

**EKSPRESI *DENTIN MATRIX PROTEIN-1* (DMP-1) SETELAH APLIKASI
PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS (*GALLUS SP*) PADA PULPA
GIGI KELINCI NEW ZEALAND (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG
TERINFLAMASI**

*Expression Of Dentin Matrix Protein-1 (Dmp-1) After Application Of Broiller
Chicken Egg Shell (Gallus Sp) Paste In Inflamed Tooth Pulp of New Zealand
Rabbit (Oryctolagus Cuniculus)*

TESIS



Nama : Muthmainnah Majaya

NIM : J025191001

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

**EKSPRESI *DENTIN MATRIX PROTEIN-1* (DMP-1) SETELAH APLIKASI PASTA
CANGKANG TELUR AYAM RAS (*GALLUS SP*) PADA PULPA GIGI KELINCI
NEW ZEALAND (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Profesi

Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi

Disusun dan Diajukan Oleh

Muthmainnah Majaya

J025 191002

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS

PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

PENGESAHAN TESIS

**EKSPRESI *DENTIN MATRIX PROTEIN -1* (DMP-1) SETELAH
APLIKASI PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS (*GALLUS SP*)
PADA PULPA GIGI KELINCI NEW ZEALAND (*ORYCTOLAGUS
CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI**

**Diajukan oleh:
MUTHMAINNAH MAJAYA
J025191001**

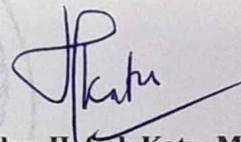
**Telah Disetujui,
Makassar, 15 Juli 2022**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



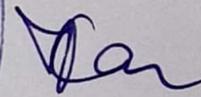
**Dr.drg. Hafsa Katu. Mkes
NIP. 19601212 1994 12 2 001**

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



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

**Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin**



**Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Prof(K)
NIP. 19631104 199401 1 001**

TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

Pada Tanggal 28 Juli 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

KETUA : drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG(K)

ANGGOTA : Dr. drg. Hafsah Katu, M.Kes

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

Dr. drg. Maria Tanumihardja, M.D.Sc

Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS

Mengetahui,

Ketua Program Studi

Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi



drg. Nurhavaty Natsir, Ph.D., Sp.KG(K)

NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muthmainnah Majaya
Nomor Induk Mahasiswa : J025191001
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 pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini merupakan hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 15 Juli 2022

Yang menyatakan,



Muthmainnah Majaya

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum warahmatullaahi Ta'ala wabarakatuh.

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadiran Allah SWT dan RasulNya, karena atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul **“Ekspresi *Dentin Matrix Protein-1* (DMP-1) setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi”**

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

1. **Prof. Dr. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K)** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin periode 2022-2026 atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Prof. drg. Muhammad Ruslin, M.Kes, Ph.D., Sp.BM (K)** sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin periode 2019-2022 atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
3. **drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG (K)** sebagai Pembimbing I sekaligus Ketua Perogram Studi Konservasi Gigi yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. **Dr. drg. Hafsa Khatu, M.Kes** sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
5. **Dr. drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG (K)** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **Dr. drg. Maria Tanumihardja, MD.Sc** sebagai dosen penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.

7. **Prof. Dr. drg. Rasmidar Samad, MS.** sebagai penguji eksternal yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran, dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
8. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, M.Kes, Dr. drg. Sumidarti Anas, M.Kes, drg. Christine Anastasia Rovani Sp.KG(K), drg. Wahyuni Suci Wulandani. Ph.D, Sp.KG (K) dan drg. Noor Hikmah, Sp.KG(K)** sebagai dosen yang selalu memberikan bimbingan dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
9. Seluruh staf Klinik Hewan Pendidikan Fakultas kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu dalam pemeliharaan hewan coba .
10. Seluruh staf Laboratorium Patologi Anatomi RS Universitas Hasanuddin, yang telah banyak membantu dalam proses pembuatan preparat histologi.
11. Teman seperjuangan penelitian **Sulton Rahmi, Harmiyati Gappar, Nurvita Titi Ikawati, Lestari, Imara dan Febry.**
12. Teman-teman residen Konservasi Gigi Angkatan 2017, 2018, 2020.1, 2020.2, 2021.1, 2021.2 dan sahabat terkhusus angkatan 2019 (**Esfandiary, Mustakim Mustafa, Sartika Rahmawati, St. Asmaul Husna, Chandra Firdaus, Warni Eka Muthia, Murniati Muhiddin, Mustika Jathiasih**)
13. Teman-teman Oral 2002 (Khususnya Group **Oral Resident** dan Group **Morning Glory**) yang telah menjadi sahabat dan saudara serta membantu penulis dalam dukungan moril dan doa selama menuntun ilmu.
14. Terkhusus kepada :
 - a. Suami tercinta **Akhmad Azis, S.Pd.I**, dan kedua putraku **Abdillah Hasan Alfatih** dan **Abdurrahman Azzam Alhudzaifi** terima kasih atas segala doa, dukungan lahir dan bathin serta kesabaran selama penulis menuntun ilmu.
 - b. Ayah tercinta **Mukhtar Jaya, BA** dan Ibu **Hj. Maemunah Dg Kanang** yang telah memberikan dukungan doa, moril maupun materil selama penulis menjalani proses pendidikan.
 - c. Bapak mertua **Abdul Aziz** dan Ibu mertua tercinta, **Rabatia (rahimahullah)** dan **Rohani**, terima kasih atas doa dan dukungan kepada Ananda selama ini.

