

**EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1 (TGF- β 1)
SETELAH APLIKASI PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS
(*GALLUS SP*) PADA PULPA GIGI KELINCI NEW ZEALAND
(*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI**

TESIS



Oleh :

HARMIYATI GAPPAR

J025191004

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1 (TGF- β 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

Harmiyati Gappar

J025191004

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

PENGESAHAN TESIS

**EKSPRESI *TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β 1* (TGF- β 1)
SETELAH APLIKASI PASTA CANGKANG TELUR AYAM RAS
(*GALLUS SP*) PADA PULPA GIGI KELINCI NEW ZEALAND
(*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) YANG TERINFLAMASI**

**Diajukan oleh:
HARMİYATI GAPPAR
J025191004**

**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. Aries Chandra Trilaksana., Sp.KG(K)
NIP. 19760327 200212 1 001**

**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**



**Ph.D. drg. Edy Machmud, Sp.Pros(K)
NIP. 19631104 199401 1 001**

TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS

Pada Tanggal 30 Juni 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

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

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

Dr.drg. Juni Jekti Nugroho, Sp. KG (K)

drg. Christine A Rovani, Sp. KG (K)

Dr.drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes.

Mengetahui,

Ketua Program Studi

Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi



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

NIP. 19640518 199103 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Harmiyati Gappar

Nomor Induk Mahasiswa : J025191004

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,

Harmiyati Gappar



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 *Transforming Growth Factor-β1* (*TGF-β1*) 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. drg. Edi Mahmud, M.Kes, Sp.prost. (K)** dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin periode 2022 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 mantan 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. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG (K)** sebagai pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.

5. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, M.Kes** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **drg. Christine Anastasia Rovani Sp.KG (K)** sebagai dosen penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
7. **Dr.drg. Nurlinda Hamrun, M.Kes.** sebagai penguji eksternal yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran, dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
8. **Dr.drg. Sumidarti Anas, M.Kes, Dr.drg. Hafsah Katu, M.Kes., 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, Muthmainnah Majaya, Nurvita Titi Ikawati, Lestari, Imara dan Febry** suka dan duka penelitian ini dilalui Bersama.
12. Teman-teman residen Konservasi Gigi dan sahabat terkhusus angkatan 2019 (**Esfandiary, Mustakim Mustafa, Sartika Rahmawati, St.Asmaul Husna, Chandra Firdaus, Warni Eka, Murniati Muhiddin, Mustika Jathiasih**)
13. Teman-teman residen mamelon yang telah membantu penulis dalam dukungan moril dan doa selama menuntu ilmu.
14. Terkhusus kepada :
 - a. Suami tercinta, terima kasih atas segala doa, dukungan lahir dan bathin serta kesabaran selama penulis menuntut ilmu.

- b. Ayah tercinta **Gappar** dan Ibu **Halpiah** yang telah memberikan dukungan doa, moril maupun materil selama penulis menjalani proses pendidikan.
- c. Saudara/saudariku tercinta, terima kasih atas doa dan dukungan kepada Ananda selama ini.
- d. Anakku tersayang **Khumairah Queen Annasya** dan **Muh. Mahavir Al Athalah** yang telah sabar menanti penulis dalam menuntut ilmu

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 Rasul-Nya selalu melimpahkan rahmat, ridha dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 15 Juli 2022

Harmiyati Gappar

ABSTRAK

HARMIYATI. Ekspresi Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 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 Aries Chandra)

Latar Belakang: *Transforming Growth Factor β* (TGF- β) memiliki peran yang sangat penting dalam signaling seluler untuk diferensiasi odontoblas dan stimulasi matriks dentin. Peningkatan ekspresi TGF- β 1 secara intraseluler dan ekstraseluler matriks didalam karies gigi diduga bahwa *growth factor* ini mempunyai peranan penting dalam merespon adanya jejas dan pembentukan *dentinal bridge*. 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 karbonat yang dapat digunakan sebagai bahan remineralisasi jaringan keras gigi. Penelitian ini bertujuan mengetahui ekspresi TGF- β 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 dan 14 hari. Data dianalisis menggunakan uji anova dan Post Hoc LCD. Hasil penelitian pada waktu pengamatan 3,7 dan 14 hari terlihat peningkatan secara signifikan ekspresi TGF- β 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, TGF- β 1

HARMIYATI.Expression Of Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 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 Aries Chandra)

Background: Transforming Growth Factor (TGF- β) has a very important role in cellular signaling for odontoblast differentiation and dentin matrix stimulation. The increased expression of TGF- β 1 in intracellular and extracellular matrix in dental caries suggests that this growth factor has an important role in responding to injury and formation of dentinal bridges. 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, alternative materials that are more biocompatible are needed, such as broiler egg shells which contain calcium carbonate compounds that can be used as a remineralization material for dental hard tissue. This study aimed to determine the expression of TGF- β 1 after application of eggshell paste of broiler chicken (Gallus sp) on the inflamed dental pulp of 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 decapitated in the time period of 3,7 and 14 days. Data were analyzed using ANOVA and Post Hoc LCD tests. The results of the study at 3,7 and 14 days of observation showed a significant increase in TGF- β 1 expression after application of broiler egg shell paste at concentrations of 35% and 40% based on histological examination and statistical tests ($p < 0.05$).

