

**EKSPRESI TNF  $\alpha$  DAN AP-1 SETELAH APLIKASI  $\text{CaCO}_3$   
DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*)  
PADA PROSES DENTINOGENESIS REPARATIF  
(Penelitian *In Vivo* pada *Rat Wistar*)**

**KARYA TULIS AKHIR**



**Oleh :**

**REYZ PASENDA MULJADI  
NIM: 021918036316**

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

**LEMBAR PENGESAHAN**

**EKSPRESI TNF  $\alpha$  DAN AP-1 SETELAH APLIKASI CaCO<sub>3</sub>  
DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*)  
PADA PROSES DENTINOGENESIS REPARATIF  
(Penelitian *In Vivo* pada Rat Wistar)**

**KARYA TULIS AKHIR**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan  
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Program Studi Ilmu Konservasi Gigi  
di Fakultas Gigi Universitas Airlangga Surabaya

**Oleh:**

**REYZ PASENDA MULJADI**

**NIM: 021918036316**

**Menyetujui**

**Pembimbing Utama**



**Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K)**  
NIP. 197210072005012001

**Pembimbing Serta**



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

**Mengetahui  
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  
2022**

**PENETAPAN PANITIA  
PENGUJI KARYA TULIS AKHIR**

**Karya tulis akhir telah diuji pada :**

**Hari** : Selasa

**Tanggal** : 14 Juni 2022

**PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR**

**Ketua** : 1. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG(K)

**Anggota** : 2. Dr. Dian Agustin Wahjuningrum, drg., Sp.KG(K)

3. Dr. Sukaton, drg., M.Kes., Sp.KG(K)

4. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K)

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

## SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Reyza Pasenda Muljadi

NIM : 021918036316

Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi

Jenjang : Spesialis (Sp)

Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

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

**EKSPRESI TNF  $\alpha$  DAN AP-1 SETELAH APLIKASI  $\text{CaCO}_3$   
DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*)  
PADA PROSES DENTINOGENESIS 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, 24 Juli 2022

Yang menyatakan

A 1000 Rupiah Indonesian postage stamp is shown, featuring a signature in black ink. The stamp includes the text 'SEPUKUH RIBU RUPIAH', '1000', 'TEL. 38', 'METERAN TEMPEL', and the serial number '3CC47AJX208079705'.

Reyza Pasenda Muljadi  
NIM 021918036316

## 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 “Ekspresi TNF  $\alpha$  dan AP-1 Setelah Aplikasi  $\text{CaCO}_3$  Dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) Pada Proses Dentinogenesis 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 dan Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes, selaku Dekan dan mantan 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., Sp.KG(K) dan Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Ketua dan mantan Ketua Departemen Konservasi Gigi yang telah memberikan kesempatan dan dukungan dalam pembuatan Karya Tulis Akhir ini.
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes, Sp.KG(K) dan Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Koordinator dan mantan Koordinator Program Studi

Departemen Konservasi Gigi yang telah memberi kesempatan dan dukungan dalam pembuatan Karya Tulis Akhir ini.

5. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dan evaluasi hingga terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini.
6. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes, Sp.KG(K) selaku Dosen pembimbing Serta yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dan evaluasi hingga terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini.
7. Prof. Dr. Adioro Soetojo ,drg., MS., Sp.KG(K) selaku mantan Dosen Pembimbing Utama yang selalu sabar dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, dan evaluasi hingga terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini.
8. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Ketua Penguji yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan saran hingga terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini.
9. Dr. Dian Agustin Wahjuningrum, drg., Sp.KG(K) selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan saran hingga terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini.
10. Dr. Sukaton, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan saran hingga terselesaikannya Karya Tulis Akhir ini.
11. 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.
12. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam

penelitian dalam Karya Tulis Akhir ini.

13. Kedua orang tua saya, drg. Rudy M Comentas dan Alm. Prof. Indah S Tantular, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.ParK dan kakak saya Reyn Pasenda Muljadi, drg yang telah memberikan dukungan moral maupun materiil selama penyusunan Karya Tulis Akhir ini.

