

**PENINGKATAN EKSPRESI ALKALINE
PHOSPHATASE (ALP) PASCA IMPLANTASI
DEMINERALIZED DENTINE MATERIAL MEMBRANE
(DDMM) SEBAGAI *GUIDED BONE REGENERATION*
(GBR) PADA DEFEK TULANG ALVEOLAR**

SKRIPSI



Oleh :

LAURENSIA NOVEN INDIRA LAKSITA

NIM 021811133159

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

**PENINGKATAN EKSPRESI ALKALINE
PHOSPHATASE (ALP) PASCA IMPLANTASI
DEMINERALIZED DENTINE MATERIAL MEMBRANE
(DDMM) SEBAGAI *GUIDED BONE REGENERATION*
(GBR) PADA DEFEK TULANG ALVEOLAR**

SKRIPSI



Oleh :

LAURENSIA NOVEN INDIRA LAKSITA

NIM 021811133159

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENINGKATAN EKSPRESI ALKALINE
PHOSPHATASE (ALP) PASCA IMPLANTASI
DEMINERALIZED DENTINE MATERIAL MEMBRANE
(DDMM) SEBAGAI *GUIDED BONE REGENERATION*
(GBR) PADA DEFЕК TULANG ALVEOLAR**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Airlangga Surabaya**

Oleh:

**LAURENSIA NOVEN INDIRA LAKSITA
NIM 021811133159**

Menyetujui

Pembimbing Utama



**Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes.
NIP: 196911221996012001**

Pembimbing Serta



**Prof. Dr. Indah L., drg., M.Kes.
NIP: 196310301989022001**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 24 Januari 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes. (Pembimbing Utama)
2. Prof. Dr. Indah Listiana, drg., M.Kes. (Pembimbing Serta)
3. Aqsa Sjuhada Oki, drg. M.Kes. (Ketua Penguji)
4. Dr. Ira Arundina, drg., M.Si. (Anggota Penguji)
5. Tantiana, drg., M.Kes. (Anggota Penguji)

SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Laurensia Noven Indira Laksita

NIM : 021811133159

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul :

PENINGKATAN EKSPRESI ALKALINE PHOSPHATASE (ALP)
PASCA IMPLANTASI DEMINERALIZED DENTINE MATERIAL
MEMBRANE (DDMM) SEBAGAI GUIDED BONE REGENERATION
(GBR) PADA DEFEK TULANG ALVEOLAR

Apabila pada suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 21 Januari 2022



LAURENSIA NOVEN INDIRA LAKSITA

NIM. 021811133159

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas hikmat, berkat, dan penyertaan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Peningkatan Ekspresi Alkaline Phosphatase (ALP) Pasca Implantasi *Demineralized Dentine Material Membrane (DDMM)* Sebagai *Guided Bone Regeneration (GBR)* Pada Defek Tulang Alveolar”** dengan baik. Dalam proses penulisan skripsi ini, saya mendapatkan banyak bantuan, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, perkenankan saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.H., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Aqsa Sjuhada Oki, drg. M.Kes. selaku ketua departemen Biologi Oral periode 2020-2025 yang telah mengizinkan untuk mengerjakan skripsi di departemen Biologi Oral serta selaku ketua penguji skripsi yang telah memberikan tanggapan, saran, dan evaluasi yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini.
3. Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes. selaku pemilik pohon penelitian DDMM dan pembimbing utama yang telah rela meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan arahan serta bimbingan pada penulis mulai dari pembuatan proposal hingga skripsi.
4. Prof. Dr. Indah Listiana, drg., M.Kes. selaku pembimbing serta yang selalu memberikan bimbingan, arahan, dan evaluasi kepada penulis selama proses penyusunan skripsi.
5. Dr. Ira Arundina, drg., M.Si dan Tantiana, drg., M.Kes selaku anggota penguji skripsi yang telah memberi saran serta arahan yang membangun dan sangat

berarti untuk kesempurnaan skripsi ini.

