

**EKSPRESI *OSTEONECTIN* PADA PULPA GIGI KELINCI NEW
ZEALAND (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI
SETELAH APLIKASI PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS
(*GALLUS SP*)**

TESIS



Oleh:

FEBRIANTY ALEXES SIAMPA

J025202006

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

**EKSPRESI *OSTEONECTIN* PADA PULPA GIGI KELINCI NEW
ZEALAND (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI
SETELAH APLIKASI PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS
(*GALLUS SP*)**



Oleh:

FEBRIANTY ALEXES SIAMPA

J025202006

Pembimbing:

1. drg. Nurhayaty Natsir, Ph. D, Sp.KG, Subsp. KR (K)

2. Dr. drg. Hafsa Katu, M. Kes

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

TESIS

**EKSPRESI *OSTEONECTIN* PADA PULPA GIGI KELINCI NEW
ZEALAND (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI
SETELAH APLIKASI PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS
(*GALLUS SP*)**

FEBRIANTY ALEXES SIAMPA

J025202006



**Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Spesialis Konservasi Gigi**

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2023

LEMBARAN PENGESAHAN

**EKSPRESI *OSTEONECTIN* PADA PULPA GIGI KELINCI *NEW ZEALAND*
(*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI SETELAH APLIKASI
PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS (*GALLUS SP*)**

Diajukan Oleh:

FEBRIANTY ALEXES SIAMPA

J025 202 006

Telah disetujui

Makassar, Agustus 2023

Pembimbing I

Pembimbing II

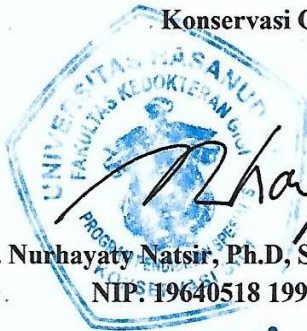


drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG Subsp KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001



Dr. drg. Hafsa Khatu, M.Kes
NIP. 19601212 199412 2 001

**Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Konservasi Gigi**



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG Subsp KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001

**Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin**



drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed, Ph.D
NIP. 19810215 200801 1 009

TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

PADA TANGGAL 30 MEI 2023

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG Subsp KR(K)


Anggota : Dr.drg. Hafsa Khatu, M.Kes

: Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG Subsp KE(K)

: Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc

: Prof. Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa, M.Si

Mengetahui,
Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG Subsp. KR(K)
NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Febrianty Alexes Siampa

Nomor Mahasiswa : J025 202 006

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Bidang Studi Konservasi Gigi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 24 Juni 2023

Yang Menyatakan



Febrianty Alexes Siampa

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa karena hanya dengan berkat, kekuatan dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tesis ini dengan judul **"Ekspresi *Osteonectin* Pada Pulpa Gigi Kelinci *New Zealand (Oryctolagus Cuniculus)* Yang Terinflamasi Setelah Aplikasi Pasta Cangkang Telur Ayam Ras (*Gallus sp*)"**. Serahkanlah perbuatanmu kepada Tuhan, maka terlaksanalah segala rencanamu. (Amsal 16:3)

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed, Ph.D** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh pimpinan fakultas atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG Subsp KR(K)** sebagai pembimbing I sekaligus Ketua Program Studi Konservasi Gigi yang telah meluangkan waktu membimbing, mengarahkan dan memberi nasehat, pengertian dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan menyusun tesis ini.
3. **Dr. drg. Hafsa Katu, M.Kes** sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. **Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG Subsp KE(K)** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
5. **Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **Prof. Dr. drg. Irene Edith Rieuwpassa, M.Si** sebagai penguji eksternal yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.

7. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG Subsp KE(K), drg. Wahyuni Suci Dwiandhany, Ph.D, Sp.KG Subsp KR(K), drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG Subsp KR(K), drg. Noor Hikmah, Sp.KG Subsp KE(K), Dr. drg. Andi Sumidarti Anas, MS, Dr. drg. Indrya Kirana Mattulada, M.Kes, dan Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes** sebagai dosen yang memberikan ilmu, bimbingan, dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
8. Seluruh staf Klinik Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam pemeliharaan hewan coba.
9. Seluruh staf Laboratorium Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin, yang telah banyak membantu dalam proses pembuatan preparat histologi.
10. Teman seperjuangan penelitian antara lain Imara Binti Qaf, Lestari Hardianti Sugiaman , Muthmainnah Majaya, Sulton Rahmi, Harmiyati Gappar, dan Nurvita Titi Ikawati.
11. Teman-teman residen Konservasi Gigi angkatan 9 (2018), 10 (2019), 11 (2020.1), 13 (2021.1), 14 (2021.2), 15 (2022.1), 16 (2022.2) dan sahabat terkhusus angkatan 12 (2020.2) yaitu **Risnawati, Aryuni Abd. Gaffar, Ni Putu Sartika Sukma Putri, Sari Arianti Ali dan Sakiya Mustainah.** Terimakasih untuk kebersamaan, kekompakan, suka dan duka yang dilalui bersama.
12. Sejawat senior, rekan dan junior residen program studi lain yang turut membantu selama proses penelitian dan keresidenan PPDGS FKG Unhas.
13. Terkhusus kepada:
 - a. Ayah dan ibu tercinta, **Alexander N. Siampa dan Ester Mengi Uly.** Terima kasih atas segala cinta, dukungan doa, moril maupun materil selama penulis menjalani proses pendidikan.
 - b. Suami tercinta, **Roinal Aprian Leppang.** Terima kasih atas segala cinta, dukungan doa, moril dan materil kepada penulis selama menjalani proses pendidikan.

- c. Saudara penulis, Johaan Pawe Siampa dan Yared Alexander Siampa.
Terimakasih atas segala dukungan doa, moril dan materil kepada penulis selama menjalani proses pendidikan.

Akhir kata, dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang telah berperan dalam penyusunan tesis ini yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dan semoga Tuhan YME selalu melimpahkan rahmat, kasih dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat. Permulaan Hikmat adalah Takut akan Tuhan, semua orang yang melakukannya berakal budi yang baik. (Mazmur 111:10a)

Makassar, 24 Juni 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Febrianty Alexes Siampa'. The signature is stylized with a large, sweeping initial 'F' and a horizontal line extending across the bottom of the name.

Febrianty Alexes Siampa

ABSTRAK

FEBRIANTY ALEXES SIAMPA. **Ekspresi *Osteonectin* Pada Pulpa Gigi Kelinci *New Zealand (Oryctolagus Cuniculus)* Yang Terinflamasi Setelah Aplikasi Pasta Cangkang Telur Ayam Ras (*Gallus sp.*)**
(Dibimbing oleh Nurhayaty Natsir dan Hafsa Khatu)

Latar Belakang: Pada pulpa yang terinflamasi akibat cedera dan kehilangan struktur mineral diperlukan suatu upaya terapi untuk mempertahankan vitalitas pulpa dengan merangsang terbentuknya dentin reparatif. *Osteonectin* berperan penting dalam proses mineralisasi dan pengikatan kolagen, serta memainkan peran dalam diferensiasi menjadi sel pembentuk jaringan keras. Proses mineralisasi dapat terjadi melalui unsur kalsium yang berperan penting di dalamnya. Pasta cangkang telur ayam ras memiliki komposisi utama kalsium karbonat (CaCO_3) yang tinggi, kalsium fosfat, magnesium karbonat dan bahan-bahan organik. Kandungan kalsium, fosfat dan magnesium dalam cangkang telur ayam memiliki fungsi dalam proses remineralisasi jaringan keras tulang dan gigi. **Tujuan:** mengetahui perbedaan ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci *New Zealand (Oryctolagus cuniculus)* yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp.*). **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *post-test with control group*. Sampel adalah 24 sampel kelinci yaitu: K- (kelompok negatif), K+ (kalsium hidroksida), P35 (pasta cangkang telur ayam ras konsentrasi 35%), dan P40 (pasta cangkang telur ayam konsentrasi 40%) yang akan dievaluasi dalam periode waktu 7, 14 dan 21 hari dengan pemeriksaan imunohistokimia. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA dan *Post-Hoc* LSD. **Hasil penelitian:** Hasil uji Anova menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) terhadap tingkat ekspresi *osteonectin* antara ke-4 kelompok pada semua hari pengamatan ($p < 0.05$). Adapun perbandingan ekspresi *osteonectin* antar dua kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan dengan menggunakan uji *post-hoc* LSD menunjukkan bahwa antara kelompok perlakuan P35 dan P40 dengan kontrol memperlihatkan perbandingan yang signifikan ($p < 0.05$). Namun, perbandingan di antara dua kelompok P35 dengan P40 tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$). **Kesimpulan:** Terdapat peningkatan ekspresi *osteonectin* yang signifikan antara kelompok perlakuan P35 dan P40 terhadap kalsium hidroksida. **Kata kunci:** *Osteonectin*, Pasta Cangkang Telur Ayam Ras (*Gallus sp.*)

