dan karies gigi.<sup>3</sup> Perawatan saluran akar paling sering digunakan untuk untuk merawat pulpitis atau nekrosis pulpa, namun perawatan ini menyebabkan kematian gigi dan mungkin dapat terjadi infeksi ulang.<sup>4</sup>

Dunia kesehatan mengalami kemajuan dengan adanya perkembangan *Regenerative Medicine*. Regenerasi pulpa menjadi cara baru untuk mengobati penyakit pulpa gigi dengan mempertahankan gigi tetap vital, mengembalikan homeostasis dan pertahanan alami dari gigi sehingga gigi dapat bertahan. Dengan transplantasi *stem cell*, *growth factor* dan *scaffold* ke dalam pulpa, sel punca dapat berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi berbagai sel di pulpa untuk mencapai regenerasi pulpa fungsional.<sup>5</sup>

*Scaffold* memiliki peranan penting dalam *tissue engineering* yang berperan sebagai tempat, lingkungan untuk tumbuh, berkembang, dan berdiferensiasinya sel sesuai dengan target jaringan yang akan direkonstruksi.<sup>6</sup> Berbagai

*scaffold* telah digunakan dalam regenerasi pulpa gigi salah satunya yaitu *Decellularized Extracellular Matrix* (DECM). DECM digunakan sebagai *scaffold* biologis untuk menjaga struktur anatomi organ dan ECM. *Scaffold* ini telah digunakan untuk meregenerasi organ dan jaringan.<sup>5</sup> Penggunaan DECM dari jaringan pulpa asli menawarkan keuntungan khusus dibandingkan dengan biomaterial lainnya, pulpa yang mengalami deselularisasi lebih baik dalam menginduksi pembentukan tulang baru dan vaskularisasi dalam regenerasi tulang. *Pulp ECM* menggabungkan struktur kolagen mikro dan molekul bioaktif yang penting untuk regenerasi pulpa gigi.<sup>7</sup>

Hingga saat ini belum ada *literature review* yang merangkum peran *decellularized dental pulp* sebagai biomaterial baru dalam regenerasi pulpa. Artikel yang direview dalam bahasa inggris dalam bentuk full text, dengan rentang waktu dari 2011-2022, pada *google scholar, pubmed dan science direct*. Hasilnya didapatkan 18 artikel yang sesuai.

### KAJIAN PUSTAKA

#### Pulpa

Pulpa gigi merupakan jaringan ikat lunak di tengah gigi yang dilapisi oleh dentin. Rongga pulpa terdiri dari fibroblas, odontoblas, limfosit, sel

endotel, dan sel lainnya dan mengandung banyak suplai dari pembuluh darah dan saraf (8). Pulpa disebut juga sebagai organ normatif gigi dan berperan dalam pembangunan dentin primer selama perkembangan gigi, dentin sekunder setelah erupsi, dan dentin reparatif. Pulpa juga bereaksi terhadap panas dan dingin yang hanya dirasakan sebagai rasa sakit.<sup>9</sup>

Jaringan pulpa gigi berasal dari *neural crest*. Proliferasi dan kondensasi sel ini menyebabkan pembentukan papilla dental yang akan menghasilkan pulpa yang matur.<sup>10</sup> Secara fisiologis pulpa memiliki berbagai fungsi 1) Formatif: Pembentukan dentin oleh odontoblas 2) Sensorik: Ujung saraf menyampaikan rasa nyeri 3) Nutrisi: Pembuluh darah mengangkut nutrisi dari aliran darah ke sel pulpa dan odontoblast yang menghasilkan dentin 4) Pertahanan: pulpa membentuk dentin reparatif ketika merespons cedera,<sup>11</sup> kerusakan ke pulpa gigi dapat terjadi secara mekanik, kimia, termal, dan iritasi mikroba.<sup>12</sup>

