IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

PENGARUH APLIKASI KALSIUM KARBONAT ($CaCO_3$) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2* (BMP-2) DAN OSTEOPONTIN (OPN) PADA PROSES PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF

Penelitian *In Vivo* pada *Rat Wistar*

KARYA TULIS AKHIR

Oleh:

SAINDRA ARSA GUMILANG
021918036320

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

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH APLIKASI KALSIUM KARBONAT ($CaCO_3$) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2* (BMP-2) DAN OSTEOPONTIN (OPN) PADA PROSES PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF

Penelitian *In Vivo* pada *Rat Wistar*

KARYA TULIS AKHIR

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Program Studi Ilmu Konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
Surabaya

Oleh :
Saindra Arsa Gumilang
NIM : 021918036320

Menyetujui :

Pembimbing Utama	Pembimbing Kedua
Dr. Widya Saraswati, drg. M.kes.Sp.KG(K)	**Dr.Galih Sampoerno, drg. M.Kes ,Sp.KG(K)**
NIP.197210072005012001	**NIP. 197106261999031001**

Koordinator Program Studi

Dr.Galih Sampoerno, drg. M.Kes ,Sp.KG(K)
NIP. 197106261999031001

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

PENETAPAN PANITIA
PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Karya Tulis Akhir Ini Telah Diuji

Pada Tanggal 3 Juni 2022

PANITIA PENGUJI

Ketua	:	1. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
Anggota	:	2. Dr. Sukaton, drg,, M.Kes., Sp.KG(K)
		3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., SpKG(K)
		4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
		4. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Saindra Arsa Gumilang

NIM : 021918036320

Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi

Jenjang : Spesialis

Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat pada penulisan karya tulis akhir yang berjudul :

PENGARUH APLIKASI KALSIUM KARBONAT ($CaCO_3$) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2* (BMP-2) DAN OSTEOPONTIN (OPN) PADA PROSES PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF
Penelitian *In Vivo* Pada *Rat Wistar*

Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan

Surabaya, 30 Mei 2022
Yang menyatakan

Saindra Arsa Gumilang
NIM 021918036320

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala Puji Syukur bagi Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat ndan rahmat Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Akhir dengan judul "Pengaruh Aplikasi Kalsium Karbonat ($CaCO_3$) dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara Granosa*) terhadap Ekspresi *Bone Morphogenetic Protein 2* (BMP-2) dan Osteopontin (OPN) pada Proses Pembentukan Dentin Reparatif (Penelitian *In Vivo* Pada *Rat Wistar)*". Karya tulis akhir ini dibuat untuk memenuhi syarat dalam rangka menyelesaikan. Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi di Fakultas Kedokteran. Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT.,Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis akhir pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., SpKG(K) selaku Ketua Departemen Konservasi Gigi sekaligus pembimbing utama saya yang telah memberikan ijin untuk pembuatan Karya Tulis Akhir dan memberikan bimbingan kepada saya.

4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes, Sp.KG(K) selaku Koordinator Program Studi Departemen Konservasi Gigi sekaligus pembimbing serta saya yang telah memberi ijin dan motivasi serta bimbingan kepada saya sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan.
5. Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2019/2020 yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
6. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga 2019/2020 yang telah memfasilitasi dan memberikan ijin di awal hingga berjalannya proses pembuatan karya tulis ini.
7. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes, Sp.KG (K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2019/2020 yang telah memfasilitasi dan memberikan ijin di awal hingga berjalannya proses pembuatan karya tulis ini.
8. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes, Sp.KG (K), Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG (K), Dr. Sukaton, drg, M.Kes, Sp. KG(K) selaku penguji KTA saya yang memberikan banyak masukan dalam penulisan KTA ini.
9. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Bagian Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.

10. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.
11. Keluarga saya, drg. Toto Hermawan, Dra. Umi Wahyuni, Gardian, Tatas, Yusa, Maitra, dan Shinta, atas dukungan dan doa yang tidak berhenti mengalir untuk saya.
12. Teman – teman seperjuangan PPDGS Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya angkatan 2019 dan pihak – pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Karya Tulis Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Saya menyadari bahwa Karya Tulis Akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat saya harapkan. Semoga Karya Tulis Akhir ini memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 30 Mei 2022

Penulis

THE EFFECT OF THE APPLICATION OF CALCIUM CARBONATE FROM BLOOD COCKLE (ANADARA GRANOSA) SHELL EXTRACT TOWARD *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2* (BMP-2) DAN OSTEOPONTIN (OPN) EXPRESSION DURING REPARATIVE DENTIN FORMATION.
In Vitro Study on Rat Wistar

