

**PENGARUH KOMBINASI *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG)
DAN NANO HIDROKSIAPATIT TERHADAP VIABILITAS
DAN MIGRASI SEL FIBROBLAS BHK-21**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh:

MARDIKANING RIASTA SAPTANINGRUM

NIM.022118036307

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH KOMBINASI *Epigallocatechin-3-gallate*
(EGCG) DAN NANO HIDROKSIAPATIT TERHADAP
VIABILITAS DAN MIGRASI SEL FIBROBLAS BHK-21**

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Program Studi Ilmu Konservasi
Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya**

Oleh:

MARDIKANING RIASTA SAPTANINGRUM
NIM. 022118036307

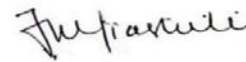
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG, Subsp.KR(K)
NIP.196004021986012001

Pembimbing Serta



Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG, Subsp.KR(K)
NIP. 196305141988032002

Mengetahui
Koordinator Program Studi



Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp. KG, Subsp.KE(K)
NIP. 197106261999031001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2024**

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mardikaning Riasta Saptaningrum, drg.
NIM : 022118036307
Program Studi : Ilmu Konservasi Gigi
Jenjang : Spesialis (Sp)
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan karya tulis akhir saya yang berjudul:

PENGARUH KOMBINASI *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) DAN NANO HIDROKSIAPATIT TERHADAP VIABILITAS DAN MIGRASI SEL FIBROBLAS BHK-21

Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Surabaya, Mei 2024
Yang Membuat Pernyataan



Mardikaning Riasta Saptaningrum
NIM. 022118036307

**PENETAPAN PANITIA PENGUJI
KARYA TULIS AKHIR**

Karya tulis akhir ini telah diuji

Hari : Rabu

Tanggal : 22 Mei 2024

PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR:

1. Dr. Febriastuti Cahyani, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K) (Ketua Penguji)
2. Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., M.S, Sp.KG., Subsp. KR(K) (Anggota Penguji)
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K) (Anggota Penguji)
4. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K) (Pembimbing Utama)
5. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K) (Pembimbing Serta)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga karya tulis akhir saya yang berjudul “Pengaruh Kombinasi *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) Dan Nano Hidroksiapatit Terhadap Viabilitas Dan Migrasi Sel Fibroblas BHK-21” ini dapat terselesaikan.

Pada kesempatan ini saya menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Pendidikan Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Muhamad Lutfi, drg., M.Kes., PBO selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, serta Prof. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes, M.H (Alm.) selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2021-2023 yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
3. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K) selaku Ketua Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, yang telah memberikan ijin pembuatan karya tulis akhir ini. Serta sebagai Penguji yang telah memberikan bimbingan, dan masukan, dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
4. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KE(K) selaku Koordinator Program Studi Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran

Gigi Universitas Airlangga, yang telah memberikan izin pembuatan karya tulis akhir ini.

5. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K), selaku Dosen Wali dan Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, masukan, motivasi dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini, serta selama menempuh pendidikan dokter gigi spesialis.
6. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG., Subsp. KR(K), selaku Pembimbing Serta yang telah memberikan bimbingan, masukan, motivasi dan dukungan dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
7. Prof. Dr. Adioro Soetojo, drg., M.S, Sp.KG., Subsp. KR(K) selaku Penguji yang telah memberikan bimbingan, dan masukan, dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
8. Dr. Febriastuti Cahyani, drg., M.Kes., Sp. KG., Subsp. KR(K) selaku Penguji yang telah memberikan bimbingan, dan masukan, dalam pembuatan karya tulis akhir ini.
9. Seluruh Guru Besar dan Dosen Departemen dan Prodi Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, dan bimbingan selama menempuh pendidikan dokter gigi spesialis.
10. Ucapan terima kasih yang tak terhitung kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda dr. Agus Widjaja, M.H.A dan Ibunda RR. Atikah Agustinah, serta kakak dan adik tercinta atas segala doa, bimbingan, dukungan, dan pengorbanan yang telah diberikan selama ini.

11. Teman-teman Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Angkatan 2021 atas semangat, bantuan, dan kerjasama yang diberikan selama menempuh pendidikan bersama.
12. Seluruh Staf Departemen dan Prodi Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga yang telah banyak membantu selama menempuh pendidikan dokter gigi spesialis.
13. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya karya tulis akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Menyadari bahwa karya tulis akhir ini masih jauh dari sempurna, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga karya tulis akhir ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, Mei 2024

Penulis

ABSTRACT

THE EFFECT OF THE COMBINATION OF Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) AND NANO HYDROXIAPATITE ON THE VIABILITY AND MIGRATION OF BHK-21 FIBROBLAST CELLS