### Regenerasi Pulpa

*Regenerative endodontics* didefinisikan sebagai prosedur berbasis biologis yang dirancang untuk menggantikan struktur yang rusak, termasuk dentin dan akar, serta sel-sel kompleks pulpa-dentin.<sup>13</sup> Regenerasi pulpa memiliki tiga komponen utama: 1) *stem cell* yang memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi didalam sel jaringan asli, 2) *scaffold*, yang bertindak sebagai platform yang menyediakan matriks sementara untuk mengembangkan sel dan meniru matriks ekstraseluler alami, 3) *growth factor* yang dapat memberikan kemotaksis, diferensiasi dan proliferasi sel induk.<sup>14</sup>

Terdapat dua strategi yang diterapkan untuk regenerasi pulpa gigi yaitu *cell transplantation* dan *cell homing*. *Cell transplantation* merupakan *cell based*, yang berarti mentransplantasikan sel punca eksogen yang dimasukkan ke perancah/*scaffold* yang digabungkan dengan *signaling molecules* ke dalam sistem saluran akar untuk regenerasi. Sementara itu *Cell homing* dilakukan dengan perancah bioaktif yang diisi dengan *growth factor* disuntikkan ke dalam saluran akar tanpa pulpa untuk menginduksi migrasi, proliferasi, dan diferensiasi *stem cell* endogen yang berada di sekitar apeks akar.<sup>15</sup>

### Scaffold

*Scaffold* merupakan salah satu faktor yang memainkan peranan penting dalam keberhasilan *tissue engineering* dan memiliki peran sebagai ruang vaskularisasi jaringan baru dan berpartisipasi dalam proses regenerasi melalui pelepasan *growth factor*.<sup>6</sup> Secara umum *scaffold* dibagi menjadi dua yaitu, *scaffold* sintetik dan biologis. *Scaffold* sintetik merupakan perancah yang dibuat dari biomaterial dengan menggunakan berbagai macam teknologi seperti *phase separation*, *porogen leaching*, *electrospinning*, *rapid prototyping* dan *injection molding*. *Scaffold* yang dibahas dalam review ini merupakan *scaffold* biologis yang berasal dari *extracellular matrix* dan membran amniotic.

Jaringan biologis tersebut dapat diperoleh dari jaringan manusia (*allogenic*) dan jaringan hewan (*xenogenic*) yang melalui proses deselularisasi atau jaringan tanpa sel.<sup>16</sup> Dibandingkan dengan *scaffold* sintesis dan polimer, *Scaffold* biologis lebih unggul karena komponen yang dipertahankan dari ECM asli.<sup>17</sup>

Dalam pembuatannya *scaffold* memiliki syarat-syarat untuk menjalankan fungsinya. 1) *Scaffold* harus biokompatibel 2) Dapat didegradasi 3) Memiliki sifat mekanik yang baik dan konsisten dengan jaringan yang menggantinya 4) Mempunyai sifat permukaan yang mampu memberikan perlekatan, pertumbuhan, proliferasi dan diferensiasi sel seperti pembentukan matriks ekstraseluler 5) Memiliki struktur berpori 6) Teknik pembuatan *scaffold* yaitu mudah diproses ke dalam bentuk tiga dimensi, dapat direproduksi dan sterilitas yang baik.<sup>18</sup>

### Decellularized Dental Pulp

Akhir-akhir ini, perancah berbasis ECM telah menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam hal merekrut sel progenitor, mempromosikan remodeling konstruktif, dan memodulasi respons *host*.<sup>19</sup> Dengan pertumbuhan dan kemajuan saat ini, fabrikasi dan aplikasi *scaffold* ECM dapat berasal dari jaringan gigi seperti pulpa dan dentin.<sup>20</sup> ECM dari jaringan pulpa asli menawarkan keuntungan khusus dibandingkan biomaterial lainnya. Di sisi lain, telah ditunjukkan sebelumnya bahwa perancah yang dihasilkan dari pulpa yang dideselularisasi mendorong proliferasi dan diferensiasi *Stem Cells from the Apical Papilla* (SCAP).<sup>7</sup>

