

TESIS

EFEK PAPARAN *ALPHA-MANGOSTIN* TERHADAP PENINGKATAN VIABILITAS DAN MIGRASI SEL OSTEOLAS PASCA INDUKSI INFLAMASI

(Penelitian Eksperimental Laboratoris in Vitro)



OLEH:

ABDUL MUIN HASAN BUSRI
NIM. 021518016303

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Abdul Muin Hasan Busri

NIM : 021518016303

Tanda Tangan :

A handwritten signature in black ink is written over a rectangular Indonesian postage stamp. The stamp is light green and yellow, featuring the Garuda Pancasila emblem and the text '1000', 'METRAI', 'TEMPEL', and the serial number 'E1E9AJX860314416'.

Tanggal : 24 Juni 2022

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI PADA
TANGGAL 31 Mei 2022

Oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., Sp.BM (K)
NIP.197803292005012001

Pembimbing II



Muhammad Subhan Amir, drg., Ph.D., Sp.BM(K)
NIP. 197912142010121001

Mengetahui,

Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K)
NIP.196502271990031010

HALAMAN PENGESAHAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Abdul Muin Hasan Busri
NIM : 021518016303
Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister
Judul : Efek Paparan *Alpha-Mangostin* Terhadap Peningkatan Viabilitas Dan Migrasi Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi (Penelitian Eksperimental Laboratoris in Vitro)

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER

Universitas Airlangga

Pada Tanggal 14 Juni 2022

Panitia Penguji

1. Ketua : Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp. BM(K)
2. Anggota : Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU., Sp.BM (K), FICS
3. Penguji I : Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., Sp. BM(K)
4. Penguji II : Muhammad Subhan Amir, drg., Ph.D., Sp.BM(K)
5. Penguji III : Dr. Pratiwi Soesilowati, drg., M.Kes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah hirobbil alamin puji syukur saya panjatkan pada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga Karya Tulis Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan drg., M.H., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi (FKG) Universitas Airlangga (Unair) Periode 2020-2025 dan Prof. Dr. R. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku Dekan FKG Unair periode 2015-2020 dan Prof R.M Coen Pramono Danudiningrat, drg., S.U., Sp.BM(K)., FICS selaku Dekan FKG Unair periode 2010-2015 yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister dan Spesialis.
2. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) Selaku Dekan Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Airlangga (Unair) periode 2020-2025 dan Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U (K) Selaku Dekan FK Unair periode 2015-2020 yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan jenjang magister di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
3. Prof. Dr. Irwanto., dr., Sp.A(K) sebagai Ketua Program Studi (KPS) Ilmu Kedokteran Klinik (IKK) jenjang Magister periode 2020-2025 dan Dr Aditiawarman, dr., Sp.OG (K) sebagai KPS IKK periode 2012-2020 yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh Pendidikan jenjang Magister Fakultas Kedokteran Unair.
4. M. Subhan Amir, drg., PhD., Sp.BM(K) selaku Ketua Program Studi (KPS) Bedah Mulut dan Maksilofasial (BMM) FKG Unair periode 2020-2025 dan pembimbing kedua Tesis, Dr. Ni Putu Mira Sumarta, drg., Sp.BM(K) selaku

KPS BMM periode 2017-2020 dan pembimbing utama tesis, serta *Achmad Hariadi*, drg., MS., *Sp.BM(K)* selaku KPS BMM periode 2014-2017 yang telah memberikan kesempatan menempuh studi Spesialis dan Magister, memberikan bimbingan, motivasi dan masukan sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