Akhirnya dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu, semoga Allah SWT dan RasulNya selalu melimpahkan rahmat, ridha dan karuniaNya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 25 Juli 2022

Muthmainnah Majaya

ABSTRAK

MUTHMAINNAH. **Ekspresi Dentin Matrix Protein-1 (Dmp-1) Setelah Aplikasi Pasta Cangkang Telur Ayam Ras (Gallus Sp) Pada Pulpa Gigi Kelinci New Zealand (Oryctolagus Cuniculus) Yang Terinflamasi** (dibimbing oleh Nurhayaty Natsir dan Hafsa Katu)

Latar Belakang: *Dentin Matrix Protein-1* (DMP-1) adalah protein matriks non kolagen yang memainkan peran mengatur nukleasi hidroksiapatit dan juga menginduksi diferensiasi sel subodontoblas menjadi *odontoblast like cells* yang sangat menguntungkan bagi jaringan pulpa, karena dapat membantu dalam keberhasilan penyembuhan pulpa dentin yang mengalami defek akibat karies atau trauma dengan terbentuknya *dentinal bridge* reparatif. Salah satu bahan yang dipercaya dapat merangsang pembentukan *dentinal bridge* adalah kalsium hidroksida, tetapi bahan ini sangat toksik bagi sel, *dentinal bridge* yang terbentuk bersifat *porous*. Oleh karena itu, diperlukan bahan alternatif yang lebih biokompatibel seperti cangkang telur ayam ras yang memiliki senyawa kalsium posfat yang dapat digunakan sebagai bahan remineralisasi jaringan keras gigi. Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi DMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) pada pulpa gigi kelinci new Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi. Sampel adalah 24 sampel kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*). Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yaitu: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (aplikasi kalsium hidroksida), kelompok perlakuan pertama (aplikasi pasta cangkang telur ayam ras konsentrasi 35%), kelompok perlakuan kedua (aplikasi pasta cangkang telur ayam ras konsentrasi 40%) yang akan didekapitasi dalam periode waktu 3, 7, 14 dan 21 hari. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA dan Post Hoc LCD. Hasil penelitian pada waktu pengamatan 3, 7, 14 dan 21 hari terlihat peningkatan secara signifikan ekspresi DMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras konsentrasi 35% dan 40% berdasarkan pemeriksaan histologi dan uji statistik ($p < 0,05$).

Kata Kunci: Inflamasi pulpa, *pulp capping*, cangkang telur ayam ras, DMP-1

ABSTRACT

MUTHMAINNAH. Expression Of Dentin Matrix Protein-1 (Dmp-1) After Application Of Race Chicken Egg Shell (Gallus Sp) Paste In Inflamed Tooth Pulp of New Zealand Rabbit (Oryctolagus Cuniculus) (supervised by Nurhayaty Natsir and Hafsah Katu)

Background: Dentin Matrix Protein-1 (DMP-1) is a non-collagen matrix protein that plays a role in regulating hydroxyapatite nucleation and also induces the differentiation of subodontoblast cells into odontoblast like cells which is very beneficial for pulp tissue, because it can help in the success of pulp healing. Defective dentin due to caries or trauma with the formation of a reparative dentinal bridge. One material that is believed to stimulate the formation of dentinal bridges is calcium hydroxide, but this material is very toxic to cells, the dentinal bridges formed are porous. Therefore, it is necessary to use alternative materials that are more biocompatible, such as broiler egg shells which have calcium phosphate compounds that can be used as a remineralization material for dental hard tissue. Inflamed teeth of the New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Samples were 24 samples of New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Experimental animals were divided into 4 groups, namely: negative control group, positive control group (calcium hydroxide application), the first treatment group (35% concentration of chicken eggshell paste application), the second treatment group (40% concentration of chicken eggshell paste application) which will decapitation in 3,7, 14 and 21 days. Data were analyzed using ANOVA test and Post Hoc LCD. The results at 3,7, 14 and 21 days of observation showed a significant increase in DMP-1 expression after application of chicken egg shell paste. race concentrations of 35% and 40% based on histological examination and statistical tests ($p < 0.05$).

Keyword: Inflamed pulp, Pulp capping, chicken egg shell, DMP-1

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PRASYARAT GELAR	ii
PENGESAHAN UJIAN TESIS	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kompleks Dentin Pulpa	5
2.2. <i>Dentin Matrix Protein-1 (DMP-1)</i>	10
2.3. Bahan Kaping Pulpa	12
2.3.1. Kalsium Hidroksida	12
2.3.2. Mineral Trioxide Aggregate (MTA)	13

2.3.3. Biodentin.....	15
2.4. Cangkang Telur Ayam Ras (<i>Gallus sp.</i>)	16
BAB III. KERANGKA PENELITIAN	
3.1. Kerangka Teori	18
3.2. Kerangka Konsep	19
3.3. Hipotesis	20
3.4. Keterbatasan Penelitian	20
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	
4.1. Rancangan Penelitian	21
4.1.1. Jenis Penelitian	21
4.1.2. Desain Penelitian	21
4.2. Waktu dan Lokasi Penelitian	21
4.2.1. Waktu Penelitian	21
4.2.2. Lokasi Penelitian	21
4.3. Identifikasi Sampel Penelitian	22
4.3.1. Subjek Penelitian	22
4.3.2. Kriteria Sampel	22
4.4. Perhitungan Besar Sampel	23
4.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	24
4.6. Kriteria Objektif	25
4.7. Tahapan Persiapan Penelitian	26
4.8. Tahapan Perlakuan Hewan Coba	27
4.9. Pemeriksaan Imunohistokimia	30

4.10. Pengumpulan dan Analisis Data	32
4.11. Alur Penelitian	33
BAB V. HASIL PENELITIAN	
5.1. Hasil Pengamatan Histopatologi.....	34
5.2. Hasil Analisis Data	37
BAB VI. PEMBAHASAN	41
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang / Singkatan	Arti dan Keterangan
DSPP	<i>Dentin Sialophosphoprotein</i>
DMP1	<i>Dentin Matrix Protein 1</i>
BSP	<i>Bone Sialoprotein</i>
MEPE	<i>Matrix Extracellular Phosphorylated glycoprotein</i>
OPN	<i>Osteopontin</i>
DEJ	<i>Dentino Enamel Junction</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor</i>
Ca(OH) ₂	Kalsium Hidroksida
Kg	Kilogram
mg	milligram
ml	mililiter
mm	milimeter
μ m	mikrometer
SPSS	Statistical Package for the Social Science

