

**EKSPRESI VEGF DAN BMP-2 PADA SEL
OSTEOBLAS YANG DIPAPAR KOMBINASI
POLYMETHYLMETHACRYLATE (PMMA) DAN
HYDROXYAPATITE (HAp)**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

JONATHAN STEVEN HANANTA
021918056305

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

LEMBAR PENGESAHAN

**EKSPRESI VEGF DAN BMP-2 PADA SEL
OSTEOBLAS YANG DIPAPAR KOMBINASI
POLYMETHYLMETHACRYLATE (PMMA) DAN
HYDROXYAPATITE (HAp)**

KARYA TULIS AKHIR

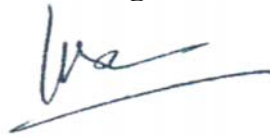
Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Menyelesaikan Program Dokter Gigi Spesialis Periodonsia pada
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

Oleh :

JONATHAN STEVEN HANANTA
021918056305

Menyetujui:

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Chiquita Prahasanti, drg., Sp.Perio(K)
NIP. 195809091985032001

Pembimbing Serta



Noer Ulfah, drg., MKes., Sp.Perio(K)
NIP. 196010101987022001

**Mengetahui,
Koordinator Program Studi**



Prof. Dr. Agung Krismariono, drg., MKes., Sp.Perio(K)
NIP. 196803071996011001

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

PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Karya Tulis Akhir Ini Telah Diuji Pada

Hari : Senin

Tanggal : 4 Juli 2022

PANITIA PENGUJI

Ketua : 1. Dr. Shafira Kurnia S., drg., Sp.Perio(K)

Anggota : 2. Prof. Dr. Chiquita Prahasanti, drg., Sp.Perio(K)

3. Noer Ulfah., drg., MKes., Sp.Perio(K)

4. Dr. Eka Fitria Augustina, drg., M.Kes., Sp.Perio(K)

5. Irma Josefina Savitri, drg., Ph.D., Sp.Perio(K)

6. Dr. Banun Kusumawardani, drg., M.Kes.

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawahini, saya :

Nama : Jonathan Steven Hananta, drg
NIM : 021918056305
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Periodonsia
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Spesialis (Sp)

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

EKSPRESI VEGF DAN BMP-2 PADA SEL OSTEOBLAS YANG DIPAPAR KOMBINASI POLYMETHYLMETHACRYLATE (PMMA) DAN HYDROXYAPATITE (HAp)

Apabila 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, 4 Juli 2022
Yang membuat pernyataan



Jonathan Steven Hananta
Nim 021918056305

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memanjatkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas berkat rahmat dan karunia Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “EKSPRESI VEGF DAN BMP-2 PADA SEL OSTEOBLAS YANG DIPAPAR KOMBINASI POLYMETHYLMETHACRYLATE (PMMA) DAN HYDROXYAPATITE (HAp)” Perkenankanlah saya mengucapkan terimakasih yang sebesar - besarnya kepada:

1. 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.
2. Prof. Dr. Ernie Maduratna, drg., M.Kes.,Sp.Perio(K) selaku Kepala Departemen Periodonsia yang telah memberikan ijin pembuatan penyusunan proposal hingga karya tulis akhir.
3. Prof. Dr. Agung Krismariono, drg., M.Kes., Sp.Perio(K) selaku Koordinator Program Studi Spesialis Periodonsia yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir dan memberikan masukan untuk kesempurnaan karya tulis ini.
4. Dr. Shafira Kurnia S., drg., Sp. Perio(K) selaku ketua tim penguji yang telah memberikan arahan untuk kesempurnaan karya tulis ini.

5. Prof. Dr. Chiquita Prahasanti S., drg., Sp.Perio(K) selaku pembimbing ketua yang telah memberikan bimbingan dan arahan untuk kesempurnaan karya tulis ini.
6. Noer Ulfah, drg., MKes., Sp. Perio(K) selaku pembimbing serta yang memberikan kritik dan saran untuk pembuatan karya tulis ini supaya lebih baik.
7. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terimakasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.
8. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes. selaku kepala boratorium CDAST Universitas Jember yang telah membimbing dan membantu dalam proses penelitian.
9. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.
10. Keluarga tercinta, yang telah menyertai setiap langkah saya, tiada hentimendoakan dan menguatkan perjuangannya.
11. Teman-teman angkatan 2019 Periodonsia Universitas Airlangga Surabaya yang saling membantu dan memberikan semangat selama mengikuti pendidikan.
12. Seluruh pihak yang turut serta membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna dan masih perludilakukan penelitian lebih lanjut. Dengan demikian kritik dan saran sangat diperlukan untuk penyempurnaan penelitian di waktu yang akan datang.