Background: Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) has anti-inflammatory and antibacterial properties. Meanwhile, nano-hydroxyapatite (nano-HA) has potential as osteoconductivity and osteoinductivity. The combination of the two materials can produce good physical properties and biocompatibility. Pulp capping treatment is a vital pulp therapy that aims to stimulate reparative dentin formation and protect the pulp from inflammatory processes. An indicator of good cell health in the regeneration of the dentin-pulp complex, is cell viability of more than 50% so that cell migration and proliferation can occur. This study was conducted on BHK-21 fibroblast cells, which are cells that have the ability to support pulp tissue regeneration. **Objective:** To analyze the potential of EGCG and Nano-HA combination in vitro on the viability and migration of BHK-21 fibroblast cells. **Methods:** BHK-21 fibroblast cells were treated with combinations of EGCG + aquades, nano-HA + aquades, and EGCG + nano-HA. Cell viability was assessed after 24 hours using the MTT Assay, and cell migration was evaluated using the Wound Healing Assay at 12, 24, 36, and 48 hours. **Results:** The viability of cells at 24 hours after treatment with EGCG and nano-HA combination showed a cell survival rate of 87%. The migration of BHK-21 fibroblast cells exhibited increased closure rate of the cell gap at 12, 24, 36, and 48 hours. **Conclusion:** The combination of EGCG and Nano-HA influences the viability and migration of BHK-21 fibroblast cells

Keywords: EGCG, fibroblast, medicine, nano hydroxyapatite, medicine, cell viability, cell migration.

ABSTRAK

PENGARUH KOMBINASI *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) DAN NANO HIDROKSIAPATIT TERHADAP VIABILITAS DAN MIGRASI SEL FIBROBLAS BHK-21

Latar Belakang: *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) memiliki sifat anti-inflamasi dan antibakteri. Sedangkan, nano-hidroksiapatit (nano-HA) mempunyai potensi sebagai osteokonduktivitas dan osteoinduktivitas. Kombinasi kedua bahan tersebut dapat menghasilkan sifat fisik dan biokompatibilitas yang baik. Perawatan *pulp capping* merupakan perawatan gigi vital yang bertujuan merangsang pembentukan dentin reparatif dan melindungi pulpa dari proses inflamasi. Indikator kesehatan sel yang baik dalam regenerasi kompleks dentin-pulpa, adalah viabilitas sel lebih dari 50% sehingga dapat terjadi migrasi dan proliferasi sel. Penelitian ini dilakukan pada sel fibroblas BHK-21 yang merupakan sel memiliki kemampuan mendukung regenerasi jaringan pulpa. **Tujuan:** Menganalisis potensi kombinasi EGCG dan Nano-HA secara *in vitro* terhadap viabilitas dan migrasi sel fibroblas BHK-21. **Metode:** Sel fibroblas BHK-21 diberi perlakuan dengan pemberian kombinasi EGCG + aquades, nano-HA + aquades, dan EGCG + nano-HA, kemudian dilihat viabilitasnya setelah 24 jam menggunakan MTT Assay dan melihat migrasi sel dengan menggunakan *Wound Healing Assay* yang diamati pada 12, 24, 36, dan 48 jam. **Hasil:** Hasil penelitian viabilitas sel pada pengamatan 24 jam setelah pemberian kombinasi EGCG dan nano-HA menunjukkan persentase sel hidup sebesar 87% dan pada migrasi sel fibroblas BHK-21 terjadi peningkatan kecepatan penutupan jarak celah antar sel pada 12, 24, 36, dan 48 jam. **Kesimpulan:** Kombinasi EGCG dan Nano-HA memiliki pengaruh terhadap viabilitas dan migrasi sel fibroblast BHK-21.

Kata Kunci: EGCG, fibroblas, nano hidroksiapatit, obat, viabilitas sel, migrasi sel.

DAFTAR ISI

SAMPUL DALAM.....	i
SAMPUL DALAM.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRACT.....	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	6
1.4.1 Manfaat Teoritis	6
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kompleks Dentin-pulpa	7
2.2 Inflamasi Pulpa	11
2.3 Sel Fibroblas	12
2.4 Sel Fibroblas BHK-21	14
2.5 <i>Pulp Capping</i>	14
2.6 Nanoteknologi.....	17
2.7 Nano Hidroksiapatit	19
2.8 <i>Epigallocatechin-3-Gallate</i> (EGCG)	22
2.9 Viabilitas Sel.....	25

2.10	Migrasi Sel	27
BAB 3 KERANGKA KONSEP.....		30
3.1	Kerangka Konseptual.....	30
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual.....	31
3.3	Hipotesis.....	33
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....		34
4.1	Jenis Penelitian.....	34
4.2	Rancangan Penelitian	34
4.2.1	Uji Viabilitas Sel	34
4.2.2	Uji Migrasi Sel.....	35
4.3	Waktu dan Lokasi Penelitian	36
4.4	Sampel Penelitian.....	36
4.4.1	Unit Sampel	36
4.4.2	Besar Sampel	36
4.4.3	Pembagian Kelompok Sampel.....	37
4.5	Variabel Penelitian	38
4.5.1	Uji Viabilitas Sel	38
4.5.2	Uji Migrasi Sel.....	39
4.6	Definisi Operasional Variabel.....	39
4.7	Bahan dan Alat Penelitian.....	40
4.7.1	Bahan Penelitian	40
4.7.2	Alat Penelitian	41
4.8	Prosedur Penelitian	41
4.8.1	Uji Laik Etik	41
4.8.2	Pencampuran Bahan	42
4.8.3	Kultur Sel Fibroblas.....	42
4.8.4	Tahap Perlakuan, Pengamatan dan Pembacaan Sampel.....	43
4.8.5	Penghitungan	46
4.9	Alur Penelitian	47
4.10	Analisis Data	49
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		50
5.1	Uji Viabilitas Sel.....	50
5.2	Uji Migrasi Sel	53
BAB 6 PEMBAHASAN.....		61