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Cangkang Telur Ayam Ras	16
Gambar 2.Ekspresi DMP-1 pada sel odontoblas dengan Teknik imunohistokimia setelah 3 hari aplikasi	35
Gambar 3.Ekspresi DMP-1 pada sel odontoblas dengan Teknik imunohistokimia setelah 7 hari aplikasi	35
Gambar 4.Ekspresi DMP-1 pada sel odontoblas dengan Teknik imunohistokimia setelah 14 hari aplikasi	36
Gambar 5.Ekspresi DMP-1 pada sel odontoblas dengan Teknik imunohistokimia setelah 21 hari aplikasi	36
Gambar 6. Diagram Ekspresi DMP-1 Berdasarkan Waktu Pengamatan Pada Setiap Kelompok Perlakuan	40

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi nutrisi cangkang telur	17
Tabel 2. Perbandingan Rerata Kadar Ekspresi DMP-1 antara kelompok Perlakuan Berdasarkan Hari Pengamatan	37
Tabel 3. Perbandingan Kadar Rerata DMP-1 antar Dua Kelompok Perlakuan Berdasarkan Hari Pengamatan	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gigi terdiri dari email, dentin dan sementum yang merupakan jaringan keras yang termineralisasi. Dentin dan pulpa secara anatomi dan fungsi adalah saling terintegrasi sehingga disebut sebagai kompleks pulpa dentin. Pulpa merupakan jaringan ikat yang dilindungi oleh struktur kaku termineralisasi yaitu dentin dan email di bagian korona, serta sementum di bagian akar. (Nakov, 2014; Hargreaves, 2012). Perbedaan jaringan pulpa dibandingkan dengan jaringan ikat lainnya adalah kurangnya epitel dan adanya odontoblast. Selain odontoblast, pulpa juga terdiri dari sel-sel seperti, matriks ekstraseluler, pembuluh darah dan saraf. Odontoblast berfungsi sebagai terminal matriks protein dan sebagai sel yang memediasi mineralisasi. (Nakov, 2014; Hargreaves, 2012; Schroder, 1985)

Komponen utama dari matriks ekstraseluler adalah kolagen, sedangkan 10%nya adalah zat non kolagen. Komponen kolagen sebagian besar mengendapkan kristal hidroksiapatit, sedangkan komponen non kolagen terlibat dalam inisiasi mineralisasi dan laju pertumbuhan apatit. Komponen protein non kolagen pada matriks dentin saat ini mulai diidentifikasi dan ditandai. Protein non kolagen ini terutama terdiri dari asam phosphoprotein, diantaranya adalah *dentin sialophosphoprotein* (DSPP), *dentin matrix protein 1* (DMP1), *bone sialoprotein* (BSP), *matrix extracellular phosphorylated glycoprotein* (MEPE), dan *osteopontin*

(OPN). (Toyosawa, 1999). Salah satu asam *phosphoprotein* yang teridentifikasi terutama pada proses kloning DNA yaitu *Dentin Matrix Protein 1* atau DMP-1(Massa, 2005).

Dentin Matrix Protein-1 (DMP-1) adalah protein matriks non kolagen yang terdapat pada matriks mineralisasi dentin dan tulang karena sifatnya yang sangat asam dan memiliki kapasitas untuk mengikat ion kalsium serta memainkan peran mengatur nukleasi hidroksiapatit dan juga menginduksi diferensiasi sel sub-odontoblas menjadi *odontoblast like cells*. (Karaxha, 2013). Regenerasi *odontoblast like cells* dari sel sub-odontoblas dan proses reparatif yang menyertainya merupakan karakteristik yang sangat menguntungkan bagi jaringan pulpa, karena dapat membantu dalam keberhasilan penyembuhan pulpa dentin yang mengalami defek akibat karies atau trauma dengan terbentuknya *dentinal bridge* reparatif.

Salah satu bahan yang dipercaya dapat merangsang pembentukan *dentinal bridge* adalah kalsium hidroksida. Meskipun sering digunakan dalam terapi pulpa vital, tetapi sebetulnya bahan ini banyak merusak jaringan pulpa apabila diletakkan dan kontak langsung dengan pulpa. Suatu penelitian menunjukkan bahwa kalsium hidroksida sangat toksik bagi sel dalam kultur jaringan. *Dentinal bridge* yang terbentuk juga bersifat *porous*, sehingga dapat memudahkan masuknya bakteri dan menghambat proses penyembuhan. Oleh karena itu, diperlukan bahan alternatif yang lebih biokompatibel yang memiliki kemampuan untuk remineralisasi dan melekat pada dentin dengan membentuk lapisan antar muka yang kaya akan mineral dan bersambung dengan tubulus dentin.

Salah satu bahan alternatif yang saat ini banyak diteliti adalah pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*). Komposisi utama dalam cangkang ini adalah kalsium karbonat (CaCO_3) sebesar 94% dari total bobot keseluruhan cangkang, kalsium fosfat (1%), bahan-bahan organik (4%) dan magnesium karbonat (1%). Kandungan kalsium karbonat dari cangkang telur dapat digunakan sebagai sumber kalsium yang efektif untuk metabolisme tulang. Studi sebelumnya telah melaporkan bahwa persentase kalsium dan fosfat pembentuk hidroksi apatit sangat tinggi yang ditemukan pada cangkang telur. Senyawa kalsium posfat pada cangkang telur ayam ras memiliki sifat kimia yang sama dengan senyawa kalsium posfat yang ditemukan dalam gigi, sehingga dapat digunakan sebagai bahan remineralisasi jaringan keras gigi. (Noviyanti, 2017)

