

**EKSPRESI IL-17 DAN JUMLAH NEUTROFIL PADA
LIDAH *Rattus norvegicus* IMUNOSUPRESI YANG
MENGALAMI CANDIDIASIS DAN DITERAPI GEL
*ESSENTIAL OIL Citrus limon L.***

KARYA TULIS AKHIR



Oleh:

AFRYLA FEMILIAN

NIM: 021918026307

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

**EKSPRESI IL-17 DAN JUMLAH NEUTROFIL PADA
LIDAH *Rattus norvegicus* IMUNOSUPRESI YANG
MENGALAMI CANDIDIASIS DAN DITERAPI GEL
*ESSENTIAL OIL Citrus limon L.***

KARYA TULIS AKHIR



Oleh:

AFRYLA FEMILIAN

NIM: 021918026307

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

**EKSPRESI IL-17 DAN JUMLAH NEUTROFIL PADA
LIDAH *Rattus norvegicus* IMUNOSUPRESI YANG
MENGALAMI CANDIDIASIS DAN DITERAPI GEL
*ESSENTIAL OIL Citrus limon L.***

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Program
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Penyakit Mulut Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya**

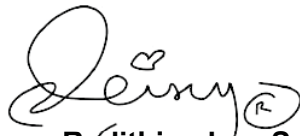
Oleh:

AFRYLA FEMILIAN
NIM: 021918026306

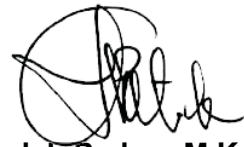
Menyetujui,

Pembimbing Ketua

Pembimbing Kedua

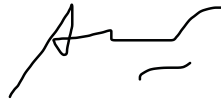


Dr. Desiana Radithia, drg., Sp.PM(K)
NIP. 197712072005012001



Adiastuti Endah P., drg., M.Kes., Sp.PM(K)
NIP. 195905171984032001

Koordinator Program Studi



Prof. Dr. Diah Savitri E., drg., M.Si., Sp.PM (K)
NIP. 196004291985032001

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

PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Karya Tulis Akhir ini telah diuji pada Rabu, 24 Februari 2022

PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Ketua : Prof. Dr. Diah Savitri Ernawati, drg., M. Si., Sp. PM (K)

Anggota : 1. Adiasuti Endah Parmadiati, drg., M. Kes, Sp. PM (K)
2. Dr. Desiana Radithia, drg., Sp. PM (K)
3. Nurina F. Ayuningtyas, drg., M. Kes, Ph.D. Sp. PM (K)
4. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M. Kes

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Afryla Femilian

NIM : 021918026307

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Penyakit Mulut

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Spesialis-1 (Sp-1)

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

**EKSPRESI IL-17 DAN JUMLAH NEUTROFIL PADA
LIDAH *Rattus norvegicus* IMUNOSUPRESI YANG MENGALAMI CANDIDIASIS DAN
DITERAPI GEL *ESSENTIAL OIL Citrus limon L***

Apabila pada suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 24 Februari 2022



AFRYLA FEMILIAN
NIM. 021918026307

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga Karya Tulis Akhir dengan berjudul “Ekspresi IL-17 dan Jumlah Neutrofil pada Lidah *Rattus norvegicus* Imunosupresi yang mengalami *Candidiasis* dan Diterapi Gel *Essential Oil Citrus limon L.*” dapat diselesaikan. Penyusunan Karya Tulis Akhir ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.
2. Adiasuti Endah Parmadiati, drg., M. Kes, Sp. PM (K) selaku Ketua Departemen Ilmu Penyakit Mulut sekaligus Pembimbing KTA yang telah memberikan bimbingan, semangat, saran dan dukungan
3. Prof. Dr. Diah Savitri Ernawati, drg., M. Si, Sp. PM (K) selaku Koordinator Program Studi Ilmu Penyakit Mulut dan Penguji KTA yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran, perhatian, semangat dan dukungan.
4. Dr. Desiana Radithia, drg., Sp. PM (K) selaku Pembimbing KTA yang selalu memberikan berbagai bimbingan, masukan, semangat, saran, perhatian dan dukungan dalam penyelesaian karya tulis ini.
5. Nurina Febriyanti Ayuningtyas, drg., M. Kes, Ph. D, Sp. PM (K) selaku Penguji KTA yang telah memberikan berbagai masukan dan saran terhadap perbaikan Karya Tulis ini.