ABSTRACT

FEBRIANTY ALEXES SIAMPA. *Expression of Osteonectin in Inflamed Tooth Pulp of New Zealand Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) After Application of Broiler Chicken Eggshell (*Gallus sp.*)*

(Under the guidance of Nurhayaty Natsir and Hafsa Katu)

Background: In inflamed pulp due to injury and loss of mineral structure, therapeutic efforts are needed to maintain pulp vitality by stimulating reparative dentin formation. Osteonectin plays an important role in mineralizing and binding collagen and differentiation into hard tissue-forming cells. The mineralization process can occur through the element calcium, which plays an important role. Broiler eggshell paste has a primary composition of high calcium carbonate (CaCO_3), calcium phosphate, magnesium carbonate, and organic ingredients. The content of calcium, phosphate, and magnesium in chicken egg shells has a function in the process of remineralizing the hard tissue of bones and teeth. **Purpose:** To determine osteonectin expression differences in the inflamed New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) dental pulp after applying broiler chicken eggshell paste (*Gallus sp.*). **Methods:** Laboratory experimental research with a post-test control group research design. 24 New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were divided into 4 groups: K- (negative control group), K+ (calcium hydroxide), P35 (broiler chicken eggshell paste application of 35% concentration), and P40 (broiler chicken eggshell paste concentration of 40%), then evaluated in a period of 7, 14 and 21 days by immunohistochemical examination. Data were analyzed using ANOVA and LSD Post-Hoc tests. **Results:** ANOVA test results showed that there was a significant difference ($p < 0.05$) in osteonectin level expression between the 4 groups on all observation days ($p < 0.05$). Osteonectin expression comparison between the two treatment groups based on observation days using the LSD post-hoc test showed a significant difference between the P35 and P40 treatment groups and the control ($p < 0.05$). However, the comparison between the P35 and P40 groups did not show a significant difference ($p > 0.05$). **Conclusion:** There was a significant increase in osteonectin expression between the P35 and P40 treatment groups toward calcium hydroxide.

Keywords: Osteonectin, Broiler Chicken Eggshell Paste (*Gallus sp.*)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN JUDUL	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
KETERANGAN TELAH DIUJI	v
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I – PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4

1.4.1. Manfaat Umum	4
1.4.2. Manfaat Khusus	5
BAB II – TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Kompleks Dentin Pulpa	6
2.2. Sel-Sel Pulpa	11
2.3. <i>Osteonectin</i>	14
2.4. Bahan <i>Pulp Capping</i> Kalsium Hidroksida	17
2.4.1. Peran Ca (OH) ₂ dalam Proses Inflamasi & Regenerasi.....	18
2.4.2. Mekanisme aksi antibakteri kalsium hidroksida	20
2.4.3. Peran ion kalsium dalam bahan kalsium hidroksida	21
2.4.4. Kegagalan Prosedur <i>Pulp Capping</i> dengan bahan Ca(OH) ₂	22
2.5. Cangkang Telur Ayam Ras (<i>Gallus sp.</i>)	24
BAB III – KERANGKA PENELITIAN	26
3.1. Kerangka Teori	26
3.2. Kerangka Konsep	27
3.3. Hipotesa Penelitian	28
BAB IV – METODELOGI PENELITIAN	29
4.1. Rancangan Penelitian	29
4.1.1. Jenis Penelitian	29
4.1.2. Desain Penelitian	29
4.2. Waktu dan Lokasi Penelitian	29
4.2.1. Waktu Penelitian	29
4.2.2. Lokasi Penelitian	29

4.3. Subjek dan Sampel Penelitian	30
4.3.1. Subjek Penelitian	30
4.3.2. Sampel Penelitian	30
4.4. Perhitungan Besar Sampel	31
4.5. Identifikasi Variabel dan Defenisi Operasional	32
4.5.1. Variabel Penelitian	32
4.5.2. Definisi Operasional	32
4.6. Tahap Persiapan Bahan Uji.....	33
4.6.1. Alat	33
4.6.2. Bahan	33
4.6.3. Pembuatan Pasta Cangkang Telur Ayam	33
4.7. Tahap Perlakuan ke Hewan Coba	34
4.7.1. Alat	34
4.7.2. Bahan	35
4.7.3. Persiapan Hewan Coba dan Aplikasi Bahan Uji pada Pulpa Kelinci New Zealand (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	35
4.8. Kriteria Objektif	37
4.9. Pemeriksaan Imunohistokimia Osteonectin	38
4.10. Pengumpulan Data dan Analisis Data	40
4.10.1. Jenis data	40
4.10.2. Pengelolaan data	40
4.10.3. Analisis data	40
4.10.4. Penyajian data	40

4.11. Alur Penelitian	41
BAB V – HASIL PENELITIAN	42
5.1. Hasil Pengamatan Histopatologi	42
5.2. Hasil Analisis Data	45
BAB VI – PEMBAHASAN	49
BAB VII – KESIMPULAN DAN SARAN	55
7.1. Kesimpulan	55
7.2. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

- Tabel 5.1.** Perbandingan Rerata Jumlah Osteonectin ($\mu\text{g/ml}$) antara Kelompok Perlakuan berdasarkan Hari Pengamatan..... 45
- Tabel 5.2.** Uji Statistik Perbandingan Ekspresi *Osteonectin* antara Dua Kelompok Perlakuan berdasarkan Hari Pengamatan47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Gambaran Zona Morfologi Pulpa Dentin Kompleks.....	6
Gambar 2.2. Gambaran Ilustrasi skematis dari proses pembentukan dentin tersier.....	11
Gambar 2.3. Peristiwa histologis diamati setelah penerapan Ca(OH) ₂	20
Gambar 2.4. Diagram skematis berbagai faktor yang bertanggung jawab atas kegagalan prosedur pulp-capping dengan Ca (OH) ₂	23
Gambar 5.1. Ekspresi <i>osteonectin</i> pada sel odontoblas dengan pemeriksaan imunohistokimia (Perbesaran 100x, 400x dan 1000x) pada hari pengamatan ke-7. (K-) Kelompok kontrol negatif; (K+) Kelompok kontrol positif; (P35) Pasta cangkang telur ayam 35%; (P40) Pasta cangkang telur ayam 40%	43
Gambar 5.2. Ekspresi <i>osteonectin</i> pada sel odontoblas dengan pemeriksaan imunohistokimia (Perbesaran 100x, 400x dan 1000x) pada hari pengamatan ke-14. (K-) Kelompok kontrol negatif; (K+) Kelompok kontrol positif; (P35) Pasta cangkang telur ayam 35%; (P40) Pasta cangkang telur ayam 40%	43
Gambar 5.3. Ekspresi <i>osteonectin</i> pada sel odontoblas dengan pemeriksaan imunohistokimia (Perbesaran 100x, 400x dan 1000x) pada hari pengamatan ke-21. (K-) Kelompok kontrol negatif; (K+) Kelompok kontrol positif; (P35) Pasta cangkang telur ayam 35%; (P40) Pasta cangkang telur ayam 40%	44
Gambar 5.4. Ekspresi <i>Osteonectin</i> antara kelompok perlakuan berdasarkan hari pengamatan	46