ABSTRACT

Background : **Nowadays, Calcium Hydroxide is a gold standard material in pulp capping treatment for its ability to induce mineralization, however, the result has some flaws such as, the presence of tunnel defect. Calcium Carbonate from blood cockle (Anadara Granosa) shell extract expectedly can be alternatively used in pulp capping treatment to overcome the problem resulted by Calcium Hydroxide.** Purpose : **this study expectedly can show the effect of the application of $CaCO_3$ from blood cockle (Anadara Granosa) shell extract toward BMP-2 and OPN expression in the pulp cells, so that $CaCO_3$ can be considered as alternative material in pulp capping treatment.** Method : **42 wistar rats were divided into two groups. Control group was treated by $Ca(OH)_2$ and treatment group was treated by $CaCO_3$. Each group would be divided into three groups according to the day of examination, which was day 1, day 3, and day 7. A cavity with perforated pulp chamber was made on molar of the rats then pulp capping with the mentioned materials was performed then the slide of preparation was made and stained by HE and IHC.** Result : **the expression of BMP-2 and OPN was significantly increased after the application of $CaCO_3$ and there was a significant difference compared to the control group.** Conclusion : **The application of Calcium Carbonate from blood cockle (Anadara Granosa) shell can induce the increasing of BMP-2 and OPN expression.**

Keywords : Pulp capping, Ca(OH)2 , CaCO3 , BMP-2, OPN

PENGARUH APLIKASI KALSIUM KARBONAT ($CaCO_3$) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP PENGARUH APLIKASI KALSIUM KARBONAT ($CaCO_3$) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI *BONE MORPHOGENETIC PROTEIN 2* (BMP-2) DAN OSTEOPONTIN (OPN) PADA PROSES PEMBENTUKAN DENTIN REPARATIF

Penelitian *In Vivo* pada *Rat Wistar*

ABSTRAK

Latar Belakang : Kalsium Hidroksida saat ini merupakan bahan yang menjadi *gold standar* dalam melakukan *pulp capping* karena dapat menstimulasi terjadinya mineralisasi, namun memiliki kekurangan seperti adanya *tunnel defect*. Kalsium Karbonat pada ekstrak cangkang kerang darah (Anadara Granosa) diharapkan dapat menjadi bahan alternatif untuk perawatan *pulp capping.* **Tujuan :** penelitian ini diharapkan dapat menunjukkan pengaruh aplikasi $CaCO_3$ dari cangkang kerang darah (Anadara Granosa) terhadap ekspresi BMP-2 dan OPN sel pulpa tikus, sehingga $CaCO_3$ dapat dipertimbangkan sebagai alternatif bahan *pulp capping*. **Metode :** 42 ekor tikus wistar dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok kontrol diberi $Ca(OH)_2$, kelompok perlakuan diberi $CaCO_3$**.** Masing-masing kelompok dibagi menjadi 3 lagi sesuai dengan hari yang diteliti yaitu hari 1, 3, dan 7. Gigi molar tikus wistar di perforasi kemudian di aplikasikan dengan bahan sesuai dengan kelompoknya kemudian dibuatkan *slide* preparat dan diberi pewarnaan HE dan IHC. **Hasil :** terjadi peningkatan ekspresi BMP-2 dan OPN secara signifikan setelah aplikasi $CaCO_3$ dan terdapat perbedaan secara signifikan dibandingkan dengan kelompok control. **Kesimpulan :** Aplikasi kalsium karbonat dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara Granosa*) dapat menginduksi peningkatan ekspresi BMP-2 dan OPN.

Kata Kunci: Pulp capping, Ca(OH)2 , CaCO3 , BMP-2, OPN

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN ..... **ii**
PENETAPAN PANITIA ..... **ii**
PENGUJI KARYA TULIS AKHIR ..... **ii**
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS ..... **iii**
UCAPAN TERIMA KASIH ..... **iv**
ABSTRACT ..... **vii**
ABSTRAK ..... **viii**
DAFTAR ISI ..... **ix**
DAFTAR GAMBAR ..... **xii**
DAFTAR TABEL ..... **xiii**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xiv**
BAB 1 PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang. 1
1.2 Rumusan Masalah. 6
1.3 Tujuan penelitian. 6
1.3.1. Tujuan Umum. 6
1.3.2. Tujuan Khusus. 6
1.4 Manfaat Penelitian. 7
1.4.1. Manfaat Teoritis. 7
1.4.2. Manfaat praktis 7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA **8**
2.1 Struktur Jaringan Gigi 8
2.1.1. Email 8
2.1.2. Dentin 8
2.1.3. Pulpa 10

2.2 Dentin – Pulpa Kompleks....11
2.3 Pembentukan Dentin Reparatif....13
2.4 BMP-2 15
2.5 OPN 17
2.6 Cangkang Kerang Darah 19
2.7 Kalsium Hidroksida....21
2.8 Kalsium Karbonat....22
BAB 3 KERANGKA KONSEP....23
3.1 Kerangka Konsep 23
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual 24
3.3 Hipotesis Penelitian....26
BAB 4 METODE PENELITIAN....27
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian....27
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian 29
4.2.1. Tempat Penelitian....29
4.2.2. Waktu penelitian 29
4.3. Sampel yang Digunakan....30
4.3.1. Kriteria inklusi 30
4.3.2. Kriteria Eksklusi....31
4.3.3. Besar Sampel....31
4.4. Variabel Penelitian 32
4.4.1. Variabel Bebas 32
4.4.2. Variabel Tergantung....33
4.5. Definisi Operasional Variabel Penelitian....33
4.6. Alat dan Bahan Penelitian 34