Penghilangan komponen seluler dari ECM meninggalkan matriks yang tidak larut dalam air dikenal sebagai *decellularized ECM* (DECM). Proses deselularisasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode kimiawi dan enzimatis, fisik, atau kombinasi untuk menghilangkan sel dan DNA dari jaringan dengan mempertahankan protein struktural dan pengaturnya. Pertama, metode kimiawi dan enzimatis.<sup>20</sup> Surfaktan yang paling banyak digunakan adalah ionik sodium dodecyl sulphate (SDS), sodium deoxycholate (SD), non ionik surfaktan yaitu TritonX-100, serta CHAPS. Dapat juga menggunakan *acid and base* seperti peracetic acid, formic acid, acetic acid and citric acid<sup>21</sup> dan enzim yaitu trypsin, pepsin, dan kombinasi trypsin dan Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA). Kedua, metode fisik dengan menggunakan *freeze-thaw*, *high hydrostatic pressure*, atau *supercritical carbon dioxide* (CO<sub>2</sub>).<sup>22</sup> Dan terakhir metode kombinasi bisa berupa gabungan antara metode kimiawi dan fisik yang digunakan untuk melengkapi kekurangan metode tersebut.<sup>20</sup>

### PEMBAHASAN

*Decellularized dental pulp* merupakan biomaterial alami yang dapat digunakan sebagai salah satu *scaffold* dalam *tissue engineering*. Pulpa gigi manusia mengandung berbagai sel, terutama diidentifikasi sebagai *stem cells* yang memiliki potensi untuk menginduksi diferensiasi sel

yang berbeda, termasuk osteoblas, odontoblas, saraf, sel, dan adiposit.<sup>23</sup> Menurut penelitian yang dilakukan oleh Song *et al*<sup>24</sup>, pulpa gigi manusia memiliki peran dalam *regenerative endodontic* dengan mendukung proliferasi dan juga diferensiasi dari *stem cell*.

*Regenerative Endodontic Procedures* (REPs) diakui sebagai alternatif perawatan untuk terapi konvensional saluran akar untuk gigi dengan nekrosis pulpa dikarenakan terapi konvensional lebih banyak mengorbankan struktur gigi dan penggantian saluran akar dengan menggunakan bahan sintetik tidak memperkuat struktur gigi.<sup>24,25</sup> Prosedur ini dilakukan dengan menerapkan prinsip-prinsip rekayasa jaringan dan *regenerative medicine* dalam menggunakan *stem cell* secara endogen atau eksogen, faktor pertumbuhan dan *scaffold* untuk meregenerasi jaringan/organ yang rusak. *Scaffold* merupakan kerangka bioaktif atau dasar struktural yang mendukung adhesi sel, mengatur proliferasi dan diferensiasi dan memfasilitasi pembentukan jaringan.<sup>26</sup> Penggunaan ECM yang terdeselularisasi sebagai *scaffold* menunjukkan proliferasi dan diferensiasi terhadap jaringan dan memiliki keuntungan yang sama dengan jaringan yang digantikan.<sup>21</sup>

*Decellularized dental pulp* merupakan pulpa yang dieliminasi komponen selulernya melalui berbagai metode seperti kimiawi, enzimatis, kimiawi, dan fisik.<sup>27</sup> Tujuan dari deselularisasi adalah menghilangkan isi jaringan seluler, menghasilkan ECM yang kehilangan antigenitasnya dan risiko penularan penyakit sementara biostrukturnya tetap terjaga.<sup>7</sup> ECM dari jaringan pulpa asli menawarkan keunggulan spesifik dibandingkan biomaterial lainnya. Penggunaannya sebagai *scaffold* dalam meregenerasi pulpa terbukti mendorong proliferasi dan juga diferensiasi *stem cell*.<sup>23</sup> *Decellularized dental pulp* juga terbukti memiliki potensi dalam meregenerasi akar gigi dengan kombinasi *treated dentin matrix*.<sup>28</sup> *Pulp ECM* menggabungkan mikrostruktur kolagen yang diperlukan bersama dengan molekul bioaktif yang penting untuk regenerasi pulpa gigi.<sup>7</sup> Teknik deselularisasi sendiri memainkan peranan penting dalam menghasilkan *scaffold* yang ideal. Pada penelitian yang dilakukan Matoug *et al*.<sup>29</sup> penggunaan one cycle SDS 0,03% mampu menghasilkan jaringan pulpa tikus yang terdeselularisasi menjadi *scaffold* aseluler yang biokompatibel dengan mempertahankan jaringan ikat, saluran vaskular dan protein ECM yang mirip dengan yang diperoleh pada jaringan pulpa gigi manusia yg deselularisasi. Namun penggunaan SDS menunjukkan, resiko sisa-sisa toksisitas. Pada tahun 2021, Bakhtiar *et al*.<sup>7</sup> melakukan penelitian menggunakan pulpa sapi dengan tujuh protokol deselularisasi yang berbeda. Hasilnya di dapatkan protokol dengan perawatan 1 jam TritonX-100 dan 12 jam Tripsin/EDTA tanpa SDS menunjukkan banyak kelebihan dibanding dengan protokol lainnya, dilihat dari kandungan glikosaminoglikan, ketiadaan nuklei pada perwarnaan 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), dan