DAFTAR LAMPIRAN

A. Surat Rekomendasi Persetujuan Komisi Etik	63
B. Hasil analisis uji statistik menggunakan SPSS 24 for windows	64
C. Dokumentasi Penelitian	76

DAFTAR ARTI SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
BB	Berat badan
BMP	<i>Bone morphogenic protein</i>
BSP	<i>bone sialoprotein</i>
Ca	Kalsium
CaO	Kalsium oksida
Ca(OH) ₂	Kalsium hidroksida
Ca(CO ₃)	Kalsium karbonat
Cl	Klorin
CO ₂	Karbon dioksida
DEJ	<i>dentino enamel junction</i>
DMCs	<i>Dentin Matrix Component</i>
DMP1	<i>dentin matrix protein 1</i>
DSP	<i>Dentin sialoprotein</i>
DSPP	<i>Dentin-sialo phosphoprotein</i>
DPP	<i>Dentin phosphoprotein</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
EMC	<i>Ectomesenchymal cells</i>
Fe	Besi
Hap	Hidroksiapatit
HCL	Asam klorida
IGF	<i>Insuline-like growth factors</i>
LPS	Lipopolisakarida
LSD	<i>Least Significant Difference</i>
K	Kalium
kDa	Kilo Dalton
kilogram	Kilogram
MEPE	<i>Matrix extracellular phosphoglycoprotein</i>
mg	miligram
Mg	Magnesium
MgO	Magnesium oksida
ml	mililiter
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
Na	Natrium
OH	Hidroksil

ON	<i>Osteonectin</i>
RMGIC	<i>Resin modified glass ionomer cement</i>
RT-PCR	<i>Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction</i>
SIBLING	<i>The small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein family</i>
SPARC	<i>Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Science</i>
TGF	<i>Transforming growth factor</i>
TLR	<i>Toll like receptor</i>
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
μg	<i>Mikrogram</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gigi terdiri dari enamel, dentin, sementum dan pulpa. Struktur dentin sekitar 50% bahan anorganik dan 30% bahan organik berdasarkan volumenya. (Ritter, dkk., 2016) Bahan organik dentin terdiri 90% kolagen tipe 1 dan 10% protein non kolagen. Pada proses dentinogenesis peranan dentin dan pulpa sangat penting dan merupakan satu kesatuan yang kompleks. Interaksi yang erat antara dentin dan jaringan pulpa menciptakan unit fungsional yang dikenal sebagai "kompleks dentin-pulpa."(Hosseinpour, dkk., 2021). Didalam pulpa terdapat pembuluh darah dan saraf, sel jaringan ikat, substansi interseluler, odontoblas, fibroblas dan kolagen. Pulpa dibatasi secara perifer oleh area odontogenik yang terdiri dari odontoblas, *cell-free zone* dan *cell-rich zone* (Ritter, dkk., 2016; Hargreaves, dkk., 2012; Kawashima, dkk., 2016).

Salah satu unsur penting dalam kompleks dentin-pulpa adalah odontoblas (Hargreaves dan Berman, 2016). Odontoblas berfungsi mensintesis dan mensekresi berbagai komponen matriks organik dentin dan protein non-kolagen yang terkait dengan mineralisasi, salah satunya *osteonectin*. (Hosseinpour, dkk., 2021). Osteonektin adalah glikoprotein nonkolagen asam yang terdapat dalam matriks ekstraseluler pulpa dan didistribusikan dalam matriks mineralisasi dentin dan tulang. (Hargreaves, dkk., 2012).

Osteonectin berperan penting dalam proses mineralisasi dan pengikatan kolagen, serta memainkan peran dalam diferensiasi menjadi sel pembentuk jaringan keras (Goldberg, 2014). Regenerasi sel odontoblast membantu keberhasilan penyembuhan kompleks dentin pulpa yang terinflamasi (Okiji, 2012; Hargreaves, dkk., 2012). Saat terjadi cedera pada pulpa sel odontoblas primer akan mengalami kerusakan atau kematian dan akan berdiferensiasi menjadi *odontoblast like cell*. (Ritter, dkk., 2016; Duncan dan Cooper, 2019). Saat *odontoblast like cell* berdiferensiasi, akan mensekresikan *osteonectin* untuk memulai mineralisasi jaringan dalam matriks predentin membentuk dentin reparatif. (Goldberg, 2014; Ritter, dkk., 2016).

Pada pulpa yang terinflamasi akibat cedera diperlukan suatu bahan yang dapat merangsang terbentuknya dentin reparatif (Swarup, 2014). Bahan yang paling sering digunakan adalah kalsium hidroksida (Gandolvi, dkk., 2014). Kalsium hidroksida telah menjadi '*gold standar*' bahan *direct pulp capping* dalam beberapa dekade. (Kundzina, dkk., 2017). Meskipun kalsium hidroksida dianggap sebagai '*gold standar*', beberapa kelemahan dengan penggunaannya telah dilaporkan, yaitu: Ca(OH)_2 dapat mengiritasi jaringan pulpa vital sehingga dapat menyebabkan nekrosis akibat pH-nya yang terlalu tinggi (12,5- 12,8) (Goldberg, dkk., 2015), perlekatan bahan terhadap dentin rendah, kelarutan yang tinggi dalam cairan jaringan, terdapat '*tunnel defect*' yang memungkinkan terjadinya penetrasi bakteri. (Dominguez, dkk., 2003; Li, dkk., 2015).

Oleh karena itu diperlukan bahan alternatif yang dapat mengatasi kekurangan dari Ca(OH)_2 . Salah satu alternatif bahan alami yang dapat digunakan

adalah cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) (Mohamed, dkk., 2020). Komposisi utama dalam cangkang telur ayam adalah kalsium karbonat (CaCO_3) sebesar (94%), kalsium fosfat (1%), magnesium karbonat (1%), dan bahan-bahan organik (4%). Kandungan kalsium, fosfat dan magnesium dalam cangkang telur ayam memiliki fungsi dalam proses remineralisasi jaringan keras tulang dan gigi. (Salah M, dkk., 2018; Taher, dkk, 2018; Elbahrawy, dkk., 2019).

Penelitian terdahulu, ditemukan bahwa pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*), dapat diterapkan sebagai agen remineralisasi pada email. (Mohamed, dkk., 2020). Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pasta cangkang telur ayam konsentrasi 35% dan 40% menunjukkan efektivitas yang baik dalam menstimulasi diferensiasi odontoblas dan matriks dentin untuk keperluan proses remineralisasi dentin sebagai dentin reparatif. (Gappara, 2022; Ikawati, 2022; Majaya, 2022)

Oleh karena itu peneliti ingin melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) sebagai bahan remineralisasi pada dentin terhadap ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Orictolagus cuniculus*) yang terinflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah apakah terjadi peningkatan ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Orictolagus cuniculus*) yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbedaan ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi peningkatan ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) konsentrasi 35%.
2. Mengevaluasi peningkatan ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) konsentrasi 40%.
3. Mengevaluasi perbandingan peningkatan ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) konsentrasi 35%, 40% dan kontrol.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci yang terinflamasi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*).