Pada beberapa penelitian sebelumnya ditemukan penggunaan gel hidroksiapatit cangkang telur ayam ras efektif dalam proses remineralisasi permukaan email gigi setelah *bleaching* dengan hidrogen peroksida. (Angraeni, 2020). Oleh karena itu peneliti ingin melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) sebagai bahan biomineralisasi pada dentin terhadap ekspresi DMP-1 pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah apakah terjadi peningkatan ekspresi DMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) pada pulpa gigi kelinci

New Zealand (*Orictolagus cuniculuc*) yang terinflamasi sebagai bahan biomineralisasi pada dentin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengevaluasi ekspresi DMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) pada pulpa gigi kelinci New Zealand (*Orictolagus cuniculus*) yang terinflamasi.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengevaluasi ekspresi DMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) 35% dan 40% pada pulpa gigi kelinci (*Orictolagus cuniculus*) yang terinflamasi.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Umum

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai ekspresi DMP-1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*Gallus sp*) pada pulpa gigi kelinci sebagai bahan biomineralisasi pada dentin.

1.4.2 Manfaat Khusus

1. Dapat dijadikan sebagai salah satu bahan yang berpotensi untuk biomineralisasi dentin.
2. Dapat dijadikan sebagai landasan penelitian lanjutan tentang *pulp capping* dalam bidang Kedokteran Gigi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kompleks Dentin Pulpa

Istilah kompleks dentin-pulpa memperlihatkan hubungan yang terintegrasi antara dentin dan pulpa secara anatomik dan fisiologik. Dentin merupakan pembentuk utama struktur gigi dan meluas hampir sepanjang gigi. Di bagian mahkota, dentin dilapisi email, di bagian akar dilapisi oleh sementum. Berdasarkan beratnya dentin terdiri dari 70% kristal hidroksiapatit (anorganik), 20% zat organik yang tersusun dari kolagen dan substansi dasar mukopolisakarida, dan 10% air. Berdasarkan volumenya terdiri dari 50% anorganik, 28% organik dan 20% air. 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. Lapisan bagian dalam dentin akan membentuk dinding pulpa. Oleh karena itu, secara anatomis dentin sangat berhubungan erat dengan jaringan pulpa, karena dentin dan pulpa memiliki jaringan penyusun yang sama, maka disebutlah kompleks dentin pulpa. (Okiji T, 2012)

Dentin adalah suatu jaringan vital yang tubulus dentinnya berisi perpanjangan sitoplasma odontoblas. Prosesus odontoblas yang terdapat dalam tubulus dentin membuat dentin merupakan suatu jaringan hidup. Sel-sel odontoblas mengelilingi ruang pulpa dan kelangsungan hidupnya

bergantung kepada penyediaan darah dan drainase limfatik jaringan pulpa. (Yu C, 2007)

Dentin adalah jaringan termineralisasi kolagen dengan fibril kolagen sebagai komponen organik utama dentin, protein non-kolagen dan glikoprotein (kurang dari 10% dari total kandungan organik) memainkan peran yang sangat penting dalam regulasi mineralisasi. (Okiji T, 2012; Hargreaves, 2012)

Dentin dan pulpa berhubungan melalui sel odontoblas. Sel odontoblas terdiri dari prosesus dan badan sel. Badan sel terdapat pada pulpa, sedangkan prosesusnya berada pada dentin. Sebagai contoh, ketika gigi menerima rangsangan termis, cairan dentin akan mengirim sinyal dan saraf-saraf pada pulpa akan aktif. Dalam keadaan patologis, invasi bakteri terjadi melalui cairan tubulus dentin yang menyebabkan terjadinya reaksi pulpa. Bila pajanan terjadi dalam waktu singkat, pulpa merespon dengan reaksi inflamasi akut. Bila pajanan terjadi dalam waktu yang lama, pulpa merespon dengan memproduksi dentin tersier sebagai respon untuk mengurangi permeabilitas pulpa-dentin dan mengembalikan fungsi normal pulpa. (Yu C, 2007; Cooper R, 2014)

Pulpa adalah jaringan yang terletak di tengah gigi. Pulpa merupakan pusat dari aktivitas gigi karena terdiri atas persyarafan dan pembuluh darah. Pulpa memiliki fungsi sebagai pembentuk dentin, pensuplai nutrisi dan sensoris. Odontoblas merupakan sel yang memiliki kemampuan diferensiasi tertinggi pada pulpa. Odontoblas berperan dalam menghasilkan dentin primer, sekunder dan tersier. Pulpa memiliki

kemampuan regenerasi yang unik. Jika pulpa terpajan, maka sel-sel imunokompeten pulpa akan memberikan respons inflamasi. Inflamasi pada pulpa ada dua yaitu pulpitis reversibel dan pulpitis ireversibel. Pulpa akan membentuk dentin tersier sebagai respon untuk melindungi pulpa dari iritasi yang lebih lanjut yang dapat menyebabkan pulpa mengalami nekrosis. (Mjör, 2002)

Proses penyembuhan pulpa yang mengalami jejas meliputi beberapa proses yaitu: inflamasi, sintesa kolagen, dan pembentukan dentin reparatif.