6. Kedua orang tua saya, Lukas Akbar Abriari dan Veronika Winarti Agustiningtyas; kakak saya, Laurensius Nevin Inderadewa; adik saya, Lutgardis Novin Indira Pratista; sepupu saya Teo Farrel; tante saya Novita serta seluruh keluarga besar atas doa, motivasi, dan dukungan, baik secara moral maupun material yang telah diberikan kepada saya selama proses penyusunan skripsi.
7. Teman-teman FKG Unair, Yaffa, Priscilla, Zara, Zhara, Shafira, Talitha, Nadine, Astrid, Laily, Novi, teman-teman PBL L, teman-teman SK3, Safitri Jaya, Steven Guitomo, serta teman-teman Odontoblast 2018 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, atas bantuan, dukungan, dan motivasi kepada saya selama proses pembuatan skripsi.
8. Kakak tingkat saya Agnes Paramitha Nastiti dan Mas Fatan Fakihardi yang senantiasa membantu penulis dalam penyusunan skripsi.
9. Seluruh teman-teman skripsi di Departemen Biologi Oral 2021 dan pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang terkait dengan pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun akan selalu penulis harapkan. Semoga skripsi ini memberikan manfaat dan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan, masyarakat, bangsa dan negara.

Surabaya, 21 Januari 2022

Penulis

ABSTRACT

**THE INCREASE OF ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) EXPRESSION
POST DEMINERALIZED DENTINE MATERIAL MEMBRANE (DDMM)
IMPLANTATION AS GUIDED BONE REGENERATION (GBR)
ON ALVEOLAR BONE DEFECTS**

Background: Alveolar bone defect is one of the most common problem to the oral cavity. Soft tissue infiltration to the defect area will inhibit bone formation. The main concept of Guided Bone Regeneration (GBR) is to prevent the infiltration of non-osteogenic cells such as fibroblasts to the bone defects. Demineralized Dentin Material Membrane (DDMM) is a bioresorption barrier membrane made from bovine dentine. Alkaline phosphatase (ALP) plays an important role in bone mineralization by increasing the availability of inorganic phosphate which will then binds with calcium ion and produce hydroxyapatite to conduct mineralization.

Purpose: To prove the increase in ALP expression after DDMM implantation as GBR in wistar rat alveolar bone defects. **Materials and Methods:** 90 male *Rattus norvegicus* rats aged 2-3 months weighing 250-300 grams were divided into 2 control groups and 3 treatment groups. K(-) without membrane implantation, K(+) with BPCM implantation, K1 with DDMM implantation, K2 with combination of DDMM+graft; and K3 with combination of BPCM+graft. On the 7th, 14th, 21st, and 28th days after implantation, sample was taken. Immunohistochemistry (IHC) staining was performed to see ALP expression. **Results:** There was an increase in ALP expression on day 7, 14, 21, and 28 after membrane implantation as a GBR. There is no significant difference between K2 compared to K(+). However, there was a significant difference between the membrane-only implanted group and the membrane+graft-combined group. **Conclusion:** There is an increase in the expression of ALP after DDMM implantation as GBR in the alveolar bone defects of wistar rats.

Keywords: DDMM, GBR, ALP, IHC

ABSTRAK

**PENINGKATAN EKSPRESI ALKALINE PHOSPHATASE (ALP)
PASCA IMPLANTASI *DEMINERALIZED DENTINE MATERIAL
MEMBRANE* (DDMM) SEBAGAI *GUIDED BONE REGENERATION*
(GBR) PADA DEFЕК TULANG ALVEOLAR**

Latar Belakang: Defek tulang alveolar merupakan salah satu kerusakan pada jaringan keras rongga mulut yang sering terjadi. Adanya infiltrasi jaringan lunak pada jaringan keras menghambat pembentukan tulang. Penggunaan prosedur GBR didasarkan pada kemampuannya untuk berfungsi sebagai barrier yang mencegah ekspresi sel non osteogenik contohnya fibroblast pada lokasi defek tulang. DDMM merupakan membrane barrier bioresorbsi yang dibuat dengan bahan dasar dentine bovine yang digunakan untuk melakukan prosedur GBR. *Alkaline phosphatase* (ALP) berperan penting dalam mineralisasi tulang dengan meningkatkan ketersediaan fosfat inorganik yang nantinya akan berikatan dengan ion kalsium untuk membentuk hidroksiapatit. **Tujuan:** Membuktikan peningkatan ekspresi ALP pasca implantasi *Demineralized Dentin Material Membrane* (DDMM) sebagai *Guided Bone Regeneration* (GBR) pada defek tulang alveolar tikus wistar. **Bahan dan Metode Penelitian:** 90 ekor Tikus *Rattus norvegicus* jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 250-300 gram dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok K(-) tanpa implantasi membrane, kelompok K(+), implantasi BPCM, K1 implantasi DDMM, K2 dengan kombinasi implantasi DDMM+graft; dan K3 kombinasi implantasi BPCM+graft. Pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 pasca implantasi jaringan diambil, lalu dilakukan pewarnaan *Immunohistochemistry* (IHC) untuk melihat ekspresi ALP. **Hasil:** Terdapat peningkatan dari ekspresi ALP pada hari ke 7, 14, 21, dan 28 pasca implantasi membrane sebagai prosedur GBR. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara K2 dibandingkan K(+). Terdapat perbedaan signifikan antara kelompok dengan implantasi membrane saja dengan kelompok yang dikombinasikan dengan graft. **Kesimpulan:** Terdapat peningkatan dari ekspresi ALP pasca implantasi DDMM sebagai GBR pada defek tulang alveolar tikus wistar.

