

SKRIPSI

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS ORAL BOVIN
HIDROKSIAPATIT (BHA) DAN ORAL KALSIUM LAKTAT
PADA DEFEK TULANG DENGAN IMPLANTASI BHA-GEL
BERDASARKAN EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL
GROWTH FACTOR* (VEGF) DAN OSTEOCALCIN**



RIZKA NANDA SADIWA

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS

SURABAYA

2022

SKRIPSI

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS ORAL BOVIN
HIDROKSIAPATIT (BHA) DAN ORAL KALSIMUM LAKTAT
PADA DEFEK TULANG DENGAN IMPLANTASI BHA-GEL
BERDASARKAN EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL
GROWTH FACTOR* (VEGF) DAN OSTEOCALCIN**



RIZKA NANDA SADIWA

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS

SURABAYA

2022

Lembar Pengesahan

**Perbandingan Efektivitas Oral Bovin Hidroksiapatit (BHA) Dan
Oral Kalsium Laktat Pada Defek Tulang Dengan Implantasi
BHA-GEL Berdasarkan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth
Factor* (VEGF) Dan Osteocalcin**

SKRIPSI

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

2022

Oleh:

**Rizka Nanda Sadiwa
NIM : 051811133035**

Skripsi ini telah disetujui tanggal 29 Juli 2022 oleh:

Pembimbing Utama



**Dr. Apt. Samirah, SSi., SpFRS.
NIP. 198004202003122001**

Pembimbing Serta



**Dr. Apt. Aniek Setiya Budiatin, MSi.
NIP. 195912121989032001**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Rizka Nanda Sadiwa

NIM : 051811133035

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

Perbandingan Efektivitas Oral Bovin Hidroksiapatit (BHA) dan Oral Kalsium Laktat pada Defek Tulang dengan Implantasi BHA-GEL Berdasarkan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Osteocalcin

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, 29 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,



Rizka Nanda Sadiwa
NIM 051811133035

LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Rizka Nanda Sadiwa

NIM : 051811133035

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Perbandingan Efektivitas Oral Bovin Hidroksiapatit (BHA) dan Oral Kalsium Laktat pada Defek Tulang dengan Implantasi BHA-GEL Berdasarkan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Osteocalcin

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

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

Surabaya, 29 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,


Rizka Nanda Sadiwa
NIM 051811133035

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia, dan keberkahan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PERBANDINGAN EFEKTIVITAS ORAL BOVIN HIDROKSIAPATIT (BHA) DAN ORAL KALSIMUM LAKTAT PADA DEFEEK TULANG DENGAN IMPLANTASI BHA-GEL BERDASARKAN EKSPRESI *VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR* (VEGF) DAN OSTEOCALCIN”** dengan tepat waktu. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat kelulusan dan memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Skripsi ini dapat terwujud atas bimbingan, pengarahan, dan bantuan dari berbagai pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan banyak terimakasih kepada:

- (1) Ibu Dr. Apt. Samirah, S.Si., SpFRS. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dr. Apt. Aniek Setiya Budiatin, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang selalu memberikan masukan, bimbingan, arahan, dan senantiasa meluangkan waktu selama penyusunan skripsi.
- (2) Bapak Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak. selaku Rektor Universitas Airlangga dan Bapak Prof. Apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menyelesaikan program Sarjana S-1 Pendidikan Apoteker.
- (3) Bapak Apt. Andi Hermansyah, S.Farm., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Departemen Farmasi Praktis beserta para anggota dosen dan staf karyawan, yang telah memberikan kesempatan dan izin untuk menggunakan fasilitas departemen dalam penyelesaian skripsi.
- (4) Penyanggah dana Riset Inovatif Produkif (RISPRO) LPDP dengan Ibu Dr. Apt. Aniek Setiya Budiatin, M.Si. selaku ketua penelitian *project bone graft* yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk bergabung dalam *project* dan menyelesaikan skripsi dengan lancar.
- (5) Ibu Dr. Apt. Yulistiani, M.Si. dan Ibu Dra. Apt. Toetik Aryani, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan demi kebaikan penyusunan skripsi.

