

**EFEK PEMBERIAN CAMPURAN *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE*
DAN *NANO HYDROXIAPATITE* TERHADAP ANGIOGENESIS MELALUI
EKSPRESI VEGF DAN JUMLAH PEMBULUH DARAH YANG
TERBENTUKSEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING***

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

**WIDJAJA, OLIVIA VIVIAN
021918036305**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**EFEK PEMBERIAN CAMPURAN *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE* DAN
NANO HYDROXIAPATITE TERHADAP ANGIOGENESIS MELALUI
EKSPRESI VEGF DAN JUMLAH PEMBULUH DARAH YANG
TERBENTUK SEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING***

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh:

WIDJAJA OLIVIA VIVIAN
NIM: 021918036305

Menyetujui

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., SpKG(K)
NIP. 196004021986012001

Pembimbing Serta



Dr. Dian Agustin Wahjuningrum, drg. SpKG(K)
NIP. 197108201999032001

**Mengetahui
Koordinator Program Studi**



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

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENETAPAN PANITIA
PENGUJI KARYA TULIS AKHIR**

Karya tulis akhir ini telah diuji pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 24 Mei 2022

PANITIA PENGUJI :

Ketua : 1. Dr. Sukaton drg., M.Kes., SpKG (K)

Anggota : 2. Setyabudi, drg., M.Kes., Sp. KG (K)

3. Dr. Eric Priyo Prasetyo., drg., M.Kes., Sp. KG (K)

4. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp. KG (K)

5. Dr. Dian Agustin Wahjuningrum drg., SpKG (K)

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, penulis:

Nama : Widjaja, Olivia Vivian

NIM : 021918036305

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Konservasi Gigi

Jenjang : Spesialis (Sp)

Fakultas : Kedokteran Gigi

Universitas : Airlangga

Menyatakan bahwa penulis tidak melakukan tindakan plagiat dalam penelitian tugas akhir penulis yang berjudul:

**EFEK PEMBERIAN CAMPURAN *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE*
DAN *NANO HYDROXIAPATITE* TERHADAP ANGIOGENESIS MELALUI
EKSPRESI VEGF DAN JUMLAH PEMBULUH DARAH YANG
TERBENTUK SEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING***

Demikian surat pernyataan ini penulis buat dengan sebenar-benarnya. Apabila pada suatu saat terbukti melakukan tindakan plagiat maka penulis akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, 25 Mei 2022

Yang membuat surat pernyataan



Widjaja Olivia Vivian
NIM:021918036305

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir dengan judul **“Efek Pemberian Campuran *Epigallocatechin-gallate* dan *Nano Hydroxiapatite* terhadap Angiogenesis Melalui Ekspresi VEGF dan Jumlah Pembuluh Darah yang terbentuk sebagai kandidat bahan *pulp capping*”**

Karya tulis akhir ini dibuat untuk memenuhi syarat dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, S.E., M.T., Ak., CMA, selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis akhir pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes. selaku mantan dekan yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh Pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang senantiasa membimbing saya selama menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku mantan Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi yang senantiasa membimbing saya selama menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga.
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Koordinator Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang senantiasa membimbing saya selama

menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku mantan Koordinator Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang senantiasa membimbing saya selama menempuh Pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga serta dapat terselesaikannya karya tulis ini.

5. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG(K) sebagai dosen wali dan pembimbing utama yang telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya untuk membimbing, mengarahkan, dan mendidik saya selama menempuh Pendidikan di Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga serta dapat terselesaikannya karya tulis ini.
4. Dr. Dian Agustin Wahjuningrum., drg., Sp. KG(K) selaku pembimbing serta yang telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya untuk membimbing, mengarahkan, dan mendidik saya selama menempuh Pendidikan di Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga serta dapat terselesaikannya karya tulis ini.
5. Dr. Sukaton drg., M.Kes., SpKG (K) selaku Penguji yang telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya dan senantiasa membimbing dan memberikan masukan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini.
6. Setyabudi, drg., M.Kes., Sp. KG(K) selaku Penguji yang telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya dan senantiasa membimbing dan memberikan masukan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini.
7. Dr. Eric Priyo Prasetyo., drg., M.Kes., Sp. KG(K) selaku Penguji yang telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya dan senantiasa membimbing dan memberikan masukan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini
8. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Bagian Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat kepada saya selama proses perkuliahan.