1.4.2 Manfaat Khusus

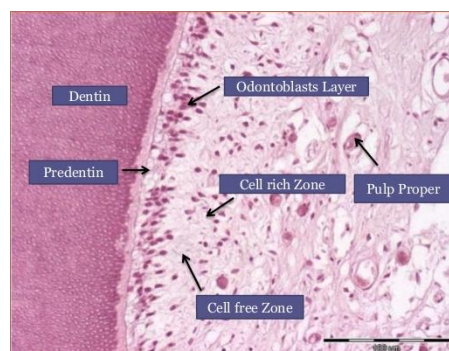
Dapat dijadikan sebagai salah satu bahan yang berpotensi untuk remineralisasi dentin. Dapat memberikan informasi bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis konservasi gigi pada khususnya mengenai efektivitas aplikasi pasta cangkang telur ayam (*Gallus sp*) terhadap ekspresi *osteonectin* pada pulpa gigi kelinci *New Zealand (Oryctolagus cuniculus)* yang terinflamasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kompleks Dentin Pulpa

Dentin dan pulpa memperlihatkan hubungan yang terintegrasi secara anatomi dan fisiologi yang dikenal dengan kompleks dentin pulpa. Salah satu unsur penting dalam kompleks dentin-pulpa adalah odontoblas. Sel odontoblas terdiri dari prosesus dan badan sel. Badan sel terdapat pada pulpa, sedangkan prosesusnya berada pada dentin. (Hargreaves dan Berman, 2016) Berdasarkan beratnya dentin terdiri dari 70% kristal hidroksiapatit (anorganik), 20% zat organik yang tersusun dari protein kolagen dan non kolagen, serta 10% air. Berdasarkan volumenya terdiri dari 50% anorganik, 30% organik dan 20% air. (Ritter, 2016) Secara histologis pulpa dentin kompleks terdiri dari dentin, predentin, *odontoblast layer*, *cell free zone*, *cell rich zone*, *pulp proper*. (Torneck & Torabinejad, 2003; Trownbridge dkk., 2002; Ritter dkk, 2016).



Gambar 2.1. Zona Morfologi Pulpa Dentin Kompleks

Dentin dibentuk oleh odontoblas, dimulai dari pusat perkembangan di sepanjang *dentino enamel junction* (DEJ) dan akan menyebar ke dalam dan keluar

sehingga membentuk ruang pulpa. Dalam dentinogenesis odontoblas berperan penting yang mampu mensintesis dan mensekresi kolagen tipe I membentuk predentin, yang kemudian termineralisasi ketika kristal apatit terdeposit. Saat odontoblas membangun kolagen tipe I, sel ini menyusut ke arah pulpa dan meninggalkan prosesus odontoblas, di mana sel-sel ini tetap terhubung ke matriks mineral. (D'Souza dan Qin, 2012) Komponen organik utama dentin adalah fibril kolagen, yaitu kolagen tipe I sebanyak 90% dan 10 % adalah protein non kolagen, seperti *osteonectin*, *osteocalcin*, *osteopontin*, *dentin sialophosphoprotein (DSPP)*, *dentin matrix protein 1 (DMP1)*, *bone sialoprotein (BSP)*, dan *matrix extracellular phosphorylated glycoprotein (MEPE)*, yang memainkan peran penting dalam regulasi mineralisasi. (Okiji T, 2012; Torabinejad, 2015; Siquera, 2016)

Pulpa berada pada ruang pulpa dan merupakan organ tubuh manusia yang unik dan terspesialisasi yang memiliki empat fungsi: 1. formatif (perkembangan), 2. nutrisi, 3. sensorik (pelindung), dan 4. defensif/reparatif. Fungsi formatif adalah produksi dentin primer dan sekunder oleh odontoblas. Fungsi nutrisi memasok ion mineral, protein, dan air ke dentin melalui suplai darah ke odontoblas dan prosesusnya. Fungsi sensorik disediakan oleh serabut saraf di dalam pulpa yang memediasi sensasi nyeri. Nosisepor saraf dentin unik karena berbagai rangsangan hanya menimbulkan rasa sakit sebagai respons. Pulpa dibatasi oleh dentin dan di perifer dilapisi oleh lapisan seluler odontoblas yang berdekatan dengan dentin. (Ritter, dkk., 2016). Pulpa mengandung saraf, arteriol, venula, kapiler, saluran limfe, sel jaringan ikat, substansi interseluler, odontoblas, fibroblas, makrofag, kolagen, dan serat halus. (Torabinejad, 2015)

Jaringan pulpa adalah jaringan ikat yang memiliki potensi untuk penyembuhan melalui 3 proses yaitu : inflamasi pulpa, sintesis kolagen, dan pembentukan dentin tersier.

1. Inflamasi pulpa

Inflamasi adalah respon pertahanan tubuh untuk mengeliminasi penyebab jejas pada jaringan pulpa, membersihkan jaringan dari sisa-sisa kerusakan dan pembentukan jaringan baru. Penyebab inflamasi adalah agen infeksi, benda asing, jejas pada sel misalnya trauma fisik, suhu dan kimiawi serta iskemia yang menimbulkan kerusakan jaringan. Respon inflamasi terjadi karena peranan berbagai faktor, seperti sel-sel inflamasi (leukosit, limfosit, makrofag dan sel mast), pembuluh darah dan mediator inflamasi (Prostaglandin, Bradikinin, Interleukin dan TNF α). (Wahid dan Miskad, 2016)

2. Sintesis kolagen

Kolagen adalah komponen organik utama pada jaringan pulpa dan dentin. Kolagen tipe I merupakan tipe kolagen dengan jumlah paling banyak dan memberikan kontribusi besar pada jaringan pulpa, Kolagen tipe I disintesis oleh odontoblast. Sedangkan 42,6% dari total kolagen pada pulpa adalah kolagen tipe III. Sintesa kolagen tipe III dilakukan oleh fibroblas yang terdapat pada zona cells rich pulpa. Kolagen tipe IV diidentifikasi sebagai komponen membran basal pembuluh darah pulpa. Kolagen tipe V dan tipe VI telah diamati di pulpa, membentuk anyaman padat mikrofibril tipis di seluruh stroma jaringan ikat pulpa. (Okiji, 2012)

Komposisi jenis kolagen dalam dentin dan pre-dentin sangat berbeda dari pulpa. Kolagen dentin dan pre-dentin 90% lebih terdiri dari tipe I, meskipun beberapa peneliti mendeteksi adanya kolagen tipe III dan tipe V dalam pre-dentin. Fibroblas pulpa dapat menghasilkan kolagen tipe I dan tipe III, sedangkan mayoritas molekul kolagen yang diproduksi oleh odontoblas adalah tipe I. Temuan ini mendukung gagasan bahwa kolagen dentin berasal dari odontoblas dan bukan merupakan produk gabungan dari odontoblas dan pulpa fibroblas. (Hargreaves dan Goodie, 2012)

Sintesis kolagen dalam pulpa dipercepat selama proses reparatif, dicontohkan dalam proses pembentukan *dentin bridge* setelah penerapan kalsium hidroksida pada pulpa vital yang terbuka. Kalsium hidroksida awalnya menginduksi pembentukan zona nekrotik superfisial karena pHnya yang tinggi. Mengikuti infiltrasi sel inflamasi, *fibroblast like cells* (termasuk progenitor odontoblas sekunder) berkembang biak dan bermigrasi ke lokasi cedera. Tindakan ini diikuti oleh pembentukan kolagen baru yang tersusun dalam kontak dengan zona nekrotik superfisial dan mengandung inklusi seluler. Dengan demikian, penerapan kalsium hidroksida menghasilkan percepatan pembentukan kolagen. Selama fase awal dentinogenesis reparatif, fibril kolagen menunjukkan susunan interodontoblastik yang sebanding dengan *Korff fibers*. Namun, serat ini menjadi lebih tipis dan lebih sedikit setelah pembentukan lapisan odontoblas sekunder yang kuat. Dengan demikian telah didalilkan bahwa serat-serat ini memberikan dukungan pada

prekursorodontoblas sekunder sebelum pembentukan lapisan odontoblastik reguler. (Okiji, 2012)