14. Teman – teman 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, 24 Juli 2022

Penulis

**ABSTRACT**

**EXPRESSION OF TNF  $\alpha$  AND AP-1 AFTER APPLICATION OF CALCIUM  
CARBONATE (CaCO<sub>3</sub>) FROM BLOOD CLAM SHELL (ANADARA GRANOSA)  
IN REPARATIVE DENTINOGENESIS  
In Vivo Research on Rat Wistar**

**Background :** Pulp capping is a treatment with the aim of protecting the vitality of the pulp. Calcium hydroxide has become the gold standard as a material for pulp capping treatment, but this material has several disadvantages where calcium hydroxide is easily soluble which will form tunnel defect that will increase the risk of marginal leakage. Calcium carbonate from blood clam shells is an alternative as a pulp capping material because the calcium carbonate can increase mineralization in the reparative dentinogenesis process. **Purpose :** This study is expected to explain the role of CaCO<sub>3</sub> from Blood Clam Shell (Anadara granosa) on the expression of TNF  $\alpha$  and AP-1 in reparative dentinogenesis process. **Methods :** 42 Molar teeth of wistar rats were prepared until perforated were then divided into 2 groups, the control group was given Ca(OH)<sub>2</sub> and the treatment group was given CaCO<sub>3</sub> and slide preparations were made and stained with HE and IHC. The expression of TNF  $\alpha$  and AP-1 was studied on days 1, 3, and 7. **Results :** There was a significant decrease in the expression of TNF  $\alpha$  and a significant increase in the expression of AP-1 after the application of CaCO<sub>3</sub> from Blood Clam Shells (Anadara Granosa) compared to the control group. **Conclusion :** Application of CaCO<sub>3</sub> from Blood Clam Shell (Anadara Granosa) can induce reparative dentinogenesis process in perforated pulp.

**Keywords :** Pulp capping, Calcium hydroxide, Calcium Carbonate, Blood Clam Shell, TNF  $\alpha$ , AP-1

## ABSTRAK

**EKSPRESI TNF  $\alpha$  DAN AP-1 SETELAH APLIKASI CaCO<sub>3</sub>  
DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*)  
PADA PROSES DENTINOGENESIS REPARATIF  
Penelitian *In Vivo* pada Rat Wistar**

**Latar Belakang :** *Pulp capping* merupakan perawatan dibidang konservasi gigi dengan tujuan melindungi vitalitas pulpa. Kalsium hidroksida telah menjadi *gold standard* sebagai bahan untuk perawatan *pulp capping*, tetapi bahan tersebut memiliki kelemahan dimana kalsium hidroksida mudah larut yang akan membentuk gap (*tunnel defect*) yang akan meningkatkan resiko kebocoran marginal. Kalsium karbonat dari cangkang kerang darah dianggap dapat menjadi alternatif sebagai bahan *pulp capping* karena kandungan kalsium karbonat dapat meningkatkan mineralisasi dalam proses dentinogenesis reparatif.

**Tujuan :** Penelitian ini diharapkan dapat menjelaskan peran CaCO<sub>3</sub> dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara Granosa*) terhadap ekspresi TNF  $\alpha$  dan AP-1 pada proses dentinogenesis reparatif. **Metode :** 42 gigi molar tikus wistar dipreparasi hingga perforasi kemudian dibagi menjadi 2 kelompok, kelompok kontrol diberi Ca(OH)<sub>2</sub> dan kelompok perlakuan diberi CaCO<sub>3</sub>, yang dibagi dalam subgroup lagi sesuai hari penelitian pada hari ke-1, 3, dan 7. Kemudian dibuatkan slide preparat dan diberi pewarnaan HE dan IHC. Dan diteliti hasil ekspresi TNF  $\alpha$  dan AP-1. **Hasil :** Terdapat penurunan ekspresi TNF  $\alpha$  secara signifikan dan peningkatan secara signifikan ekspresi AP-1 setelah aplikasi CaCO<sub>3</sub> dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara Granosa*) dibandingkan dengan kelompok kontrol. **Kesimpulan :** Aplikasi CaCO<sub>3</sub> dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara Granosa*) dapat menginduksi proses dentinogenesis reparatif pada pulpa yang telah perforasi.