4.6.1. Alat Penelitian 34
4.6.2. Bahan Penelitian 35
4.7. Prosedur Penelitian 36
4.7.6. Pembuatan Sediaan Histopatologis 41
4.7.7. Pengamatan Preparasi Histopatologi 42
4.7.8. Prosedur Imunohistokimia dan perhitungan ekspresi BMP-2 dan OPN 43
4.8. Pengolahan dan Analisis Data 44
4.9. Alur Penelitian 45
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS DATA 46
5.1 Profil Hasil Penelitian 46
5.2 Hasil pemeriksaan ekspresi BMP 2 pada *odontoblast-like cell* pulpa 46
5.3 Hasil pemeriksaan ekspresi OPN pada *odontoblast-like cell* pulpa 49
5.4 Perbandingan ekspresi BMP 2 antara aplikasi $CaCO_3$ dan $Ca(OH)_2$. 53
5.5 Perbandingan ekspresi OPN antara aplikasi $CaCO_3$ dan $Ca(OH)_2$. 55
BAB 6 PEMBAHASAN 57
6.1 Peningkatan ekspresi BMP-2 setelah prosedur pulp capping dengan $CaCO_3$ 58
6.2 Peningkatan ekspresi OPN setelah prosedur pulp capping dengan $CaCO_3$ 60
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN 63
7.1 Kesimpulan 63
7.2 Saran 63
DAFTAR PUSTAKA 64
LAMPIRAN 67

DAFTAR GAMBAR

Gambar2.1 Tubuli Dentin 9

Gambar 3.1 Kerangka Konsep 20

Gambar 4.1 Rancangan Penelitian 24

Gambar 4.2 Hewan coba di dalam kendang pemeliharaan 27

Gambar 4.3 Penimbangan hewan coba 28

Gambar 4.4 Alat penelitian 32

Gambar 4.5 Bahan *pulp capping* dan penumpatan hewan coba 33

Gambar 4.6 Pembuatan kavitas pada hewan coba di bawah pengaruh anestesi Ketamin HCl 36

Gambar 4.7 Polimerisasi *RM GIC* dengan sinar selama 20 detik 37

Gambar 4.8 Perendaman sampel pada larutan *buffer formalin* 10% 38

Gambar 4.9 Alur Penelitian.....42

Gambar 5.1 Ekspresi BMP 2 dengan pemeriksaan Imunohistokimia.....46

Gambar 5.2 Ekspresi BMP 2 dengan pemeriksaan Imunohistokimia.....50

Gambar 5.3 Grafik Hasil rerata ekspresi BMP 2 51

Gambar 5.4 Perbandingan imunohistokimia ekspresi BMP 2 $CaCO_3$ dan $Ca(OH)_2$ 52

Gambar 5.5 Grafik hasil rerata ekspresi OPN.....54

Gambar 5.6 Perbandingan imunohistokimia ekspresi OPN $CaCO_3$ dan $Ca(OH)_2$ 54

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Dentin 8

Tabel 2.2 Diameter dan Jumlah Tubuli Dentin..... 8

Table 5.1 Rerata dan simpang baku pemeriksaan ekspresi BMP 2 44

Tabel 5.2 Hasil uji *Shapiro Wilk* dan uji *Levene test* data ekspresi BMP 2..... 45

Tabel 5.3 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Tukey HSD ekspresi BMP246

Tabel 5.4 Rerata dan simpang baku pemeriksaan ekspresi OPN..... 47

Tabel 5.5 Hasil uji *Shapiro Wilk* dan uji *Levene test* data ekspresi OPN 48

Tabel 5.6 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Tukey HSD ekspresi OPN . 49

Tabel 5.7 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan T-test pada ekspresi BMP 250

Tabel 5.8 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan T-test pada ekspresi OPN... 53

DAFTAR SINGKATAN

ALP : *Alkaline Phosphatase*

BMP-2 : *Bone Morphogenetic Protein* 2

BSP : *Bone Sialoprotein*

$Ca(OH)_2$: Kalsium Hidroksida

$CaCO_3$: Kalsium Karbonat

CGRP : *Calcitonin Gene-Related Peptide*

CMS : *Calcium Silicate*

DAB : Diamino Benzidine

DEJ : *Dentino Enamel Junction*

DPP : *Dentin Phosphoprotein*

DPSC : *Dental Pulp Stem Cell*

DSP : *Dentin Sialoprotein*

DSPP : *Dentin Sialophosphoprotein*

ERK : *Extracelluler-Signal-Regulated Kinase*

FN : Fibronectin

HA : Hidroksi Apatit

LDB : Laboratorium Dasar Bersama

LPS : Lipopolisakarida

mRNA : *Messenger Ribonucleic Acid*

MTA : *Mineral Trioxide Aggregate*

NKA : Neurokinin A

OCN : *Osteocalcin*

OPN : Osteopontin

RMGIC : *Resin Modified Glass Ionomer Cement*

SP : *Substance P*

TLR : *Toll-Like Receptor*

TNF : *Tumor Necrosis Factor*