1. Inflamasi

Inflamasi atau peradangan merupakan mekanisme penting yang dibutuhkan untuk meningkatkan struktur dan fungsi jaringan sebagai mekanisme perlindungan terhadap jejas. Inflamasi ditandai dengan aliran cairan, protein plasma, dan leukosit PMN ke arah jaringan yang terkena jejas. (Kunarti, 2008)

Pulpitis merupakan radang pada pulpa, akibat proses karies lanjut yang mengakibatkan pulpa mengalami peradangan. Berdasarkan tanda klinis dan gambaran histopatologi, pulpitis dapat dibedakan menjadi pulpitis akut dan kronis. Kondisi radang pada pulpa mirip dengan kondisi radang pada jaringan lain di seluruh tubuh manusia. Sel yang berhubungan dengan reaksi radang pada jaringan pulpa meliputi sel leukosit polimorfonuklear, limfosit, sel plasma, makrofag dan sel mast. (Mjör, 2002)

2. Sintesa Kolagen

Kolagen merupakan komponen terbesar dalam pulpa. Kolagen terdapat pada matriks ekstraseluler pulpa dan mengelilingi sel-sel yang terdapat di dalamnya. Kolagen yang ada pada pulpa adalah kolagen tipe I dan tipe III. Kolagen tipe I disintesa oleh odontoblas karena tipe kolagen yang mengisi matrik pulpa sama dengan tipe kolagen yang ditemukan pada dentin, dimana dentin adalah jaringan yang diproduksi oleh sel odontoblas. Sintesa kolagen tipe III dilakukan oleh fibroblas yang terdapat pada zona cells rich pulpa. Kolagen tipe I merupakan tipe kolagen dengan jumlah paling banyak dan memberikan kontribusi besar pada jaringan pulpa, sisanya sebanyak 42,6% merupakan kolagen tipe III. Biosintesis kolagen melalui proses tahapan modifikasi postranslasi polipeptida yang unik. Tahapan tersebut melalui Langkah-langkah sebagai berikut: (1) Pembentukan rantai polipeptida oleh retikulum endoplasma kasar dalam poliribosom; (2) Hidroksilasi residu prolin dan lisin; (3) Glikosilasi hidroksilisin; (4) Penyusunan rantai polipeptida dengan konfigurasi triple helix untuk membentuk prokolagen; (5) Pengemasan molekul prokolagen dalam vesikel sekretori, di golgi kompleks; (6) Sekresi molekul prokolagen ke ruangan ekstra seluler; (7) Proses agregasi molekul prokolagen menjadi kolagen fibril dan (8) Pembentukan struktur cross link dari kolagen fibril untuk meningkatkan struktur dan menjadikan serabut kolagen tersebut tidak dapat larut.(Hargreaves, 2012)

3. Pembentukan dentin tersier

Dentin tersier dibentuk sebagai respon terhadap pengaruh luar yaitu karies gigi, keausan gigi karena pengunyahan, trauma, maupun jejas lain yang mengenai gigi. Dentin tersier diklasifikasikan menjadi dua yaitu dentin reaksioner dan dentin reparatif. (Hargreaves, 2012)

a). Dentin reaksioner

Dentin reaksioner merupakan respon jaringan pulpa terhadap adanya kerusakan atau iritasi pada email atau dentin yang tidak mengakibatkan kematian sel odontoblas. Kerusakan ini biasanya ringan atau sedang seperti pada proses karies email yang aktif atau karies dentin yang berjalan lambat. Matrik dentin disekresikan oleh odontoblas primer yang dapat bertahan dari jejas yang mengenai gigi. Proses pembentukan dentin reaksioner terjadi pada saat kondisi odontoblas masih vital sehingga respon yang timbul tidak berupa pembaharuan sel, tetapi prosesnya hanya melibatkan pengaturan aktivitas odontoblas sebagai respon adanya kerusakan yang terjadi. Pembentukan dentin reaksioner diatur oleh pelepasan beberapa faktor pertumbuhan dari matrik dentin selama kerusakan berlangsung. Faktor pertumbuhan memiliki peran dalam mengatur proliferasi sel, menjaga homeostasis, berfungsi sebagai mediator diferensiasi odontoblas dan mineralisasi dentin serta perbaikan jaringan gigi setelah terjadi jejas. (Tziafas, 1995; Haniastuti, 2008; Goldberg, 2004)

b). Dentin Reparatif

Dentin reparatif dibentuk sebagai respon adanya kerusakan struktur gigi yang mengakibatkan kematian sel odontoblas, sebagai

contohnya adalah proses karies yang cepat dan trauma pada gigi. Odontoblas merupakan *post mitotic terminally differentiated cells* yang tidak dapat repair setelah terkena jejas, sehingga fungsi odontoblas primer dalam merespon jejas digantikan oleh odontoblast like cells. (Haniastuti, 2008) *Odontoblast like cells* berasal dari progenitor sel pulpa yang mengalami diferensiasi. (Goldberg, 2004) Sel progenitor ini menginduksi signal molekuler untuk menginduksi proliferasi, migrasi dan diferensiasi *odontoblast like cells*. (Kuratate, 2008) Setelah odontoblas berdiferensiasi, terjadi pelepasan faktor pertumbuhan oleh matrik dentin yang merupakan signal molekuler bagi proses pembentukan dentin reparatif oleh odontoblast like cells yang berdiferensiasi. Beberapa faktor pertumbuhan yaitu TGF- β secara langsung terlibat dalam sitodiferensiasi *odontoblast like cells*. Jaringan pulpa yang terbuka dalam proses repair mengalami mekanisme berupa interaksi antar molekul ekstra seluler, yaitu fibrodentin dan faktor pertumbuhan dengan menginduksi diferensiasi *odontoblast like cell* serta dentinogenesis. TGF- β 1 dan TGF- β 3 merupakan faktor pertumbuhan yang dapat mengatur pembentukan matrik dentin oleh odontoblas. (Smith, 2003)

2.2. Dentin Matrix Protein-1 (DMP-1)

Dentin adalah substansi mirip tulang yang terdiri dari matriks ekstraseluler termineralisasi yang disekresi oleh odontoblas. Komponen utama dari matriks ekstraseluler adalah kolagen, sedangkan 10%nya adalah zat non kolagen yang terutama terdiri dari asam phosphoprotein. Ketika komponen

kolagen sebagian besar mengendapkan kristal hidroksiapatit, komponen non kolagen terlibat dalam inisiasi mineralisasi dan laju pertumbuhan apatit. Komponen protein non kolagen pada matriks dentin saat ini mulai diidentifikasi dan ditandai, terutama pada proses kloning DNA. (Toyosawa, 1999)