Keywords: Pulp inflammation, pulp capping, egg shells, TGF- β 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
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
I.1.Latar Belakang Masalah	1
I.2.Rumusan Masalah	3
I.3.Tujuan Penelitian	3
I.4.Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
II.1. Kompleks Dentin Pulpa	5
II.2. Pulpa	6
II.3. Inflamasi Pulpa.....	9
II.4. Peran Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) Dalam Pentukan	

Dentinal Brigde	11
II.5. Pulp Capping	14
II.6. Cangkang Telur	17
BAB III. KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP	
III.1. Kerangka Teori	19
III.2. Kerangka Konsep	20
III.3. Hipotesis	21
III.4. Keterbatasan Penelitian	21
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	
IV.1 Rancangan Penelitian	22
IV.1.1. Jenis Penelitian	22
IV.1.2. Desain Penelitian	22
IV.2. Waktu dan Lokasi Penelitian	22
IV.2.1. Waktu Penelitian	22
IV.2.2. Lokasi Penelitian	22
IV.3. Populasi dan Sampel Penelitian	23
IV.3.1. Populasi Penelitian	23
IV.3.2. Sampel Penelitian	23
IV.3.3. Perhitungan Besar Sampel	23
IV.4. Identifikasi Variabel dan Defenisi Operasional.....	25
IV.4.1. Variabel Penelitian	25
IV.4.2. Definisi Operasional Prosedur	26
IV.5. Alat dan Bahan Penelitian	26

IV.5.1. Alat Penelitian	26
IV.5.2. Bahan Penelitian	27
IV.6. Prosedur Penelitian	24
IV.6.1. Pembuatan Pasta Cangkang Telur Ayam Ras (<i>Gallus Sp</i>)	24
IV.7. Persiapan hewan Coba dan aplikasi Bahan Uji pada Pulpa Kelinci New Zealand (<i>Oryctolagus Cuniculus</i>)	28
IV.8. Pemeriksaan Imunohistokimia (TGF- β 1)	31
IV.9. Analisis Data	
IV.9.1. Jenis Data	34
IV.9.2. Pengolahan Data	34
IV.9.3. Analisis Data	
IV.9.4. Penyajian Data	34
IV.10. Alur Penelitian	35
BAB V. HASIL PENELITIAN	
V.1. Hasil Pengamatan Imunohistokimia TGF- β 1	36
V.2. Hasil Analisis.....	39
BAB VI. PEMBAHASAN	43
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
BMP	Bone Morphogenetic Protein
SPSS	Statistic Package For The Sosial
P	Probability
IHC	Imunohistokimia
Ca(OH) ₂	Kalsium Hidroksida
PMN	Polimorfonuklear Neutrofil
EDTA	Ethylendiamin Tetraacetic Acid
TLRs	Toll Like Reseptor
TNF	Tumor Nukleus Factor
IL-1	Interleukin-1
IL-12	Interleukin-12
MHC	Molekul Histokompatibilitas Kompleks
TGF	Transforming Growth Factor
LPS	Lipopolisakarida
RMGIC	Resin Modified Glass Ionomer Cement

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.2. Jaringan pulpa.....	9
Gambar II.6 Cangkang telur ayam.....	17
Gambar V.I.1. Foto mikroskopik ekspresi TGF- β 1 pada pulpa gigi kelinci New Zealand (<i>oryctolagus cuniculus</i>) kelompok negatif, positif, dan perlakuan dengan teknik IHC hari ke 3.....	36
Gambar V.I.2. Foto mikroskopik ekspresi TGF- β 1 pada pulpa gigi kelinci new zealand (<i>oryctolagus cuniculus</i>) kelompok negatif, positif, dan perlakuan dengan teknik IHC hari ke 7.....	38
Gambar V.I.3. Foto mikroskopik ekspresi TGF- β 1 pada pulpa gigi kelinci new zealand (<i>oryctolagus cuniculus</i>) kelompok negatif, positif, dan perlakuan dengan teknik IHC hari ke 14.....	38
Gambar V.I.4. Ekspresi TGF- β 1 pada kelompok negatif, positif, dan perlakuan dengan teknik IHC hari ke 3,7 dan 14.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel V.II.1. Perbedaan ekspresi TGF- β 1 antara perlakuan dengan teknik IHC hari ke 3,7 dan 14.....	39
Tabel V.II.2. Perbedaan ekspresi TGF- β 1 antara dua perlakuan dengan teknik IHC hari ke 3,7 dan 14.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