menghasilkan matriks organik yang minimal sehingga dapat diterima oleh respon imun *host*.

Menurut penelitian yang dilakukan Song *et al*.<sup>24</sup>, penggunaan *scaffold* yang dihasilkan dari pulpa manusia yang mengalami deselularisasi mendorong proliferasi dan diferensiasi SCAP ditandai dengan tingginya regulasi gen seperti Dentin sialophosphoprotein (DSPP), *SP7 Transcription Factor*, Integrin Binding Sialoprotein (IBSP), dan Alkaline Phosphatase (ALP). Penelitian Matoug-Elwerfelli *et al*<sup>30</sup> pulpa manusia yang dideselularisasi dengan menggunakan siklus tunggal 0,03% SDS konsentrasi rendah dapat digunakan dalam regenerasi pulpa dengan tetap mempertahankan histosarkitektur dan komponen aslinya serta terbukti tidak menunjukkan sitotoksitas dan mendukung *Human Dental Pulp Stem Cells (hDPSCs) cell viability*, perlekatan, pertumbuhan, dan proliferasi setelah reselulerisasi.

Banyak peneliti yang menggunakan pulpa hewan sebagai *scaffold* karena terbatasnya pulpa manusia yang digunakan sebagai allograft *scaffold* dalam regenerasi pulpa. Hu *et al*.<sup>31</sup> pada tahun 2017 meneliti penggunaan *scaffold* berasal dari pulpa babi yang dinilai berbagi banyak karakteristik baik secara fisik maupun anatomi dengan manusia. Hasil penelitian didapatkan bahwa pulpa babi yang terdeselularisasi memiliki protein matriks seperti Collagen-IV, laminin, fibronectin, integrin  $\beta 1$ , dan vimentin dan ketika di transplantasikan pada tikus mendorong pertumbuhan *dental pulp-like tissue* dan mendukung *stem cell* untuk berproliferasi dan berdiferensiasi. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan Hu *et al*.<sup>31</sup>, Alqahtani Q *et al*.<sup>32</sup> pada tahun 2018 melakukan penelitian menggunakan pulpa babi berusia 6 bulan dan menyimpulkan bahwa *Dental Pulp Extracellular Matrix (DP-ECM)* memiliki kemampuan untuk menciptakan kembali lingkungan mikro asli pulpa untuk merekrut sel-sel vaskular dan mendiferensiasikan *native cells* dari jaringan periapikal untuk membentuk dentin sialoprotein-expressing *dental pulp-like matrix (vascular markers)* dan mendukung infiltrasi sel. Bakhtiar *et al*.<sup>27</sup> melakukan penelitian dengan menggunakan pulpa sapi yang dideselularisasi, di-lyophilized dengan atau tanpa *cross-linking* dan diimplantasikan pada tikus selama 2 minggu. Hasilnya menunjukkan *cell viability*, proliferasi, dan diferensiasi odontogenik *Human Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells (hBMSCs)* tertinggi dijumpai pada *cross-linked scaffold*. Tak hanya pulpa babi yang digunakan sebagai *scaffold*, Matoug *et al*.<sup>29</sup> meneliti penggunaan pulpa tikus didapatkan *scaffold* dari tikus ini dapat digunakan dalam regenerasi pulpa karena mampu mendukung repopulasi *dental pulp stem cells*. *Scaffold* yang direseleularisasi juga menunjukkan ekspresi seluler positif terhadap *odontoblastic markers*, protein sitoskeleton, dan *growth factor*.