Salah satu asam phosphoprotein yang teridentifikasi dengan bantuan teknik DNA rekombinan dikenal sebagai Dentin Matriks Protein- 1 atau DMP-1. Transkrip gen DMP-1 awalnya terdeteksi melalui hibridisasi pada odontoblas, namun hibridisasi ini juga dapat terlihat pada jaringan mineral lainnya, termasuk tulang dentin dan sementum. Proteinnya DMP-1 diyakini mengikat fibril matrik setelah pengangkutan pada proses pembentukan awal matrik kolagen tipe1 dan memulai nukleisasi hidroksi apatit untuk memfasilitasi mineralisasi melalui pengikatan kalsium dan juga mengontrol diferensiasi sel ectomesenchymal menjadi keturunan odontoblas. (Massa,2005) (Qin C, 2007)

Pada matriks ekstraseluler tulang dan dentin, DMP1 terutama terjadi sebagai fragmen yang diproses secara proteolitik yang masing-masing berasal dari daerah terminal NH₂ dan terminal COOH dari urutan asam amino DMP-1. Fragmen terminal NH₂ dari DMP1 (DMP1-N) ada dalam dua bentuk yaitu fragmen 37-kDa dan bentuk proteoglikan (DMP1-PG), sedangkan terminal fragmen COOH (DMP1C) hadir sebagai fragmen 57-kDa. DMP1-PG mengandung rantai glikosaminoglikan tunggal, sedangkan DMP1-C tidak terglykosilasi, tetapi sangat terfosforilasi. (Sun, 2011)

Studi mineralisasi *in vitro* telah menunjukkan bahwa DMP1-C dan fragmen 37-kDa memulai terjadinya nukleasi kristal hidroksiapatit. Studi imunohistokimia dan kimia protein menunjukkan bahwa lokalisasi DMP1-N berbeda dari DMP1-C pada gigi dan tulang rawan. Pengamatan pada tulang dan gigi ini menunjukkan bahwa fragmen terminal NH₂ dan fragmen terminal COOH dari DMP-1 memainkan peran yang berbeda dalam osteogenesis dan dentinogenesis. Temuan ini juga menunjukkan bahwa pemrosesan proteolitik DMP1, yang melepaskan DMP1-N dan DMP1-C adalah penting untuk menjalankan fungsinya selama pembentukan tulang dan dentin. (Sun, 2011)

2.3. Bahan kaping pulpa

2.3.1. Kalsium Hidroksida

Di bidang kedokteran gigi, kalsium hidroksida merupakan bahan perlindungan pulpa yang digunakan sejak lama dan secara luas pada perawatan endodontik karena kemampuannya dalam penyembuhan jaringan. Kalsium hidroksida memiliki sifat yang sangat basa sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri mulut dan berperan penting dalam inisiasi proses remineralisasi. Pelepasan ion hidroksil dari kalsium hidroksida yang tinggi dapat membunuh mikroorganisme penyebab peradangan. 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).

Kalsium hidroksida mempunyai beberapa kekurangan, pada pH 11-13 menyebabkan terjadinya nekrosis *liquefaction* terutama pada lapisan superficial pulpa. Efek toksik dari kalsium hidroksida yang kelihatannya dinetralisir pada lapisan pulpa yang lebih dalam, justru menyebabkan nekrosis koagulasi yang berbatasan dengan jaringan vital, menyebabkan iritasi ringan pada pulpa. Pada proses reparatif, terjadi *tunnel defect* pada pembentukan *dentinal bridge* yang akan memudahkan masuknya bakteri dan memperlambat proses kesembuhan (Bogen *et al.*, 2008).

2.3.2. Mineral Trioxide Aggregate (MTA)

MTA adalah semen silikat bioaktif yang sudah menunjukkan hasil yang memuaskan pada kaping pulpa gigi primata. MTA terdiri atas dua jenis yaitu *grey* dan *white*. MTA yang berwarna *grey* memiliki unsur besi. *Mineral trioxide aggregate* (MTA) adalah bahan yang biasa

digunakan pada perawatan endodontik. Komposisi MTA terdiri dari *tricalcium silicate*, *dicalcium silicate*, *tricalcium aluminate*, *tetracalcium aluminoferrite*, *calcium sulphate* dan *bismuth oxide*. Bahan dasar MTA adalah *Portland* semen yang terdiri dari Kapur (CaO dan MgO) 65%, Silica (SiO₂) 20%, Oksida besi (Fe₂O₃) dan Alumina (Al₂O₃) 10% dan lainnya 5%. Bahan MTA ini memiliki kandungan bioaktif yang secara esensial dapat menstimulasi pelepasan bakteri dalam pulpa. Saat digunakan MTA harus dicampur dengan air yang steril agar bisa merekat dengan baik pada jaringan pulpa gigi. *Mineral trioxide aggregate* (MTA) bersifat hidropilik yang bisa mengeras (*setting time*) dalam waktu 3-4 jam. (Steffen, 2009)

MTA memiliki partikel yang kecil, kemampuan isolasi yang bagus, pH yang basa dan dapat melepas ion kalsium. MTA juga dapat merangsang proliferasi sel pulpa, melepas sitokin dan merangsang pertumbuhan jaringan keras. (Hilton, 2009)

MTA memiliki kemampuan untuk merangsang diferensiasi sel yang membentuk jaringan termineralisasi. Inkubasi fibroblas gingiva dan ligamen periodontal dengan MTA memicu ekspresi alkali fosfatase yang merupakan fenotip pertumbuhan jaringan keras. MTA juga memicu produksi BMP-2 dan TGF- β 1 yang menyebabkan produksi kolagen tipe I dan ekspresi *osteoblast-like cell* pada fibroblas gingiva manusia (In Vitro). (Okiji, 2012)

