

**EKSPRESI OPG DAN RANKL PADA
SEL OSTEOLAS YANG DIPAPAR DENGAN
KOMBINASI *Polymethylmethacrylate* (PMMA)
DAN *Hydroxyapatite* (HAp)**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

**YUNITA PURWANINGSIH
021918056310**

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

LEMBAR PENGESAHAN

EKSPRESI OPG DAN RANKL PADA SEL OSTEOLAS YANG DIPAPAR DENGAN KOMBINASI *Polymethylmethacrylate* (PMMA) DAN *Hydroxyapatite* (HAp)

KARYA TULIS AKHIR

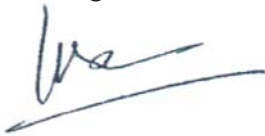
Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Menyelesaikan Program Dokter Gigi Spesialis Periodonsia pada
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

Oleh :

YUNITA PURWANINGSIH
021918056310

Menyetujui:

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Serta



Irma Josefina, drg., PhD, Sp.Perio(K)
NIP. 197911162005012001

Mengetahui,
Koordinator Program Studi



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

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

**PENETAPAN PANITIA
PENGUJI KARYA TULIS AKHIR**

Karya Tulis Akhir Ini Telah Diuji Pada

Hari : Selasa

Tanggal : 5 Juli 2022

PANITIA PENGUJI :

Ketua : 1. Prof. Dr. Agung Krismariono, drg., MKes.,Sp.Perio(K)

Anggota : 2. Prof. Dr. Chiquita Prahasanti, drg., Sp.Perio(K)
3. Irma Josefina Savitri, drg., Ph.D., Sp.Perio(K)
4. Dr. Eka Fitria Augustina, drg., M.Kes., Sp.Perio(K)
5. Lambang Bargowo, drg., MKes.,Sp.Perio(K)
6. Dr. Banun Kusumawardani, drg., M.Kes.

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Yunita Purwaningsih
NIM : 021918056310
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 OPG DAN RANKL PADA SEL OSTEOLAS
YANG DIPAPAR DENGAN 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, 5 Juli 2022
Yang membuat pernyataan



Yunita Purwaningsih
021918056310

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “EKSPRESI OPG DAN RANKL PADA SEL OSTEOLAS YANG DIPAPAR DENGAN Kombinasi *Polymethylmethacrylate* (PMMA) DAN *Hydroxyapatite* (HAp)”. Dengan ketulusan dan kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan Spesialis Periodonsia 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 dalam pembuatan karya tulis akhir.
3. Prof. Dr. Agung Krismariono, drg., M.Kes., Sp.Perio(K) selaku Koordinator Program Studi Spesialis Periodonsia dan selaku tim Penguji proposal dan karya tulis yang turut memberikan arahan untuk kesempurnaan dalam pembuatan karya tulis ini.
4. Prof. Dr. Chiquita Prahasanti S., drg., Sp.Perio(K) selaku pembimbing ketua yang telah memberikan bimbingan dan arahan untuk kesempurnaan karya tulis ini.

5. Irma Josefina, drg., PhD., Sp. Perio(K) selaku pembimbing serta yang memberikan bimbingan dan arahan serta motivasi dalam pembuatan karya tulis ini menjadi lebih baik.
6. Dr. Eka Fitria Augustina, drg., M.Kes., Sp. Perio(K) selaku tim penguji proposal dan karya tulis yang telah memberikan arahan untuk kesempurnaan karya tulis ini.
7. Lambang Bargowo, drg., MKes.,Sp.Perio(K) selaku tim penguji proposal dan karya tulis yang telah memberikan arahan untuk kesempurnaan karya tulis ini.
8. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.
9. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes. selaku kepala laboratorium CDAST Universitas Jember yang telah membimbing dan membantu dalam proses penelitian.
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 tercinta, yang selalu menyelimkan doa yang tida henti, memberikan support dalam setiap langkah dan perjuangan saya.
12. Para sahabat dan saudara seperjuanagn PPDGS periodonsia 2019 Universitas Airlangga Surabaya yang selalu menguatkan, membantu dan memberikan semangat selama mengikuti pendidikan.
13. Seluruh pihak yang turut serta membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

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

Juli, 5 Juli 2022

Penulis

ABSTRACT**EXPRESSION OF OPG AND RANKL IN OSTEOBLAS CELLS EXPOSED BY Polymethylmethacrylate (PMMA) AND Hydroxyapatite (HAp) COMBINATION**