Suplai vaskular yang cukup merupakan faktor kelangsungan hidup jaringan yang direkayasa dan ditransplantasi.<sup>33</sup> Alghuitaimel *et al*.<sup>34</sup> menunjukkan bahwa *decellularized dental pulp* dalam hDPSCs memiliki kapasitas vaskularisasi ditandai dengan tingginya Kinase

insert Domain Receptor (KDR) dan Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 (PECAM-1) sebagai *angiogenic markers* dibandingkan dengan 2 sampel lainnya serta penanaman hDPSCs ke dalam *decellularized dental pulp* menyebabkan repopulasi sel pembuluh darah dengan cepat, juga peningkatan kapasitas vaskularisasi pada penelitian *in vivo*.

*Injectable scaffold* dinilai lebih mudah digunakan dalam meregenerasi pulpa dikarenakan bentuk pulpa yang unik dan kecil. Salah satu *injectable scaffold* yang dapat digunakan adalah hidrogel, semua jenis *scaffold* berbasis hidrogel apabila mengandung *mesenchymal stem cell* mampu membentuk jaringan ikat dengan derajat kemiripan yang berbeda dengan pulpa gigi.<sup>35</sup> *Hydrogel-based scaffold* memiliki biokompatibilitas, pola degradasi, sifat mekanik yang dapat disesuaikan, serta tingkat fleksibilitas dan elastisitas yang mirip dengan ECM alami yang dibutuhkan dalam meregenerasi jaringan.<sup>36</sup> Penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Li *et al.*<sup>37</sup> menggunakan pulpa manusia, *human decellularized dental pulp matrix* (hDDPM-G) mempromosikan perlekatan stem cell, migrasi sel dan proliferasi. Selain itu, *human DDPM-G* membantu diferensiasi DPSCs menjadi *odontoblast-like* dan *neural-like cells*.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi kombinasi *decellularized dental pulp* dengan bahan lainnya untuk meningkatkan efektivitasnya dalam meregenerasi pulpa. Tan *et al.*<sup>38</sup> meneliti bahwa penambahan *Bone Morphogenetic Protein-4* (BMP-4) pada dECM meningkatkan ALP, *Dentin Matrix Acidic Phosphoprotein 1* (DMP1) dan Osteopontin (OPN) sebagai *marker* terhadap diferensiasi odontoblas dan osteoblas. Peningkatan COL dan DMPP juga terjadi mengindikasikan BMP-4 + dECM menstimulasi diferensiasi DPSCs menjadi osteoblas dan odontoblas terjadi lebih cepat. Penggunaan BMP-4+dECM membuktikan dapat mempercepat diferensiasi DPSCs dan pembentukan *pulp-like-tissue*. Fu *et al.*<sup>39</sup> juga melakukan penelitian dengan menggunakan *laminin-modified DP-ECM*. Laminin merupakan komponen aktif membran dasar yang dapat mempromosikan pembentukan dentin dan mengatur diferensiasi odontoblas dalam perkembangan gigi.