MTA memiliki kelemahan yaitu kelarutan yang tinggi. 24% MTA larut setelah disimpan selama 78 hari di dalam air. Unsur besi dalam MTA

mengakibatkan diskolorasi gigi. MTA juga memiliki *setting time* yang lama yaitu sekitar 165 menit. Setting time yang lama menyebabkan prosedur kaping pulpa harus dilakukan dalam dua kali kunjungan. MTA juga memiliki harga yang mahal. Satu gram MTA setara dengan 24 gram pasta kalsium hidroksida. (Hilton, 2013)

2.3.3. Biodentin

Biodentin adalah semen bioaktif baru dengan bahan-bahan mekanis menyerupai dentin. Biodentine digunakan sebagai pengganti dentin pada mahkota dan akar. Biodentine memiliki efek positif pada sel pulpa vital dan merangsang pembentukan dentin tersier. Pada saat berkontak langsung dengan jaringan pulpa maka akan merangsang pembentukan dentin reparatif. Hal ini mendorong penggunaannya untuk *direct capping* setelah pulpa terpajan akibat kesalahan prosedural pada gigi. (Kaurr, 2017)

Fungsi dan indikasinya sama dengan kalsium hidroksida. Biodentin terdiri dari bubuk dalam kapsul dan cairan dalam pipet. Serbuk terutama berisi trikalsium dan dikalsium silikat, komponen utama dari semen Portland sama baiknya dengan kalsium karbonat. Zirkonium dioksida berfungsi sebagai media kontras. Cairan ini terdiri dari kalsium klorida dalam larutan air dengan campuran dari polikarboksilat. Serbuk dicampur dengan cairan dalam kapsul triturator selama 30 detik. Setelah tercampur, *setting time* Biodentin sekitar 12 menit. Selama proses *setting* ini semen kalsium hidroksida terbentuk. Konsistensi dari biodentin sama dengan semen fosfat. (Niranjani, 2015)

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

Cangkang telur merupakan lapisan luar dari telur yang berfungsi melindungi semua bagian telur dari luka atau kerusakan. Cangkang telur ayam yang membungkus telur umumnya beratnya 9-12% dari berat telur total. Warna kulit telur ayam bervariasi, mulai dari putih kekuningan sampai coklat. Bedanya pada ketebalan cangkang, yang berwarna coklat lebih tebal daripada yang berwarna putih (Wirakusumah, 2011).



Gambar 1. Cangkang telur ayam ras (*Gallus sp.*)

(Sumber: Harahap S., 2021. <https://kitakini.news/76194/ini-7-manfaat-cangkang-telur-dalam-kehidupan-sehari-hari/>)

Komposisi utama dalam cangkang ini adalah kalsium karbonat (CaCO_3) sebesar 94% dari bobot keseluruhan cangkang, kalsium fosfat (1%), bahan-bahan organik (4%) dan magnesium karbonat (1%) (Rivera, 1999). Berdasarkan hasil penelitian, serbuk cangkang telur ayam mengandung kalsium sebesar $401 \pm 7,2$ gram atau sekitar 39% kalsium, dalam bentuk kalsium karbonat. (Schaafsma, 2000).

Kandungan kalsium karbonat dari cangkang telur dapat digunakan sebagai sumber kalsium yang efektif untuk metabolisme tulang (Rivera,1999).

Tabel 1. Komposisi nutrisi cangkang telur

Nutrisi	Cangkang telur (%berat)
Air	29 – 35
Protein	1,4 – 4
Lemak murni	0,10 – 0,20
Abu	89,9 – 91,1
Kalsium	35,1 – 36,4
Kalsium karbonat (CaCO ₃)	90,9
Fosfor	0,12
Sodium	0,15 – 0,17
Magnesium	0,37 – 0,40
Pottasium	0,10 – 0,13
Sulfur	0,09 – 0,19
Alanin	0,45
Arginin	0,56 – 0,57

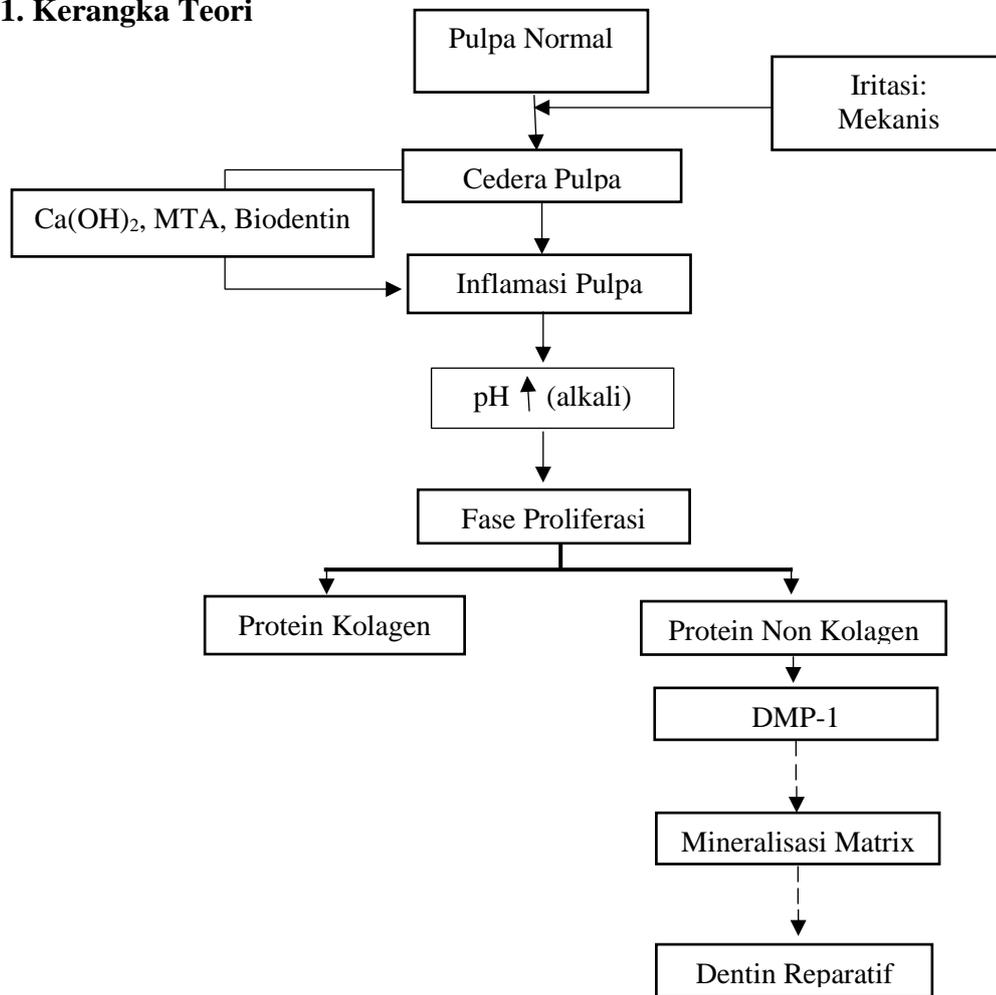
Sumber: Rivera. 1999. The Effect of Micronutrient Deficiencies on Child Growth: A Review of Result From Community – Based Supplementation Trials.