3. Pembentukan dentin tersier

Dentin tersier dibentuk sebagai respon terhadap rangsangan berbahaya seperti keausan gigi, karies gigi, jejas, preparasi kavitas, dan prosedur restoratif. Dentin tersier diklasifikasikan menjadi dua yaitu dentin reaksioner dan dentin reparatif. Dentinogenesis reaksioner dan reparatif berbeda dalam sumber sel yang mensekresi. (Hargreaves, 2012; Duncan, 2021)

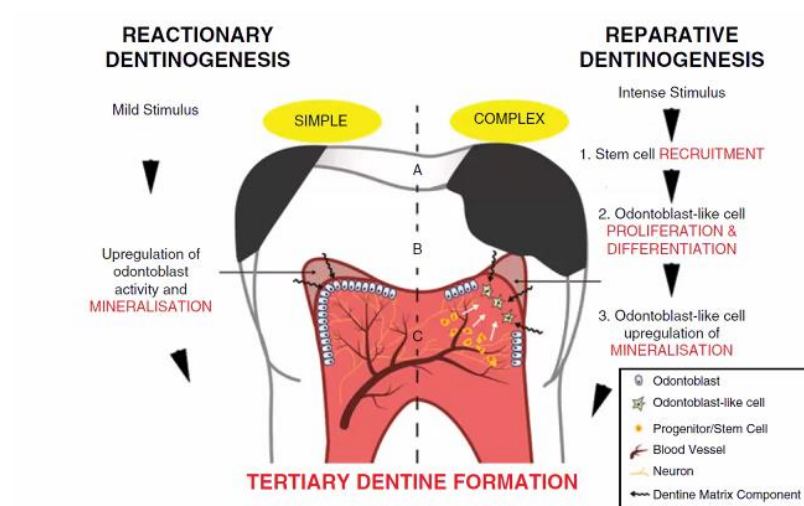
– Dentin reaksioner

Dentin reaksioner merupakan respon jaringan pulpa terhadap adanya kerusakan atau iritasi yang tidak mengakibatkan kematian sel odontoblas. Kerusakan ini biasanya ringan atau sedang. Dentin reaksioner dibentuk oleh odontoblas primer yang ada dengan stimulus ringan (misalnya tahap awal karies) merangsang upregulasi aktivitas odontoblas yang ada. Selama proses dentinogenesis reaksioner, odontoblas mengenali produk bakteri dan melepaskan matriks dentin komponen (DMCs) menyebar melalui tubulus dentin, yang meningkatkan aktivitas seluler.

– Dentin reparatif

Pembentukan dentin reparatif melibatkan rangkaian peristiwa yang lebih kompleks di mana stimulus yang parah (misalnya meningkatnya keterlibatan karies dentin atau trauma) menyebabkan kematian odontoblas primer, yang kemudian diganti setelah diferensiasi sel progenitor atau *stem cell*

menjadi *odontoblast-like cells* di bawah regulasi molekul bioaktif (termasuk DMCs).



Gambar 2.2. Ilustrasi skematis dari proses pembentukan dentin tersier.

2.2 Sel-Sel Pulpa

a. Odontoblast

Odontoblas adalah sel yang terletak di perifer jaringan pulpa dan ekstensi ke bagian tubulus dentin. (Hargreaves dan Berman, 2016) Sel ini bertanggung jawab atas dentinogenesis selama proses perkembangan gigi dan *aging*. Selama dentinogenesis, odontoblas membentuk dentin dan tubulus dentin, dan keberadaannya di dalam tubulus membuat dentin menjadi jaringan responsif yang hidup. (Fristad & Berggreen, 2016) Dentinogenesis, osteogenesis, dan sementogenesis dalam banyak hal sangat mirip, dan odontoblas, osteoblas, dan sementoblas memiliki banyak karakteristik yang sama. Masing-masing sel ini

menghasilkan matriks yang terdiri dari fibril kolagen, protein non-kolagen, dan proteoglikan yang mampu mengalami mineralisasi. (Fristad & Berggreen, 2016).

Fungsi utama odontoblas adalah mensintesis dan mensekresi berbagai komponen matriks organik dentin, terutama kolagen tipe I dan proteoglikan. Odontoblas juga mampu memproduksi molekul bioaktif (kemokin, faktor pertumbuhan seperti TGF- β , matrix metalloproteinase (MMP), dan mengekspresikan molekul yang terlibat dalam reaksi pertahanan dan perbaikan (Toll like receptor (TLR). Odontoblas juga mensintesis berbagai protein non-kolagen yang terkait dengan mineralisasi, termasuk *bone sialoprotein*, *dentin sialoprotein*, *phosphophoryn (dentin phosphoprotein)*, *dentin matrix protein 1*, *osteocalcin*, *osteonectin*, and *osteopontin*. (Okiji, 2012; Ove dkk., 2021). Pada daerah jejas Osteonektin disekresi dan secara cepat dari odontoblas untuk membentuk predentin. (Gronthos dkk., 2001)

Odontoblas bertanggung jawab dalam perkembangan dan pembentukan dentin reparatif. Pada daerah yang mengalami kerusakan dapat meregulasi aktivitas sekretori dentin selama cedera ringan, namun cedera dengan intensitas lebih besar akan menyebabkan nekrosis odontoblas yang kemudian digantikan dengan *odontoblast-like cell* (Simon, dkk., 2009; Haniastuti, 2008).

b. Fibroblas

Fibroblas merupakan sel mesenchymal yang membentuk serat pada jaringan konektif dan berfungsi menjaga integritas struktur (Jeanneau, 2017) dan merupakan sel-sel pulpa yang paling banyak. Sel ini merupakan sel spesifik jaringan yang

mampu menghasilkan *odontoblast like cells* untuk diferensiasi. Fibroblas mensintesis kolagen tipe I dan III, serta proteoglikan. Sel ini memproduksi dan memelihara protein matriks ECM. Sel ini juga mampu untuk fagositosis, mencerna kolagen, serta bertanggung jawab atas pergantian kolagen di dalam pulpa. (Fristad & Berggreen, 2016).

Fibroblas banyak di *cell-rich zone*. Saat fibroblast *mature*, sel-sel berbentuk seperti bintang, dan kompleks golgi membesar, Banyak fibroblas pulpa dikarakteristikan dengan sel-sel yang tidak berdiferensiasi. Istilah untuk sel yang tidak berdiferensiasi adalah *stem cells*. Beberapa eksperimental telah dikembangkan untuk mempelajari penyembuhan pulpa, terutama pembentukan *dentinal bridge* setelah pulpa terpapar. Satu studi menunjukkan bahwa aktivitas mitosis sebelum diferensiasi penggantian odontoblast terjadi di antara fibroblas perivaskular. (Fristad & Berggreen, 2016) Sel ini berperan aktif dalam *signaling pathways* di pulpa gigi dan selama proses penyembuhan memiliki tingkat proliferasi dan metabolisme yang tinggi (Jeanneau, 2017).

c. Sel-sel Mesenkim yang Tidak Berdiferensiasi

Sel-sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi tersebar diseluruh zona kaya sel dan inti pulpa, yang sering menempati daerah perivaskuler. Setelah menerima rangsangan, mereka dapat mengalami diferensiasi menjadi fibroblas, odontoblas, makrofag dan osteoklas (Seltzer, 2012). Sel-sel ini merupakan sel yang pertama kali membelah ketika terjadi cedera. Sel ini akan berkurang jumlahnya sejalan dengan

meningkatnya kalsifikasi pulpa dan berkurangnya aliran darah akan menurunkan kemampuan regeneratifnya (Torabinejad, 2015)

d. Sel-Sel Sistem Imun

Sel imun yang utama pada pulpa adalah makrofag, sel dendritik dan limfosit T (Okiji, 2012 ; Torabinejad, 2015) Makrofag ditemukan di *cell rich zone*, terutama dekat pembuluh darah. Sel-sel ini adalah monosit darah yang berpindah ke dalam jaringan pulpa. Fungsinya adalah untuk fagositosis debris nekrotik dan benda asing. Sel dendritik adalah sel aksesori dari sistem imun. Sel-sel ini disebut *antigen-presenting cells* dan dikarakteristikan oleh proseses sitoplasma dendritik. Pada pulpa normal mereka kebanyakan terletak di perifer pulpa koronal dekat dengan predentin, tetapi sel ini bermigrasi secara sentral di pulpa setelah *antigenic challenge*. Sel ini diketahui memainkan peran sentral dalam induksi imunitas yang bergantung pada sel T. Limfosit dan sel plasma ditemukan pada daerah subodontoblasik koronal pulpa normal. Fungsi sel ini adalah sebagai imunitas (Hargreaves dan Berman, 2016).