6.1	Uji Viabilitas Sel.....	61
6.2	Uji Migrasi Sel.....	65
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....		71
7.1	SIMPULAN	71
7.2	SARAN	71
DAFTAR PUSTAKA		72
LAMPIRAN.....		80

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Jumlah Sampel, Standar Deviasi dan Persentase Viabilitas Sel Fibroblas BHK-21 Pada Waktu 24 Jam	51
Tabel 5.2	Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD.....	52
Tabel 5.3	Jumlah Sampel, Standar Deviasi dan Persentase Migrasi Sel Fibroblas BHK-21 Pada Waktu 12 Jam	55
Tabel 5.4	Jumlah Sampel, Standar Deviasi dan Persentase Migrasi Sel Fibroblas BHK-21 Pada Waktu 24 Jam	56
Tabel 5.5	Jumlah Sampel, Standar Deviasi dan Persentase Migrasi Sel Fibroblas BHK-21 Pada Waktu 36 Jam	56
Tabel 5.6	Jumlah Sampel, Standar Deviasi dan Persentase Migrasi Sel Fibroblas BHK-21 Pada Waktu 48 Jam	56
Tabel 5.7	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Pada 12 Jam	57
Tabel 5.8	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Pada 24 Jam	57
Tabel 5.9	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Pada 36 Jam	58
Tabel 5.10	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Pada 48 Jam	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Representasi skematis peran utama fibroblas pulpa gigi dalam patofisiologi pulpa.....	14
Gambar 2.2	Aplikasi dan tujuan dari nanomedicine.....	19
Gambar 2.3	Struktur Hidroksiapatit.....	19
Gambar 2.4	Struktur kimia EGCG.....	23
Gambar 2.5	Penangkapan radikal bebas oleh EGCG	24
Gambar 3.1	Kerangka konseptual.....	30
Gambar 4.1	Skema rancangan penelitian viabilitas sel	34
Gambar 4.2	Skema rancangan penelitian migrasi sel	35
Gambar 4.3	Skema alur penelitian uji viabilitas sel	47
Gambar 4.4	Skema alur penelitian uji migrasi sel	48
Gambar 5.1	Grafik viabilitas sel	51
Gambar 5.2	Representasi gambar mikroskopis dari uji migrasi sel fibroblas BHK-21	54
Gambar 5.3	Grafik jarak celah sel fibroblas BHK-21	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik	80
Lampiran 2. Sertifikat EGCG	81
Lampiran 3. Sertifikat Nano Hidroksiapatit Sintetik	82
Lampiran 4. Alat dan Bahan Penelitian	83
Lampiran 5. Hasil Uji Statistik	84

DAFTAR SINGKATAN

BMP	: Bone Morphogenetic Protein
bFGF	: basic Fibroblast Growth Factor
Ca²⁺	: Kalsium
Ca(OH)₂	: Kalsium Hidroksida
CaSR	: <i>Calcium-Sensing Receptor</i>
DAMPs	: <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DPF	: <i>Dental Pulp Fibroblast</i>
DSPP	: Dentin Sialophosphoprotein
ECM	: Extracellular Matrix
EGCG	: <i>Epigallocatechin-3-gallate</i>
FDA	: Food and Drug Administration
FGF	: Fibroblast Growth Factor
GRK	: <i>G-protein-coupled receptor kinase</i>
HSP70	: <i>Heat Shock Protein 70</i>
IL	: Interleukin
IKK	: <i>Inhibitor Kappa B Kinase</i>
IRAK	: <i>IL-1 receptor associate kinase</i>
IκB	: Inhibitor of NF-κB
MDA	: Malondialdehyd
MMPs	: Matrix Metalloproteinases
Nano-HA	: Nano hidroksiapatit
NCP	: Noncollagenous Proteins
NF-κB	: Nuclear Factor kappa B
PUFA	: Asam lemak tak jenuh ganda
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCAPs	: Stem Cells Apical Papilla
SMADs	: Suppressor of Mothers Against Decapentaplegic

TAB1	: <i>TAK1-binding protein</i>
TAK-1	: <i>TGF-β-activated kinase-1</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Receptor-4</i>
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor-β</i>
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
TRAF-6	: <i>TNF-receptor-associated factor-6</i>
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	: World Health Organization