

**PERAN KOMBINASI METABOLIT SHED DAN EGCG
TERHADAP VIABILITAS SEL OSTEOLAS
SEBAGAI KANDIDAT BIOMATERIAL
OSTEOGENESIS**

SKRIPSI



Oleh:

SHAFI PUTRI KHANSA

NIM: 021911133012

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PERAN KOMBINASI METABOLIT SHED DAN EGCG
TERHADAP VIABILITAS SEL OSTEOLAS
SEBAGAI KANDIDAT BIOMATERIAL
OSTEOGENESIS**

SKRIPSI



Oleh:

SHAFI PUTRI KHANSA

NIM: 021911133012

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**PERAN KOMBINASI METABOLIT SHED DAN EGCG
TERHADAP VIABILITAS SEL OSTEOLAS
SEBAGAI KANDIDAT BIOMATERIAL
OSTEOGENESIS**

SKRIPSI

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

Oleh:

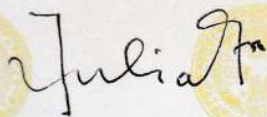
SHAFI PUTRI KHANSA

NIM. 021911133012

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta



Yuliati, drg., M.Kes
NIP: 197407242003122001

Prof. Dr. Rini Devijanti Ridwan, drg., M.Kes
NIP: 196412161990022001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 20 Desember 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Dr. Ira Arundina, drg., M.Si**
(Ketua Penguji)
- 2. Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes**
(Anggota Penguji)
- 3. Dr. Christian Khoswanto, drg., M.Kes**
(Anggota Penguji)
- 4. Yuliati, drg., M.Kes**
(Pembimbing Utama)
- 5. Prof. Dr. Rini Devijanti Ridwan, drg., M.Kes**
(Pembimbing Serta)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Shafa Putri Khansa
NIM : 021911133012
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Sarjana (S1)

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

PERAN KOMBINASI METABOLIT SHED DAN EGCG TERHADAP VIABILITAS SEL OSTEOLAS SEBAGAI KANDIDAT BIOMATERIAL OSTEOGENESIS

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, 16 Desember 2022



Shafa Putri Khansa

NIM. 021911133012

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Pada kesempatan ini, izinkan saya menyampaikan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes., M.H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Pendidikan Strata 1 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
2. Aqsa Sjuhada Oki, drg., M.Kes selaku Ketua Bagian Biologi Oral yang telah memberikan izin dalam pembuatan skripsi.
3. Yuliati, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing utama yang telah selalu memberikan bimbingan, masukan, arahan, evaluasi, koreksi, serta meluangkan waktu demi keberhasilan dan kelancaran penulisan skripsi dan proses penelitian.
4. Prof. Dr. Rini Devijanti Ridwan, drg., M.Kes selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan waktu serta kesediaannya dalam memberikan bimbingan, masukan, arahan, evaluasi, dan koreksi demi keberhasilan dan kelancaran penulisan skripsi dan proses penelitian.
5. Dr. Ira Arundina, drg., M.Si, Dr. Hendrik Setia Budi, drg., M.Kes, dan Dr. Christian Khoswanto, drg., M.Kes selaku dosen penguji yang telah membantu penyusunan skripsi dengan memberikan masukan, evaluasi, serta arahan.
6. Seluruh dosen dan staff Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

7. Mbak Indah serta seluruh staff Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah membantu pada proses penelitian.
8. Ibu dan Bapak, Ratna Ambarwati dan Wigih Prasetyo Sungkono, saudara Vanesha Marwa Adelia, Hasna Nibras Khairunnisa, Muhammad Rasya Alwigih, Asma Fakhriyah Alwigih yang telah selalu memberikan dukungan serta doa yang tiada henti untuk kelancaran penyusunan skripsi.
9. Aisyah Surya, Annisa Zahra, Aulia Farah, Bunga Latifa, Mitha Rahmawati, Salma Nailah, Romita Ummayah, Divania Adzra, Alfinda Kusuma yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan skripsi.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang terkait dengan penyelesaian skripsi.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih membutuhkan penyempurnaan. Dengan demikian penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 16 Desember 2022

