

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SKRIPSI

**PERBANDINGAN *BONE ALKALINE PHOSPHATASE* DAN
KADAR KALSIUM DALAM DARAH DARI PEMBERIAN
ORAL BHA DAN KALSIUM LAKTAT PADA KELINCI
MODEL FRAKTUR**



BAKHITAH FIRDAUS HASSAN

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS
SURABAYA**

2022

SKRIPSI

**PERBANDINGAN *BONE ALKALINE PHOSPHATASE* DAN
KADAR KALSIUM DALAM DARAH DARI PEMBERIAN
ORAL BHA DAN KALSIUM LAKTAT PADA KELINCI
MODEL FRAKTUR**



BAKHITAH FIRDAUS HASSAN

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS
SURABAYA**

2022

Lembar Pengesahan

**Perbandingan *Bone Alkaline Phosphatase* dan Kadar Kalsium
Dalam Darah dari Pemberian Oral BHA dan Kalsium Laktat
pada Kelinci Model Fraktur**

SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2022

Oleh :

Bakhitah Firdaus Hassan

NIM : 051811133109

**Skripsi ini telah disetujui
pada tanggal 15 Agustus 2022 oleh :**

Pembimbing Utama



Dr. apt. Aniek Setiya Budiadin, M.Si
NIP. 195912121989032001

Pembimbing Serta



Drs. apt. Didik Hasmono, MS
NIP. 195809111986011001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Bakhitah Firdaus Hassan

NIM : 051811133109

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Tugas Akhir/Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Perbandingan *Bone Alkaline Phosphate* dan Kadar Kalsium dalam Darah dari Pemberian Oral BHA dan Kalsium Laktat Pada Kelinci Model Fraktur

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 15 Agustus 2022



Bakhitah Firdaus Hassan

NIM 051811133109

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Bakhitah Firdaus Hassan

N I M : 051811133109

Menyatakan bahwa demi kepentingan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul

Perbandingan *Bone Alkaline Phosphate* dan Kadar Kalsium dalam Darah dari Pemberian Oral BHA dan Kalsium Laktat Pada Kelinci Model Fraktur

Untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademis, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 15 Agustus 2022

A yellow rectangular library stamp from Universitas Airlangga is visible. It contains the text 'UNIVERSITAS AIRLANGGA', 'DIGITAL LIBRARY', and 'PERPUSTAKAAN'. A handwritten signature in black ink is written over the stamp. The signature appears to be 'Bakhitah Firdaus Hassan'.

Bakhitah Firdaus Hassan

NIM 051811133109

KATA PENGANTAR

Segala puji penulis panjatkan kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat beserta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “PERBANDINGAN *BONE ALKALINE PHOSPHATASE* DAN KADAR KALSIUM DALAM DARAH DARI PEMBERIAN ORAL BHA DAN KALSIUM LAKTAT PADA KELINCI MODEL FRAKTUR” dengan baik sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Tidak lupa shalawat beserta salam tentunya senantiasa tercurahkan kepada Nabi junjungan kita Rasulullah SAW yang telah membawa penulis dalam dunia yang penuh rahmat. Penulis amat sangat menyadari bahwa penulisan skripsi tidak dapat terselesaikan tanpa duungan dari pihak-pihak yang terlibat, baik secara moril atau materil. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyusunan skripsi, terutama kepada :

1. Ibu Dr. apt. Aniek Setiya Budiatin, M.Si. selaku ketua proyek *bonegraft* dan pembimbing utama yang berkenan membimbing, memberikan arahan, motivasi, dan dorongan dari segi moril maupun materil.
2. Bapak Drs. apt. Didik Hasmono, MS. selaku pembimbing serta yang juga berkenan dalam membimbing, memberikan arahan, motivasi, kritik dan saran kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
3. Rektor Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
4. Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga beserta para Wakil Dekan yang telah memberikan dukungan sarana dan fasilitas selama penulis menempuh pendidikan sarjana, baik secara akademik maupun non akademik.
5. apt. Andi Hermansyah, S.Farm., M.Sc., Ph.D. selaku ketua Departemen Farmasi Praktis yang telah memberi izin kepada penulis untuk menggunakan sarana dan fasilitas di Departemen Farmasi Praktis
6. apt. Samirah, S.Si., Sp.FRS. & apt. Dinda Monika Nusantara Ratri, S.Farm., M.Farm.Klin. selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan waktu dan kesempatan untuk penulis memaparkan hasil penelitian serta memperoleh kritik, saran dan masukan sehingga penyusunan skripsi dapat terselesaikan dengan baik.