1. Dokumentasi penelitian
2. Surat Rekomendasi Persetujuan Komisi Etik

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Pulpa merupakan jaringan ikat longgar yang komposisinya sama dengan jaringan ikat tubuh lainnya yang terdiri dari sel-sel, matrix ekstraseluler, pembuluh darah dan saraf (Hargreaves *et al.*, 2002). Pulpa terletak diantara jaringan kaku yang termineralisasi atau disebut *low compliance* (Zhang *et al.*, 2010). Pulpa gigi dan dentin berfungsi sebagai satu unit karena terdapat odontoblas yang terletak dipinggiran jaringan pulpa, dengan ekstensi ke bagian dalam dentin yang membentuk lapisan luar dari jaringan ikat (Cohen, 2016). Pulpa juga berperan menghasilkan mediator inflamasi seperti sitokin dan mengenali pola reseptor yang berkontribusi pada respon imun (Hargreaves *et al.*, 2012)

Odontoblas merupakan sel yang paling penting dalam pulpa karena merupakan sel pertama yang berkontak dengan invasi bakteri, berfungsi sebagai terminal matriks protein dan sebagai sel yang memediasi mineralisasi. Selain itu, odontoblas juga menghasilkan substansi-substansi aktif seperti TGF- β 1 dan molekul lain yang terlibat dalam proses inflamasi dan perbaikan jaringan (Hargreaves *et al.*, 2012).

Pada keadaan inflamasi konsentrasi TGF- β 1 meningkat bila dibandingkan dengan dentin sehat. Penelitian-penelitian terdahulu, menunjukkan TGF- β 1 mempunyai peranan yang signifikan dalam respon imun dan perbaikan jaringan pulpa (Yongchaitrakul dan Pasavant, 2007).

TGF- β 1 juga mempunyai implikasi dalam menginduksi differensiasi sel odontoblas selama dentin reparatif (Duque dkk., 2006) (Smith dkk., 2011).

Dentin reparatif akan berespon pada sisi pulpa yang terekspos karena hilangnya odontoblas sehingga di perlukan pembentukan *dentinal bridge* pada daerah tersebut sebagai respon untuk melindungi pulpa dari iritasi seperti aktivitas mekanik berupa *iatrogenik injuri* yang dapat menyebabkan pulpa mengalami nekrosis (Okiji, 2012) (Hargreaves, 2012). Pulpa yang terekspos dapat di rawat dengan mengaplikasikan bahan yang biokompatibel untuk merangsang terbentuknya *dentinal bridge* (Swarup, 2014). Salah satu bahan kedokteran gigi yang mampu merangsang pembentukan dentin reparatif adalah kalsium hidroksida (Gandolvi *et al.*, 2014).

Kalsium hidroksida bekerja dengan melepaskan ion kalsium (Ca⁺) yang dapat memicu proliferasi dari sel pulpa yang belum berdiferensiasi (Gandolvi *et al.*, 2014). Akan tetapi, kalsium hidroksida Ca(OH)₂ masih memiliki keterbatasan fisik seperti tidak melekatnya bahan terhadap dentin dan larutnya bahan dalam cairan jaringan (Cox and Suzuki, 1994). Penelitian Cox dkk., 1996 menunjukkan bahwa *dentinal bridge* yang terbentuk di bawah kalsium hidroksida memiliki banyak ketidaksempurnaan, dan terdapat *tunnel defect* yang memungkinkan terjadinya penetrasi bakteri. Selain itu, Ca(OH)₂ juga dapat mengiritasi jaringan pulpa vital bahkan menyebabkan nekrosis akibat pH-nya yang terlalu tinggi (12,5- 12,8) (Goldberg *et al.*, 2015).

Oleh karena itu, dikembangkan bahan alami yang berasal dari cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) yang memiliki kandungan kaya akan mineral seperti kalsium dan memiliki fungsi dalam proses mineralisasi jaringan keras (Mahreni *et al.*, 2012) (Sha, 2008). Penelitian Dafal dkk (2017) menyimpulkan bahwa cangkang telur merupakan Salah satu sumber kalsium terbaik yang dapat diserap tubuh sekitar 90% dimana kalsium memainkan peran aktif dalam remineralisasi email.

Berdasarkan hal tersebut, maka penulis ingin melakukan penelitian untuk melihat potensi cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) dalam menginduksi TGF- β 1.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan, dirumuskan masalah yaitu: Apakah pasta cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) mampu meningkatkan ekspresi TGF- β 1 pada pulpa gigi kelinci new zealand (*oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi?

I.3. Tujuan Penelitian

I.3.1. Tujuan umum

Untuk menganalisa kemampuan pasta cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) dalam meningkatkan ekspresi TGF β -1 pada pulpa gigi kelinci new zealand (*oryctolagus cuniculus*) pengamatan periode 3, 7 dan 14 hari.

I.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisa ekspresi TGF- β 1 setelah aplikasi kalsium hidroksida pada pulpa gigi kelinci new zealand (*oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi.
2. Menganalisa ekspresi TGF- β 1 setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) konsentrasi 35% dan 40 % pada pulpa gigi kelinci new zealand (*oryctolagus cuniculus*) yang terinflamasi.