Surabaya, 4 Juli 2022

Penulis

ABSTRACT

**EXPRESSION OF VEGF AND BMP-2 IN CELLS
OTEOBLAS EXPOSED TO A COMBINATION OF
POLYMETHYLMETHACRYLATE (PMMA) AND
HYDROXYAPATITE (HAp)**

Introduction: Periodontal tissue defect due to periodontitis is permanent defect that can cause teeth to fall out. Dental implants are an ideal choice for tooth loss. The success of the implant depends on the osseointegration of the implant material and bone. The material that can be used as implant material is polymethylmethacrylate (PMMA), but this material has a weakness in its bioactivity. To overcome these weaknesses, hydroxyapatite (HAp) is used. The HAp material is found in preparations that have gone through good manufacturing practice (HApGMP) and are sourced from limestone (CaCO_3) through balai besar keramik (HApBBK). By observing the expression of VEGF and BMP-2 in osteoblast cells in vitro with ICC, it can be seen the potential of combination PMMA-HApGMP and PMMA-HApBBK as implant candidate materials. **Aim:** The aim of this study was to observe the expression of VEGF and BMP-2 in cultured osteoblasts exposed to PMMA-HApGMP or PMMA-HApBBK. **Methods:** Twenty-four fetal rat calvarie osteoblast cell cultures were randomly divided into 6 groups, such as a 7-day control group, a 14-day control group, a 7-day PMMA-HApGMP group, a 14-day PMMA-HApGMP group, a 7-day PMMA-HApBBK group, and the 14-day PMMA-HApBBK group. The expression of VEGF and BMP-2 was analyzed by immunocytochemical analysis. **Results :** Analysis of the results of one-way ANOVA with a significance value of 0.000 ($p < 0.05$). BMP-2 expression increased in the 7 day and 14 day groups and VEGF expression increased in the 7 day and 14 day groups after exposure to PMMA-HApGMP or PMMA-HApBBK. **Conclusion:** Application of PMMA-HApGMP or PMMA-HApBBK can increase the expression of VEGF and BMP-2, this can accelerate angiogenesis and osteogenesis in the bone regeneration process.

Keywords: hydroxyapatite, polymethylmethacrylate, BMP-2, VEGF

ABSTRAK

**EKSPRESI VEGF DAN BMP-2 PADA SEL
OSTEOBLAS YANG DIPAPAR KOMBINASI
POLYMETHYLMETHACRYLATE (PMMA) DAN
HYDROXYAPATITE (HAp)**

Pendahuluan: Kerusakan jaringan periodontal akibat periodontitis adalah kerusakan permanen yang dapat menyebabkan gigi tanggal. Implan gigi merupakan pilihan yang ideal dalam kehilangan gigi. Keberhasilan implan bergantung pada osseointegrasi bahan implant dan tulang. Bahan yang dapat digunakan sebagai bahan implan adalah *polymethylmethacrylate* (PMMA), namun bahan ini memiliki kelemahan dalam bioaktivitasnya. Untuk mengatasi kelemahan tersebut digunakan bahan *hydroxyapatite* (HAp). Bahan HAp ditemukan dalam sediaan yang telah melalui *good manufacturing practice* (HApGMP) dan bersumber dari baru kapur (CaCO_3) melalui balai besar keramik (HApBBK). Dengan mengamati ekspresi VEGF dan BMP-2 pada sel osteoblast secara *in vitro* dengan ICC dapat dilihat potensi PMMA-HApGMP dan PMMA-HApBBK sebagai bahan kandidat implan. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamati ekspresi VEGF dan BMP-2 pada kultur sel osteoblas yang dipapar dengan PMMA-HApGMP atau PMMA-HApBBK. **Metode:** Dua puluh empat kultur sel osteoblas *fetal rat calvarie* dibagi secara acak menjadi 6 kelompok, seperti kelompok kontrol 7 hari, kelompok kontrol 14 hari, kelompok PMMA-HApGMP 7 hari, kelompok PMMA-HApGMP 14 hari, kelompok PMMA-HApBBK 7 hari, dan kelompok PMMA-HApBBK 14 hari. Ekspresi VEGF dan BMP-2 dianalisis dengan analisis imunohistokimia. **Hasil:** Analisis hasil dari ANOVA satu arah dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Ekspresi BMP-2 meningkat pada kelompok 7 hari dan 14 hari dan ekspresi VEGF meningkat pada kelompok 7 hari dan 14 hari setelah paparan dengan PMMA-HApGMP atau PMMA-HApBBK. **Kesimpulan:** Aplikasi PMMA-HApGMP atau PMMA-HApBBK dapat meningkatkan ekspresi VEGF dan BMP-2, hal ini dapat mempercepat angiogenesis dan osteogenesis dalam proses regenerasi tulang. **Kata kunci:** *hydroxyapatite*, *polymethylmethacrylate*, BMP-2, VEGF

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Penetapan Panitia Penguji	iii
Surat Pernyataan Orisinalitas	iv
Ucapan Terima Kasih	v
<i>ABSTRACT</i>	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Grafik	xv
Daftar Lampiran	xvi
Daftar Singkatan.....	xvii
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4

