

**PEMBERIAN KOMBINASI *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE*
DAN *NANO HYDROXIAPATITE* TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN
KOLAGEN TIPE 1 SEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING***

(Penelitian *In Vivo*)

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

RIA PUSPITA SARI
021918036306

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**PEMBERIAN KOMBINASI *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE*
DAN *NANO HYDROXIAPATITE* TERHADAP EKSPRESI *TNF- α* DAN
KOLAGEN TIPE 1 SEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING*
(Penelitian *In Vivo*)**

KARYA TULIS AKHIR

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ilmu Konservasi Gigi
di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

Oleh:

RIA PUSPITA SARI
NIM: 021918036306

Menyetujui.
Pembimbing Utama



Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., SpKG(K)
NIP. 196004021986012001

Pembimbing Serta



Nirawati Pribadi, drg. M.Kes., Sp.KG(K)
NIP. 196309151990022001

Mengetahui
Koordinator Program Studi



Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(K)
NIP. 19710626199903100

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ILMU KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENETAPAN PANITIA PENGUJI
KARYA TULIS AKHIR**

Karya tulis akhir ini telah diuji pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 24 Mei 2022

PANITIA PENGUJI :

Ketua : 1. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg., MS.,Sp.KG (K)

Anggota : 2. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG (K)
3. Eric Priyo Prasetyo, drg., M.Kes., Sp.KG (K)
4. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg.,M.Kes.,SpKG (K)
5. Dr. Nirawati Pribadi, drg., M.Kes.,Sp.KG (K)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Ria Puspita Sari, drg.
NIM : 021918036306
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 yang berjudul :

**PEMBERIAN KOMBINASI *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE* DAN
NANO HYDROXIAPATITE TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN
KOLAGEN TIPE 1 SEBAGAI KANDIDAT BAHAN *PULP CAPPING*
(Penelitian *In Vivo*)**

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, 24 Mei 2022

Yang menyatakan



Ria Puspita Sari, drg.
021918036306

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Akhir dengan judul:

**“PEMBERIAN KOMBINASI *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE* DAN
NANO HYDROXIAPATITE TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN
KOLAGEN TIPE 1 SEBAGAI KANDIDAT BAHAN PULP CAPPING
(Penelitian *In Vivo*)”**

Karya tulis akhir ini dibuat untuk memenuhi syarat dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

- a. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA selaku Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menyelesaikan karya tulis akhir pada Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bidang Ilmu Konservasi Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- b. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- c. Prof. Dr. Darmawan Setijanto, drg., M.Kes selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Airlangga.

- d. Prof. Dr. Kun Ismiyatin, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku Mantan Ketua Program Studi Departemen Konservasi Gigi dan Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dan sabar dalam memberikan bimbingan, mengarahkan dan mengevaluasi setiap tahapan pekerjaan sehingga Karya Tulis akhir ini dapat terselesaikan dengan baik serta senantiasa membimbing saya selama menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga.
- e. Dr. Nirawati Pribadi, drg., Sp.KG(K), M.Kes dan selaku dosen pembimbing serta Karya Tulis Akhir yang telah memberikan motivasi, arahan, membimbing dan memberikan segala masukan bagi penulis dalam menempuh pendidikan spesialis konservasi gigi.
- f. Dr. Widya Saraswati, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Ketua Departemen Konservasi Gigi yang telah memberikan ijin untuk pembuatan Karya Tulis Akhir dan yang senantiasa membimbing saya selama menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga.
- g. Dr. Galih Sampoerno, drg., M.Kes., Sp.KG(K) selaku Ketua Program Studi Departemen Konservasi Gigi dan Pembimbing Akademik Penulis yang telah memberi ijin, bimbingan, masukan dan motivasi sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan serta senantiasa membimbing saya selama menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga.
- h. Prof. Dr. Ira Widjiastuti, drg., M.Kes., Sp.KG (K) selaku mantan Kepala Departemen Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas

Airlangga yang telah memfasilitasi dan memberikan izin di awal hingga berjalannya proses pembuatan karya tulis ini serta yang senantiasa membimbing saya selama menempuh pendidikan di bidang Konservasi Gigi Universitas Airlangga.