**Kata kunci :** *Pulp capping*, Kalsium Hidroksida, Kalsium Karbonat, Cangkang Kerang Darah, TNF  $\alpha$ , AP-1

## DAFTAR ISI

|                                                              |             |
|--------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                                   | <b>i</b>    |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....                               | <b>ii</b>   |
| <b>PENETEPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR</b> .....     | <b>iii</b>  |
| <b>SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....                   | <b>iv</b>   |
| <b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....                             | <b>v</b>    |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                        | <b>viii</b> |
| <b>ABSTRAK</b> .....                                         | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                                      | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                                   | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....                                    | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....                                | <b>xiv</b>  |
| <b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....                               | <b>1</b>    |
| 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 .....                                    | 5           |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                 | 5           |
| 1.4.1 Manfaat Teoritis .....                                 | 5           |
| 1.4.2 Manfaat Praktis .....                                  | 6           |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....                          | <b>7</b>    |
| 2.1 Struktur Jaringan Keras Gigi .....                       | 7           |
| 2.1.1 Enamel .....                                           | 7           |
| 2.1.2 Dentin .....                                           | 8           |
| 2.1.3 Pulpa .....                                            | 9           |
| 2.2 Dentin Tersier .....                                     | 10          |
| 2.2.1 Dentin Reparatif .....                                 | 10          |
| 2.3 <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF $\alpha$ ) ..... | 11          |
| 2.4 <i>Activator Protein 1</i> (AP-1) .....                  | 13          |
| 2.5 Cangkang Kerang Darah .....                              | 13          |
| 2.6 Kalsium Karbonat .....                                   | 16          |
| 2.7 Pulp Capping .....                                       | 17          |
| 2.7.1 Kalsium Hidroksida .....                               | 17          |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEP</b> .....                           | <b>20</b>   |
| 3.1 Kerangka Konsep .....                                    | 20          |
| 3.2 Hipotesa Penelitian .....                                | 21          |

|                                                                                              |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>                                                               | <b>23</b> |
| 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian                                                           | 23        |
| 4.2 Waktu dan Tempat Penelitian                                                              | 23        |
| 4.2.1 Tempat Penelitian                                                                      | 23        |
| 4.2.2 Waktu Penelitian                                                                       | 23        |
| 4.3 Sampel Yang Digunakan                                                                    | 23        |
| 4.3.1 Kriteria Inklusi                                                                       | 24        |
| 4.3.2 Kriteria Eksklusi                                                                      | 24        |
| 4.3.3 Besar Sampel                                                                           | 24        |
| 4.4 Variabel Penelitian                                                                      | 26        |
| 4.4.1 Variabel Bebas                                                                         | 26        |
| 4.4.2 Variabel Tergantung                                                                    | 26        |
| 4.4.3 Variabel Kendali                                                                       | 26        |
| 4.5 Definisi Operasional Penelitian                                                          | 26        |
| 4.6 Alat dan Bahan Penelitian                                                                | 26        |
| 4.6.1 Alat Penelitian                                                                        | 27        |
| 4.6.2 Bahan Penelitian                                                                       | 28        |
| 4.7 Prosedur Penelitian                                                                      | 29        |
| 4.7.1 Pembuatan Suspensi Kalsium Karbonat Dengan Aquades                                     | 29        |
| 4.7.2 Persiapan Binatang Coba                                                                | 29        |
| 4.7.3 Perlakuan Pada Binatang Coba                                                           | 30        |
| 4.7.4 Prosedur Pembuatan Kavitas Pada Gigi Molar Tikus                                       | 31        |
| 4.7.5 Prosedur Persiapan Jaringan                                                            | 31        |
| 4.7.6 Pembuatan Sediaan Histopatologis                                                       | 32        |
| 4.8 Pengolahan dan Analisis Data                                                             | 35        |
| 4.9 Alur Penelitian                                                                          | 36        |
| <b>BAB 5 HASIL DAN ANALISA DATA</b>                                                          | <b>37</b> |
| 5.1 Profil Hasil Penelitian                                                                  | 37        |
| 5.2 Hasil pemeriksaan ekspresi TNF $\alpha$ pada sel odontoblas pulpa                        | 37        |
| 5.3 Perbandingan ekspresi TNF $\alpha$ antara aplikasi $\text{CaCO}_3$ dan $\text{Ca(OH)}_2$ | 41        |
| 5.4 Hasil pemeriksaan ekspresi AP-1 pada sel odontoblas pulpa                                | 41        |
| 5.5 Perbandingan ekspresi AP-1 antara aplikasi $\text{CaCO}_3$ dan $\text{Ca(OH)}_2$         | 44        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>                                                                      | <b>46</b> |
| <b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b>                                                            | <b>51</b> |
| 7.1 Kesimpulan                                                                               | 51        |
| 7.2 Saran                                                                                    | 51        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b>                                                                        | <b>52</b> |
| <b>LAMPIRAN</b>                                                                              | <b>56</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gambar 2.1</b> Kerang Darah .....                                                         | 14 |
| <b>Gambar 4.1</b> Skema Penelitian .....                                                     | 25 |
| <b>Gambar 4.2</b> Alur Penelitian .....                                                      | 36 |
| <b>Gambar 5.1</b> Hasil rerata ekspresi TNF $\alpha$ pada hari ke-1, 3, dan 7 .....          | 40 |
| <b>Gambar 5.2</b> Ekspresi TNF $\alpha$ pada hari ke-1, 3, dan 7 pada pemeriksaan histokimia | 40 |
| <b>Gambar 5.3</b> Hasil rerata ekspresi AP-1 pada hari ke-1, 3, dan 7 .....                  | 44 |
| <b>Gambar 5.4</b> Ekspresi AP-1 pada hari ke-1, 3, dan 7 pada pemeriksaan histokimia ·       | 44 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabel 4.1</b> Hasil pencampuran bubuk $\text{CaCO}_3$ dan aquades .....                           | 28 |
| <b>Tabel 5.1</b> Rerata ekspresi $\text{TNF-}\alpha$ sesuai kelompok perlakuan .....                 | 37 |
| <b>Tabel 5.2</b> Hasil uji <i>Shapiro Wilk</i> dan uji <i>Levene test</i> $\text{TNF } \alpha$ ..... | 38 |
| <b>Tabel 5.3</b> Uji beda antar kelompok $\text{TNF } \alpha$ menggunakan Tukey HSD .....            | 39 |
| <b>Tabel 5.4</b> Uji beda antar kelompok $\text{TNF } \alpha$ menggunakan T-test .....               | 41 |
| <b>Tabel 5.5</b> Rerata ekspresi AP-1 sesuai kelompok perlakuan .....                                | 42 |
| <b>Tabel 5.6</b> Hasil uji <i>Shapiro Wilk</i> dan uji <i>Levene test</i> AP-1 .....                 | 42 |
| <b>Tabel 5.7</b> Uji beda antar kelompok AP-1 menggunakan Tukey HSD .....                            | 43 |
| <b>Tabel 5.8</b> Uji beda antar kelompok AP-1 menggunakan T-test .....                               | 45 |