Kata Kunci: DDMM, GBR, ALP, IHC

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN.....	i
SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
<i>ABSTRACT</i>	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	6
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tulang Alveolar	7
2.2 Defek Tulang Alveolar.....	8
2.3 Penyembuhan Luka Jaringan Keras.....	9
2.3.1 Fase Hemostasis.....	10
2.3.2 Fase Proliferasi	11
2.3.3 Fase Remodelling	12
2.4 Osteoblastogenesis	14

2.5 Metabolisme Fosfat pada Tulang.....	16
2.5.1 <i>Transport</i> ECFPi Menujudan Keluar dari Tulang	17
2.5.2 Transport Pi di dalam Tulang dari Osteoblast menuju Kristal	
Hidroksiapatit.....	17
2.6 Alkaline Phosphatase	18
2.7 <i>Guided Bone Regeneration</i>	22
2.8 <i>Demineralized Dentine Material Membrane</i> (DDMM).....	24
2.9 <i>Bovine Pericardium Collagen Membrane</i> (Jason® Membrane).....	25
2.10 <i>Bone Graft</i>	27
2.10.1 <i>Autograft</i>	28
2.10.2 <i>Allograft</i>	28
2.10.3 <i>Xenograft</i>	29
2.11 <i>Rattus novergicus Galur Wistar</i>	29
2.12 Imunohistokimia	30
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	32
3.1 Kerangka Konseptual	32
3.2 Hipotesa Penelitian	34
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	35
4.1 Jenis Penelitian	35
4.2 Rancangan Penelitian.....	35
4.3 Populasi Penelitian.....	36
4.4 Sampel Penelitian.....	36
4.4.1 Kriteria Inklusi Subyek.....	36
4.4.2 Jumlah Sampel Penelitian.....	36
4.5 Variabel Penelitian.....	37
4.5.1 Variabel Bebas	37
4.5.2 Variabel Terikat.....	37
4.5.3 Variabel Terkendali	37
4.6 Definisi Operasional Variabel	38
4.6.1 <i>Demineralized Dentin Material Membrane</i> (DDMM).....	38
4.6.2 <i>Bovine Pericardium Collagen Membrane</i> (BPCM)-Jason® Membrane.....	38
4.6.3 <i>Novocor-Plus Graft</i>	38
4.6.4 <i>Alkaline Phosphatase</i> (ALP)	39
4.6.5 <i>Critical Size Defect</i> pada <i>Alveolar</i> Tikus	39

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	39
4.8 Alat dan Bahan	39
4.8.1 Alat yang Digunakan.....	39
4.8.2 Bahan yang Digunakan	40
4.9 Cara Kerja.....	41
4.9.1 Pemeliharaan Hewan Coba	41
4.9.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba.....	41
4.9.3 Prosedur Pembuatan <i>Demineralized Dentine Material Membrane</i> (DDMM).....	42
4.9.4 Prosedur Pembuatan <i>Critical Size Defect</i> pada <i>Alveolar</i> Tikus.....	43
4.9.5 Penanaman Membran pada Hewan Coba	44
4.9.6 Pengambilan Spesimen Penelitian.....	44
4.9.7 Pemrosesan Jaringan	45
4.9.8 Pengamatan Ekspresi ALP dengan <i>Immunohistochemistry</i> (IHC)	46
4.10 Analisa Statistik.....	48
4.11 Alur Penelitian.....	49
BAB 5 HASIL DAN ANALISA DATA	50
5.1 Hasil Analisis Deskriptif Ekspresi ALP.....	50
5.2 Analisis Data.....	52
5.2.1 Uji Normalitas Jumlah Ekspresi ALP	52
5.2.2 Uji Homogenitas Jumlah Ekspresi ALP	53
5.3 Uji Beda <i>One Way Anova</i> Jumlah Ekspresi ALP	53
BAB 6 PEMBAHASAN.....	58
BAB 7 PENUTUP	69
7.1 Kesimpulan.....	69
7.2 Saran.....	69
DAFTAR PUSTAKA.....	70
LAMPIRAN	77

