

**PENGARUH KOMBINASI KALSIUM HIDROKSIDA
DAN CHITOSAN SEBAGAI BAHAN *PULP CAPPING*
TERHADAP PENINGKATAN EKSPRESI *OSTEOPONTIN*
DAN *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2*
PADA PEMBENTUKAN *DENTIN REPARATIVE*
DALAM KONDISI OSTEOPOROSIS**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh:

**RAVISHINTA EFTY ARWINDA
021918036317**

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

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH KOMBINASI KALSIUM HIDROKSIDA
DAN CHITOSAN SEBAGAI BAHAN *PULP CAPPING*
TERHADAP PENINGKATAN EKSPRESI *OSTEOPONTIN*
DAN *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2*
PADA PEMBENTUKAN *DENTIN REPARATIVE*
DALAM KONDISI OSTEOPOROSIS**

KARYA TULIS AKHIR

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

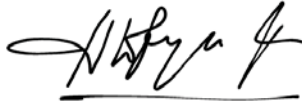
Oleh :

RAVISHINTA EFTY ARWINDA

NIM : 021918036317

Menyetujui

Pembimbing Utama



Dr. Dian Agustin W., drg., Sp.KG(K)
NIP. 197108201999032001

Pembimbing Kedua



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

Mengetahui,
Koordinator Program Studi



Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes.,SpKG(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 6 Juni 2022

PANITIA PENGUJI

Ketua : 1. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg MS., SpKG (K)

Anggota : 2. Setyabudi, drg., M.Kes., SpKG (K)

3. Devi Eka Juniarti, drg., M.Kes., Sp.KG (K)

4. Dr. Dian Agustin W, drg., Sp.KG (K)

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

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Ravishinta Efty Arwinda

NIM : 021918036317

Program Studi : Spesialis Ilmu Konservasi Gigi

Jenjang : Spesialis

Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

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

PENGARUH KOMBINASI KALSIUM HIDROKSIDA DAN CHITOSAN SEBAGAI BAHAN *PULP CAPPING* TERHADAP PENINGKATAN EKSPRESI *OSTEOPONTIN* DAN *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2* PADA PEMBENTUKAN *DENTIN REPARATIVE* DALAM KONDISI OSTEOPOROSIS

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, 6 Juni 2022
Yang membuat pernyataan

A handwritten signature in black ink is written over a 1000 Rupiah Indonesian banknote. The banknote is partially visible, showing the number '1000' and the word 'RETAI'.

Ravishinta Efty Arwinda
NIM 021918036317

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala Puji Syukur bagi Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan rahmat Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Akhir dengan judul “Pengaruh Kombinasi Kalsium Hidroksida dan Chitosan Terhadap Peningkatan Ekspresi *Osteopontin* dan *Runt-related Transcription Factor 2* pada pembentukan *Dentin Reparative* dalam Kondisi Osteoporosis”. 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 periode 2021, yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes Sp.KG(K) selaku Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi periode 2021, yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini.
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Koordinator Program Studi Ilmu Konservasi Gigi periode 2021 yang telah memberikan

ijin pembuatan karya tulis ini juga selaku pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.

5. Dr. Dian Agustin W, drg., Sp.KG (K) selaku Dosen Wali dan Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan pada penulisan karya tulis akhir ini, serta mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pengerjaan, sehingga karya tulis akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Ari Subiyanto, drg., MS., Sp.KG (K) selaku Dosen Wali dan pembimbing Utama periode 2019-2021 yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
7. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg MS., SpKG (K), Setyabudi, drg., M.Kes., SpKG (K) dan Devi Eka Juniarti, drg., M.Kes., SpKG (K) selaku penguji pra-proposal, proposal dan penguji karya tulis akhir yang telah memberikan saran dan kritik dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
8. 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.
9. Wibi Riawan, S.Si., M. Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini
10. Orang tua dan keluarga tercinta atas dukungan dan doanya selama penyusunan karya tulis akhir.