9. Keluarga tercinta, yang telah menyertai setiap langkahku, tiada henti mendoakan dan menguatkan perjuanganku.
10. Teman-teman angkatan 2019 Konservasi Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang saling membantu dan memberikan semangat selama mengikuti pendidikan.
11. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.
12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan namanya satu persatu yang turut berperan dalam proses penyusunan karya tulis ini. Diharapkan karya tulis ini dapat memberi manfaat bagi semua pihak yang memerlukan

Surabaya, 18 Mei 2022

Penulis

ABSTRACT**THE EFFECT OF EPIGALLOCATECHIN-GALLATE AND NANO HYDROXIAPATITE COMBINATION ON VEGF EXPRESSION AND THE NUMBER OF NEW BLOOD VESSELS AS A CANDIDATE OF PULP CAPPING AGENT**

Background: Nano hydroxyapatite (nHA) is a pulp capping material, similar to human hard tissue, with no adequate anti-inflammatory properties. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) is a natural material that has the potential to be developed in the medical field because of its biocompatibility and good anti-inflammatory properties in pulp capping materials. The combination of EGCG and nHA is expected to be an alternative material to increase angiogenesis in inflamed pulp. **Objective:** to prove the effect of application EGCG and nHA combination on VEGF expression and the number of blood vessels formed on days 7 and 14 in inflamed pulp. **Methods:** 54 wistar rats were divided into 6 groups consisting of 9 samples. The maxillary right molar teeth of the rat were prepared to perforated in the occlusal section. Two control groups of mice were observed after being given EGCG and filled with Cention. 2 control groups of rats were observed after being given nHA, and filled with Cention, 2 treatment groups were observed after being given a mixture of EGCG and nHA, and filled with Cention. Teeth in each group were observed after 7, and 14 days. Slide preparations were made and stained with HE and IHC. **Results:** VEGF expression on day 7, and 14 treatment groups had a higher mean value with a significant difference than the control group. The number of blood vessels formed on day 7, and 14 treatment groups had a higher mean value with a significant difference than the control group. **Conclusion:** A combination of EGCG and nHA is an ingredient that can stimulate an increase in VEGF expression and an increase in the number of blood vessels formed in dental pulp.

Keywords: EGCG, Nano Hydroxyapatite, VEGF, Angiogenesis.

ABSTRAK

EFEK PEMBERIAN CAMPURAN *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE* DAN *NANO HYDROXIAPATITE* TERHADAP ANGIOGENESIS MELALUI EKSPRESI VEGF DAN JUMLAH PEMBULUH DARAH YANG TERBENTUK SEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING*

Latar Belakang: Nano hidroksiapatit (nHA) merupakan bahan *pulp capping* dengan pengembangan biomaterial utama yang serupa dengan jaringan keras manusia, namun tidak memiliki sifat antiinflamasi yang adekuat. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) merupakan bahan dari alam yang berpotensi untuk dikembangkan dalam bidang medis karena sifatnya yang biokompatibel dan memiliki kemampuan antiinflamasi yang baik dalam bahan *pulp capping*. Campuran EGCG dan nHA diharapkan dapat menjadi alternatif bahan untuk meningkatkan angiogenesis pada pulpa yang terinflamasi. **Tujuan:** untuk membuktikan pengaruh aplikasi Campuran EGCG dan nHA terhadap ekspresi VEGF dan jumlah pembuluh darah yang terbentuk hari ke 7 dan 14 pada pulpa yang terinflamasi. **Metode:** 54 tikus wistar dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 9 sampel. Gigi molar kanan rahang atas tikus dipreparasi hingga perforasi pada bagian oklusal. 2 kelompok kontrol tikus diamati setelah diberi EGCG dan ditumpat Cention. 2 kelompok kontrol tikus diamati setelah diberi nHA, dan ditumpat Cention, 2 kelompok perlakuan tikus diamati setelah diberi campuran EGCG dan nHA, dan ditumpat Cention. Gigi pada masing-masing kelompok diamati setelah 7, dan 14 hari. Dibuatkan slide preparat dan diberi pewarnaan HE dan IHC. **Hasil:** Ekspresi VEGF pada hari ke 7, dan 14 kelompok perlakuan memiliki nilai rerata yang lebih tinggi dengan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Jumlah pembuluh darah yang terbentuk pada hari ke 7, dan 14 kelompok perlakuan memiliki nilai rerata yang lebih tinggi dengan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol. **Kesimpulan:** Campuran EGCG dan nHA merupakan bahan yang dapat menstimulasi peningkatan ekspresi VEGF dan peningkatan jumlah pembuluh darah yang terbentuk