- i. Prof. Dr. Tamara Yuanita, drg.,MS., Sp.KG(K) selaku Ketua Panitia Penguji Karya Tulis Akhir yang telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya dan senantiasa membimbing dan memberikan masukan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini.
- j. Eric Priyo Prasetyo drg. M.Kes., Sp.KG(K) selaku anggota penguji Karya Tulis Akhir yang telah membimbing, memberikan banyak saran serta masukan kepada saya dalam penyusunan karya tulis akhir ini.
- k. Seluruh Dosen Pengajar dan Staf Bagian Ilmu Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas segala pembelajaran, arahan, nasehat dan bantuan kepada saya selama proses perkuliahan.
- l. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed selaku Dosen Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas bimbingan dan bantuannya dalam penelitian ini.
- m. Orang tua tercinta Bpk Suprijono (alm.), Ibu Nila Wahyuni dan Bpk Iskandar atas dukungan dan pengorbanan serta senantiasa memberikan cinta, doa dan dorongan moril selama pendidikan dan pembuatan Karya Tulis Akhir ini.
- n. Suami dr I Gede Made Oka Rahaditya Sp.OT dan Ananda putra kami I Gede Angkasa Shankara atas dukungan yang senantiasa memberikan cinta, doa

serta dorongan moril selama pembuatan Karya Tulis Akhir ini.

- o. Teman – teman PPDGS Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya angkatan 2019 yang senantiasa saling menyemangati selama mengikuti pendidikan.
- p. Semua pihak yang turut membantu dalam penyelesaian Karya Tulis Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa karya tulis akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat saya harapkan. Semoga karya tulis akhir ini memberikan manfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Surabaya, 24 Mei 2022

Penulis

ABSTRACT

**ADMINISTRATION OF COMBINED EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE
(EGCG) AND NANO HYDROXIAPATITE ON EXPRESSION OF TNF- α
AND COLLAGEN TYPE I ON INFLAMATED PULPA
(IN VIVO STUDY)**

Background: The ideal pulp capping material has the main biological properties as anti-inflammatory, biocompatible and can stimulate hard tissue healing. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is a flavonoid compound that is known to have a direct effect in reducing the effect of inflammation because of its ability to inhibit inflammatory mediators by reducing the activated effect of IL-1 and TNF α produced by macrophages. Nano Hydroxyapatite (n-HA) is a hydroxyapatite with a grain size of <100 nm which has been found to have a similar structure to that seen in dentin and enamel, besides that it also has good biocompatibility, contains a lot of calcium ions and a high pH and has been shown to increase the formation of hard tissue barrier. The combination of EGCG and n-HA is expected to be an alternative material in the ideal pulp capping treatment. **Objective:** to analyze the effect of administration of combination of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) and Nano Hydroxyapatite (nHA) on the expression of TNF- α in macrophage cells and the expression of collagen type I in exposed rat pulp. **Methods:** This study used 54 rats which were randomly divided into 6 treatment groups which were given n-HA, EGCG, and a mixture of EGCG and n-HA on the inflamed pulp after which the cavity was closed with RMGIC. The expression of TNF- α and type I collagen was observed on the 3rd and 7th day. **Results:** The results of data analysis using the Tukey HSD test on TNF- α expression on day 3 showed that there was a significant difference between the n-HA groups with EGCG and a mixture of the two ingredients. On the 7th day showed a significant difference in each group. On the 3rd day, the expression of type I collagen showed a significant difference between the combination of EGCG + nHA and the EGCG and nHA groups. Meanwhile, on the 7th day, there was a significant difference between the EGCG + nHA combination group and the EGCG group. **Conclusion:** A mixture of EGCG and n-HA can increase the expression of TNF- α and the formation of type I collagen in the inflamed pulp.

Keyword: EGCG, Nano Hidroksiapatit, TNF- α , Collagen type I, Direct Pulp Capping

ABSTRAK

**PEMBERIAN KOMBINASI *EPIGALLOCATECHIN-GALLATE*
DAN *NANO HYDROXIAPATITE* TERHADAP EKSPRESI $TNF-\alpha$
DAN KOLAGEN TIPE 1 SEBAGAI KANDIDAT BAHAN PULP
CAPPING (PENELITIAN IN VIVO)**