6. Prof. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M. Kes selaku Penguji KTA atas berbagai masukan dan saran-sarannya kepada penulis.
7. Winda Dwi Malinda Masuku, drg., Sp. PM selaku senior PPDGS 2018 atas kebaikan dan kerjasama dalam penelitian ini.
8. Pak Wibi Riawan, S.Si., M. Biomed Laboratorium Biokimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan mas Yoni Research Centre Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas bantuan waktu dan tenaga yang diberikan dalam membantu melaksanakan penelitian.
9. Seluruh staf dosen dan pegawai Departemen Ilmu Penyakit Mulut FKG Universitas Airlangga yang telah memberikan semangat, motivasi dan dukungan selama menempuh Pendidikan.
10. Ayahanda Heri Pratiknyo dan M. Ikhsanudin, Ibunda Martini dan Siti Umi Nuryati, Kakak Febri Kurniawan dan Tri Rahayu, serta semua keluarga yang selalu mendoakan dan memberi kasih sayang, semangat, serta motivasi dan dukungan kepada penulis.
11. Suami dan anak-anak tercinta, Taufik Sarifudin Sidiq, M. Fathan Sakha Al Khalifi, Shaqueena Mikhayla Khaliluna Sakhi yang selalu mendukung, memberikan kasih sayang, motivasi, perhatian dan doa kepada penulis.
12. Teman-teman PPDGS Angkatan 2019 drg. Kurnia Hayati, drg. Ni Wy Rima Tiara, drg. Rosaline, drg. IB Pramana, drg. Maslah Siregar, drg. Lani Berlina, dan drg. Ari Hapsari atas kebersamaan, bantuan, perhatian, dukungan, doa selama menempuh pendidikan. Rekan-

rekan senior PPDGS Angkatan 2018 dan junior 2020 atas bantuan dan perhatian yang telah diberikan.

13. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Pada kesempatan ini penulis memohon maaf yang sebesar - besarnya apabila ada kesalahan dan kekurangan. Semoga Karya Tulis Akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 24 February 2022

Penulis

IL-17 EXPRESSION AND NEUTROPHIL COUNT ON IMMUNOSUPPRESSED *Rattus norvegicus* TONGUE CONTRACTING CANDIDIASIS AND TREATED WITH Citrus limon L. L. ESSENTIAL OIL GEL

ABSTRACT

Background: Oral candidiasis is an opportunistic infection caused by *Candida albicans* that often appears in patients with immunosuppression conditions. Long-term use of antifungal drugs can lead to drug resistance. Citrus limon L. as an alternative herbal treatment containing limonene, β -pinene, and γ -terpinene, has strong antifungal activity against *Candida albicans*. **Objective:** To prove an increase of IL-17 expression and neutrophil count on the immunosuppressed *Rattus norve*'s tongue contracting candidiasis and was treated with Citrus limon L. essential oil gel. **Methods:** Immunosuppressed *Rattus norvegicus* who had candidiasis of the tongue was divided into 3 groups randomly, negative control, positive control and the treatment group. The treatment group was applied Citrus limon L. essential oil gel for 4 days. Neutrophil counts were assessed using HE staining and IL-17 expression using IHC. **Results:** In the treatment group the mean expression of IL-17 was 9.78 and the mean number of neutrophils was 11.89, both of which were significantly higher than the mean in the positive and negative control groups ($p=0.000$; $p<0.05$). **Conclusion:** There was a significant increase in IL-17 expression and neutrophil count after application of Citrus limon L. essential oil gel.