7. Dr. apt. Yulistiani, M.Si. selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan dukungan kepada penulis dari awal penulis menempuh pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga hingga skripsi ini tersusun.
8. Seluruh bapak dan ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu dan pengalaman kepada penulis selama menempuh perkuliahan sarjana farmasi.
9. Pak Murshid selaku staff karyawan Laboratorium Farmasi Klinis Universitas Airlangga atas bantuan yang telah diberikan selama penulis melaksanakan penelitian skripsi.
10. Ibu saya yaitu Yani Wijiyastutik yang telah memberikan doa tanpa henti, pendidikan, kasih sayang, dukungan, kepercayaan kepada penulis.
11. Teman-teman tim *bonegraft* yaitu Vira, Indri, Bulan, Rofik, dan Rizka yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penelitian ini berlangsung.
12. Sahabat terdekat penulis yaitu, Ruseva, Sheirly, Sopta, Gama, Hapsari, Eliyan, Yayuk, Affa, Masrur, Gilang, dan Nouval atas doa, bantuan, dan dukungan yang telah diberikan baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat untuk penelitian-penelitian selanjutnya dan mendorong berbagai penelitian-penelitian berikutnya dengan hasil yang lebih baik. Dan dengan penuh kesadaran mohon maaf atas kesalahan-kesalahan yang mungkin tertera dalam skripsi.

Surabaya, 15 Agustus 2022

Penulis

RINGKASAN

Perbandingan Bone Alkaline Phosphate dan Kadar Kalsium dalam Darah dari Pemberian Oral BHA dan Kalsium Laktat Pada Kelinci Model Fraktur

Bakhitah Firdaus Hassan

Fraktur merupakan kondisi kontinuitas tulang yang merupakan hasil cedera secara langsung maupun tidak langsung atau penyakit yang disebabkan oleh trauma. Namun, osteoporosis juga dapat menyebabkan fraktur atraumatik dan berkontribusi dalam keparahan pada fraktur traumatis (Shuid *et al.*, 2010). Nutrisi yang tepat merupakan parameter penting dari kesehatan tulang, dan berpartisipasi dalam pencegahan dan pengobatan penyakit tulang. Asupan kalsium yang cukup sebagai komponen utama tulang, secara signifikan dapat mengurangi hilangnya massa tulang. Dalam kondisi kekurangan kalsium, tubuh dipaksa untuk meningkatkan proses osteolisis untuk mempertahankan homeostasis kalsium dalam tubuh (Karpouzios *et al.*, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar BALP dan kadar kalsium darah dari pemberian oral BHA dan oral kalsium laktat pada kelinci model fraktur. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only control group study* menggunakan 12 hewan coba kelinci jantan berjenis *New Zealand* yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu, kelompok defek, kelompok defek + oral BHA dan kelompok defek + oral kalsium laktat. Pembuatan defek tulang dilakukan pada tulang femur dengan menggunakan mata bor berukuran 4.0 mm. Kemudian dilakukan pengujian kadar BALP menggunakan ELISA dan kalsium darah menggunakan kolorimetri dari sampel serum darah hari ke 7, 14, 28, dan 35 yang disesuaikan dengan fase penyembuhan fraktur.

Hasil analisis kadar BALP dengan *One Way Anova* tidak menunjukkan perbedaan makna antar kelompok defek, defek + oral BHA dan defek + oral kalsium laktat ($p > 0,05$) pada hari ke 7, 14, 28 dan 35. Hasil analisis kadar kalsium darah dengan uji Kruskal-Wallis tidak menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok defek, defek + oral BHA dan defek + oral kalsium laktat ($p > 0,05$) pada hari ke 7, 14, 28 dan 35.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada kadar marker BALP dan kadar kalsium darah dari kelompok defek, kelompok defek + oral BHA dan kelompok defek + oral BHA.

ABSTRACT

Comparison of Bone Alkaline Phosphatase and Calcium Blood Levels from Oral BHA and Calcium Lactate in Rabbit Fracture Model

Bakhitah Firdaus Hassan

Introduction Fracture is a condition of bone continuity that is the result of direct or indirect injury or disease caused by trauma. However, osteoporosis can also cause a traumatic fractures and contribute to the severity of traumatic fractures. Proper nutrition is an important parameter of bone health and participated in the prevention and treatment of bone disease. Adequate intake of calcium as the main component of bone, could significantly reduce the loss of bone mass. In conditions of calcium deficiency, the body is forced to increase the process of osteolysis to maintain calcium homeostasis in the body.

Problem This study aimed to compare the levels of BALP and calcium blood levels in rabbit fracture models with oral BHA and oral calcium lactate.

Method The animal subjects used were 12 male new zealand rabbits treated with femoral defect 4 mm, divided into three test groups, namely defect, defect + oral BHA, and defect + oral calcium lactate. BALP were monitored with ELISA and calcium blood level were monitored with colorimetry on days 7, 14, 28, 35 which were adjusted to the fracture healing phase.