2.3 Osteonectin

Osteonectin (ON) atau *Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine* (SPARC) adalah protein non kolagen utama dalam dentin dan jumlahnya banyak di lapisan odontoblas yang berperan penting dalam proses mineralisasi tulang dan gigi serta diferensiasi menjadi sel pembentuk jaringan keras. (Hargreaves, dkk., 2012). Matriks ekstraseluler pulpa mengandung beberapa glikoprotein nonkolagen yang sebagian besar didistribusikan dalam matriks jaringan yang termineralisasi seperti

dentin dan tulang. Osteonectin berikatan kuat dengan kolagen tipe I dan hidroksiapatit serta melepaskan ion kalsium untuk meningkatkan mineralisasi matriks kolagen dalam tulang dan gigi (Zhu dkk, 2019). Osteonektin juga terlibat dalam morfogenesis, migrasi dan diferensiasi sel yang berfungsi mengatur interaksi antara sel dan substratnya, mengkoordinasikan adhesi sel, proliferasi, sintesis dan pergantian matriks (Chisini dkk, 2016).

Dalam osteoid *osteonectin* berfungsi untuk mengikat kristal kolagen dan hidroksiapatit dan melepaskan ion kalsium yang meningkatkan mineralisasi matriks kolagen dalam gigi dan tulang. (Emilie & Amy, 2016; Ju-Min Lee, dkk., 2017). *Osteonectin* diekspresikan pada level tinggi dalam jaringan osseus dengan turnover tinggi seperti pada osteoblas aktif, sel progenitor sumsum tulang dan odontoblast (sel pembentuk dentin). (Emilie & Amy, 2016) Pewarnaan ringan sampai sedang telah diamati pada pulpa gigi dan sebagian besar berada di lokasi remodeling kolagen yang cepat. *Osteonectin* yang diidentifikasi pada fibroblas pulpa memainkan peran dalam diferensiasi menjadi sel pembentuk jaringan keras dan dalam pembentukan jaringan termineralisasi serta mempromosikan diferensiasi sel pulpa gigi dengan aktivasi Notch. (Goldberg, 2014).

Ekspresi osteonectin pada umumnya ditemukan dalam sel yang memiliki tingkat produksi matriks/ proliferasi yang tinggi. Matriks ekstraseluler memodulasi migrasi, proliferasi, dan diferensiasi banyak sel selama perkembangan dan perbaikan. Osteonectin, juga dapat mempengaruhi proses ini. (Shiba dkk, 2001) Dalam jaringan termineralisasi, sinyal yang kuat diperoleh di osteoblas, odontoblas, dan chondrocyte dari daerah di atas zona hipertrofi dan proliferasi. Ekspresi yang

kuat juga ditemukan di osteoblas pada perkembangan gigi. Selain itu, mRNA dan protein terdeteksi pada beberapa jaringan non-mineralisasi. (Ju-Min Lee, dkk., 2017)

Secara histokimia, osteonectin terdeteksi pada ekstraselular tulang dan pada zona termineralisasi hanya pada tulang rawan. Lokalisasinya pada tulang, tulang rawan, dan gigi sesuai dengan peranannya dalam permulaan proses mineralisasi. Namun, distribusi organ spesifik pada jaringan non-mineralisasi memberi kesan adanya peran multifungsi yang penting terhadap pertumbuhan manusia. Distribusi pada jaringan gigi dapat juga dilihat dari stain yang kuat pada dentin gigi yang tidak erupsi dan tulang alveolar yang terhubung dengan menggunakan antibodi affinity-purified yang dikombinasikan dengan teknik peroxide-antiperoxide. Ringan sampai beratnya stain yang timbul diamati pada pulpa gigi, stratum intermedium, stellate reticulum, dan elemen-elemen retikuler pada endosteum. (Goldberg, 2014). Pada gigi yang erupsi, staining osteonectin pada dentin terkonsentrasi disekitar tubulus dentin dan pada tulang alveolar yang terhubung dengan variasi intensitas. Pada bagian sementum stain terlihat sangat sedikit, namun pada ligamen periodontal dan bahan retikuler pada daerah endoteum menunjukkan tingkatan intensitas stain dari sedang sampai ke berat. Stain yang lebih ringan tampak pada pulpa dan lamina propria gingiva. Sebagai perbandingan, kolagen tipe-1 menunjukkan distribusi osteonectin yang sama pada jaringan fetus dan jaringan dewasa, sedangkan kolagen tipe-3 pada umumnya terbatas pada ligamen periodontal, elemen-elemen retikuler dari daerah endosteal, dan Sharpey's fiber pada tulang dan sementum. Pada kedua

lapisan ameloblast dan odontoblas jaringan fetus, tampak stain untuk osteonectin dan kolagen tipe-3. (Emilie & Amy, 2016; Ju-Min Lee, dkk., 2017)

Pada manusia *osteonectin*, *osteocalcin*, dan *dentin sialophosphoprotein (DSPP)* mRNA dapat dideteksi dengan *Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* pada mandibula fetus dan pada kultur sel primer pulpa gigi. Selain itu, osteocalcin, osteonectin dan protein DSPP terlokalisir pada pembentukan jaringan yang termineralisasi dengan menggunakan immunohistochemistry. Hasil ekspresi osteonectin dan osteocalcin pada perkembangan awal menunjukkan adanya celah sementara pada osteoblas maupun odontoblas. Osteonectin terekspresi pada tahap awal dari cytodifferentiation. Pada saat tahap maturasi dari pembentukan enamel, osteonectin terdeteksi pada odontoblas dan prosesusnya dalam matrix ekstraseluler. Osteonectin banyak terdapat pada predentin yang tidak termineralisasi. (Papagerakis, dkk., 2002)

2.4 Bahan *Pulp Capping* Kalsium Hidroksida

Sejak diperkenalkan pada bidang kedokteran gigi oleh Hermann tahun 1928, kalsium hidroksida (Ca(OH)_2) telah banyak digunakan sebagai agen mineralisasi serta obat antimikroba yang efektif. Meskipun beberapa biomaterial baru lainnya diusulkan untuk prosedur pulp capping, Ca(OH)_2 masih dianggap sebagai '*gold standar*' bahan direct pulp capping dalam beberapa dekade dan keuntungan utamanya adalah kemampuannya untuk merangsang jaringan pulpa untuk membentuk *dentinal bridge* (Goldberget dkk. 2008; Kundzina, dkk., 2017).