Kata Kunci: EGCG, Nano Hidroksiapatit, VEGF, Angiogenesis.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Depan	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 Gambar	xii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Grafik	xiv
Daftar Singkatan	xv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2. Manfaat Praktis	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Pulpa	7
2.2 Inflamasi Pulpa	8
2.3 Proses Penyembuhan Pulpa	10
2.4 Angiogenesis	12
2.5 VEGF	14
2.7 <i>Direct Pulp Capping</i>	16
2.8 <i>Epigallocatechin-3-gallate</i> (EGCG)	17
2.9 Nano Hydroxiapatite	18
2.10 Gigi Molar Tikus Sebagai Model Studi Penelitian Kedokteran Gigi	19
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	 22
3.1 Kerangka Konseptual	22
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	23
3.3 Hipotesis	24
 BAB 4 METODE PENELITIAN	 25
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	25
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	25
4.2.1 Tempat Penelitian	25
4.2.2 Waktu Penelitian	26

4.3	Sampel yang digunakan	26
4.3.1	Kriteria Inklusi	26
4.3.2	Kriteria Eksklusi	26
4.3.3	Besar Sampel.....	27
4.4	Variabel Penelitian.....	28
4.4.1	Variabel Bebas	28
4.4.2	Variabel Terikat	28
4.4.3	Variabel Terkendali.....	28
4.5	Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	28
4.6	Alat dan Bahan Penelitian.....	29
4.6.1	Alat Penelitian.....	29
4.6.2	Bahan Penelitian.....	29
4.7	Prosedur Pelaksanaan Penelitian.....	30
4.8	Prosedur Pemeriksaan Laboratorium	32
4.8.1	Pemeriksaan HPA	32
4.8.2	Pemeriksaan Imunohistokimia	34
4.9	Analisis Data	36
4.10	Alur Penelitian	37
BAB 5	HASIL PENELITIAN	39
5.1	Efek Aplikasi Campuran EGCG dan NHA Terhadap Ekspresi VEGF pada Hari ke-7 dan ke-14.....	39
5.1.1	Analisa Statistik Ekspresi VEGF pada Hari ke-7 dan ke-14.....	39
5.1.2	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi VEGF	41
5.2	Efek Aplikasi Campuran EGCG dan NHA Terhadap Ekspresi Pembuluh Darah yang Terbentuk pada Hari ke-7 dan ke-14 ...	43
5.2.1	Analisa Statistik Pembentukan Pembuluh Darah Yang terbentuk pada Hari ke-7 dan ke-14.....	43
5.2.2	Hasil Pemeriksaan HE pembuluh darah yang terbentuk.....	46
BAB 6	PEMBAHASAN	49
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	53
7.1	Kesimpulan.....	53
7.2	Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA		54
LAMPIRAN		58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 a. Tampak inferior ranium dan maksila tikus, b. Gigi molar rahang atas tikus dilihat dengan mikroskop cahaya perbesaran 40x	21
Gambar 5.1 Sel endothel pulpa gigi tikus yang mengekspresikan VEGF hari ke-7	40
A. Ekspresi VEGF setelah dilakukan aplikasi Nano Hidroksiapatit (1000x)	42
B. Ekspresi VEGF setelah dilakukan aplikasi EGCG (1000x).....	42
C. Ekspresi VEGF setelah dilakukan aplikasi EGCG dan Nano Hidroksiapatit (1000x).....	43
Gambar 5.2 Sel endothel pulpa gigi tikus yang mengekspresikan VEGF hari ke-14	43