I.4. Manfaat Penulisan

I.4.1. Manfaat Umum

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai manfaat pasta cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) yang berpotensi sebagai bahan alternatif dalam bidang kedokteran gigi.

I.4.2. Manfaat Khusus

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi keilmuan bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis konservasi gigi pada khususnya mengenai pengaruh pasta cangkang telur ayam ras (*gallus sp*) terhadap ekspresi TGF- β 1 sehingga dapat menjadi pertimbangan sebagai bahan biomineralisasi dentin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Kompleks Dentin-Pulpa

Kompleks dentin-pulpa merupakan kumpulan antara pulpa yang dilindungi oleh dentin pada bagian luarnya dan terdiri dari sel, serat, substansi dasar, pembuluh darah dan saraf (Sharma, 2010). Dentin dibentuk dari odontoblas yang berasal dari ektomesenkim sebanyak 70% bahan anorganik dentin berupa kristal kalsium hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) dan 20% dentin terdiri dari komponen organik dan 10% air. Kristal hidroksiapatit yang ditemukan pada dentin hampir sama dengan enamel hanya saja dalam jumlah yang lebih sedikit sehingga dentin menjadi lebih lunak dari enamel (Nasution, 2016). Komponen organik pada dentin kebanyakan merupakan kolagen tipe I (90%), juga ditemukan kolagen tipe III dan kolagen tipe V. Protein non kolagen ditemukan dalam persentase yang kecil pada matriks organik tetapi memiliki peranan yang penting seperti proteoglikan (Kawashima *et al.*, 2016).

Dentin dan pulpa merupakan jaringan yang terintegrasi dan memiliki fungsi yang saling bergantung (Okiji, 2012). Sel-sel dasar yang ada dalam pulpa adalah fibroblas, odontoblas, sel mesenkimal tidak berdiferensiasi, sel darah, sel endotel, sel schwann dan sel inflamasi (Sharma, 2010). Dentin dan pulpa terhubung melalui sel odontoblas. Sel odontoblas terdiri dari prosesus dan badan sel. Badan sel terdapat pada

pulpa, sedangkan prosesnya berada pada dentin (Okiji, 2012). Sel odontoblas adalah sel kolumnar yang terdiferensiasi dan diatur dalam palisade di sepanjang batas luar pulpa. Sel-sel ini memanjang ke dalam tubulus dentin yang disebut *odontoblastic process* dan berpartisipasi dalam pembentukan dentin dengan mensekresi matriks dentin dan mineral (Sharma, 2010). Sel odontoblas membatasi bagian perifer pulpa dan memperluas proses sitoplasmiknya ke dalam tubulus dentin. Sel-sel odontoblas memiliki beberapa *junction* yang menjadi perantara komunikasi interseluler yang berfungsi memelihara posisi relatif antara satu sel dengan sel lainnya. Zona bebas sel yang berada di bawah lapisan odontoblastik berisi perpanjangan plexus saraf yang tidak bermielin dan kapiler darah yang berasal dari inti pulpa. Sel odontoblas bertanggung jawab dalam pembentukan dentin dan predentin (*immature mineralized tissue*), sehingga sel ini memegang peran penting dalam *pulp-dentinal complex*. Ketika ada kerusakan pada kompleks ini akibat dari iritasi maupun prosedur operatif maka sel odontoblas akan bereaksi untuk mempertahankan vitalitas pulpa (Kawashima *et al.*, 2016).

II.2. Pulpa

Pulpa merupakan jaringan lunak yang lengkap dengan sistem mikrovaskularisasi, persyarafan, induksi dan pertahanan serta merupakan sumber yang kaya dengan sel punca mesenkhim. Pulpa memiliki lima fungsi utama yaitu induktif, formatif, nutritif, defensif, dan sensitif. Fungsi formatif pulpa yang dimaksud adalah kemampuan pulpa membentuk

kembali dentin di lokasi terbukanya pulpa akibat adanya karies, trauma atau prosedur restorasi. Selain itu, pulpa juga memiliki fungsi defenisif berupa respon inflamasi dan imunologik dalam upaya menetralsir produk-produk yang menginvasi ke dalam dentin. Pulpa gigi kaya akan pembuluh darah dengan sejumlah pembuluh saraf bermielin dan tidak bermielin. Hal ini berkaitan erat dengan dua fungsi lainnya dari pulpa gigi yaitu menyediakan nutrisi untuk dentin serta menjadi *biosensor* untuk mendeteksi rangsang pathogen (Shigeru, 2006)(Batouli, 2003). Secara histologis pulpa terdiri dari 4 (empat) zona yaitu (Torabinejad, 2009):

1. Zona Odontoblas pada perifer pulpa

Merupakan zona terluar yang terdiri dari sel-sel odontoblas, dan disebut juga zona dentinoblas. Di dalam zona ini terdapat pembuluh darah kapiler, serabut saraf, dan sel dendritik.