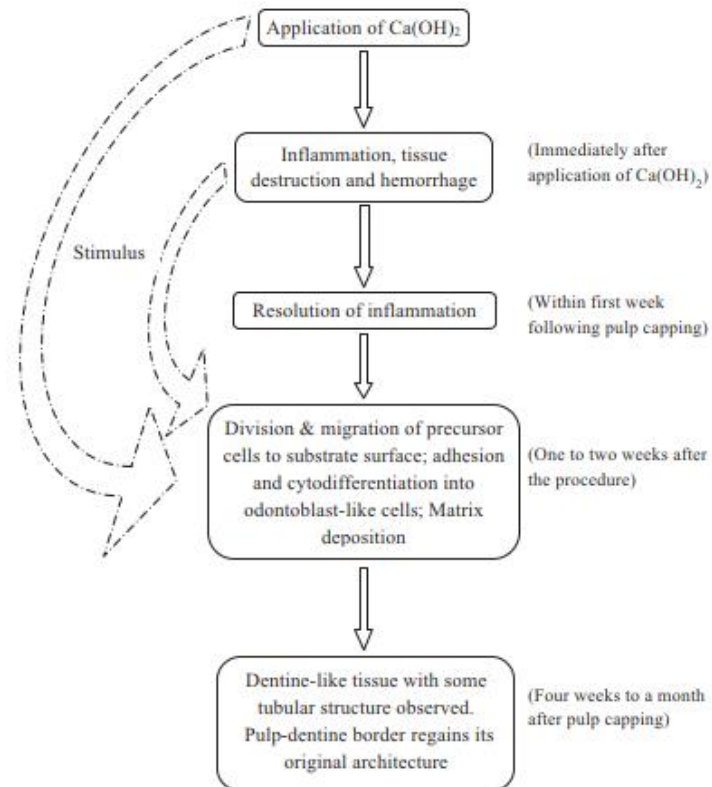
2.4.1 Peran kalsium hidroksida dalam proses inflamasi dan regenerasi jaringan pada prosedur pulp capping

Pulpa yang mengalami inflamasi memiliki kemampuan melakukan perbaikan sebagai respon terhadap rangsangan seperti karies gigi, jejas, preparasi kavitas, dan prosedur restorative melalui pembentukan dentin tersier. Dentin tersier ini telah dibagi menjadi dua jenis yaitu dentinogenesis reaksioner dan reparative tergantung pada apakah dentin telah disekresikan oleh odontoblas primer yang sudah ada sebelumnya atau oleh sel sekretori yang baru berdiferensiasi, yang telah bermigrasi setelah kematian odontoblas primer. Dentinogenesis reaksioner dapat dianggap sebagai respon berlebihan dari odontoblas yang sudah ada di daerah tersebut yang bermanifestasi sebagai peningkatan jumlah matriks dentin yang disekresikan, dentinogenesis reparatif melibatkan beberapa peristiwa biologis yang saling terkait secara rumit. Karena odontoblas di daerah tersebut telah mengalami kematian, kemudian diganti setelah diferensiasi sel progenitor atau *stem cell* menjadi *odontoblast-like cells* di bawah regulasi molekul bioaktif.

Kalsium hidroksida terbukti meningkatkan rekrutmen, migrasi, proliferasi, dan mineralisasi sel induk pulpa gigi (Jiet dkk, 2010), sehingga memfasilitasi seluruh proses dentinogenesis reparatif. Ketika $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ditempatkan pada pulpa, pH bahan yang tinggi menyebabkan iritasi dan menghasilkan zona nekrosis superfisial pada area paparan. Zona nekrosis koagulasi ini penting untuk pembentukan dentin tersier. Studi Ultrastructural telah menunjukkan bahwa kalsifikasi awal setelah penerapan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ berhubungan dengan debris seluler dan fibril kolagen yang membengkak pada permukaan lapisan nekrotik superfisial dan jaringan pulpa vital

di bawahnya. Nekrosis koagulasi yang disebabkan oleh Ca(OH)_2 mampu memulai proses mineralisasi.

Luet dkk tahun 2008 mengevaluasi respon jaringan pulpa manusia setelah direct pulp capping. Mereka mengamati munculnya lapisan nekrotik di lokasi sekitar 7 hari setelah ditutup dengan Ca(OH)_2 , terkait dengan reaksi inflamasi ringan hingga sedang yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil dan sel mononuklear. Jaringan pulpa tidak teratur dengan pembuluh darah melebar. Matriks dentin muncul sekitar 30 hari kemudian setelah peristiwa inflamasi seluler dan vaskular mulai memudar dan sel-sel baru dengan potensi sekretori tiba di wilayah tersebut untuk melakukan perbaikan. Di sisi lain, Fitzgerald dkk (200) melaporkan deposisi matriks oleh sel sekretori baru jauh lebih awal pada hari ke 8 setelah aplikasi Ca(OH)_2 . Penelitian ini juga menemukan peningkatan *odontoblast like cell* sel di zona bebas sel. Sel-sel ini tampaknya bermigrasi dari pulpa. Mereka menyarankan bahwa setidaknya ada dua DNA replikasi harus terjadi sebelum sel yang bermigrasi berdiferensiasi menjadi sel mirip odontoblas. Temuan serupa dilaporkan dalam studi ultrastruktural lain (Mjor dkk, 2001) penyembuhan paparan pulpa pada monyet Rhesus. Dilaporkan bahwa kerusakan jaringan dan perdarahan, yang disebabkan oleh trauma yang ditimbulkan selama prosedur dan diamati pada hari ke 5-6. Diperoleh hasil dalam 5-6 hari dengan penurunan peradangan secara bersamaan. Pada akhir minggu kedua, lapisan sel yang terorganisasi dengan baik yaitu *odontoblast like cell* yang berdekatan muncul, berbatasan dengan matriks predentine (Gbr. 2).



Gambar 2.3. Peristiwa histologis diamati setelah penerapan Ca(OH)_2 . pH bahan yang tinggi menghasilkan zona nekrosis superfisial yang berhubungan dengan inflamasi. Inflamasi serta kerusakan yang terjadi pada jaringan pulpa memberikan rangsangan bagi sel prekursor untuk bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel sekretori. Perubahan produktif di lokasi dimulai setelah peradangan teratasi. (Sangwan P, Sangwan A, Duhan J & Rohilla A. Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: A review of proposed mechanisms. *International Endodontic Journal*. 2013;46:3–19)

2.4.2 Mekanisme aksi antibakteri kalsium hidroksida

Kalsium hidroksida memiliki sifat yang sangat basa dengan pH 11-13 sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi dan berperan penting dalam inisiasi proses remineralisasi. Pelepasan ion hidroksil mampu merusak membrane sitoplasma dan DNA bakteri. Ion hidroksil bekerja dengan mendenaturasi protein dan menghidrolisis lemak lipopolisakarida (LPS) seperti pirogenitas, toksisitas, aktivasi makrofag dan komplemen, sehingga dinding sel rusak dan mengakibatkan kematian bakteri. Kalsium hidroksida juga merupakan bakterisid karena bersifat

alkali dengan pH 11-13. Peningkatan ion OH^- , menjadikan kemungkinan bakteri untuk hidup rendah sekali, sedangkan ion Ca^{2+} dari kalsium hidroksida dipercaya memiliki khasiat dalam merangsang pembentukan jembatan dentin dan memelihara vitalitas pulpa. Kalsium hidroksida dapat merangsang pembentukan dentin reparatif karena pH yang basa mengiritasi jaringan pulpa. Iritasi yang terjadi pada pulpa menyebabkan produksi morfogen yang berperan dalam dentinogenesis yaitu TGF- β 1 dan BMP2. Morfogen ini merupakan protein yang signifikan dalam kesembuhan pulpa. (Bergenholtz, 2003; Goldberg, dkk., 2015, Li dkk., 2015).

Kalsium hidroksida juga memiliki beberapa kelemahan yaitu pH tinggi (12,5) dapat menyebabkan nekrosis pada sebagian besar lapisan superfisial. Efek toksik dari kalsium hidroksida yang kelihatannya dinetralkan pada lapisan pulpa yang lebih dalam, justru menyebabkan nekrosis koagulasi yang berbatasan dengan jaringan vital, menyebabkan iritasi ringan pada pulpa. PH alkali kalsium hidroksida menginduksi nekrosis lokal dalam kontak dengan pulpa dan menetralkan asam yang dihasilkan selama respon inflamasi. Sifat alkali dapat meningkatkan risiko gangguan pulpa dan lesi apikal. Pada proses reparatif, terjadi tunnel defect pada pembentukan *dentinal bridge* yang memungkinkan masuknya bakteri dan toksin ke dalam dentin yang mengakibatkan kegagalan perawatan. (Bogen et al., 2008; Kunarti, 2008; Li dkk., 2015).

