

**PENGARUH NANO KALSIUM KARBONAT (CaCO_3) DARI
CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*)
TERHADAP EKSPRESI *TRANSFORMING GROWTH
FACTOR- $\beta 1$* (TGF- $\beta 1$) DAN *ALKALINE PHOSPHATASE
(ALP)* PADA *ODONTOBLAST-LIKE CELL*
(Studi Eksperimental Laboratoris *In Vivo* pada Tikus Wistar)**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh:

RANIA RIZKA RAMADANI
022118036309

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH NANO KALSIUM KARBONAT (CaCO_3) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI *TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1* (TGF- β 1) DAN *ALKALINE PHOSPHATASE* (ALP) DAN PADA *ODONTOBLAST-LIKE CELL* (Studi Eksperimental Laboratoris In Vivo pada Tikus Wistar)

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 :

Rania Rizka Ramadani
NIM : 022118036309

Menyetujui :

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Serta



Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg. M.Kes.,Sp.KG., Subsp.KR(K)
NIP. 196305141988032002

Mengetahui
Koordinator Program Studi



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

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2024**

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Rania Rizka Ramadani
NIM : 022118036309
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 :

PENGARUH NANO KALSIUM KARBONAT (CaCO_3) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1 (TGF- β 1) ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) PADA *ODONTOBLAST-LIKE CELL* (Studi Eksperimental Laboratoris *In Vivo* pada Tikus 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, Juni 2024

Yang menyatakan

Rania Rizka Ramadani, drg.
NIM.022118036306

UCAPAN TERIMA KASIH

Rasa syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga karya tulis akhir yang berjudul “Pengaruh Nano Kalsium Karbonat (CaCO_3) dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) terhadap Ekspresi TGF- β 1 dan ALP pada *Odontoblast-like Cell* (Studi Eksperimental Laboratoris In Vivo pada Tikus Wistar)” ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

Pada kesempatan ini saya menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Universitas Airlangga.
2. (Alm.) Prof. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes, M.H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2020-2023 yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
3. Prof. Dr. Muhamad Luthfi, drg., M.Kes., PBO selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
4. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp.KR(K) selaku Ketua Departemen Ilmu Konservasi Gigi, Dosen Wali dan Pembimbing Utama yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini serta memberikan bimbingan, motivasi dan masukan.
5. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp.KE(K) selaku Koordinator Program Studi Ilmu Konservasi Gigi, yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini.
6. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp. KG., Subsp. KR(K) selaku Pembimbing Serta yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
7. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp.KR(K), selaku anggota penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
8. Dr. Nirawati Pribadi, drg., M.Kes., Sp. KG, Subsp.KE(K) selaku anggota penguji yang telah memberikan masukan dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.

9. Dr. Febriastuti Cahyani, drg., M.Kes., Sp.KG, Subsp.KR(K) selaku anggota penguji yang telah memberikan masukan dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
10. 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.
11. Orang tua dan saudara tercinta atas segala cinta, doa, bimbingan, dukungan, dan pengorbanan yang diberikan selama ini.
12. Teman-teman Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Angkatan 2021 atas semangat, bantuan, dan kerjasama yang diberikan.
13. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya karya tulis akhir ini

Menyadari bahwa karya tulis akhir ini masih jauh dari sempurna, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga karya tulis akhir ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, Juni 2024

Penulis

ABSTRACT

**THE EFFECT OF NANO CALCIUM CARBONATE (CaCO_3)
APPLICATION FROM BLOOD SHELLS (*Anadara granosa*) ON THE
EXPRESSION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1 (TGF- β 1)
AND ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) IN ODONTOBLAST-LIKE CELL
(*In Vivo* Laboratory Experimental Research on Wistar Rats)**

Background: Calcium carbonate (CaCO_3) in blood cockle shells (*Anadara granosa*) can be used as an active ingredient to stimulate tooth remineralization process. Nano CaCO_3 from blood cockle shells can be an alternative candidate for pulp capping material to induce reparative dentin formation. **Objective:** To analyze the effect of nano CaCO_3 from blood cockle shells on the expression of ALP and TGF- β 1 in rat pulp cells on days 7 and 14 **Method:** 24 Wistar rats were divided into 4 groups consisting of 6 samples. The right upper molar teeth of the rats were prepared until perforated in the occlusal surface. 2 control groups of the rats were observed after given $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and restored with temporary restoration while 2 treatment groups of the rats were observed after given nano CaCO_3 and restored with temporary restoration. The tooth in each group were extracted after 7 and 14 days and analyzed with immunohistochemical analysis to see the expression of ALP and TGF- β 1. **Results:** The expression of ALP and TGF- β 1 on days 7 and 14 increased significantly compared to the control group. **Conclusion:** Nano CaCO_3 from blood cockle shell can increase the expression of ALP and TGF- β 1 on days 7 and 14 therefore it can be developed as an alternative pulp capping material.