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Rata-Rata Jumlah Ekspresi ALP Setiap Kelompok Perlakuan.....	50
Tabel 5.2	Hasil Uji One Way Anova Jumlah Ekspresi ALP	54
Tabel 5.3	Hasil Uji Post-Hoc (Tukey) Jumlah Ekspresi ALP	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Fase penyembuhan tulang pasca ekstraksi gigi.....	14
Gambar 2.2	Peran Pi dalam Mineralisasi Tulang pada Matriks Vesikel (MVs)	18
Gambar 2.3	Ribbon diagram dari struktur protein L/B/K ALP	20
Gambar 2.4	Functional region dari TNSALP	21
Gambar 2.5	Ilustrasi GBR.....	24
Gambar 2.6	Jason® Membrane yang bersifat tear-resistant	27
Gambar 2.7	Ekspresi ALP pada sel osteoblast.....	31
Gambar 4.1	Skema aplikasi membran di atas defek dibuat pada daerah mandibula tikus wistar	44
Gambar 5.1	Grafik rata-rata jumlah ekspresi ALP pada setiap kelompok	51
Gambar 5.2	Hasil pengamatan ekspresi ALP.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Sertifikat Etik.....	77
Lampiran 2.	Dokumentasi Penelitian.....	78

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
ATP	: <i>Adenosine Tri-Phosphate</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
BMP2	: <i>Bone Morphogenetic Protein 2</i>
BMPR I	: <i>Bone Morphogenetic Protein Receptor type 1</i>
BMPR II	: <i>Bone Morphogenetic Protein Receptor type 2</i>
BPCM	: <i>Bovine Pericardium Collagen Membrane</i>
DDM	: <i>Demineralize Dentine Matrix</i>
DDMM	: <i>Demineralize Dentine Material Membrane</i>
DFBA	: <i>Demineralize Freeze-Dried Bone Allograft</i>
EMP	: <i>Enamel Matrix Protein</i>
ECF	: <i>Extracellular Fluid</i>
ePTFE	: <i>Expanded polytetrafluoroethylene</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GCAP	: <i>Germ-cell Alkaline Phosphatase</i>
GBR	: <i>Guided Bone Regeneration</i>
GTR	: <i>Guided Tissue Regeneration</i>
HA	: <i>Hydroxyapatite</i>
HCl	: <i>Asam Klorida</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IHC	: <i>Imunohistokimia</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IAP	: <i>Intestine Alkaline Phosphatase</i>
L/B/K ALP	: <i>Liver/Bone/Kidney Alkaline Phosphatase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDSC	: <i>Muscle-Derived Stromal Cell</i>
mRNA	: <i>Messenger Riboxy Nucleid Acid</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
MVs	: <i>Matrix Vesicles</i>
NaCl	: <i>Natrium Klorida</i>

NCP	: <i>Noncollagenous Protein</i>
OC	: <i>Osteocalcin</i>
OPN	: <i>Osteopontin</i>
OSX	: <i>Osterix</i>
PBS	: <i>Phosphat Buffer Saline</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
Pi	: <i>Inorganic Phosphate</i> (fosfat inorganik)
Ppi	: <i>Phyrophosphate</i>
PC	: <i>Phosphocoline</i>
PEA	: <i>Phosphoetanolamine</i>
PLAP	: <i>Placenta Alkaline Phosphatase</i>
rhBMP-2	: <i>Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2</i>
RUNX2	: <i>Runt-related transcription factor 2</i>
TGF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor beta</i>
TNSALP	: <i>Tissue non-Specific Alkaline Phosphatase</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>