2. Zona bebas sel dari *Weil*

Banyak ditemukan di bagian korona pulpa, disebut juga sebagai zona miskin sel atau zona subdentinoblas. Zona ini mengelilingi zona kaya sel, dan relatif bebas sel, sehingga disebut sebagai zona bebas sel. Zona ini mengandung banyak pembuluh darah kapiler, serabut saraf sensoris yang tidak bermielin. Zona ini tidak terlihat pada pulpa muda yang masih terjadi pembentukan dentin, dan pada pulpa matang yang sedang membentuk dentin reparatif.

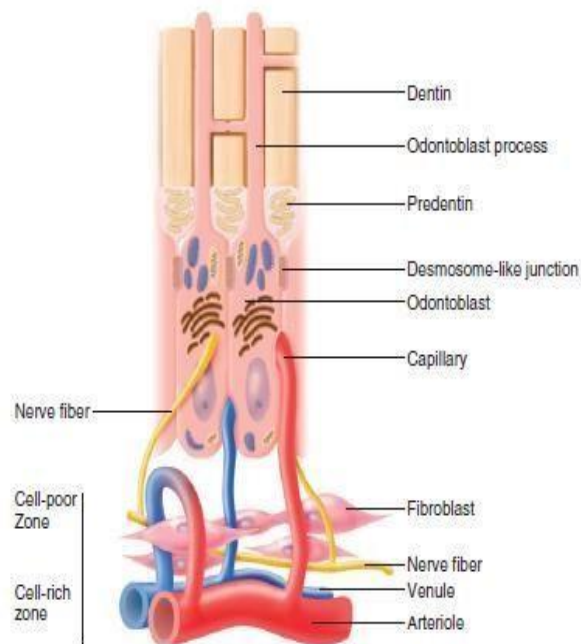
3. Zona kaya akan sel

Zona ini terletak di sebelah luar zona sentral dan mengelilingi zona

tersebut. Zona ini sangat padat karena mengandung banyak sel seperti fibroblas, makrofag, sel dendritik dan *undifferentiated mesenchymal* atau sel punca. Sel cadangan merupakan sel mesenkhim yang tidak terdiferensiasi dan berfungsi untuk menggantikan sel-sel yang rusak, misalnya membentuk odontoblas baru. Meskipun demikian pembelahan sel pada pulpa normal jarang terjadi, kematian odontoblas meningkatkan terjadinya mitosis. Adanya cedera pada odontoblas akan menyebabkan migrasi sel dari zona kaya akan sel ke permukaan dalam dentin. Aktifitas mitosis merupakan langkah awal pembentukan odontoblas baru. Penelitian terakhir mengatakan bahwa sel punca sebagai sumber untuk perpindahan odontoblas kembali.

4. Inti Pulpa

Inti pulpa disebut juga zona sentral, mengandung banyak pembuluhdarah, saraf, serta sel jaringan ikat fibroblas.



Gambar II.2. Pulpa

Sumber: Cohen & Stephen. (2016). Pathways Of The Pulp (11th ed.). The Mosby Compony

II.3. Inflamasi Pulpa

Inflamasi adalah reaksi pembuluh darah dan jaringan sekitar terhadap cedera yang terjadi. Inflamasi menjadi proses yang penting untuk mengetahui proses suatu cedera. Inflamasi dapat menjadi dasar untuk mengetahui waktu cedera dan proses penyembuhan hingga kembalinya fungsi normal jaringan. Inflamasi pulpa dapat terjadi karena invasi bakteri, trauma, iatrogenik dan kemis. Proses ini diawali dengan adanya rangsangan pada jaringan pulpa yang nantinya akan mengaktifkan enzim fosfolifase untuk mengubah fosfolipid menjadi asam arakidonat kemudian enzim siklooginase. Asam arakidonat sebagian diubah menjadi endoperoksida yang akhirnya menjadi prostaglandin. Prostaglandin ini mempunyai efek

pada permeabilitas pembuluh darah dan sel-sel radang yang nantinya terlibat dalam proses inflamasi. Pada proses inflamasi sebagian dari asam arakidonat akan diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi hiperoksida dan leukoprotein. Leukoprotein ini bertanggung jawab terhadap perubahan dalam permeabilitas pembuluh darah dan kemotaksis sel-sel radang (Jontell, 1998). Inflamasi terjadi dalam dua tahap yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronis (Sabir, 2005).

Rangsangan eksternal pada jaringan pulpa, akan mulai terlihat adanya lapisan odontoblas yang cedera. Odontoblas adalah sel bentukan dentin yang membentang kedalam tubuli dentin dan merupakan sel pertama yang menghadapi injuri (Hargreaves, 2002). Respon odontoblas mendeteksi injuri melalui *toll like receptor* (TLRs) yang diekspresikan oleh odontoblas (Takeda *et al.*, 2003).