Penulis

THE ROLE OF COMBINATION OF SHED METABOLITE AND EGCG ON VIABILITY OF OSTEOBLAST CELLS AS CANDIDATES FOR BIOMATERIAL OSTEOGENESIS

ABSTRACT

Background: SHED is a mesenchymal stem cell from deciduous teeth pulp. In regenerative therapy, SHED has potential because of its high proliferation rate, multipotency, and immunosuppression. SHED secretes metabolites that can be an alternative for cell-based therapy with paracrine capabilities and cytokine that can assist regenerative therapy. EGCG is a green tea flavonoid with various biological benefits and proven to regenerate bone by increasing osteoblast activity and osteogenic differentiation. SHED and EGCG metabolites are combined based on their potential content to be developed into osteogenesis biomaterials. **Objective:** To determine the viability of osteoblast cells against the combination of SHED metabolites and EGCG. **Methods:** In vitro laboratory experimental research. MTT was performed to see the viability of osteoblast cells. 7F2 osteoblast cells were seeded into 96 well plates. Combinations of metabolites SHED passage 1-6 and EGCG 10 μ M and 50 μ M were put into wells and incubated for 24 hours at 37°. The absorbance value was read by an ELISA reader at 570 nm. **Results:** Osteoblast cells were viable against the combination of SHED metabolites and EGCG 10 μ M and the combination of SHED metabolites and EGCG 50 μ M. The highest cell viability was in the combination of SHED metabolites and EGCG Md 10 μ M (74,31747%) and the combination of SHED metabolites and EGCG Chem 50 μ M (64,79523%). **Conclusion:** In this study, the viability of osteoblast cells to the combination of SHED metabolites and EGCG 10 μ M and the combination of SHED metabolites and EGCG 50 μ M was more than 50%.

Keywords: SHED Metabolites, EGCG, viability, osteoblast, osteogenesis

PERAN KOMBINASI METABOLIT SHED DAN EGCG TERHADAP VIABILITAS SEL OSTEOLAS SEBAGAI KANDIDAT BIOMATERIAL OSTEOGENESIS

ABSTRAK

Latar Belakang : SHED merupakan sel punca mesenkimal dari pulpa gigi sulung, berperan dalam terapi regeneratif karena tingkat proliferasi tinggi, multipoten, dan immunosupresif. SHED mensekresi metabolit yang dapat menjadi alternatif terapi berbasis sel dengan kemampuan parakrin dan kandungan sitokinnya dapat membantu terapi regeneratif. EGCG merupakan flavonoid teh hijau yang memiliki berbagai manfaat biologis dan terbukti dapat meregenerasi tulang melalui peningkatan aktivitas osteoblas dan diferensiasi osteogenik. Metabolit SHED dan EGCG dikombinasikan berdasarkan dari potensi kandungan dan manfaatnya untuk dikembangkan menjadi biomaterial osteogenesis. **Tujuan :** Untuk mengetahui viabilitas sel osteoblas terhadap pemberian kombinasi metabolit SHED dan EGCG. **Metode :** Penelitian eksperimental laboratorium *in vitro*. Uji MTT dilakukan untuk melihat viabilitas sel osteoblas. Sel osteoblas 7F2 dimasukkan ke 96 *well plate*. Kombinasi metabolit SHED pasase 1-6 dan EGCG 10 μM dan 50 μM dimasukkan ke *well* yang telah berisi sel osteoblas dan inkubasi dilakukan selama 24 jam temperatur 37°. Nilai absorbansi dibaca dengan ELISA *reader* 570 nm. **Hasil :** Sel osteoblas memiliki viabilitas terhadap kombinasi metabolit SHED dan EGCG 10 μM dan kombinasi metabolit SHED dan EGCG 50 μM . Viabilitas sel tertinggi terdapat pada kombinasi metabolit SHED dan EGCG Md 10 μM (74,31747%) dan kombinasi metabolit SHED dan EGCG Chem 50 μM (64,79523%). **Kesimpulan :** Pada penelitian ini, viabilitas sel osteoblas terhadap kombinasi metabolit SHED dan EGCG 10 μM dan kombinasi metabolit SHED dan EGCG 50 μM lebih dari 50%.