## DAFTAR SINGKATAN

|                                                                       |                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Ca(OH) <sub>2</sub>                                                   | : Kalsium Hidroksida                                 |
| CaCO <sub>3</sub>                                                     | : Kalsium Karbonat                                   |
| TNF $\alpha$                                                          | : <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>                 |
| AP-1                                                                  | : <i>Activator Protein 1</i>                         |
| OLC                                                                   | : <i>Odontoblast Like Cell</i>                       |
| DMP-1                                                                 | : <i>Dentin Matrix Protein 1</i>                     |
| ALP                                                                   | : <i>Alkaline Phosphate</i>                          |
| MTA                                                                   | : <i>Mineral Trioxide Aggregate</i>                  |
| IL-1                                                                  | : <i>Interleukin-1</i>                               |
| NF $\kappa$ B                                                         | : <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>                   |
| MMP-1                                                                 | : <i>Matrix Metalloproteinase 1</i>                  |
| Ca <sub>10</sub> ((PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub> ) | : Hidroksiapatit                                     |
| HSP70                                                                 | : <i>Heat Shock Protein 70</i>                       |
| DAMPs                                                                 | : <i>Endogen damage associated molecular pattern</i> |
| TLR-4                                                                 | : <i>Toll-Like Receptor 4</i>                        |
| MyD 88                                                                | : <i>Myeloid differentiation primary respon 88</i>   |
| IKK                                                                   | : I $\kappa$ B Kinase                                |
| CaSR                                                                  | : <i>Calcium Sensing Receptor</i>                    |
| TRPC                                                                  | : <i>Transient Receptor Potential Canonical</i>      |
| PKC                                                                   | : <i>Protein Kinase C</i>                            |
| MAPK                                                                  | : <i>Mitogen activated Protein Kinase</i>            |
| JNK                                                                   | : <i>c-Jun N-terminal kinase</i>                     |
| ERK1/2                                                                | : <i>Extracellular Signal-Related Kinase 1/2</i>     |
| Co3Ap                                                                 | : Karbonat Apatit                                    |
| ROS                                                                   | : <i>Reactive Oxygen Species</i>                     |