Key words: Oral Candidiasis, Citrus limon L., Antifungal, IL-17, Neutrophil

EKSPRESI IL-17 DAN JUMLAH NEUTROFIL PADA LIDAH *Rattus norvegicus* IMUNOSUPRESI YANG MENGALAMI CANDIDIASIS DAN DITERAPI GEL *ESSENTIAL OIL Citrus limon L.*

ABSTRAK

Latar belakang: *Oral Candidiasis* merupakan salah satu infeksi oportunistik akibat *Candida albicans* yang sering muncul pada pasien dengan kondisi imunosupresi. Penggunaan obat antifungal jangka panjang dapat menyebabkan resistensi obat. Citrus limon L. sebagai obat herbal alternatif mengandung senyawa terpenoid *limonene*, β -*pinene*, dan γ -*terpinene* yang memiliki aktivitas antijamur yang kuat terhadap *Candida albicans*. **Tujuan:** Membuktikan peningkatan ekspresi IL-17 dan neutrofil pada lidah *Rattus norvegicus* imunosupresi yang mengalami *Candidiasis* dan diterapi gel *Essential Oil Citrus limon L.* **Metode:** *Rattus norvegicus* imunosupresi yang mengalami *Candidiasis* pada lidah dibagi menjadi 3 kelompok secara random yaitu kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diaplikasikan gel *essential oil Citrus limon L.* selama 4 hari. Pemeriksaan jumlah neutrofil menggunakan pewarnaan HE dan ekspresi IL-17 menggunakan IHC. **Hasil:** Pada kelompok perlakuan rerata ekspresi IL-17 adalah 9,78 dan rerata jumlah neutrofil adalah 11,89, kedua hal tersebut lebih besar secara signifikan dibanding rerata pada kelompok kontrol positif dan negatif ($p=0,000$; $p<0,05$). **Kesimpulan:** Terjadi peningkatan ekspresi IL-17 dan jumlah neutrofil secara signifikan setelah pemberian terapi gel *Essential Oil Citrus limon L.*

Kata kunci: *Oral Candidiasis*, *Citrus limon L.*, Antifungal, IL-17, Neutrofil

DAFTAR ISI

Sampul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Penetapan Panitia Penguji Karya Tulis Akhir.....	iii
Surat Pernyataan Orisinalitas.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Abstract.....	viii
Abstrak.....	ix
Daftar Isi.....	x
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
 BAB 1 PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum.....	6
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat Praktis.....	7
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	 8
2.1 Oral Candidiasis.....	8
2.2 Proses Pertahanan Tubuh terhadap Candida.....	10
2.2.1 Peran IL-17 terhadap Infeksi Candidiasis.....	11
2.2.2 Neutrofil.....	14
2.3 Citrus limon L. essential oil (Citrus limon L. L.).....	17
2.4 Tikus Wistar (<i>Rattus Novergicus</i>).....	23
 BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	 24
3.1 Kerangka Konseptual.....	24
3.2 Uraian Kerangka Konsep.....	25
3.3 Hipotesis.....	28
 BAB 4 METODE PENELITIAN.....	 29
4.1 Jenis Penelitian.....	29
4.2 Rancangan Penelitian.....	29
4.2.1 Populasi.....	30
4.2.2 Randomisasi.....	31
4.2.3 Unit Analisis.....	32
4.3 Replikasi Penelitian.....	32