A. Ekspresi VEGF setelah dilakukan aplikasi Nano Hidroksiapatit (1000x)	43
B. Ekspresi VEGF setelah dilakukan aplikasi EGCG (1000x).....	43
C. Ekspresi VEGF setelah dilakukan aplikasi EGCG dan Nano Hidroksiapatit (1000x).....	43
Gambar 5.3 Morfologi pembuluh darah yang terbentuk hari ke-7	47
A. Gambaran HPA pembuluh darah yang terbentuk setelah dilakukan aplikasi Nano Hidroksiapatit (1000x)	47
B. Gambaran HPA pembuluh darah yang terbentuk setelah dilakukan aplikasi EGCG (1000x).....	47
C. Gambaran HPA pembuluh darah yang terbentuk setelah dilakukan aplikasi EGCG dan Nano Hidroksiapatit (1000x)	47
Gambar 5.3 Morfologi pembuluh darah yang terbentuk hari ke-14	48
A. Gambaran HPA pembuluh darah yang terbentuk setelah dilakukan aplikasi Nano Hidroksiapatit (1000x)	48
B. Gambaran HPA pembuluh darah yang terbentuk setelah dilakukan aplikasi EGCG (1000x).....	48
C. Gambaran HPA pembuluh darah yang terbentuk setelah dilakukan aplikasi EGCG dan Nano Hidroksiapatit (1000x)	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Jumlah sampel, mean, dan standar deviasi ekspresi VEGF pada hari ke-7 dan ke-14.....	40
Tabel 5.2 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada ekspresi VEGF hari ke-7	41
Tabel 5.3 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada ekspresi VEGF hari ke-14	42
Tabel 5.4 Jumlah sampel, mean, dan standar deviasi jumlah pembuluh darah yang terbentuk pada hari ke-7 dan ke-14	44
Tabel 5.5 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada pembuluh darah yang terbentuk hari ke-7	46
Tabel 5.6 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada pembuluh darah yang terbentuk hari ke-7	46

DAFTAR GRAFIK

	Halaman
Grafik 5.1 Grafik mean nilai ekspresi VEGF pada EGCG, nHA, dan Campuran EGCG +nHA	40
Grafik 5.2 Grafik mean nilai jumlah pembuluh darah yang terbentuk pada EGCG, nHA, dan Campuran EGCG +nHA.....	45

DAFTAR SINGKATAN

ALP	alkalin phosphatase
AP-1	<i>activator protein-1</i>
APC	<i>antigen presenting cell</i>
CaSR	<i>Calcium Sensing Receptor</i>
COX-2	<i>cyclooxygenase-2</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EDTA	<i>ethylene-diamine tetra acetic acid</i>
EGCG	Epigallocatechin-3-Gallate
ERK	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
HSF	<i>Heat Shock Factor</i>
IFN- γ	interferon- γ
IKK	I κ B Kinase
IL-1 β	interleukin-1 β (IL-1 β)
iNOS	inducible nitric oxide synthase
IRAK	Interleukin-1 Receptor Associated Kinase
Myd88	Myeloid differentiation primary respon 88
NF- κ B	<i>Nuclear Transcription Factor Kappa-B</i>
nHA	Nano hidroksiapatit
PIGF	<i>Placenta Growth Factor</i>
PKC	<i>Protein Kinase C</i>
PLC	<i>phospholipase C</i>
ROS/RNS	<i>reactive oxygen/nitrogen</i>
TGF β	<i>transforming growth factor beta</i>
TIMP-1	<i>Tissue inhibitor of metalloproteinase-1</i>
TLR4	<i>toll-like receptor 4</i>
TNF- α	<i>tumor necrosis factor alpha</i>
TRAF-6	<i>TNF Receptor Associated Factor 6</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>