- (6) Bapak Apt. Bambang Subakti Z., S.Si., M. ClinPharm. selaku dosen wali yang senantiasa memberi bimbingan dan nasihat selama menjalankan program Sarjana S-1 Pendidikan Apoteker.
- (7) Seluruh dosen dan staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bekal ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan.
- (8) Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis Bapak Sadimin dan Ibu Siti Hawa, kepada adik penulis Sigit Prayoga Sadiwa dan Kayla Selviana Sadiwa, kepada kakek penulis Syarafuddin dan nenek penulis Zenap, serta seluruh keluarga yang telah memberikan doa, restu, semangat dan dukungan yang tiada henti sehingga penulis lancar dalam menempuh S-1 Pendidikan Apoteker.
- (9) Teman-teman seperjuangan skripsi (Huzaifah Arofik, Indri Lestari, Bulan Rhea K.H.P., Vira Berliana Putri, Bakhitah Firdaus Hassan, dan Baiq Riska Asmayani) yang telah membantu dengan saling memberikan semangat, motivasi, dan saling mengingatkan selama penyusunan skripsi ini.
- (10) Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan semangat dan dukungan selama penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga dengan terselesaikannya skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu dan kemajuan di bidang kesehatan Indonesia.

Surabaya, Juli 2022

Penulis

RINGKASAN

Perbandingan Efektivitas Oral Bovin Hidroksiapatit (BHA) Dan Oral Kalsium Laktat Pada Defek Tulang Dengan Implantasi BHA-GEL Berdasarkan Ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) Dan Osteocalcin

Rizka Nanda Sadiwa

Fraktur adalah kondisi dimana kontinuitas jaringan tulang, tulang rawan sendi, dan atau tulang rawan epifisis terputus. Penanganan medis dalam perbaikan tulang dan rekonstruksi akibat fraktur umumnya menggunakan pengisi tulang (*bone graft*). Pada penelitian ini digunakan *bone graft* dengan komposisi BHA-GEL (9:1). Sediaan pelet BHA-GEL sebagai bonegraft dapat mempercepat proses pembentukan tulang baru. BHA berfungsi sebagai tempat diferensiasi sel menjadi osteosid (*hard callus*) dalam penutupan defek. Dan gelatin adalah kolagen tipe satu yang berperan dalam pembentukan osteoid (*soft callus*) dan menghubungkan dua sisi pada defek. Pada kasus patah tulang, asupan kalsium yang cukup diperlukan untuk homeostasis, pertumbuhan tulang dan pemeliharaan tulang.

Pada penelitian ini dilakukan penambahan suplemen kalsium pada kelompok perlakuan dengan tujuan untuk membandingkan efektivitas dari penambahan oral BHA 500 mg dan oral kalsium laktat 500 mg terhadap defek tulang. Oral BHA mampu meningkatkan proliferasi dari osteoblas dengan merangsang sel-sel masenkrim, mempromosikan deposisi kristal kalsium hidroksiapatit diantara serabut kolagen bersama dengan kolagen tipe satu yang merupakan degradasi dari gelatin. Sedangkan kalsium laktat mampu meningkatkan kalsium ekstraseluler, kalsium intraseluler dan proliferasi osteoblas pada tulang. Terdapat empat kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok BHA-GEL, kelompok BHA-GEL-Oral BHA, dan kelompok BHA-GEL-Oral Ca Laktat. Hewan coba pada setiap kelompok diberikan defek pada tulang femur dengan diameter 4,2 mm kemudian diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing. Selanjutnya dilakukan terminasi untuk mengambil sampel pada hari ke-7, 14, dan 28.

Proses perbaikan tulang terdiri dari 3 fase yaitu fase inflamasi, fase refarasi, dan fase remodeling. Pada fase inflamasi terbentuk hematoma dan terjadi perilsan faktor angiogenik seperti VEGF dalam jumlah banyak. VEGF menstimulasi pembentukan pembuluh darah baru di berbagai jaringan dan memiliki peran penting dalam migrasi, proliferasi, dan aktivasi sel endotel serta menjaga permeabilitas pembuluh darah. Dilanjutkan dengan fase refarasi, yaitu terjadi pembentukan *soft callus* oleh kolagen tipe 1 yang secara cepat menghubungkan dua sisi pada defek. Selanjutnya fase remodeling, pada fase ini akan mengubah *soft callus* menjadi *hard callus* atau tulang sekunder yang lebih kompak. Pada fase remodeling, osteoblas akan mensekresi osteocalcin yang merupakan protein non kolagen pada tulang dan berperan penting dalam mineralisasi dan homeostasis ion kalsium membentuk hidroksiapatit.