4.4 Variabel Penelitian.....	33
4.4.1 Variabel bebas.....	33
4.4.2 Variabel Tergantung.....	33
4.4.3 Variabel Terkendali.....	33
4.5 Definisi Operasional Variabel.....	33
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	35
4.6.1 Lokasi Penelitian.....	35
4.6.2 Waktu Penelitian.....	35
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	35
4.7 Prosedur Penelitian.....	36
4.8.1 Perawatan hewan coba tikus.....	36
4.8.2 Pembuatan <i>Gel Essential Oil Citrus limon L.</i>	36
4.8.3 Pembuatan keadaan imunosupresi pada hewan coba....	37
4.8.4 Inokulasi candida pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.....	38
4.8.5 Aplikasi Essential Oil Citrus limon L. pada Mukosa Oral Tikus Wistar kelompok perlakuan.....	38
4.8.6 Prosedur Pembuatan Preparat Histologi.....	39
4.8.7. Prosedur Pemeriksaan Imunohistokimia.....	40
4.8.8. Prosedur Pemeriksaan Hematosin Eosin.....	42
4.8.9. Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Sel Neutrofil dan ekspresi IL-17.....	43
4.9 Kerangka Alur Penelitian.....	44
4.10 Analisis Data.....	45
 BAB 5 HASIL DAN ANALISIS DATA.....	 46
5.1 Data Hasil Penelitian.....	47
5.1.1 Ekspresi IL-17.....	47
5.1.2 Jumlah Neutrofil.....	50
 BAB 6 PEMBAHASAN.....	 55
BAB 7 PENUTUP.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Tabel rerata dan standar deviasi ekspresi IL-17.....	48
Tabel 5.2. Hasil analisis data ANOVA ekspresi IL-17.....	49
Tabel 5.3. Hasil Uji Tukey HSD ekspresi IL-17.....	49
Tabel 5.4. Tabel rerata dan standar deviasi jumlah neutrofil....	51
Tabel 5.5. Hasil analisis data ANOVA jumlah neutrofil.....	52
Tabel 5.6. Hasil Uji Tukey HSD jumlah neutrofil.....	53
Tabel.6.1. Hasil pemeriksaan GC-MS.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme pertahanan tubuh terhadap Infeksi C.albicans.....	12
Gambar 2.2. Gambaran histologi Neutrofil.....	15
Gambar 2.3. Peran asam askorbat pada fungsi fagositosis.....	20
Gambar 4.1 Skema Penelitian.....	29
Gambar 5.1. Ekspresi IL-17 dengan pewarnaan IHC.....	47
Gambar 5.2. Grafik rerata ekspresi IL-17 pada masing-masing Kelompok	48
Gambar 5.3. Neutrofil dengan pewarnaan HE	50
Gambar 5.5. Grafik rerata jumlah neutrofil.....	52
Gambar 5.6. Diagram ekspresi IL-17 dan jumlah neutrofil.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran1. Sertifikat Laik Etik.....	71
Lampiran 2. Katalog Marker IHC Antibodies IL-17	72
Lampiran 3. Hasil Perhitungan Ekspresi IL-17 dan Jumlah Neutrofil.....	73
Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan GC-MS dan table 10 tertinggi.....	74
Lampiran 5. Hasil Analisis Data.....	76
Lampiran 6. Foto-foto Penelitian.....	80

DAFTAR SINGKATAN

IL-17	: Interleukin 17
Th17	: T helper 17
DC	: Dendritic cell
non-MHC	: <i>non-major histocompatibility complex</i>
CD4	: cluster of differentiation 4
DNA	: deoxyribonucleic acid
PAMPs	: Pathogen-associated molecular pattern molecules
PRRs	: pattern recognition receptors
ROS	: reactive oxygen species
MHC	: major histocompatibility complex
G-CSF	: granulocyte colony-stimulating faktor
NKT	: The natural killer T
ILC	: innate lymphoid cells
CLRs	: C-type lectin receptors
TLR	: Toll Like Reseptor
ROI	: Reactive oxygen intermediates
RNI	: reactive nitrogen intermediates

STAT	: signal transducer and activator of transcription
RORyt	: retinoic acid-receptor-related orphan receptor yt
IRF4	: IFN regulatory factor 4
AHR	: aryl hydrocarbon receptor
BATF	: basic leucine zipper transcription factor ATF-like
Runx1	: runt-related transcription factor 1
HSCs	: <i>Hematopoietic stem cells</i>
CRIP-3	: cysteine rich secretory protein-3
EphA2	: Ephrin type-A reseptor 2
COX-2	: cyclooxygenase
CMC	: <i>Carboxymethylcellulose</i>
GC-MS	: Gas Chromatohraphy Mass Spectrometry
SDA	: Sabouraud Dekstrose Agar
SDB	: Sabouraud Dekstrose Broth