Introduction: Dental implants are an ideal choice for tooth loss. The most common biomaterial used for dental implants is titanium. However, the release of metal ions and the risk of allergic reactions to metals that may occur in some patients cannot be avoided. 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. Combination Polymethylmethacrylate/ Hydroxyapatite (PMMA/HAp) composite biomaterials are proposed to have potential as dental implant biomaterials due to their mechanical, chemical, and biological properties. By observing the expression of OPG and RANKL in osteoblast cells in vitro with ICC, it can be seen the potential of combination PMMA/HAp as implant candidate materials. **Aim:** The aim of this study was to observe the expression of OPG and RANKL in osteoblasts cell exposed to PMMA/HAp. **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/HApBBK group, a 14-day PMMA/HApBBK group, a 7-day PMMA/HApGMP group, and the 14-day PMMA/HApGMP group. The expression of OPG and RANKL was analyzed by immunocytochemical analysis. **Results :** Analysis of the results of one-way ANOVA with a significance value of 0.000 ($p < 0.05$). OPG and RANKL expression increased in the 7 day and 14 day groups after exposure to PMMA/HAp. **Conclusion:** Polymethylmethacrylate (PMMA) and hydroxyapatite (HAp) can increase the expression of Osteoprotegerin (OPG) and Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) in osteoblast cells.

Keywords: polymethylmethacrylate, hydroxyapatite, osteoblast, OPG, RANKL

ABSTRAK

EKSPRESI OPG DAN RANKL PADA SEL OSTEOLAS YANG DIPAPAR DENGAN Kombinasi *Polymethylmethacrylate* (PMMA) DAN *Hydroxyapatite* (HAp)

Pendahuluan: Implan gigi adalah pilihan ideal untuk mengganti gigi yang hilang. Biomaterial yang paling umum digunakan untuk implan gigi adalah titanium. Namun, terjadi pelepasan ion logam dan resiko reaksi alergi terhadap bahan logam yang mungkin terjadi dan tidak dapat dihindari pada beberapa pasien. Keberhasilan implan tergantung pada osseointegrasi antara bahan implan dan tulang. Bahan yang dapat digunakan sebagai bahan implan adalah *polymethylmethacrylate* (PMMA), bahan ini memiliki kelemahan pada bioaktivitasnya. Untuk mengatasi kelemahan tersebut diberikan Penambahan *hidroksiapatite* (HAp). Kombinasi pada PMMA/HAp diharapkan akan menghasilkan polimer biokeramik yang diperkuat dengan sifat mekanik dan biologis yang lebih baik. Analisis imunositokimia digunakan untuk melihat ekspresi ekspresi OPG dan RANKL pada sel osteoblas secara in vitro sehingga dapat diketahui potensi PMMA/HAp sebagai bahan kandidat implan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengamati ekspresi OPG dan RANKL pada sel osteoblas yang terpapar PMMA/HAp. **Metode:** Dua puluh empat kultur sel osteoblas calvarie janin tikus secara acak dibagi menjadi 6 kelompok, seperti kelompok kontrol 7 hari, kelompok kontrol 14 hari, kelompok PMMA/HApBBK 7 hari, kelompok PMMA/HApBBK 14 hari. kelompok, kelompok PMMA/HApGMP 7 hari, dan kelompok PMMA/HApGMP 14 hari. Ekspresi OPG dan RANKL dianalisis dengan analisis imunositokimia. **Hasil :** Analisis hasil one way ANOVA dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Ekspresi OPG dan RANKL meningkat pada kelompok 7 hari dan 14 hari setelah terpapar PMMA/HAp. **Simpulan:** Polymethylmethacrylate (PMMA) dan hydroxyapatite (HAp) dapat meningkatkan ekspresi *Osteoprotegerin* (OPG) dan *Receptor activator of nuclear factor-kappa-B ligand* (RANKL) pada sel osteoblas.