Kata kunci: Metabolit SHED, EGCG, viabilitas, osteoblas, osteogenesis

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam.....	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Penetapan Panitia Penguji Skripsi.....	iv
Surat Pernyataan Orisinalitas.....	v
Ucapan Terima Kasih	vi
<i>Abstract</i>	viii
Abstrak.....	ix
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
 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.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis	7
1.4.2 Manfaat Praktis.....	7
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 8
2.1 Periodontitis	8
2.2 Osteogenesis.....	9

2.2.1 Sel Pembentukan Tulang	9
2.2.2 Tahapan Osteogenesis.....	11
2.3 Sel Punca Mesenkimal.....	12
2.3.1 Diferensiasi Osteogenik Sel Punca Mesenkimal.....	14
2.3.2 Pasase Sel Punca Mesenkimal.....	15
2.4 Sel Punca Mesenkimal Gigi.....	16
2.5 <i>Stem Cells from Human Exfoliated Deciduous (SHED)</i>	17
2.6 Metabolit SHED.....	18
2.6.1 Peran Metabolit SHED dalam Osteogenesis.....	22
2.7 Teh Hijau.....	25
2.8 <i>Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)</i>	27
2.8.1 Peran EGCG dalam Osteogenesis	28
2.9 Mekanisme Sitotoksik Flavonoid.....	31
2.10 Uji 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT).....	32
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	 35
3.1 Kerangka Konseptual.....	35
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	36
3.3 Hipotesis Penelitian	37
 BAB 4 METODE PENELITIAN.....	 38
4.1 Jenis Penelitian.....	38
4.2 Desain Penelitian.....	38
4.3 Sampel Penelitian.....	39
4.3.1 Unit Eksperimen.....	39
4.3.2 Pembagian Kelompok Sampel	39
4.3.3 Replikasi Sampel	44
4.4 Variabel Penelitian	44
4.4.1 Variabel Bebas.....	44
4.4.2 Variabel Terikat.....	44
4.4.3 Variabel Terkendali	44
4.5 Definisi Operasional Variabel.....	45
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	46
4.7 Alat dan Bahan	46
4.7.1 Alat Penelitian.....	46

4.7.2 Bahan Penelitian	46
4.8 Prosedur Penelitian	46
4.8.1 Isolasi Metabolit SHED	46
4.8.2 Tahapan Pembuatan Sediaan Larutan Kombinasi Metabolit SHED dan EGCG	47
4.8.3 Uji Viabilitas Kombinasi Metabolit SHED dan EGCG dengan uji MTT	47
4.9 Alur Penelitian.....	50
4.10 Analisis Data	51
 BAB 5 HASIL PENELITIAN	 52
5.1 Data Penelitian	52
5.2 Analisis Hasil Penelitian.....	59
5.2.1 Uji Normalitas	59
5.2.2 Uji Homogenitas.....	60
5.2.3 Uji Non-parametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	60
5.2.4 Uji <i>Mann-Whitney</i>	61
 BAB 6 PEMBAHASAN.....	 63
 BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	 69
7.1 Simpulan	69
7.2 Saran	69
 DAFTAR PUSTAKA.....	 70
LAMPIRAN.....	79