Dalam bidang kesehatan khususnya, 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, et al 2014. Syam, et al, 2014. Nurlaela, et al, 2014.)

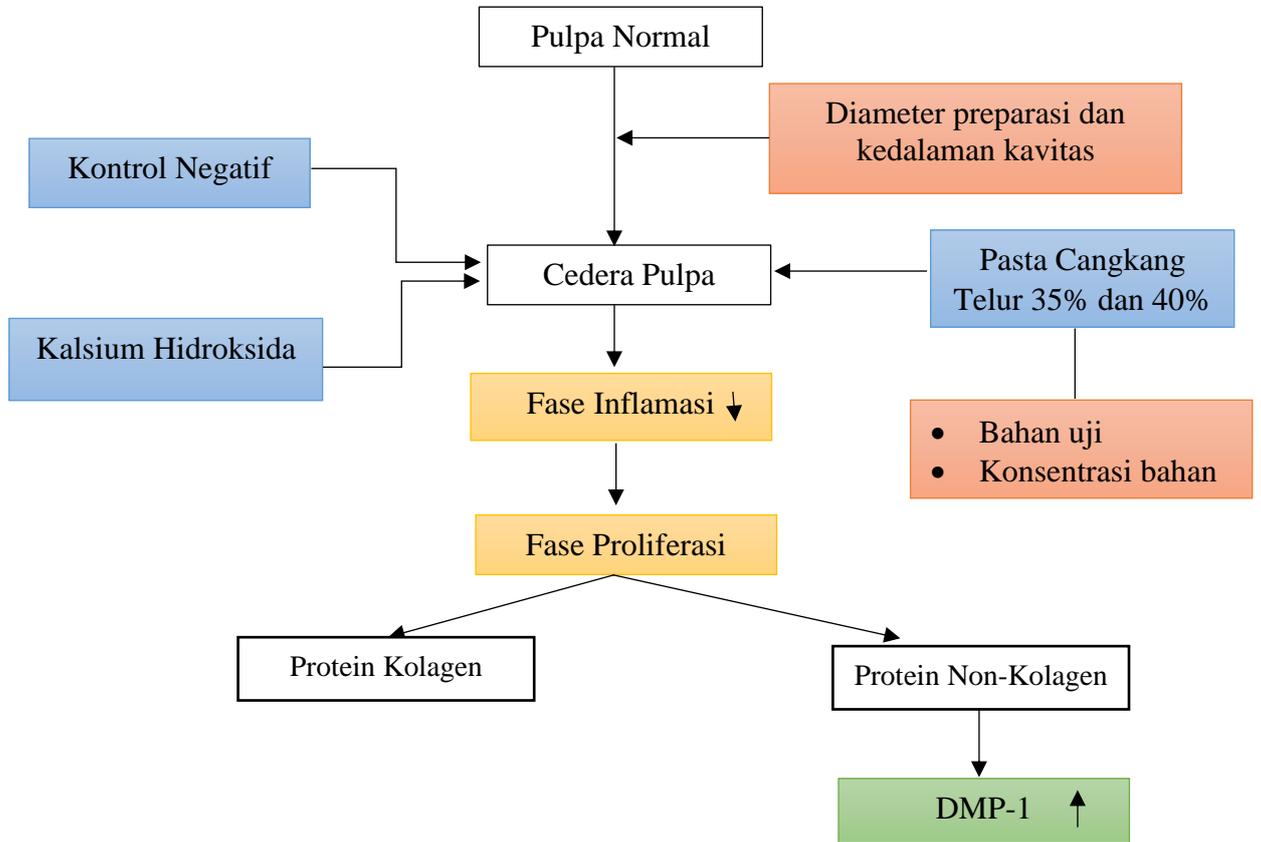
BAB III

KERANGKA PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori



3.2. Kerangka Konsep



= Variabel Bebas

= Variabel Tergantung

= Variabel Kendali

= Variabel Antara

3.3. Hipotesa Penelitian

Terjadi peningkatan ekspresi Dentin Matrix Protein -1 (DMP 1) pada pulpa gigi kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang mengalami inflamasi setelah aplikasi pasta cangkang kulit telur ayam (*Gallus sp*) konsentrasi 35% dan 40%.

3.4. Keterbatasan Penelitian

1. Tidak dilakukan ekstraksi bahan aktif tertentu dari cangkang telur ayam ras (*Gallus sp.*)
2. Tidak dilakukan identifikasi pakan ayam ras yang turut mempengaruhi kualitas cangkang telur ayam ras yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan pasta cangkang telur ayam ras.