Hasil yang didapatkan penambahan laminin pada DPEM berkontribusi dalam diferensiasi sel odontogenik dan juga pembentukan lapisan odontoblas pada regenerasi pulpa.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Sutomo B, Varianti F. The Causal Factors of Periapical and Pulp Disease Among Senior Community of Kagok Community Health Center Semarang. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 2018; 5(1):53.
2. Suwartini T. Revaskularisasi gigi: Prosedur Perawatan Potensial untuk Regenerasi Gigi Nekrosis Pulpa Apeks Terbuka. *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu*.2019; 1(2).
3. Grossman, L., Seymour Oliet, & Carlos E, D. Ilmu Endodontik dalam Praktek. Jakarta: EGC.1995
4. Bugenoltz. *Textbook of Endodontics*. India: Jaype Medical. 2014
5. Hu L, Gao Z, Xu J, Zhu Z, Fan Z, Zhang C, Wang J, Wang S. Decellularized Swine Dental Pulp as a Bioscaffold for Pulp Regeneration. *BioMed Research International*. 2017 ;1-9.
6. Mahanani E. Perancah Hidogel untuk Aplikasi Rekayasa Jaringan Tulang. *Insisiva Dental Journal*. 2013;2(2): 52
7. Bakhtiar H, Rajabi S, Pezeshki-M M, Ellini M, Panahinia M, Alijani S, et al. Optimizing Methods for Bovine Dental Pulp Decellularization. *Journal of Endodontics*. 2021; 47(1):62-68.
8. Y Pasril. Perawatan Saluran Akar pada Gigi Incisivus Sentral dan Lateral Maksila dengan Perbedaan Status Pulpa. *MajKedGi Insisiva*.2017; 6 (1): 57-62
9. Sherli D, Pribadi S. Perawatan Satu Kunjungan Pada Premolar Pertama Atas Menggunakan Protaper Rotary dan Restorasi Resin Komposit. *MajKedGi*.2013; 20(1)
10. Hargreaves KM, Cohen S, Bermann LH. *Cohen's Pathways of the Pulp Endodontics 10th ed*. St.Louis, Mosby.2012; 671-90.
11. C Scheid R, Weiss G.Woelfel : *Anatomi Gigi*. 8th ed. Jakarta: EGC.2012
12. Demarco F, Conde M, Cavalcanti B, Casagrande L, Sakai V,Nör J. Dental pulp tissue engineering. *Brazilian Dental Journal*. 2011; 22(1):3-13.
13. Jung C, Kim S, Sun T, Cho Y, Song M. Pulp-dentin regeneration: current approaches and challenges. *Journal of Tissue Engineering*.2019 ; 10.
14. Karakaya I, Ulusoy N. Basics of dentin-pulp tissue engineering. *AIMS Bioengineering*. 2018;5(3):162-178.
15. Eramo S, Natal A, Pinna R, Milia E. Dental pulp regeneration via cell homing. *International Endodontic Journal*. 2017;51(4):405-419.
16. Kannaiyan D, Chhabra D,Narayanan S D,Pandey D. Biological and synthetic scaffold: an extra cellular matrix for constructive tissue engineering. *International Journal of Medical Research and Review*. 2021;4(10):1883-1886
17. Rabbani M, Zakian N, Alimoradi N. Contribution of physical methods in