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Nilai absorbansi kelompok kontrol media dan kontrol sel.....	52
Tabel 5.2 Nilai absorbansi kelompok perlakuan kombinasi metabolit SHED dan EGG Chem 10 μ M dan 50 μ M terhadap sel osteoblas 7F2.....	53
Tabel 5.3 Nilai absorbansi kelompok perlakuan kombinasi metabolit SHED dan EGCG Md 10 μ M dan 50 μ M terhadap sel osteoblas 7F2.....	54
Tabel 5.4 Hasil nilai absorbansi kelompok perlakuan EGCG Chem 10 μ M dan 50 μ M terhadap sel osteoblas 7F2	54
Tabel 5.5 Hasil nilai absorbansi kelompok perlakuan EGCG Md 10 μ M dan 50 μ M terhadap sel osteoblas 7F2	55
Tabel 5.6 Hasil nilai absorbansi kelompok perlakuan metabolit SHED terhadap sel osteoblas 7F2	55
Tabel 5.7 Hasil nilai persen sel hidup rata-rata pada kelompok perlakuan terhadap sel osteoblas 7F2	57
Tabel 5.8 Hasil uji non-parametrik Kruskal-Wallis	60
Tabel 5.9 Hasil uji Mann-Whitney	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Sel Punca Mesenkimal Gigi dan Jaringan Pendukung Gigi	17
Gambar 2.2 Struktur Kimia Kandungan Katekin Teh Hijau	26
Gambar 5.1 Kristal formazan terbentuk pada uji MTT	56
Gambar 5.2 Persentase sel hidup sel osteoblas dari kelompok perlakuan kombinasi metabolit SHED dan EGCG 10 μ M, EGCG 10 μ M, dan metabolit SHED	58
Gambar 5.3 Persentase sel hidup sel osteoblas dari kelompok perlakuan kombinasi metabolit SHED dan EGG 50 μ M, EGCG 50 μ M, dan metabolit SHED	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Kelaikan Etik	80
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian	81
Lampiran 3. Hasil Uji Viabilitas (MTT)	83
Lampiran 4. Pengolahan Data SPSS	86

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenetic</i>
BMMSC	: <i>Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells</i>
BGLAP	: <i>Bone gamma-carboxyglutamate</i>
BSP	: <i>Bone Sialoprotein</i>
Cbfb	: <i>Core binding factor</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
DFSC	: <i>Dental Follicle Stem Cells</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPSC	: <i>Dental Pulp Stem Cells</i>
EGCG	: <i>epigallocatechin-3-gallate</i>
ERK	: <i>Extracellular-signal-regulated kinase</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
FPRL	: <i>Formyl Peptide Receptor-like</i>
GMSC	: <i>Gingiva-derived Mesenchymal Stem Cells</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
IGF	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IR	: <i>Insulin Receptor</i>
IRS	: <i>Insulin Receptor Substrate</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal kinase</i>
LL-37	: <i>Leusin Leusin-37</i>
LRP	: <i>Lipoprotein receptor-related protein</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>

M-CSF	: <i>Macrophage colony stimulating factor</i>
MCP	: <i>Monocyte Chemotactic protein</i>
MMPs	: <i>Matrix Metaloproteinase</i>
MTT	: <i>3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide</i>
NFκB	: <i>Nuclear factor-κB</i>
OCN	: <i>Osteocalcin</i>
OMSC	: <i>Oral Mucosa Stem Cells</i>
OPG	: <i>Osteoprotegerin</i>
OPN	: <i>Osteopontin</i>
OSX	: <i>Osterix</i>
PDLSC	: <i>Periodontal Ligament Stem Cells</i>
Pebp2β	: <i>Polyma enhancer binding protein 2β</i>
PSCs	: <i>Periosteum-derived Stem Cells</i>
RANK	: <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B</i>
RANKL	: <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxidation Species</i>
SCAP	: <i>Stem Cells from the Apical Papilla</i>
SGSCs	: <i>Salivary Gland-derived stem cells</i>
SHED	: <i>Stem Cell from Human Exfoliated Deciduous</i>
SOS	: <i>Son of Sevenless</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
NGF	: <i>Nerve Growth Factor</i>

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*