5. R. Aries Muharram, drg., M.kes., Sp.BM (K) sebagai Ketua Departemen (Kadep) Bedah Mulut dan Maksilofasial (BMM) FKG Unair periode 2017-2020, Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp.BM (K), sebagai Kadep BMM FKG Unair periode 2017-2020, serta *Roberto Manahan Yantje Simanjuntak*, drg., MS., Sp.BM(K) selaku Kadep BMM FKG Unair Periode 2014-2017 yang telah memberikan banyak dukungan, masukan dan bimbingan selama penulisan Tesis dan selama menempuh studi.
6. Dr. Pratiwi Soesilawati, drg., M.kes sebagai Staff Departemen Ilmu Biologi Oral FKG Unair, pembimbing dan penguji Tesis yang telah memberikan bimbingan dan saran-saran yang sangat membangun dalam proses penulisan tesis.
7. Prof. R.M. Coen Pramono D., drg., SU., Sp.BM(K)., FICS, selaku anggota penguji tesis, Staff dan Guru Besar Departemen BMM FKG Unair yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, pengarahan dan bimbingan serta motivasi selama penulis menempuh masa studi Spesialis dan Magister.
8. Prof. Dr. David B. Kamadjaja, drg., MDS., Sp. BM(K), selaku anggota penguji Tesis, pengusul penelitian dan Staff Departemen BMM FKG Unair yang telah memberikan kesempatan dan bimbingan selama menempuh Pendidikan Magister dan Spesialis.

9. Bu Rochmatus Sholihah dan Bu Desi Setya Puspitasari Staff Administrasi Departemen BMM Unair dan , serta pak Zilmi selaku Staff Administrasi IKK Unair yang selalu membantu untuk kelancaran administrasi selama menempuh pendidikan Spesialis dan Magister.
10. Kedua orang tua saya, Abah H. Sutrisno Adi dan Umi Hj. Sundusiyah, Istri tercinta dr. Nur Fitri Hayati Melida Ritonga dan anak saya Neirra Khosinah Busri, dan kakak kami Mayor. Inf Hasan Dasuki, Kpt. Kes dr. Hasan Madani Sp.U adik kami Siar Fatimah Amd. Keb, dan bude Dika, bude Ike yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan moril dan spritual untuk kelancaran studi dan penulisan Karya Tulis Akhir ini.
11. Teman-teman seperjuangan angkatan XVII+: Amalia Fauqiah, Adi Rizal Sholeh, Menik Sayekti, dan Mahardika Yoga, serta seluruh rekan-rekan Residen Bedah Mulut dan Maksilofasial Universitas Airlangga yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih untuk doa, bantuan dan dukungan yang tiada henti selama proses penulisan tesis ini.
12. Semua pihak terkait yang turut membantu dalam penyelesaian Karya Tulis ini Semoga Karya tulis Akhir ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi keilmuan di bidang Kedokteran Gigi.

Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi keilmuan di bidang Kedokteran Gigi khususnya di Universitas airlangga.

Surabaya, Mei 2022

Penulis,

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Abdul Muin Hasan Busri

NIM : 021518016303

Program Studi : Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: Efek Paparan *Alpha-Mangostin* Terhadap Peningkatan Viabilitas Dan Migrasi Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi (Penelitian Eksperimental Laboratoris in Vitro).

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Airlangga berhak menyimpan mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 24 Juni 2022

A handwritten signature in black ink is written over a green revenue stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI TEMPEL' and 'E1E9AJX860314416'.

Abdul Muin Hasan Busri

ABSTRAK

EFEK PAPARAN *ALPHA-MANGOSTIN* TERHADAP PENINGKATAN VIABILITAS DAN MIGRASI SEL OSTEOLAS PASCA INDUKSI INFLAMASI

Busri, Abdul M.H.

Latar Belakang: Kehilangan gigi setelah pencabutan gigi tanpa disertai penggantian gigi yang hilang dapat mengakibatkan gangguan fungsi pengunyahan, estetik, seraf fonetik. Oleh karena itu diperlukan suatu cara untuk menghambat proses resorpsi tulang alveolaris sehingga dimensi soket gigi dapat dipertahankan sampai pada saat pemasangan implan, atau disebut dengan prosedur *socket preservation*. Alpha Mangostin selama ini diketahui mempunyai efek potensi sebagai antiinflamasi dan kemungkinan besar dapat digunakan sebagai bahan terapeutik potensial untuk menghambat resorpsi tulang yang disebabkan oleh proses inflamasi post ekstraksi gigi.