Bila intensitas injuri lebih besar, maka dapat timbul cedera pada jaringan pulpa yang lebih besar luas dan dalam. Odontoblas akan memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti (TNF α dan IL-1) dan prostaglandin. Sitokin hasil produksi odontoblas akan berinteraksi dengan sel endotel pembuluh darah, mengubah sistem mikrosirkulasi dalam jaringan pulpa, sehingga terjadi hambatan aliran darah dan metabolisme dalam jaringan. Mula-mula terjadi vasodilatasi sistem mikrovaskularisasi yang menyebabkan sirkulasi darah menjadi statis. Didalam arteri terjadi mobilisasi leukosit, sel-sel polimorfonuklear neutrofil (PMN) mengadakan marginasi yang dilanjutkan dengan emigrasi ke jaringan

sekitarnya. Hal ini mengakibatkan pengumpulan eksudat di jaringan untuk proses fagositosis (Robbins *et al.*, 2007)(Ingle, 2008).

Polimorfonuklear neutrofil (PMN) berperan dalam respon inflamasi akut. Neutrofil akan mulai mati setelah menghancurkan iritan dan jaringan yang rusak melalui proses fagositosis. Kemudian sistem benda asing dan luruh sel yang tidak terfagositosis oleh neutrofil akan difagositosis oleh makrofag sebagai pertahanan kedua untuk mengisolasi, menghancurkan, atau mengaktifkan pertahanan, membersihkan debris, dan mempersiapkan proses penyembuhan dan perbaikan (Sherwood, 2011). Makrofag yang teraktivasi akan mensekresi IL-1 dan IL-12 setelah memproses antigen. IL-1 akan memberi sinyal kepada limfosit T-helper untuk berikatan dengan MHC kelas II pada makrofag dan IL-12 berperan pada aktivasi limfosit. Waktu yang dibutuhkan oleh limfosit untuk produksi dan diferensiasi menjadi sel efektor adalah sekitar 3 sampai 5 hari, dan selanjutnya limfosit akan keluar dari vaskularisasi menuju jaringan. Keadaan ini terjadi terus menerus dan berlangsung selama lebih seminggu, berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun (Robbins *et al.*, 2007).

II.4. Peran *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) Dalam Pembentukan *Dentinal Brigade*

Growth factor dalam dentin matriks kebanyakan berasal dari sel odontoblast. Setelah disekresikan *growth factor* berinteraksi dengan matriks ekstraseluler atau komponen mineral dentin. Interaksi dengan komponen matriks dentin adalah sangat penting dalam memproteksi

aktivitas biologik *growth factor* karena *half life protein* ini hanya beberapa menit ketika mereka keluar dalam serum. Pada dasarnya *growth factor* akan dilepaskan pada matriks dentin sebagai kompensasi injuri jaringan dan prosedur restorasi. Pada kejadian karies, difusi asam dari metabolit bakteri yang masuk ke dalam jaringan gigi akan menyebabkan demineralisasi, dan pada keadaan ini akan dilepaskannya komponen matriks ekstraseluler *soluble* termasuk *growth factor*. Komponen ini akan berdifusi pada pulpa secara langsung kemudian berinteraksi dengan sel. Kejadian demineralisasi akibat proses karies ini akan menyebabkan dilepasnya *growth factor* selama periode waktu yang cukup lama, sehingga dapat memfasilitasi untuk terjadinya signalling sel (Hargreaves, 2012)(Smith, 2005).

TGF- β super family terdiri atas lebih dari 40 protein yang berlainan, dapat diklasifikasikan menjadi 3 grup besar yaitu grup pertama TGF- β s (isoform TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 dan TGF- β 5), grup kedua BMP (bone morphogenetic protein) yang terdiri atas BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7 dan BMP-8) dan grup ketiga *activins/inhibins*. Masing-masing grup ini mampu meregulasi protein seluler termasuk proliferasi sel, diferensiasi, mobilitas, adhesi dan kematian. TGF- β 1 berperan dalam homeostatis dan perbaikan jaringan dalam tubuh (Octiara, 2015).

TGF- β 1 merupakan *growth factor* yang unik diantara *growth factor* yang lain karena mempunyai bermacam-macam aktivitas biologi. Sering kali mempunyai efek yang berlawanan pada pertumbuhan, fisiologis dan

respon imun bermacam-macam jenis sel. TGF- β 1 adalah regulator penting pada proliferasi dan diferensiasi sel. TGF- β 1 memperantarai proses reparatif dengan menstimulasi sel dari kompleks pulpa dentin melalui ikatan reseptor tipe I dan II pada odontoblas dan sel pulpa terdapat pada gigi sehat dan karies pada gigi matang manusia. Keberadaan reseptor ini menunjukkan bahwa jalur transduksi sinyal terjadi didalam sel untuk reseptor TGF- β . Odontoblas mengekspresikan reseptor kuat bila dibandingkan dengan sel pulpa (Sloam *et al.*, 2000)(Sloam *et al.*, 1999).

