

**PEMBERIAN KOMBINASI HIDROKSIAPATIT DAN
ELLAGIC ACID PADA DEFEK TULANG TERHADAP
EKSPRESI *INTERLEUKIN-6***

SKRIPSI



Oleh:

HARITS AL-FARIZI SETIAWAN

NIM: 021811133003

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

**PEMBERIAN KOMBINASI HIDROKSIAPATIT DAN
ELLAGIC ACID PADA DEFEK TULANG TERHADAP
EKSPRESI INTERLEUKIN-6**

SKRIPSI



Oleh:

HARITS AL-FARIZI SETIAWAN

NIM: 021811133003

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN
PEMBERIAN KOMBINASI HIDROKSIAPATIT DAN
ELLAGIC ACID PADA DEFEK TULANG TERHADAP
EKSPRESI INTERLEUKIN-6

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Airlangga Surabaya

Oleh:

HARITS AL-FARIZI SETIAWAN

NIM: 021811133003

Menyetujui,

Pembimbing Utama



(Prof. Dr. Intan Nirwana, drg., M.Kes)

NIP: 195704301977032001

Pembimbing Serta



(Prof. Dr. Anita Yuliati, drg., M.Kes)

NIP: 195807091985032001

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

2021

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 20 Januari 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Prof. Dr. Elly Munadzirah, drg., M.S (Ketua Penguji)**
- 2. Tansza Permata Setiana Putri, drg., Ph.D**
(Sekretaris Penguji)
- 3. Endanus Harijanto, drg., M.Kes (Dosen Penguji)**
- 4. Prof. Dr. Intan Nirwana, drg., M.Kes**
(Pembimbing Utama/ Dosen Penguji)
- 5. Prof. Dr. Anita Yulianti, drg., M.Kes**
(Pembimbing Serta/ Dosen Penguji)

SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Harits Al-Farizi Setiawan

NIM : 021811133003

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

PEMBERIAN KOMBINASI HIDROKSIAPATIT DAN *ELLAGIC ACID* PADA
DEFEK TULANG TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-6*

Apabila 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, 26 Januari 2022



Harits Al-Farizi Setiawan

NIM. 021811133003

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil'alamiin, puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia dan keberkahan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PEMBERIAN KOMBINASI HIDROKSIAPATIT DAN *ELLAGIC ACID* PADA DEFEK TULANG TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-6*”** dengan tepat waktu sebagai salah satu syarat kelulusan program studi kedokteran gigi Strata 1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Pada kesempatan ini, dengan segenap ketulusan hati saya mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan periode 2015-2020 yang telah memberikan saya kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan saya kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Prof. Dr. Intan Nirwana, drg., M.Kes sebagai Ketua Departemen Material Kedokteran Gigi sekaligus dosen pembimbing utama yang telah memberikan izin dalam pembuatan skripsi dan selalu memberikan waktu, perhatian, masukan, bimbingan dan arahan dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Prof. Dr. Anita Yulianti, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing serta yang selalu memberikan masukan, bimbingan, arahan dan senantiasa meluangkan waktu selama penyusunan skripsi.
5. Prof. Dr. Elly Munadziroh, drg., M.S., Tansza Permata Setiana Putri, drg., Ph.D., Endanus Harijanto, drg., M.Kes selaku dosen penguji yang telah

meluangkan waktu untuk memberikan saran, masukan dan tanggapan demi kebaikan penyusunan skripsi.

6. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua tersayang, Wahyu Setiawan Yuwana, drh. dan Murwani Setyatiningsih, drg., M. Kes. serta kakak tercinta, Yusufa Ibnu Sina Setiawan, dr., Hanifah Ghassani Setiawan, drh. dan Tara Mandiricha, dr. yang telah memberikan doa, restu, semangat serta dukungan yang tiada henti baik dukungan moral maupun material selama penyusunan skripsi ini.
7. Teman-teman terbaik, Praditya, Tito, Karina, Yanti, Agnes, Novi yang telah memberikan dukungan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam skripsi ini, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun akan selalu penulis harapkan. Semoga skripsi ini memberikan manfaat dan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan, masyarakat, bangsa dan negara.