Keywords: Calcium carbonate, ALP, TGF- β 1, reparative dentin, *Anadara granosa*.

ABSTRAK

PENGARUH APLIKASI NANO KALSIMUM KARBONAT (CaCO_3) DARI CANGKANG KERANG DARAH (*Anadara granosa*) TERHADAP EKSPRESI ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) DAN TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1 (TGF- β 1) PADA *ODONTOBLAST-LIKE CELL* (Studi Eksperimental Laboratoris In Vivo pada Tikus Wistar)

Latar belakang: Kandungan kalsium karbonat (CaCO_3) pada cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dapat dijadikan salah satu bahan aktif untuk merangsang proses remineralisasi. Pemanfaatan nano kalsium karbonat diharapkan dapat menjadi kandidat alternatif bahan pulp capping untuk menginduksi proses pembentukan dentin reparatif. Tujuan: Untuk menganalisis pengaruh aplikasi nano kalsium karbonat dari cangkang kerang darah terhadap ekspresi ALP dan TGF- β 1 pada sel pulpa tikus di hari ke-7 dan 14. **Metode:** 24 tikus wistar dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 6 sampel. Gigi molar kanan rahang atas tikus dipreparasi hingga perforasi pada bagian oklusal. 2 kelompok kontrol tikus diamati setelah diberi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dan ditumpat sementara serta 2 kelompok perlakuan tikus diamati setelah diberi nano CaCO_3 dan ditumpat sementara. Gigi pada masing-masing kelompok diekstraksi setelah 7 dan 14 hari dan dilakukan uji analisis imunohistomik untuk melihat ekspresi ALP dan TGF- β 1. **Hasil:** Ekspresi ALP dan TGF- β 1 pada hari ke 7 dan 14 pada kelompok kontrol mengalami peningkatan ekspresi dengan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol. **Kesimpulan:** Kandungan nano CaCO_3 dari ekstrak cangkang kerang darah dapat meningkatkan ekspresi ALP dan TGF- β 1 pada hari ke-7 dan 14 sehingga dapat digunakan sebagai alternatif material bahan pulp capping.

Kata kunci: Kalsium karbonat, ALP, TGF- β 1, dentin reparatif, *Anadara granosa*.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Surat Pernyataan Orisinalitas	iv
Ucapan Terima Kasih	v
<i>Abstract</i>	vii
Abstrak.....	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Singkatan	xiv
Daftar Lampiran.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat.....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis	7
1.4.2 Manfaat Praktis	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Struktur Jaringan Keras	8
2.1.1 Enamel	8
2.1.2 Dentin.....	9
2.1.2.1 Dentinogenesis	9
2.1.2.2 Regenerasi Dentin	10
2.1.3 Pulpa	12
2.2 Inflamasi Pulpa	13
2.3 <i>Transforming Growth Factor-1</i> (TGF- β 1).....	15
2.4 <i>Alkaline Phosphatase</i> (ALP).....	16
2.5 <i>Pulp Capping</i>	18
2.6 Kalsium Hidroksida	20
2.7 Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i>)	21

2.8 Kalsium Karbonat	22
2.9 Nano Kalsium Karbonat	23
2.10 Hewan Coba (<i>Rattus novergicus</i>).....	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP	27
3.1 Kerangka Konsep.....	27
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	28
3.3 Hipotesis	30
BAB 4 METODE PENELITIAN	31
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	31
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
4.3 Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian	32
4.3.1 Kriteria Inklusi.....	33
4.3.2 Kriteria Eksklusi	33
4.3.3 Besar Sampel	33
4.4 Variabel Penelitian.....	34
4.4.1 Variabel Bebas.....	34
4.4.2 Variabel Terikat	34
4.4.3 Variabel Terkendali	34
4.5 Definisi Operasional	35
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	36
4.7 Prosedur Penelitian	37
4.7.1 Pembuatan bubuk nano kalsium karbonat.....	37
4.7.2 Pembuatan suspensi kalsium karbonat dengan aquades.....	38
4.7.3 Pembuatan campuran kalsium hidroksida dengan akuades.....	38
4.7.4 Persiapan Binatang Coba	39
4.7.5 Perlakuan pada Binatang Coba	39
4.7.6 Prosedur pembuatan kavitas pada gigi molar tikus	40
4.7.7 Prosedur Persiapan Jaringan	40
4.7.8 Pembuatan Sediaan Histopatologis	41
4.7.9 Prosedur Imunohistokimia dan Perhitungan Ekspresi TGFβ-1 dan ALP	42
4.7.10 Analisis Data.....	43
4.8 Alur Penelitian	44
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	45