Results showed that there was no significant difference in BALP ($p>0,05$) and calcium blood levels ($p>0,05$) among the three test groups.

Conclusions From the results of the study, it can be concluded that there was no significant difference in marker levels of BALP and blood calcium levels between the defect group, defect + oral BHA group, and defect + oral BHA group.

Keywords : Calcium, Bovine Hydroxyapatite, Fracture, BALP, ELISA

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	viii
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tinjauan Tentang Tulang	5
2.1.1. Definisi Tulang	5
2.1.2. Struktur Makroskopis Tulang	6
2.1.3. Struktur Mikroskopis Tulang	6
2.1.4. Sitokin dan Faktor Pertumbuhan Tulang	7
2.1.5. Sel-sel Tulang	10
2.1.6. Remodeling Tulang.....	16
2.2. Tinjauan Tentang Fraktur.....	20

2.2.1. Definisi Fraktur	20
2.2.2. Faktor Penyebab Fraktur	21
2.2.3. Penyembuhan Patah Tulang (<i>Fraktur Healing</i>).....	21
2.2.4. Klasifikasi Penyembuhan Patah Tulang	23
2.2.5. Stadium Penyembuhan Patah Tulang	23
2.3. Tinjauan Tentang Sediaan.....	26
2.3.1. Kalsium.....	26
2.3.2. Bovine Hydroxyapatite (BHA).....	30
2.4. Tinjauan Tentang BALP (<i>Bone-specific Alkaline Phosphatase</i>)	33
2.5. Model Hewan Coba	35
2.5.1. Pemilihan Model Hewan Coba.....	35
2.5.2 Critical size bone defect models.....	38
2.5.3. Penanganan dan Pemeliharaan Hewan Coba	39
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	42
3.1. Kerangka Konseptual	42
3.3. Hipotesis Penelitian.....	46
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	47
4.1. Jenis Penelitian.....	47
4.2. Rancangan Penelitian	47
4.3. Sampel Penelitian.....	49
4.3.1. Sampel.....	49
4.3.2. Perhitungan Replikasi Sampel	49
4.3.3. Teknik Pengambilan Sampel	50
4.4. Variabel Penelitian.....	50
4.5. Alat dan Bahan Penelitian.....	50
4.5.1. Bahan Penelitian	50
4.5.2. Perhitungan Dosis Sediaan	50

4.5.3. Preparasi Sampel.....	51
4.5.4. Alat Penelitian.....	51
4.6. Definisi Operasional	51
4.7. Kerangka Operasional Penelitian.....	52
4.7.1. Teknik Pengambilan Sampel	53
4.7.2. Prosedur Pengambilan Sampel dan Pengumpulan Data	53
4.8. Prosedur Pemeriksaan	54
4.8.1. Prosedur Pemeriksaan Kadar BALP	54
4.8.2. Prosedur Pemeriksaan Kadar Kalsium.....	55
4.9. Pengolahan dan Analisis Data.....	57
4.9.1. Kadar BALP.....	57
4.9.2. Kadar Kalsium	57
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	58
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	67
6.1 Kesimpulan	67
6.2 Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel II.1 Efek Utama Sitokin beserta Reseptornya (Lorenzo 2020)	8
Tabel II.2 <i>Marker</i> Formasi dan Resorpsi Tulang (Seibel 2000).....	18
Tabel II.3 Rekomendasi AI (<i>adequate intake</i>) dan UL (<i>upper limit</i>) Kalsium (Straub 2007)	28
Tabel II.4 Kelebihan dan Kekurangan Penggunaan Berbagai Hewan Coba (Li, Ye <i>et al.</i> , 2015; Mapara <i>et al.</i> , 2012).....	37
Tabel II.5 Model cacat tulang pada kelinci (Li, Ye <i>et al.</i> , 2015).....	38
Tabel V.1 Data Rata-rata Kadar BALP Kelinci pada Hari ke-7, 14, 28, 35.	61
Tabel V.2 Data Rata-rata Kadar Kalsium Darah Kelinci pada Hari ke- 7, 14, 28, 35...	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Makrostruktur Tulang. (a) Tulang panjang yang tumbuh menunjukkan epifisis, lempeng epifisis, metafisis dan diafisis. (b) Tulang panjang yang matang menunjukkan garis epifisis (Jonsson and Jonsson 2011)	6
2.2 Mikrostruktur Tulang. Struktur tulang kompakta dan spons (Jonsson and Jonsson 2011).	7
2.3 Skematis Hubungan Sel-sel Tulang dengan Matriks Tulang (Florencio-Silva <i>et al.</i> , 2015)	16
2.4 Siklus remodeling tulang (Huldani 2012)	17
2.5 <i>Marker</i> Biokimia dari Remodeling Tulang (Seibel 2000)	18
2.6 Perbaikan Fraktur pada Tulang Femur.	22
2.7 Skema Stadium Penyembuhan Fraktur (Claes, Recknagel, and Ignatius 2012)	26
2.8 Skema metabolisme dan homeostasis kalsium (Li et al. 2018).	29
2.9 Metode Sintesis Hidroksiapatit (Mohd Pu'ad et al. 2019)	32
2.10 Hasil Analisis Kadar BALP pada Penelitian Terdahulu (Cantika 2019)	35
2.11 Pohon filogenetik untuk vertebrata (Fagundes <i>et al.</i> , 2004)	37
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	46
4.1 Skema Rancangan Penelitian	48
4.2 Kerangka Operasional Penelitian	52
4.3 Pengenceran Standar ELISA	54
5.1 Grafik Rata-Rata Kadar BALP kelinci pada hari ke-7, 14, 28 dan 35.	61
5.2 Grafik Rata-Rata Kadar Kalsium Darah Pada hari ke-7, 14, 28 dan 35.	63