Surabaya, Januari 2022

Penulis

**APPLICATION OF HYDROXYAPATITE AND ELLAGIC ACID
COMBINATION IN BONE DEFECTS ON INTERLEUKIN-6 EXPRESSION**

ABSTRACT

ABSTRACT

Background: Bone defect is the loss of some bone tissue which can be caused by several factors, namely trauma, infection, tumor, or congenital abnormalities. Efforts to repair bone defects can be done by giving bone grafts. This study used a xenograft derived from bovine bone, namely hydroxyapatite. Hydroxyapatite combined with Ellagic acid which is a polyphenol has anti-apoptotic, antioxidant, and anti-inflammatory properties which are expected to reduce IL-6. Interleukin-6 is a marker that indicates the presence of an inflammatory process. **Objective:** To analyze the administration of a combination of Hydroxyapatite and Ellagic Acid in bone defects on the expression of IL-6. **Methods:** This study was a randomized post test only with control group design. The research sample used 30 Wistar rats with a defect in the left femur, and were divided into 3 groups, namely group K- with PEG, P1 with PEG and HA, and P2 with PEG, HA, and EA. On the 7th and 14th days, femoral bone tissue was taken to observe IL-6 expression using immunohistochemical techniques. Observations were made under a light microscope with a magnification of 400x. **Results:** Statistical analysis showed there was a significant difference between groups ($p < 0.05$). **Conclusion:** Administration of a combination of HA and EA to bone defects of Wistar rats can reduce the expression of IL-6 for bone regeneration in the span of 7 and 14 days. **Keywords:** Ellagic Acid, hydroxyapatite, inflammation, IL-6

**PEMBERIAN KOMBINASI HIDROKSIAPATIT DAN *ELLAGIC ACID*
PADA DEFEK TULANG TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-6***

ABSTRAK

Latar Belakang: Defek tulang adalah kehilangan sebagian jaringan tulang yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu trauma, infeksi, tumor, maupun kelainan kongenital. Usaha dalam memperbaiki defek tulang dapat dilakukan dengan pemberian *bone graft*. Penelitian ini menggunakan *xenograft* yang berasal dari *bovine bone* yaitu hidroksiapatit. Hidroksiapatit dikombinasikan dengan *Ellagic acid* yang merupakan polifenol memiliki sifat anti-apoptosis, antioksidan, dan anti-inflamasi yang diharapkan dapat menurunkan IL-6. Interleukin-6 merupakan *marker* yang menunjukkan adanya proses inflamasi. **Tujuan:** Menganalisis pemberian kombinasi Hidroksiapatit dan *Ellagic Acid* pada defek tulang terhadap ekspresi IL-6. **Metode:** Penelitian ini merupakan *randomized post test only with control group design*. Sampel penelitian menggunakan tikus Wistar berjumlah 30 ekor dengan pembuatan defek di femur kiri, dan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok K- dengan pemberian PEG, P1 dengan pemberian PEG dan HA, dan kelompok P2 dengan pemberian PEG, HA, dan EA. Pada hari ke-7 dan ke-14, jaringan tulang femur diambil untuk dilakukan pengamatan ekspresi IL-6 dengan teknik imunohistokimia. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. **Hasil:** Analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Pemberian kombinasi HA dan EA pada defek tulang tikus Wistar dapat menurunkan ekspresi IL-6 regenerasi tulang dalam rentang waktu 7 dan 14 hari.

Kata Kunci: *Ellagic Acid*, hidroksiapatit, inflamasi, IL-6

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	
Sampul Dalam.....	i
Lembar Pengesahan	ii
Penetapan Panitia Penguji Skripsi	iii
Surat Pernyataan Tentang Orisinalitas	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
<i>Abstract</i>	vii
Abstrak	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan	xv
 BAB 1. PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
 BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1. Hidroksiapatit.....	5
2.2. <i>Ellagic Acid</i>	5
2.3. Sel-sel Tulang	6
2.4.1. Osteoblast	6
2.4.2. <i>Bone Lining Cells</i>	7
2.4.3. Osteosit	7
2.4.4. Osteoklas.....	8
2.4. Proses Penyembuhan Tulang	8
2.4.1. Fase Inflamasi.....	9
2.4.2. Fase Proliferasi	10