Pada dentin karies, konsentrasi TGF- β 1 meningkat bila dibandingkan dengan dentin sehat. TGF- β 1 pada matriks dentin reparatif lebih banyak daripada matriks dentin primer. Peningkatan ekspresi TGF- β 1 secara intraseluler dan ekstraseluler matriks didalam karies gigi diduga bahwa *growth factor* mempunyai peranan penting dalam merespon adanya jejas dan perbaikan jaringan (About *et al.*, 2000). Diperkirakan proses karies memicu aktivitas odontoblas sehingga terjadi peningkatan ekspresi TGF- β 1. Hal ini, dapat terjadi karena terlepasnya TGF- β 1 yang larut dalam matriks (Sloam *et al.*, 2000). TGF- β 1 merupakan regulator yang penting pada proliferasi dan diferensiasi sel pulpa manusia selama proses pembentukan dan perbaikan dentin. TGF- β 1 menginduksi kolagen tipe 1 yang diproduksi oleh odontoblas, subodontoblas atau sel pulpa pada daerah yang terstimulasi (Melin *et al.*, 2000).

II.5. Pulp Capping

Perawatan pulpa vital adalah perawatan yang ditujukan untuk mempertahankan dan menjaga vitalitas pulpa yang terekspos secara tidak sengaja dan merangsang pertumbuhan kompleks pulpa-dentin dari pulpa vital yang tersisa. Perawatan pulpa vital dapat dilakukan dengan cara *pulp capping* yang terbagi atas dua, yaitu *direct pulp capping* dan *indirect pulp capping*. Perawatan pulpa dengan *pulp capping* memiliki riwayat klinis yang panjang. Tujuan dari perawatan ini adalah untuk menjaga vitalitas pulpa yang terpapar dan mengembalikan fungsi gigi (Ingle, 2002)(Nisha *et al.*, 2014). Namun, sangat jelas bahwa adanya jejas pada pulpa memiliki kecenderungan yang kurang baik untuk sembuh sehingga pulpa menjadi nekrosis. Sampai saat ini, perawatan *pulp capping* masih diragukan. Namun dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa *pulp capping* memiliki tingkat keberhasilan mendekati 90% jika dilakukan sesuai indikasi dan perawatan dilakukan dengan benar (Tronstad, 2003).

Pulp capping merupakan suatu prosedur untuk mempertahankan vitalitas pulpa selama pembuangan dentin yang terkena karies atau faktor *iatrogenic* yang kemudian diaplikasikan bahan *pulp capping* yang harus memenuhi syarat biokompatibilitas yang dapat diterima tubuh atau dengan kata lain tidak membahayakan penggunaannya (Qureshi *et al.*, 2014)(Torabinejad *et al.*, 2014). Idealnya bahan yang diletakkan dalam rongga mulut tidak boleh membahayakan jaringan pulpa dan jaringan lunak rongga mulut. Selain itu, bahan *pulp capping* harus memiliki sifat ideal,

yaitu dapat merangsang pembentukan dentin reparatif, dapat mempertahankan vitalitas pulpa, bersifat bakterisida atau bakteristatik, adhesif pada dentin dan bahan restoratif, tahan terhadap tekanan selama penempatan restorasi dan selama masa restorasi, steril, bersifat *radiopaque* dan memberikan segel bakteri (Qureshi *et al.*, 2014). Bahan *pulp capping* juga harus tidak mengandung bahan toksik yang mampu berdifusi dan dapat diabsorpsi ke dalam sistem sirkulasi tubuh yang menyebabkan reaksi toksik secara sistemik. Bahan yang digunakan harus bebas dari agen-agen *sensitizing* yang dapat berperan menimbulkan alergi dan seharusnya tidak karsinogenik (Anusavice, 2003).

Kalsium hidroksida sudah menjadi standar sebagai bahan kaping pulpa. Kalsium hidroksida memiliki pH yang basa yaitu sekitar 12 sehingga menyebabkan kalsium hidroksida memiliki kemampuan antibakterial yang baik (Ghodusi *et al.*, 2014)(Hilton, 2009). Pelepasan ion hidroksil dari kalsium hidroksida yang tinggi dapat membunuh mikroorganisme penyebab peradangan. Ion hidroksil bekerja dengan mendenaturasi protein dan menghidrolisis lemak lipopolisakarid (LPS) seperti pirogenitas, aktifitas makrofag dan komplemen, sehingga dinding sel rusak dan mengakibatkan kematian bakteri. Peningkatan ion OH^- menjadikan kemungkinan bakteri untuk hidup rendah sekali, sedangkan ion Ca^{2+} dari kalsium hidroksida dapat dipercaya memiliki khasiat dalam merangsang pembentukan jembatan dentin dan memelihara vitalitas pulpa. Pada kasus perforasi pulpa dengan diagnosis pulpitis reversible, kalsium hidroksida