- decellularization of animal tissues. *Journal of Medical Signals & Sensors*.2021; 11(1):1
18. Herda E, Puspitasari D. Tinjauan Peran Dan Sifat Material Yang Digunakan Sebagai *scaffold* Dalam Rekayasa Jaringan. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*.2016 ;1(5):57-59.
  19. Swinehart IT, Badylak SF. Extracellular matrix bioscaffolds in tissue remodeling and morphogenesis. *Dev Dyn*. 2016;245(3):351–360
  20. Gilpin A, Yang Y. Decellularization Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications. *BioMed Research International*. 2017;13:1-4
  21. Garcia-Gareta E, Abduldaem Y, Sawadkar P, Kyriakidis C, Lali F, Greco K. Decellularised scaffolds: just a framework? Current knowledge and future directions. *Journal of Tissue Engineering*. 2020;11:1-8
  22. Mendibil U, Ruiz-Hernandez R, Retegi-Carrion S, Garcia-Urquia N *et al*. Tissue-Specific Decellularization Methods: Rationale and Strategies to Achieve Regenerative Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(15):1-29
  23. Khurshid Z, Alnaim A, Alhashim A, Imran E, Adanir, N. Future of Decellularized Dental Pulp Matrix in Regenerative Endodontics. *European Journal of Dentistry*. 2022:737-741.
  24. Song JS, Takimoto K, Jeon M, Vadakekalam J, Ruparel NB, Diogenes A. Decellularized human dental pulp as a *scaffold* for regenerative endodontics. *J Dent Res*. 2017; 96(6):640–646
  25. Huang G. Dental pulp and dentin tissue engineering regeneration advancement and challenge. *Frontiers in Bioscience*. 2011; E3(2):788-800.
  26. Liu H, Lu J, Jiang Q, Haapasalo M, Qian J, Tay F, Shen Y. Biomaterial scaffolds for clinical procedures in endodontic regeneration. *Bioactive Materials*. 2021; 12:257-277.
  27. Bakhtiar H, Pezeshki-Modaress M, Kiaipour Z, Shafiee M, Ellini M, Mazidi A, *et al*. Pulp ECM-derived macroporous scaffolds for stimulation of dental-pulp regeneration process. *Dental Materials*. 2019; 36(1):76-87.
  28. Chen G, Chen J, Yang B, Li L, Luo X, Zhang X, Feng L, *et al*. Combination of aligned PLGA/Gelatin electrospun sheets, native dental pulp extracellular matrix and treated dentin matrix as substrates for tooth root regeneration. *Biomaterials*. 2015; 52:56-70
  29. Matoug-Elwerfelli M, Nazzal H, Raif E, Wilshaw S, Esteves F, Duggal M. Ex-vivo recellularisation and stem cell differentiation of a decellularised rat dental pulp matrix. *Scientific Reports*. 2020;10(1):1-12.
  30. Matoug-Elwerfelli M, Duggal M, Nazzal H, Esteves F, Raif E. A biocompatible decellularized pulp scaffold for regenerative endodontics. *International Endodontic Journal*. 2017;51(6): 663-673.
  31. Hu L, Gao Z, Xu J, Zhu Z, Fan Z, Zhang C, *et al*. Decellularized Swine Dental Pulp as a *Bioscaffold* for Pulp Regeneration. *BioMed Research International*. 2017:1-9
  32. Alqahtani Q, Zaky S, Patil A, Beniash E, Ray H, Sfeir C. Decellularized Swine Dental Pulp Tissue for Regenerative Root Canal Therapy. *Journal of Dental Research*.2018: 97(13):1460-1467.
  33. Petra Hilken, Rabbani M, Zakian N, Alimoradi N. Contribution of physical methods in decellularization of animal tissues. *Journal of Medical Signals & Sensors*. 2021; 11(1) :1.
  34. Alghutaimel H, Yang X , Drummond B , Nazzal H, Duggal M, Raif E. Investigating the vascularization capacity of a decellularized dental pulp matrix seeded with human dental pulp stem cells: in vitro and preliminary in vivo evaluations. *International Endodontic Journal*. 2021;54(8):1300-1316.
  35. Fukushima K, Marques M, Tedesco T, Carvalho G, Gonçalves F, Caballero-Flores H, *et al*. Screening of hydrogel-based scaffolds for dental pulp regeneration—A systematic review. *Archives of Oral Biology*. 2019; 98 :182-194.
  36. Abbass M, El-Rashidy A, Sadek K, Moshy S, Radwan I, Rady D, *et al*. Hydrogels and Dentin–Pulp Complex Regeneration: From the Benchtop to Clinical Translation. *Polymers*. 2020; 12(12):29-35.
  37. Li J, Rao Z, Zhao Y, Xu Y, Chen L, Shen Z, Bai Y, Lin Z, Huang Q. A Decellularized Matrix Hydrogel Derived from Human Dental Pulp Promotes Dental Pulp Stem Cell Proliferation, Migration, and Induced Multidirectional Differentiation In Vitro. *Journal of Endodontics*. 2020; 46(10) :1438.
  38. Tan Q, Cao Y, Zheng X, Peng M, Huang E, Wang J. BMP4-regulated human dental pulp stromal cells promote pulp-like tissue regeneration in a decellularized dental pulp matrix scaffold. *Odontology*. 2021;109(4): 895-90
  39. Fu J, Chen J, Li W, Yang X, Yang J, Quan H, Huang H, Chen G. Laminin-Modified Dental Pulp Extracellular Matrix for Dental Pulp Regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;8:1-12.