2.4.3.	Fase Remodeling	10
2.5.	Interleukin-6.....	12
BAB 3. KERANGKA KONSEP		13
3.1.	Kerangka Konseptual.....	13
3.2.	Keterangan Kerangka Konsep	13
3.3.	Hipotesis	15
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN		16
4.1.	Jenis Penelitian.....	16
4.2.	Rancangan Penelitian.....	16
4.3.	Sampel.....	17
4.3.1.	Sampel Penelitian	17
4.3.2.	Besar Sampel	17
4.3.3.	Pembagian Kelompok Sampel.....	18
4.4.	Variabel Penelitian.....	18
4.4.1.	Variabel Bebas.....	18
4.4.2.	Variabel Terikat	18
4.4.3.	Variabel Terkendali	18
4.5.	Definisi Operasional	18
4.6.	Lokasi dan Waktu Penelitian	19
4.6.1.	Lokasi Penelitian	19
4.6.2.	Waktu Penelitian.....	19
4.7.	Alat dan Bahan Penelitian.....	19
4.7.1.	Bahan untuk Pembuatan Defek Tulang pada Tikus	19
4.7.2.	Bahan untuk Perlakuan	20
4.7.3.	Bahan untuk Pemeriksaan Imunohistokimia	20
4.8.	Instrumen Penelitian	21
4.8.1.	Instrumen Untuk Pembuatan Jejas pada Tikus.....	21
4.8.2.	Instrumen untuk Perlakuan	21
4.8.3.	Instrumen untuk Pemeriksaan Laboratorium	22
4.9.	Prosedur Penelitian dan Pengambilan Data	22
4.9.1.	Perijinan <i>Ethical Clearance</i>	22
4.9.2.	Pengelompokan Hewan Coba.....	22
4.9.3.	Pembuatan HA dan Kombinasi HA + EA	22
4.9.4.	Pembuatan Defek pada Hewan Coba	23

4.9.5.	Pengorbanan dan Pengambilan Jaringan	24
4.9.6.	Penguburan Bangkai Hewan Coba	24
4.9.7.	Pembuatan Sediaan	24
4.9.8.	Teknik Pengecatan Imunohistokimia dan Penghitungan.....	25
4.10.	Bagan Alur Penelitian	27
4.11.	Analisis Data	28
BAB 5. HASIL PENELITIAN		29
5.1	Data Penelitian	29
5.2.	Analisis Hasil Penelitian	31
BAB 6. PEMBAHASAN.....		34
BAB 7. PENUTUP		37
7.1	Kesimpulan	39
7.2	Saran	39
DAFTAR PUSTAKA		40
LAMPIRAN.....		44

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Rerata dan standar deviasi ekspresi IL-6.....	30
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Data Shapiro-Wilk.....	31
Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas.....	32
Tabel 5.4 Hasil uji <i>One Way ANOVA</i> pada ekspresi IL-6.....	32
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>Multiple Comparisons</i> Tukey HSD Kelompok IL-6...	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Bone Remodeling</i>	11
Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian.....	13
Gambar 4.1 Bagan pengelompokan subjek penelitian.....	16
Gambar 4.2 Bagan alur penelitian.....	27
Gambar 5.1 Ekspresi IL-6.....	29
Gambar 5.2 Diagram Rerata Ekspresi IL-6	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Keterangan Laik Etik.....	47
Lampiran 2 Hasil Analisis Data Statistik.....	48

DAFTAR SINGKATAN

HA	: Hidroksiapatit
EA	: <i>Ellagic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor kappa-B</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
OCN	: Osteocalcin
OPG	: Osteoprotegerin
RANKL	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand</i>
ECM	: <i>Bone Extracellular Matrix</i>
OSX	: Osterix
BSP	: <i>Bone Sialoprotein</i>
RUNX2	: <i>Runt-related Transcription Factor 2</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
M-CSF	: <i>Macrophage-colony Stimulating Factor</i>
RANK	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear leukocytes</i>
BMU	: <i>Bone Multicellular Units</i>
IFN γ	: <i>Interferon gamma</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
MAPK	: <i>mitogen-activated protein kinases</i>
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor beta</i>
PEG	: <i>Poly Ethylene Glycol</i>