Tujuan: Untuk mengetahui efek paparan Alpha Mangostin terhadap peningkatan viabilitas dan migrasi sel osteoblas pasca induksi inflamasi.

Metode: Penelitian eksperimental laboratoris *in vitro* pada kultur sel *osteoblas* 7F2. Kultur sel dibagi menjadi 5 kelompok : kelompok 1 dengan medium osteogenik, kelompok 2 dengan medium osteogenik dan lipopolisakarida, kelompok 3 dengan medium osteogenik dan Alpha Mangostin, kelompok 4 dengan medium osteogenik, lipopolisakarida dan Alpha Mangostin, kelompok 5 dengan medium osteogenik, lipopolisakarida lalu diberi Alpha Mangostin setelah 24 jam. Perhitungan viabilitas sel dengan MTT *assay* dan migrasi sel dengan *scratch wound assay*. Data dianalisis dengan uji One Way Anova dan uji lanjutan HSD Tukey, serta uji Pearson. Taraf kesalahan dalam penelitian ini sebesar 5% ($\alpha=0.05$).

Hasil: Terdapat perbedaan viabilitas dan migrasi sel osteoblas pada setiap kelompok perlakuan ($p=0.000$). Kelompok dengan medium osteogenik, lipopolisakarida lalu diberi Alpha Mangostin setelah 24 jam menunjukkan hasil viabilitas dan migrasi tertinggi. Terdapat hubungan antara viabilitas dengan migrasi sel osteoblas pasca induksi inflamasi ($p=0.000$).

Kesimpulan: Alpha Mangostin memiliki pengaruh terhadap peningkatan viabilitas dan migrasi sel osteoblas pasca induksi inflamasi.

Kata Kunci: Alpha Mangostin, viabilitas, migrasi, osteoblas

ABSTRACT***EFFECT OF ALPHA MANGOSTIN EXPOSURE ON VIABILITY AND
MIGRATION OF OSTEOBLAST CELL POST INFLAMMATION***

Busri, Abdul M.H.

Background: Loss of permanent teeth after tooth extraction without replacement of missing teeth can result in impaired masticatory, aesthetic and phonetic function. Therefore, a method is needed to inhibit the alveolar bone resorption process so that the dimensions of the tooth socket can be maintained until the time of implant placement, which is called the socket preservation procedure. Alpha Mangostin has been known to have potential anti-inflammatory effects, and most likely potential therapeutic agent to inhibit bone resorption caused by the inflammatory process after tooth extraction.

Objective: To determine the effect of Alpha Mangostin exposure on viability and migration of osteoblast cell post inflammation.

Methods: In vitro laboratory experimental study on 7F2 cell line culture. Cell culture was divided into 5 groups, namely: Cell culture with osteogenic medium, Cell culture with osteogenic medium and lipopolysaccharide, Cell culture with osteogenic medium and Alpha Mangostin, Cell culture with osteogenic medium and a combination of lipopolysaccharide and Alpha Mangostin, Cell culture with osteogenic medium and a combination of lipopolysaccharide and Alpha Mangostin after 24 hours. The sample will be test with MTT assay and scratch wound assay. Data results are analyzed using One Way Anova test prior to HSD Tukey and Pearson test, with significance level at 5% ($\alpha=0.05$).

Results: The highest viability and migration were found in group 5 that received treatment with LPS and Alpha Mangostin, and from these results it was found that there was a significant difference in viability and migration between the study groups ($p=0.000$). There were correlation between viability and migration on osteoblast cell post inflammation ($p=0.000$).

Conclusions: There was effect of Alpha Mangostin exposure on viability and migration of osteoblast cell post inflammation.