Kata kunci: *polymethylmethacrylate*, *hydroxyapatite*, osteoblas, OPG, RANKL

DAFTAR ISI

COVER	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR	iii
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRACT	viii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Implan Gigi	8
2.1.1 Pengertian Implan Gigi	8
2.1.2 Tujuan Implan Gigi	9
2.1.3 Material Implan	10
2.1.4 Respon sel dan jaringan terhadap bahan implan	15
2.2 Osseointegrasi	17
2.3 Hydroxiapatite (HAp)	19
2.4 Polymethylmethacrylate (PMMA)	22
2.5 Osteblas	22
2.6 RANKL, RANK dan OPG	24
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	25
3.1 Kerangka Konseptual	25
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	26
3.3 Hipotesa Penelitian	26
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	27
4.1 Jenis Penelitian	27

4.2	Rancangan Penelitian.....	27
4.3	Sampel.....	27
4.4	Variabel Penelitian	28
4.5	Defenisi Operasional Variabel.....	28
4.6	Lokasi dan Lama Penelitian	28
4.6.1.	Lokasi Penelitian	28
4.6.2.	Lama Penelitian	29
4.7	Alat dan Bahan	29
4.8	Prosedur Penelitian	31
4.8.1	Sintesis PMMA/HA	31
4.8.2.	Sterilisasi	31
4.8.3.	Kultur Sel Osteoblas.....	31
4.8.4.	Perlakuan dan Immunositokimia	32
4.8.5.	Penilaian hasil Penelitian	33
4.9	Alur Penelitian.....	34
BAB 5	HASIL PENELITIAN	36
5.1.	Data Hasil Peneltitian	36
BAB 6	PEMBAHASAN	46
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
7.1	Simpulan	52
7.2	Saran	52
	DAFTAR PUSTAKA	53
	LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Tabel bahan implan gigi.....	11
Tabel 2. 2 Klasifikasi material implant kedokteran gigi	13
Tabel 2. 3 Perbandingan karakteristik kimia dari gigi, tulang dan hidroksiapatit	21
Tabel 2. 4 Karakteristik hidroksiapatit yang padat	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Evolusi biomaterial Implan	12
Gambar 2. 2 Sel tulang dan fungsinya	16
Gambar 2. 3 Osseointegrasi	17
Gambar 2. 4 TaHAp Osseointegrasi	19
Gambar 2. 5 Struktur kimia hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) dan bahan hydroxyapatite untuk implant tulang.....	20
Gambar 2. 6 Struktur kimia dan polimerisasi polymethylmetacrylate (PMMA).22	
Gambar 5. 1 Gambaran sel osteoblas menggunakan antibodi monoclonal anti OPG hari ke-7.....	37
Gambar 5. 2 Gambaran sel osteoblas menggunakan antibodi monoclonal anti OPG hari ke-14.....	38
Gambar 5. 3 Gambaran sel osteoblas menggunakan antibodi monoclonal anti RANKL hari ke-7	41
Gambar 5. 4 Gambaran sel osteoblas menggunakan antibodi monoclonal anti RANKL hari ke-14	41

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Ekspresi OPG antara Kelompok K7, BBk7, GMP7	39
Grafik 2. Ekspresi OPG antara Kelompok K14, BBK14, GMP14	40
Grafik 3. Ekspresi RANKL antara Kelompok K7, BBk7, GMP7	43
Grafik 4. Ekspresi RANKL antara Kelompok K14, BBK14, GMP14	44

DAFTAR SINGKATAN

ALP : *Alkaline Phosphatase*
BBK : Balai Besar Keramik
BMP: *Bone Morphogenetic Proteins*
BMP 2: *Bone Morphogenetic Proteins 2*
BMPR : *Bone Morphogenetic Proteins*
BMUi : *Basic Multicellular Unit*
CDAST : *Center for Development of Advance Science and Technology*
Co: *Cobalt*
ERK : *Extracellular Related Kinase*
GMP : *Good Manufacturing Practice*
HAp : *Hydroxyapatite*
HSCs : *Haematopoietic Stem Cells*
MSC : *Mesenchymal Stem Cell*
M-CSF : *Makrofagekoloni*
OPG : *Osteoprotegerin*
Osx : *Osterix*
TNF α : *Tumor Necrosis Factor α*
PBS : *Phosphatase-Buffered Saline*
PMMA : *Polymethylmethacrylate*
RANK : *Receptor Aktivator of Nuclear Factor $\kappa\beta$*
RANKL : *Receptor Aktivator of Nuclear Factor $\kappa\beta$ Ligand*
RUNX2 : *Runt-related transcription factor 2*
TGF β : *Transforming Growth Factor Beta*
TGF- β 1: *Transforming Growth Factor Beta 1*
Ti : *Titanium*
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
Ca/P : *Calcium phosphate*

EDX : *Energy Dispersive X-Ray*

SMAD : *Suppressor Of Mothers Against Decapentaplegic*