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan evaluasi pertumbuhan tulang berdasarkan ekspresi VEGF dan Osteocalcin dengan pewarnaan imunohistokimia dan *scoring* menggunakan *immunoreactive score* (IRS). Imunohistokimia merupakan cara pemeriksaan dengan menggunakan antibody monoklonal untuk mendeteksi antigen spesifik pada bagian jaringan. Antibodi ini memiliki spesifitas yang sempit, sehingga reaksi silang dengan antigen

yang lain tidak memungkinkan. Pada penelitian ini, antibodi yang digunakan untuk pemeriksaan ekspresi VEGF adalah antibodi anti VEGF sedangkan antibodi yang digunakan untuk pemeriksaan ekspresi Osteocalcin adalah antibodi anti Osteocalcin.

Hasil pemeriksaan ekspresi VEGF berdasarkan analisa statistik adalah tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok BHA-GEL-Oral BHA dengan kelompok BHA-GEL-Oral Ca Laktat pada hari ke-7, 14, dan 28 ($\text{Sig} > 0,05$). Hal ini kemungkinan karena perbedaan ekspresi VEGF sudah terlihat pada hari ke-3 kemudian mencapai puncak pada hari ke-5. Namun, pada kelompok BHA-GEL-Oral BHA diketahui efektif dalam meningkatkan ekspresi VEGF pada hari ke-14 dibandingkan dengan kelompok BHA-GEL-Oral Kalsium Laktat berdasarkan nilai IRS ekspresi VEGF.

Hasil pemeriksaan ekspresi Osteocalcin adalah pada kelompok BHA-GEL-Oral BHA efektif dalam meningkatkan ekspresi Osteocalcin pada hari ke-14 dan 28 dibandingkan kelompok dengan pemberian Oral Ca Laktat, yaitu ditunjukkan dengan adanya perbedaan secara statistik ($\text{Sig} < 0,05$), namun pada hari ke-7 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($\text{Sig} > 0,05$). Nilai ekspresi osteocalcin yang diamati pada hari ke-14 pada kelompok BHA-GEL-Oral BHA menunjukkan nilai ekspresi osteocalcin yang tinggi. Hal ini disebabkan karena BHA mampu meningkatkan proliferasi osteoblas dan mempercepat pembentukan *hard callus* pada defek tulang akibat fraktur.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kelompok BHA-GEL-Oral BHA efektif dalam meningkatkan ekspresi VEGF pada hari ke-14 dan efektif dalam meningkatkan ekspresi Osteocalcin pada hari ke-14 dan 28 dibandingkan kelompok BHA-GEL-Oral Ca Laktat.

ABSTRACT

Comparison of Effectiveness of Oral Bovin Hydroxyapatite (BHA) and Oral Calcium Lactate in Bone Defects with BHA-GEL Implantation Based on Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Osteocalcin

Rizka Nanda Sadiwa

Medical treatment for fractures generally uses bone grafts. In this study, bone graft with BHA-GEL composition (9:1) was used. In the case of fractures, adequate calcium intake is required for bone growth. In this study, calcium supplements were added in the form of oral BHA or oral calcium lactate. The purpose of this study was to prove the comparison of the effectiveness of BHA-GEL-Oral BHA and BHA-GEL-Oral Calcium Lactate. Experimental animals in each group were given a defect in the femur bone and then treated according to the group. For sampling, termination was carried out on days 7, 14, 28. Then, bone growth was evaluated based on the expression of VEGF and Osteocalcin by immunohistochemical staining and assessment using IRS. The results of the examination of VEGF expression based on statistical analysis showed that there was no significant difference between the BHA-GEL-Oral BHA group and the BHA-GEL-Oral Ca Lactate group on days 7, 14, and 28 ($\text{Sig} > 0.05$). However, the BHA-GEL-Oral BHA group was effective in increasing VEGF expression on day 14. The results of the examination of Osteocalcin expression in the BHA-GEL-Oral BHA group effectively increased Osteocalcin expression on days 14 and 28 compared to the BHA-GEL-Oral Ca Lactate group, which was shown by statistical differences ($\text{Sig} < 0.05$). Based on this study, it was concluded that the BHA-GEL-Oral BHA group was effective in increasing VEGF expression on day 14 and effective in increasing Osteocalcin expression on day 14 and 28.

Keywords: Fracture, Bovine Hydroxiapatite, Calcium Lactate, VEGF, Osteocalcin.