5.1 Ekspresi TGF- β 1.....	45
5.1.1 Hasil Pemeriksaan Ekspresi TGF- β 1 pada <i>Odontoblast-like Cell</i>	45
5.1.2 Perbandingan Ekspresi TGF- β 1 antar Aplikasi nano CaCO ₃ dan Ca(OH) ₂	46
5.2 Ekspresi ALP.....	48
5.2.1 Hasil Pemeriksaan Ekspresi ALP pada <i>Odontoblast-like Cell</i>	48
5.2.2 Perbandingan Ekspresi ALP antar Aplikasi nano CaCO ₃ dan Ca(OH) ₂	50
BAB 6 PEMBAHASAN.....	52
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
7.1 Kesimpulan.....	56
7.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Taksonomi <i>Rattus Novergicus</i>	25
Tabel 5.1.1	Jumlah Sampel, Rerata Dan Standar Deviasi Ekspresi TGF- β 1 pada Hari Ke 7 Dan 14.....	45
Tabel 5.1.2	Hasil Uji <i>Saphiro Wilk</i>	46
Tabel 5.1.3	Uji <i>Independent T-test</i> pada Ekspresi TGF- β 1 Hari ke-7 dan 14..	46
Tabel 5.1.4	Rerata dan Uji <i>Independent T-test</i> pada Ekspresi TGF- β 1	47
Tabel 5.2.1	Jumlah Sampel, Rerata dan Standar Deviasi Ekspresi ALP pada Hari ke 7 dan 14	49
Tabel 5.2.2	Hasil Uji <i>Saphiro Wik</i>	49
Tabel 5.2.3	Uji <i>Independent T-test</i> pada Ekspresi ALP Hari ke-7 dan 14.....	50
Tabel 5.2.4	Rerata dan Uji <i>Independent T-test</i> pada Ekspresi ALP	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Ilustrasi Skema Regenerasi Dentin.....	12
Gambar 2.2	Ilustrasi Tahapan <i>Direct Pulp Capping</i>	18
Gambar 2.3	Ilustrasi Tahapan <i>Indirect Pulp Capping</i>	19
Gambar 3.1	Kerangka Konsep	27
Gambar 4.1	Skema Rancangan Penelitian	31
Gambar 4.2	Skema Alur Penelitian.....	44
Gambar 5.1	Diagram Batang Rerata Hasil Pengukuran Ekspresi TGF- β 1 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan di hari ke 7 dan 14	47
Gambar 5.2	Ekspresi TGF- β 1 <i>odontoblast-like cell</i> Tikus dengan Pemeriksaan Imunohistokimia Pembesaran 1000x	48
Gambar 5.3	Diagram Batang Rerata Hasil Pengukuran Ekspresi ALP pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan di hari ke 7 dan 14	51
Gambar 5.4	Ekspresi ALP Sel <i>odontoblast-like cell</i> Tikus dengan Pemeriksaan Imunohistokimia Pembesaran 1000x	51

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenic Protein</i>
BMP-2	: <i>Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2)</i>
CaCO ₃	: Kalsium Karbonat
CaN	: <i>Calcineurin (CaN)</i>
Ca(OH) ₂	: Kalsium Hidroksida
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	: Hidroksiapatit
CaSR	: <i>Calcium Sensing Receptor</i>
DAB	: <i>Diamino Benzidine</i>
DAMPs	: <i>Damage Associated Molecular Patterns</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid</i>
ER	: Retikulum Endoplasma
HCl	: Hidrogen Klorida
HSP70	: <i>Heat Shock Protein 70</i>
IHK	: Imunohistokimia
IKK	: <i>Inhibitor of nuclear factor-κB Kinase</i>
IL	: Interleukin
IRAK	: <i>Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase</i>
IP3	: <i>Inositol 1,4,5-triphosphate (IP3)</i>
IκB	: <i>Inhibitor of nuclear factor-κB</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MMP-1	: <i>Matrix Metalloproteinase-1</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
MyD 88	: <i>Myeloid Differentiation primary response 88</i>
NaSO ₄	: <i>Natrium Sulphate</i>
NFAT	: <i>Nuclear Factor of Activated T-cells</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Transcription Factor κB</i>
OCN	: <i>Osteocalcin (OCN)</i>
OPN	: <i>Osteopontin (OPN)</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PLCγ	: <i>Phospholipase C gamma</i>

SOC	: <i>Store Operated Ca²⁺</i>
STIM1	: <i>Stromal interaction molecule 1</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor- β</i>
TIMPs	: <i>Tissue Inhibitors of Metalloproteinases</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Receptor-4</i>
TRAF-6	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 6</i>
TNFR2	: <i>TNF receptor-2</i>
Tregs	: <i>Regulatory T cells</i>
VPT	: <i>Vital Pulp Therapy</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sertifikat Laik Etik	63
Lampiran 2	Kandungan Cangkang Kerang Darah.....	64
Lampiran 3	Hasil Analisis <i>Particle Size Analyzer</i> Nano CaCO ₃	66
Lampiran 4	<i>Data Sheet</i> ALP.....	67
Lampiran 5	<i>Data Sheet</i> TGF-β1	68
Lampiran 6	Dokumentasi Penelitian.....	69
Lampiran 7	Laporan Hasil Pengamatan Warna IHC	70
Lampiran 8	Hasil Uji Statistik.....	72