merupakan bahan yang paling efektif bila berkontak langsung dengan jaringan pulpa vital. Estrella & Holand (2009) mengatakan bahwa Ph yang tinggi dari kalsium hidroksida, menyebabkan terbentuknya lapisan nekrosis superfisialis pada pulpa dengan ketebalan mencapai sekitar 2 mm. Dibawah lapisan ini, terdapat respon inflamasi ringan dari pulpa, dengan zona steril dari bakteri ketika bahan ini diletakkan, sehingga memicu terjadinya pembentukan jaringan keras (Z and DPM, 2011). Iritasi yang terjadi pada pulpa menyebabkan produksi morfogen yang berperan dalam dentinogenesis yaitu TGF- β 1. Morfogen ini merupakan protein yang signifikan dalam kesembuhan pulpa (Ghoddusi *et al.*, 2014)(Hilton, 2009).

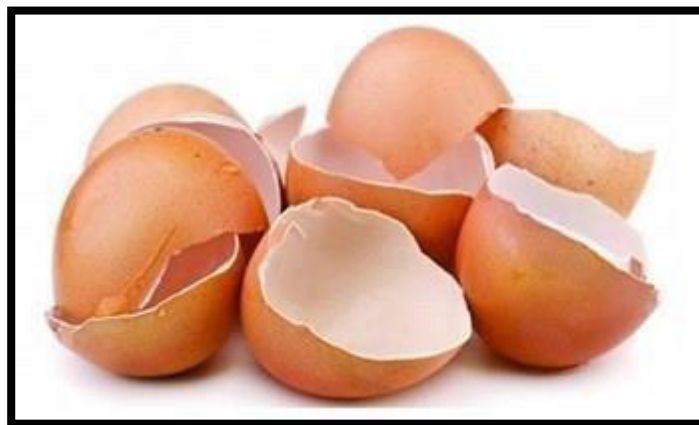
Hasil jangka panjang penggunaan bahan ini tidak dapat diprediksi. Kalsium hidroksida tidak dapat beradaptasi sempurna dengan dentin (Ghoddusi *et al.*, 2014). Dentin reparatif yang terbentuk juga memiliki ciri khas yaitu tunnel defects. Cox et al. (1996) meneliti penggunaan kalsium hidroksida dan mengemukakan kelemahan bahan ini yaitu *tunnel defects* (Malkondu *et al.*, 2014). *Tunnel defects* dapat menjadi jalan penetrasi bagi bakteri untuk mengaktifkan sel imun dan menyebabkan iritasi pulpa (Bogen *et al.*, 2008). Kegagalan penggunaan bahan ini disebabkan oleh adhesinya yang tidak baik dengan dentin sehingga terjadi *leakage* untuk jalan masuk bakteri (Ghoddusi *et al.*, 2014).

Fitzgerald dan Heys (1991), Matsuo et al. (1996) dan Clement et al. (2000) menyimpulkan bahwa kegagalan kaping pulpa dengan kalsium hidroksida sekitar 5-21% dalam setahun, 20% gigi menunjukkan kegagalan

dalam tahun pertama dan 30% setelah dua tahun penggunaan kalsium hidroksida. Donner dan Klar (2000) menyimpulkan bahwa kegagalan *pulp capping* dengan kalsium hidroksida sekitar 15-30% dalam setahun (Hilton, 2009).

II.6. Cangkang Telur

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



Gambar II.6. Cangkang telur

Sumber: Rivera, E., Araiza, M. and Brostow, W. (1999) 'Synthesis Of Hydroxyapatite From Eggshell'

Cangkang telur tersusun atas struktur berlapis tiga, yaitu lapisan kutikula, lapisan sponge (busa) dan lapisan lamellar. Lapisan kutikula

merupakan protein transparan yang melapisi permukaan cangkang telur. (Rivera, 1999). Lapisan sponge (busa) dan lamellar membentuk matriks yang tersusun oleh serat-serat protein yang terikat dengan kristal kalsium karbonat (CaCO_3) atau disebut juga kalsit dengan perbandingan 1:50. Lapisan ini terdiri dari protein dan lapisan kapur yang terdiri dari kalsium karbonat, kalsium fosfat, magnesium karbonat, dan magnesium fosfat (Rivera *et al.*, 1999). Lapisan lamellar (*mamillary*) merupakan lapisan ketiga dari cangkang telur yang terdiri dari lapisan ini sangat tipis dan terdiri dari anyaman protein dan mineral (Wirakusumah *et al.*, 2011). Berdasarkan hasil penelitian, serbuk cangkang telur ayam mengandung kalsium sebesar $401 \pm 7,2$ gram atau sekitar 39% kalsium, dalam bentuk kalsium karbonat (Rivera *et al.*, 1999).

Kandungan kalsium karbonat dari cangkang telur dapat digunakan sebagai sumber kalsium yang erat hubungannya dengan pembentukan tulang dan gigi (Rivera *et al.*, 1999).