2.4.3 Peran ion kalsium dalam bahan kalsium hidroksida

Dalam pengaturan fungsi seluler tubuh, respons biologis kalsium hidroksida juga telah dikaitkan dengan pelepasan ion Ca^+ . Kalsium hidroksida yang diaplikasikan pada pulpa berdisosiasi menjadi ion Ca^+ dan OH^- . Penguraian bahan

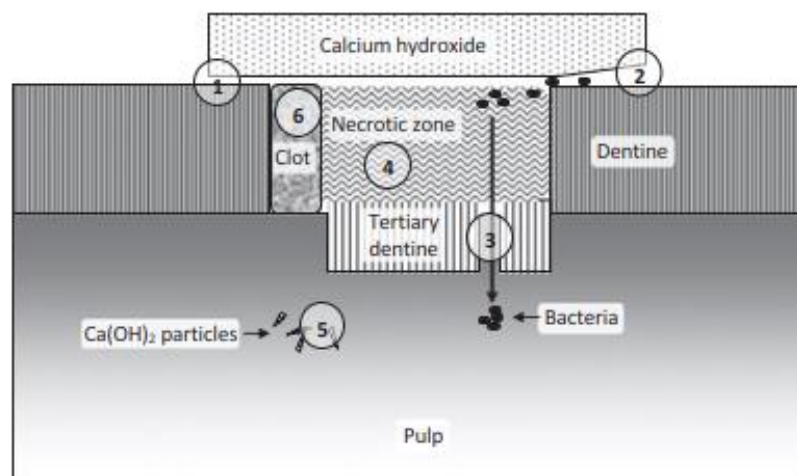
secara terus menerus menghasilkan lingkungan mikro lokal dengan konsentrasi Ca^+ yang tinggi. Konsentrasi ini paling tinggi di lokasi aplikasi dan terus menurun seiring bertambahnya jarak dari material, sehingga membentuk gradien. Ion Ca^+ yang tinggi mampu mengaktifkan sel punca (Adams dkk.2006), osteoblas dan fibroblas (Lansdown 2002) dan menyebabkan migrasi. Selain itu, sel-sel yang bertanggung jawab untuk pembentukan *odontoblast like cell* pada dentinogenesis reparatif terletak di inti pulpa. Reseptor kalsium pada sel-sel ini bertindak sebagai sensor untuk peningkatan konsentrasi dan menggerakkan kemotaksis dari jaringan yang lebih dalam ke lokasi yang terpapar.

Selain kemotaksis, ion Ca^+ telah dilaporkan menjadi pengatur yang kuat dari beberapa peristiwa seluler lainnya seperti proliferasi, diferensiasi, dan mineralisasi (Zayzafoon 2006). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa ion Ca^+ merangsang sintesis fibronectin dalam sel pulpa gigi (Mizuno & Banzai 2008). Ion Ca^+ dalam matriks ekstraseluler juga telah didemonstrasikan dalam penelitian untuk meningkatkan regulasi ekspresi gen dari protein kolagen & nonkolagen dalam sel pulpa manusia (Rashidet al.2003) dan memainkan peran penting dalam mineralisasi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ mineralisasi yang diinduksi dalam jaringan pulpa gigi. (Sangwan dkk, 2013)

2.4.4 Kegagalan Prosedur *Pulp Capping* Dengan Bahan Kalsium Hidroksida

Penelitian telah menunjukkan tingkat kelangsungan hidup pulpa yang menurun dari waktu ke waktu setelah prosedur pulp capping dengan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Dammaschke et dkk, 2010, Willershausen et dkk, 2011). Banyak faktor yang bertanggung jawab atas kegagalan prosedur pulp capping dengan kalsium

hidroksida (Gambar 4). Sifat *non-adhesive* dan kelarutan yang tinggi pada kalsium hidroksida dapat menyebabkan kebocoran mikro dan masuknya bakteri ke lokasi paparan (Hørsted-Bindslev & Løvschall 2002). Maka diharapkan sealing yang baik oleh restorasi di atas bahan. Kontaminasi bakteri juga dapat terjadi melalui 'tunnel defect' pada *dentinal bridge* yang dapat memberikan jalur bagi bakteri mencapai ke pulpa. Zona nekrosis superfisial hingga kedalaman 1,5 mm (Swift et al. 2003) adalah beberapa faktor lain yang bertanggung jawab atas kegagalan prosedur. Status inflamasi pulpa preoperatif merupakan faktor utama yang mempengaruhi tingkat keberhasilan dan sangat sulit untuk didiagnosis secara akurat.



Gambar 2.4. Diagram skematis berbagai faktor yang bertanggung jawab atas kegagalan prosedur pulp-capping dengan $\text{Ca}(\text{OH})_2$. (1) *Non-adherence to dentine*. (2) kelarutan dalam cairan jaringan. (3) *Tunnel Defect*. (4) Nekrosis jaringan pulpa yang dapat menyebabkan gangguan vaskularisasi. (5) Pengeluaran partikel ke dalam pulpa. (6) Bekuan darah ada di antara bahan dan pulpa. (Sangwan P, Sangwan A, Duhan J & Rohilla A. Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: A review of proposed mechanisms. *International Endodontic Journal*. 2013;46:3–19)

2.5 Cangkang Telur Ayam Ras (*Gallus sp.*)

Cangkang telur ayam pada umumnya memiliki berat 9-12% dari berat telur total dengan rata-rata cangkang telur adalah sekitar 5 gram dan 40% dari kulit telur terdiri dari kalsium. (Asmawati, 2017) Cangkang telur ayam terdiri dari tiga lapisan yaitu kutikula, lapisan *sponge* dan lapisan *lamellar*. Lapisan kutikula adalah protein transparan yang melapisi pori-pori pada permukaan cangkang telur. Lapisan *sponge* merupakan bagian terbesar dari lapisan cangkang telur, tersusun oleh protein dan lapisan kapur yang terdiri dari kalsium karbonat, kalsium fosfat, magnesium karbonat, dan magnesium fosfat. Lapisan *lamellar* terdiri dari lapisan yang berbentuk kerucut dengan penampang bulat atau lonjong. Lapisan ini sangat tipis dan terdiri dari anyaman protein dan mineral. Di bawah lapisan *lamellar* terdapat lapisan membran sebagai lapisan cangkang telur yang terdalam. Lapisan membran berfungsi seperti dinding yang menghalangi bakteri masuk ke dalam telur dan memiliki ketebalan 65 mikron. (Rivera, 1999).

Komposisi utama dalam cangkang telur ayam adalah kalsium karbonat (CaCO_3) sebesar 94%, kalsium fosfat (1%), magnesium karbonat (1%) dan bahan-bahan organik (4%). (Salah M, dkk., 2018) Cangkang telur ayam memiliki peran penting dalam metabolisme tulang dan gigi. Para peneliti membuktikan bahwa bahan ini memiliki kemampuan untuk membentuk hidroksiapatit berkualitas tinggi dan digunakan sebagai bahan remineralisasi. (Mohamed dkk., 2020; Beshr K dkk., 2019) Dalam bidang kesehatan, hasil sintesis cangkang telur ayam dapat dijadikan sebagai bahan biomaterial untuk sintesis tulang dan gigi, karena cangkang telur ayam kaya akan kalsium karbonat yang dapat disintesis menjadi kalsium

hidroksiapatit. Pemanfaatan cangkang telur ayam dalam bidang kesehatan dinilai aman dan bebas dari resiko alergi serta dapat menjadi solusi bagi pemerintah dalam penanganan masalah limbah lingkungan. (Abdulrahman dkk., 2014)