Keywords: Alpha Mangostin, viability, migration, osteoblast

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Pernyataan Orisinalitas	ii
Halaman Persetujuan Tesis	ii
Halaman Pengesahan Panitia Penguji Tesis.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Halaman Persetujuan Publikasi.....	viii
Abstrak	ix
<i>Abstrack</i>	x
Daftar Isi.....	xi
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran	xvi
Daftar Singkatan.....	xvi
Bab 1 Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
Bab 2 Tinjauan Pustaka	5
2.1. Komponen Penyusun Tulang	5
2.2 Sel-Sel Penyusun Tulang.....	6
2.2.1 Osteoprogenitor	6
2.2.2 Osteoblas	7
2.2.3 Osteosit	11
2.2.4 Osteoklas	13
2.3 Perkembangan Sel Osteoblas	14
2.3.1 Diferensiasi Osteogenik <i>Mesenchymal Stem Cell</i> (Msc)	

Menjadi Osteoblas	16
2.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Penyembuhan Tulang	18
2.5 Induksi Lipopolisakarida (Lps) Dalam Mencetuskan Inflamasi ...	21
2.5.1 Pembentukan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS) sebagai Respons Induksi Lipopolisakarida (LPS)	23
2.6 Penggunaan <i>Alpha Mangostin</i> sebagai Bahan Herbal Potensial ...	24
2.6.1 Efek Antiinflamasi <i>Alpha Mangostin</i>	25
2.6.2 Manfaat <i>Alpha Mangostin</i> di Bidang Kedokteran Gigi	27
2.7 Sel Osteoblas 7F2	28
2.8 Uji Viabilitas Sel (MTT <i>Assay</i>)	28
2.9 <i>Wound Healing Assay</i>	29
Bab 3 Kerangka Konseptual	33
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	33
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	34
3.3 Hipotesis Penelitian	36
Bab 4 Metode Penelitian	37
4.1 Desain Penelitian	37
4.1.1. Jenis Penelitian	37
4.1.2 Rancangan Penelitian	37
4.2 Sampel Dan Besar Sampel	37
4.2.1 Sampel	37
4.2.2 Besar Sampel	37
4.3 Variabel Penelitian	39
4.3.1 Variabel Bebas	39
4.3.2 Variabel Tergantung	39
4.3.3 Variabel Terkendali	39
4.4 Definisi Operasional	39
4.4.1 Sel Osteoblas 7f2	39
4.4.2 Lipopolisakarida (Lps)	40
4.4.3 Alpha Mangostin	40
4.4.4 Medium Osteogenik	40
4.4.5 Viabilitas Sel	40

4.4.6	Laju Migrasi Sel	41
4.5	Waktu Dan Tempat Penelitian.....	41
4.6	Tahapan Penelitian	42
4.7	Bahan dan Alat Penelitian	44
4.8	Prosedur Penelitian	45
4.9	Kerangka Operasional	47
4.10	Analisis Statistik	48
Bab 5	Hasil Penelitian Dan Analisis Data.....	49
5.1	Hasil Dan Analisis Data Viabilitas Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi	49
5.2	Hasil Dan Analisis Data Migrasi Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi	52
5.3	Analisis Hubungan antara Viabilitas dengan Migrasi Sel Osteoblas pasca Induksi Inflamasi	56
Bab 6	Pembahasan.....	59
6.1	Peningkatan Viabilitas Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi.....	59
6.2	Migrasi Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi.....	61
6.3	Korelasi Antara Viabilitas Dengan Migrasi Sel Osteoblas Pasca Induksi Inflamasi	63
Bab 7	Penutup	66
7.1	Simpulan.....	65
7.2	Saran	65
	Daftar Pustaka	66