11. Teman-teman program Pendidikan dokter gigi Spesialis Konservasi Gigi Angkatan 2019 atas semangat dan bantuannya selama penyusunan karya tulis akhir.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya tulis akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Surabaya, 6 Juni 2022

Penulis

ABSTRACT

THE EFFECT OF CALCIUM HYDROXIDE AND CHITOSAN COMBINATION AS A PULP CAPPING MATERIAL ON THE INCREASED EXPRESSION OF OSTEOPONTIN AND RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2 IN DENTINE REPARATIVE FORMATION IN OSTEOPOROSIS

Ravishinta Efty A*, Dian Agustin W.***, Galih Sampoerno**

* Resident of Conservative Dentistry Department, Faculty of Dental Medicine, Universitas Airlangga, Indonesia

*** Staff of Conservative Dentistry Department, Faculty of Dental Medicine, Universitas Airlangga, Indonesia

Background : Untreated caries will reach the pulp and cause the pulp to be exposed. Direct pulp capping is performed to maintain the vitality of the exposed pulp by applying a dressing material to facilitate reparative dentinogenesis as a biological seal. Osteoporosis increases oxidative stress and inflammation therefore dentinogenesis was disrupted. Calcium hydroxide is the gold standard for pulp capping, because it has the ability to form a reparative dentin. Dentin bridge reparative produced by calcium hydroxide is not homogeneous, there is a tunnel defect. Chitosan is a natural polysaccharide biopolymer, non-toxic, biocompatible, biodegradable, has broad spectrum antimicrobial properties, anti-inflammatory and anti-oxidant. The expression of Osteopontin (OPN) and Runt-related Transcription Factor 2 (RUNX2) is a specific biochemical marker of differentiation of pulp stem cells or progenitor cells to odontoblast like cells. OPN and RUNX2 secretion expressed by odontoblast-like cells can be a sign of reparative dentin formation in osteoporosis.

Objective : Analizing the effect of calcium hydroxide and chitosan combination on the increased expression of OPN and RUNX2 on day 1, day 3 and day 6 in reparative dentin formation in osteoporosis.

Material and Methods: This experimental study using a total of 42 wistar rat. Ovariectomized rat was performed to induced osteoporosis and verified by tunnel assay after 3 months. Rats divided into 6 groups, the control group on day 1, day 3 and day 6, the treatment group on day 1, day 3 and day 6. Necropsy was performed and teeth samples were obtained. After being decalcified, specimens underwent anatomical histopathology evaluation under light microscope to determine the direction of the perforation. Immunohistochemical examination was performed to determine the odontoblast like cells that express OPN and RUNX2. The results then statistically evaluated by Shapiro Wilk and independent t test.

Results: There was a significant increase in the expression of OPN and RUNX2 in the combination of calcium hydroxide with chitosan compared to the control group in osteoporosis.

Conclusion: In osteoporosis, the expression of OPN and RUNX2 in the combination of calcium hydroxide with chitosan on day 1, day 3 and day 6 was higher than calcium hydroxide.

Keywords: *Calcium hydroxide, chitosan, pulp capping, reparative dentin, OPN, RUNX2*

DAFTAR ISI

COVER	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR.....	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv

BAB 1 PENDAHULUAN.....1

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat.....	6
1.4.1 Manfaat Teoritis	6
1.4.2 Manfaat Praktis	6

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....7

2.1 Osteoporosis	7
2.1.1 Hubungan Osteoporosis dengan Odontogenesis	9
2.2 Proses Healing Pulpa.....	11
2.2.1 <i>Dentinogenesis Reparative</i>	12
2.2.2 RUNX-2	13

2.2.3	OPN.....	14
2.3	Pulp Capping	16
2.3.1	Indirect Pulp Capping	16
2.3.2	Direct Pulp Capping.....	17
2.4	Kalsium Hidroksida.....	18
2.4.1	Mekanisme Kerja Kalsium Hidroksida.....	19
2.4.2	Kegagalan Kalsium Hidroksida	20
2.5	Chitosan.....	22
2.5.1	Hubungan Chitosan dengan <i>Ekstra Celular Matrix</i> (ECM)	24
2.5.2	Chitosan sebagai antimikroba	24
2.5.3	Chitosan sebagai antioksidan	25
2.5.4	Chitosan sebagai anti-inflamasi	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....		28
3.1	Kerangka Konsep	28
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		32
4.1	Jenis Penelitian	32
4.2	Rancangan Penelitian	32
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	33
4.3.1	Tempat Penelitian	33