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tulang	7
2.2 Fraktur	12
2.3 Pelet BHA-GEL	17
2.4 Suplemen Kalsium	19
2.5 <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	21
2.6 Osteocalcin	23
2.7 Imunohistokimia (IHC)	23
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	

3.1	Kerangka Konseptual	25
3.2	Hipotesis Penelitian	29
BAB IV METODE PENELITIAN		
4.1	Jenis Penelitian	30
4.2	Rancangan Penelitian	30
4.3	Sampel Penelitian	31
4.4	Variabel Penelitian	32
4.5	Definisi Operasional	32
4.6	Alat dan Bahan	33
4.7	Lokasi Penelitian	34
4.8	Prosedur Penelitian	34
4.9	Analisa Statistik	39
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		
5.1	Perbandingan Efektivitas Oral BHA dan Oral Kalsium Laktat berdasarkan Ekspresi <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	43
5.2	Perbandingan Efektivitas Oral BHA dan Oral Kalsium Laktat berdasarkan Ekspresi Osteocalcin	50
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		
6.1	Kesimpulan	58
6.2	Saran	58
LAMPIRAN		
LAMPIRAN 1 Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja		64
LAMPIRAN II Sertifikat Uji Etik		69
LAMPIRAN III Analisis Statistik Data IRS Ekspresi VEGF		70
LAMPIRAN IV Analisis Statistik Data IRS Ekspresi Osteocalcin		82

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
IV.1 Skala <i>Immunoreactive Score</i> (IRS)	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Sel tulang dan perkembangannya	10
2.2 Skema komponen tulang.....	11
2.3 Histologi sel tulang	11
2.4 Jenis fraktur	13
2.5 Proses perbaikan tulang pada fraktur.....	15
2.6 Periode perbaikan tulang pada fraktur	16
2.7 Ekspresi VEGF pada fase inflamasi selama perbaikan tulang	22
3.1 Kerangka konseptual	28
4.1 Skema rancangan penelitian	30
4.2 Kerangka operasional penelitian.....	35
5.1 IHC Ekspresi VEGF Kelompok Kontrol Negatif.....	44
5.2 IHC Ekspresi VEGF Kelompok BHA-GEL.....	45
5.3 IHC Ekspresi VEGF Kelompok BHA-GEL-Oral BHA.....	46
5.4 IHC Ekspresi VEGF Kelompok BHA-GEL-Oral Kalsium Laktat.....	47
5.5 Perbedaan <i>Immunoreactive Score</i> (IRS) Ekspresi VEGF	50
5.6 IHC Ekspresi Osteocalcin Kelompok Kontrol Negatif	51
5.7 IHC Ekspresi Osteocalcin Kelompok BHA-GEL.	52
5.8 IHC Ekspresi Osteocalcin Kelompok BHA-GEL-Oral BHA	53
5.9 IHC Ekspresi Osteocalcin Kelompok BHA-GEL-Oral Kalsium Laktat	54
5.10 Perbedaan <i>Immunoreactive Score</i> (IRS) Ekspresi Osteocalcin	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
LAMPIRAN 1 Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja	64
Lampiran 1.1.1 Alat yang digunakan untuk mencetak pelet	64
Lampiran 1.2.1 Suspensi obat BHA dan Ca Laktat	64
Lampiran 1.3.1.1 Alat operasi dan obat	65
Lampiran 1.3.2.1 Pembiusan kelinci.....	65
Lampiran 1.3.3.1 Pencukuran bulu kelinci	66
Lampiran 1.3.4.1 Proses operasi	66
Lampiran 1.3.5.1 Pemberian Oral BHA dan Kalsium Laktat.....	68
Lampiran 1.3.6.1 Sampel tulang femur kelinci.....	68
LAMPIRAN II Sertifikat Uji Etik	69
LAMPIRAN III Analisis Statistik Data IRS Ekspresi VEGF	70
LAMPIRAN IV Analisis Statistik Data IRS Ekspresi Osteocalcin.....	82

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: Alkaline Phosphatase
AOI	: <i>Area of Interest</i>
BHA	: Bovine Hydroxyapatite
BMPs	: <i>Bone Morphogenic</i>
CAMP	: <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i>
CL	: <i>Cross Link</i>
DAB	: <i>Diaminobenzidine</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid</i>
GEL	: Gelatin
HA	: Hydroxyapatite
HE	: <i>Hematoxylin Eosin</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRS	: <i>Immunoreactive Score</i>
NCL	: <i>Non-Cross Link</i>
OC	: Osteocalcin
PSB	: <i>Prediluted Blocking Serum</i>
PTH	: <i>Proteins Parathyroid Hormone</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>