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Rerata dan Standar Deviasi, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji Komparasi Viabilitas Sel Osteoblas	52
Tabel 5.2	Hasil Uji HSD Tukey Viabilitas Osteoblas pada tiap Kelompok Penelitian.....	52
Tabel 5.3	Rerata dan Standar Deviasi, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji Komparasi Migrasi Sel Osteoblas	56
Tabel 5.4	Hasil Uji HSD Tukey Migrasi Sel Osteoblas pada tiap Kelompok Penelitian	57
Tabel 5.5	Uji Korelasi antara Viabilitas dengan Migrasi Sel Osteoblas	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Jalur Wnt (Wnt Pathway). (A) Jalur pensinyalan nonkanonik independen -catenin menghasilkan organisasi sitoskeletal dan dapat menginduksi diferensiasi osteoblas, (B) Pensinyalan Wnt diatur oleh inhibitor yang mengikat Wnts	10
Gambar 2.2	Morfologi Osteoblas dan Osteosit	12
Gambar 2.3	Diferensiasi osteoklas, diatur oleh ligan RANK (anggota superfamili ligan faktor nekrosis tumor 11/aktivator reseptor ligan NF- κ B [RANKL]) dan faktor perangsang koloni makrofag 1 (M-CSF).....	14
Gambar 2.4	Jalur pensinyalan MAPK, melibatkan jalur ERK, JNK, dan p38	15
Gambar 2.5	Struktur LPS pada bakteri gram negatif.....	21
Gambar 2.6	Wound healing assay, prinsip wound healing assay	30
Gambar 2.7	Metode pemberian luka pada wound healing assay	31
Gambar 2.8	Gambaran wound healing assay yang diambil pada waktu yang berbeda	32
Gambar 3.1	Kerangka konseptual.....	33
Gambar 4.1	Skema rancangan penelitian.....	39
Gambar 4.2	Pengukuran Migrasi Sel Individu pada In Vitro Scratch Assay	47
Gambar 4.3	Kerangka Operasional Penelitian.....	48
Gambar 5.1	Grafik Persentase Viabilitas Sel Osteoblas	51
Gambar 5.2	Grafik Migrasi Sel Osteoblas	53
Gambar 5.3	Migrasi Sel Osteoblas pada Kelompok Penelitian	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Etik Penelitian	68
Lampiran 2.	Hasil Laboratorium Penelitian	69
Lampiran 3.	Hasil SPSS	71
Lampiran 4.	Alat dan Bahan Penelitian.....	76
Lampiran 5.	Foto Hasil Penelitian	77

DAFTAR SINGKATAN

ALP	= <i>Alkaline Phosphatase</i>
BMP	= <i>Bone Morphogenic Protein</i>
BM-MSC	= <i>Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell</i>
BSP I/II	= <i>Bone sialoprotein I/II</i>
CCL2	= <i>C-C Motif Chemokine Ligand 2</i>
CCR2	= <i>Chemokine Receptor type 2</i>
COX-2	= <i>Cyclooxygenase -2</i>
CSF	= <i>Colony Stimulating Factor</i>
DFDBBX	= <i>Demineralized Freeze Dried Bovine Bone Xenograft</i>
Dkk-1	= <i>Dickkopf-1</i>
DMP-1	= <i>Dentin Matrix Protein-1</i>
FBS	= <i>Fetal Bovine Serum</i>
FGF	= <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GLAP	= <i>Gla Protein</i>
IGF	= <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL-1 β	= <i>Interleukin 1 Beta</i>
IL-4	= <i>Interleukin 4</i>
IL-6	= <i>Interleukin 6</i>
IL-8	= <i>Interleukin 8</i>
IL-10	= <i>Interleukin 10</i>
IL-12	= <i>Interleukin 12</i>
IL-13	= <i>Interleukin 13</i>
IL-15	= <i>Interleukin 15</i>
LPS	= <i>Lipopolysaccharyde</i>
M-CSF	= <i>Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
MEM	= <i>Minimum Essential Medium</i>
MMP-14	= <i>Matrix Metalloproteinase-14</i>
MSC	= <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
OCN	= <i>Osteocalcin</i>
OPG	= <i>Osteoprotegerin</i>
OSX	= <i>Osterix</i>
PDGF	= <i>Platelet Derivied Growth Factor</i>
PDPN	= <i>Podoplanin</i>
PGE2	= <i>Prostglandin E2</i>
RANKL	= <i>Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa beta Ligand</i>
RUNX-2	= <i>Runt Related Transcription Factor 2</i>
SDF-1	= <i>Stromal Cell-Derived Factor 1</i>
TGF- β 2	= <i>Transforming Growth Factor Beta 2</i>
TLR-4	= <i>Toll Like Receptor 4</i>
TNF- α	= <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
VEGF	= <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>