4.3.2 Waktu Penelitian.....	33
4.4.1 Sampel Penelitian	33
4.4.2 Kriteria Sampel Penelitian	33
4.4.3 Jumlah Sampel.....	34
4.5 Variabel Penelitian	35
4.5.1 Variabel Bebas.....	35
4.5.2 Variabel Terikat	35
4.5.3 Variabel Terkendali	35
4.6 Definisi Operasional.....	35
4.7 Alat dan Bahan	37
4.7.1 Alat Penelitian.....	37
4.7.2 Bahan Penelitian	37
4.8 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	37
4.8.1 Prosedur Ovariohisterektomi	37
4.8.2 Prosedur <i>pulp capping</i>	39
4.8.3 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	39
4.8.4 Pembuatan Kombinasi Kalsium Hidroksida dengan chitosan.....	40
4.8.5 Pembuatan Campuran Kalsium Hidroksida dengan Akuades	40
4.8.6 Tahap Persiapan.....	40
4.8.7 Tahap Pengelompokan Subyek.....	41
4.8.9 Pengamatan Pada Hewan Coba	43

4.8.9.1	Pembuatan Sediaan Preparat Histologis.....	43
4.8.9.2	Pengamatan Preparat Histologi	44
4.8.9.3	Prosedur <i>Immunohistochemistry</i> (IHC)	44
4.8.9.4	Prosedur Immunohistokimia dan Penghitungan Ekspresi Osteopontin (<i>OPN</i>) dan Runt-related Transcription Factor 2 (<i>RUNX2</i>)	45
4.8.9.5	Interpretasi Hasil	47
4.9	Analisis Data	48
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS STATISTIK.....		50
5.1	Ekspresi <i>OPN</i>	50
5.2	Ekspresi <i>RUNX2</i>	53
5.3	Perbandingan ekspresi <i>OPN</i> antara aplikasi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kombinasi chitosan	55
5.4	Perbandingan ekspresi <i>RUNX2</i> antara aplikasi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kombinasi chitosan	57
5.5	Hasil Pemeriksaan Immunohistokimia Osteoporosis	59
BAB 6 PEMBAHASAN.....		60
BAB 7 PENUTUP.....		65
7.1	Kesimpulan.....	65
7.2	Saran	65
DAFTAR PUSTAKA.....		66
LAMPIRAN.....		71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Faktor resiko osteoporosis	8
Gambar 2.1 Dua tipe dentinogenesis tersier	12
Gambar 2.3 Diagram skematis yang meringkas berbagai faktor yang berperan dalam kegagalan prosedur <i>pulp capping</i> Ca(OH)	21
Gambar 2.4 Struktur kimia chitin dan chitosan	22
Gambar 2.5 Proses pembuatan chitosan.....	23
Gambar 5.1 Grafik hasil pengukuran ekspresi OPN	56
Gambar 5.2 Ekspresi OPN dengan pemeriksaan imunohistokimia	57
Gambar 5.3 Grafik hasil pengukuran ekspresi OPN	58
Gambar 5.4 Ekspresi RUNX2 dengan pemeriksaan imunohistokimia	59
Gambar 5.5 Hasil pemeriksaan imunohistokimia osteosit <i>os. Vertebrae</i>	59

DAFTAR SINGKATAN

ROS	:	<i>Reactive Oxygen Species</i>
NOX	:	<i>NADPH oxidase</i>
ECM	:	<i>Extra Cellular Matrix</i>
OPN	:	<i>Osteopontin</i>
RUNX2	:	<i>Runt-related transcription factor</i>
OLC	:	Odontoblast like-cells
NFKB	:	<i>Nuclear factor-kappaB</i>
IKK	:	Inhibitory kappa B kinases
CAOH	:	Kalsium Hidroksida
SD	:	Standar Deviasi
OH	:	Hidroksil
NH	:	Amina
NCP	:	<i>Non-Collagenous Protein</i>
ER	:	Estrogen reseptor
PBS	:	Phosphate Buffer Saline