1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5
 BAB 2	 TINJAUAN PUSTAKA
2.1. Penyakit Periodontal.....	6
2.2. Implan	7
2.2.1. Osseointegrasi.....	7
2.2.2.1. <i>Remodelling</i> Tulang.....	8
2.2.2.2. <i>Vascular endothelial growth factor</i> (VEGF).....	9
2.2.2.3. Bone Morphogenetic Protein.....	10
2.2.2. Material Implan	13
2.2.2.1. <i>Hydroxiapatite</i> (HAp)	15
2.2.2.2. <i>Polymethylmethacrylate</i> (PMMA)	16
 BAB 3	 KERANGKA KONSEP
3.1. KerangkaKonsep	17
3.2. PenjelasanKerangkaKonsep	18
3.3. HipotesaPenelitian	18
 BAB 4	 METODE PENELITIAN
4.1. Jenis Penelitian	19

4.2. Rancangan Penelitian	19
4.3. Sampel	19
4.4. Variabel Penelitian	20
4.5. Definisi Operasional Variabel	20
4.6. Lokasi dan Lama Penelitian	21
4.6.1. Lokasi Penelitian	21
4.6.2. Lama Penelitian	21
4.7. Alat dan Bahan	22
4.7.1. Kultur Sel	22
4.7.2. Pembuatan Sampel	22
4.7.3. Immunositokimia.....	23
4.8. Prosedur Penelitian	23
4.8.1. Sintesis PMMA-HAp	23
4.8.2. Kultur Sel Osteoblas.....	24
4.8.3. Perlakuan	24
4.8.4. Penilaian Hasil Penelitian.....	25
4.9. Alur Penelitian.....	26
4.10. Analisa Data	27

BAB 5	HASIL PENELITIAN	28
	5.1. BMP-2	29
	5.2. VEGF	32
BAB 6	PEMBAHASAN.....	35
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	42
	7.1. Kesimpulan	42
	7.2. Saran	42
	DAFTAR PUSTAKA.....	43
	LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Table 1.	Karakteristik dari BMPs spesifik pada regenerasi periodontal	12
Tabel 2.	Klasifikasi material implan.....	13
Tabel 3.	Rerata dan standar deviasi BMP-2 pada kelompok kontrol, HApGMP, dan HApBBK	30
Tabel 4.	Hasil uji Anova rerata ekspresi BMP-2 antara kontrol, HApGMP , Dan HApBBK	30
Tabel 5.	Rerata dan standar deviasi VEGF pada kelompok kontrol, HApGMP, dan HApBBK	33
Tabel 6,	Hasil uji Anova rerata ekspresi VEGF antara kontrol, HApGMP , Dan HApBBK	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses Osseointegrasi pada aplikasiimplan.	8
Gambar 2, Struktur protein <i>Vascular endothelial growth factor</i> (VEGF)	10
Gambar 3. Strukturkimia BMPs	11
Gambar 4. Struktur <i>hydroxyapatite</i> ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) dan bahan <i>Hydroxyapatite</i> untuk implant tulang	15
Gambar 5. Struktur kimia dan polimerisasi <i>polymethylmethacrylate</i>	16
Gambar 6. Gambaran sel osteoblas menggunakan antibodi monoclonal anti BMP-2 hari ke-7	29
Gambar 7. Gambaran sel osteoblas menggunakan antibodi monoclonal anti BMP-2 hari ke-14	29

DAFTAR GRAFIK

- Grafik 1. Ekspresi BMP-2 antara Kelompok Kontrol, HApGMP, dan HApBBK.
- Grafik 2. Ekspresi VEGF antara Kelompok Kontrol, HApGMP, dan HApBBK

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik

Lampiran 2. Alat Inkubasi Sel

Lampiran 3. Sintesis PMMA/HAp

Lampiran 4. Sterilisasi PMMA-HApBBK dan PMMA-HApGMP

Lampiran 5. Media Osteoblas Growth Medium dengan PBS

Lampiran 6. Proses Kultur Sel Osteoblas dari *Fetal Rat Calvarie*

Lampiran 7. Perlakuan sel osteoblas

Lampiran 8. Pewarnaan Immunositokimia

Lampiran 9. Uji Statistik

DAFTAR SINGKATAN

PMMA	: <i>Polymethylmethacrylate</i>
HAp	: <i>Hydroxyapatite</i>
GMP	: <i>Good Manufacturing Practice</i>
BBK	: Balai Besar Keramik
CaCO ₃	: Kalsium Karbonat
SDA	: Sumber Daya Alam
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
RUNX2	: <i>Runt Related Transcription Factors2</i>
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
CaSR	: <i>Calcium Sensing Reseptor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
CAL	: <i>clinical attachment loss</i>
BMPR	: <i>morphogenic protein receptor</i>
Osx	: <i>osterix</i>

PLC : *phospholipase C*

AU : *arbitrary unit*

PBS : *phosphate buffer saline*

CDAST : *Center for Development of Advanced Science and Technology*

Ca/P : *calcium phosphate*

H₂O₂ : *hydrogen peroxide*

EDX : *energy dispersive x-ray*

SMAD : *Suppressor of Mothers against Decapentaplegic*