DAFTAR SINGKATAN

ALP	=	<i>Alkaline phosphatase</i>
BALP	=	<i>Bone-specific alkaline phosphatase</i>
BHA	=	<i>Bovine Hydroxyapatite</i>
BLC	=	<i>Bone Lining Cell</i>
BMD	=	<i>Bone Mineral Density</i>
BMP	=	<i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
BMU	=	<i>Bone Multiseluler Unit</i>
BSP	=	<i>Bone Sialoprotein</i>
CAII	=	<i>Carbonat Anhydrase II</i>
CD	=	<i>Cluster of Differentiation</i>
Cp	=	<i>Catepsin</i>
CSF	=	<i>Colony-Stimulating Factor</i>
Cx3	=	<i>Connexin 43</i>
CZ	=	<i>Clear Zone</i>
Dlx5	=	<i>Distal-less homeobox 5</i>
DPD	=	<i>Deoxypyridinoline</i>
EIA	=	<i>Enzyme Immunoassay</i>
ELISA	=	<i>Enzyme-linked Immunosorbent</i>
Eph	=	<i>Ephrin</i>
FGF	=	<i>Fibroblast growth factor</i>
FRAX	=	<i>Fracture Risk Assessment Tool</i>
GM-CSF	=	<i>Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
HA	=	<i>Hidroksiapatit</i>
HPLC	=	<i>High Performance Chromatography</i>
IFN	=	<i>Interferon</i>
IGF	=	<i>Insulin Like Growth Factor</i>
IL	=	<i>Interleukin</i>
INF	=	<i>Interferon</i>
IRMA	=	<i>Immunoradiometric assay</i>
LIF	=	<i>Leukemia Inhibitory Factor</i>
LIFR	=	<i>Leukemia Inhibitory Factor Receptor</i>
MIF	=	<i>Macrophage Migration Inhibitory Factor</i>
MITF	=	<i>Microphtalmia Transcription Factor</i>
MMP	=	<i>Metalloproteinase</i>
MSC	=	<i>Mesenchymal Stem Cell</i>
NFATc1	=	<i>Nuclear Factor of Activated T cell</i>
NO	=	<i>Nitrat Oksida</i>
OB	=	<i>Osteoblas</i>
OC	=	<i>Osteoklas</i>
OCN	=	<i>Osteocalsin</i>

OPG	=	Osteoprotegerin
OSN	=	Osteonectin
OSP	=	Osteopontin
Osx	=	Osteorix
Ot	=	Osteosit
PGE1	=	<i>Prostaglandin E1</i>
PGE2	=	<i>Prostaglandin E2</i>
PTH	=	<i>Paratyroid Hormone</i>
PYD	=	<i>Pyridinoline</i>
RANK	=	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor -κB</i>
RANKL	=	<i>Receptor Activator of Nuclear Factor -κB Ligand</i>
RB	=	<i>Ruffled Border</i>
RIA	=	<i>Radioimmunoassay</i>
Runx2	=	<i>Run-Related Transcription Factor 2</i>
TGF	=	<i>Transforming Growth Factor</i>
TNF	=	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRACP	=	<i>Tartrate-resistant acid phosphatase</i>
TRAIL	=	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand</i>
TRAP	=	<i>Tartrat-Resistant Acid Phosphatase</i>
WHO	=	<i>World Health Organization</i>
Wnt	=	<i>Wingless-int</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Hasil Analisis Kadar BALP	74
2 Hasil Analisis Kadar Kalsium Darah	76
3 Hasil Analisis Uji Parametrik dan Uji Statistik Kadar BALP	78
4 Hasil Analisis Uji Parametrik dan Uji Statistik Kadar Kalsium Darah	80
5 Sertifikat Kelaikan Etik.....	82
6 Dokumentasi Penelitian	83