Latar belakang: *Pulp capping* material yang ideal memiliki properti biologis yang utama sebagai anti inflamasi, biokompatibel dan dapat menstimulasi penyembuhan *hard tissue*. *Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)* merupakan senyawa flavonoid yang dikenal memiliki efek secara langsung dalam mengurangi efek inflamasi karena kemampuannya untuk menghambat mediator inflamasi dengan mengurangi efek teraktivasi *IL-1* dan *TNF α* yang dihasilkan oleh makrofag. *Nano Hidroksiapatit (n-HA)* merupakan hidroksiapatit dengan ukuran butir <100 nm yang telah ditemukan memiliki kesamaan struktur dengan yang terlihat pada dentin dan enamel, selain itu juga memiliki biokompatibilitas yang baik, mengandung banyak ion kalsium dan pH yang tinggi dan terbukti mampu meningkatkan terbentuknya *hard tissue barrier* dengan baik. Sehingga Penggunaan kombinasi EGCG dan n-HA diharapkan dapat menjadi bahan alternative dalam perawatan *pulp capping* yang ideal. **Tujuan:** untuk menganalisis pengaruh pemberian campuran *Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG)* dan *Nano Hidroksiapatit (nHA)* terhadap ekspresi $TNF-\alpha$ pada sel makrofag dan ekspresi kolagen tipe I pulpa tikus yang terbuka. **Metode:** Penelitian ini menggunakan 54 ekor tikus yang dibagi secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan yang diberi n-HA, EGCG, serta campuran EGCG dan n-HA pada pulpa yang terinflamasi setelah itu kavitas ditutup dengan RMGIC. Pengamatan ekspresi $TNF-\alpha$ dan Kolagen tipe I dilakukan pada hari ke-3 dan ke-7. **Hasil:** Hasil analisis data menggunakan uji Tukey HSD pada ekspresi $TNF-\alpha$ hari ke-3 menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada antar kelompok n-HA dengan EGCG dan campuran kedua bahan. Pada hari ke-7 menunjukkan perbedaan yang bermakna pada masing – masing kelompok. Pada ekspresi kolagen tipe I hari ke-3 menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada antar kombinasi EGCG + nHA dengan kelompok EGCG dan nHA. Sedangkan pada hari ke-7 menunjukan perbedaan yang bermakna antara kelompok kombinasi EGCG + nHA dengan kelompok EGCG. **Kesimpulan:** Campuran EGCG dan n-HA dapat meningkatkan ekspresi dari $TNF-\alpha$ dan pembentukan kolagen tipe I pada pulpa yang terinflamasi.

Kata kunci: EGCG, Nano Hidroksiapatit, $TNF-\alpha$, Kolagen tipe I, *Direct PulpCapping*

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	
Lembar Pengesahan	i
Penetapan Panitia Penguji	ii
Surat Pernyataan Orisinalitas	iii
Ucapan Terimakasih	iv
<i>Abstract</i>	ix
Abstrak.....	x
Daftar Isi	xi
Daftar Tabel	xv
Daftar Gambar	xvi
Daftar Singkatan	xvii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
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 Jaringan Pulpa	7
2.2 Inflamasi Pulpa	9
2.3 Proses Penyembuhan Pulpa.....	9
2.4 Tumor Necrosis Factor – α (TNF- α)	11
2.6 Kolagen Tipe 1	14
2.7 Direct <i>Pulp Capping</i>	14
2.8 Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)	15
2.9 Nano Hidroksiapatit	17
2.10 Gigi Molar Tikus sebagai Model Studi Penelitian Kedokteran Gigi	19
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	 21
3.1 Kerangka Konseptual	21
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	22
3.3 Hipotesis	24
 BAB 4 METODE PENELITIAN	 26
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	26
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	27
4.2.1 Tempat Penelitian	27
4.2.2 Waktu Penelitian	27
4.3 Sampel yang Digunakan	27
4.3.1 Kriteria Inklusi	27

4.3.2 Kriteria Eksklusi	28
4.3.3 Besar Sampel	28
4.4 Variabel Penelitian	29
4.4.1 Variabel Bebas	29
4.4.2 Variabel Tergantung	29
4.4.3 Variabel Kendali	29
4.5 Definisi Operasional Variabel Penelitian	30
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	31
4.6.1 Alat Penelitian	31
4.6.2 Bahan Penelitian	31
4.7 Prosedur Penelitian	32
4.8 Prosedur Pemeriksaan Laboratorium	35
4.8.1 Pemeriksaan Imunohistokimia	35
4.9 Analisis Data	37
4.10 Alur Penelitian	39
 BAB 5 HASIL PENELITIAN	 40
5.1 Efek Aplikasi Campuran EGCG dan Nano HA Terhadap ekspresi	
TNF- α pada Hari ke-3 dan ke-7	41
5.1.1 Analisa Statistik ekspresi TNF- α pada Hari ke-3 dan ke-7.....	41
5.1.2 Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi TNF- α	44
5.2 Efek Aplikasi Campuran EGCG dan Nano HA Terhadap Kolagen	
Tipe 1 pada Hari ke-3 dan ke-7	45

5.2.1 Analisa Statistik Pembentukan Kolagen Tipe 1 pada Hari ke-3 dan ke-7	45
5.2.2 Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia Ekspresi Kolagen Tipe I	48
5.3. Hasil Perbedaan Ekspresi TNF- α dan Kolagen Tipe 1 pada Hari ke-3 dan ke-7.....	49
 BAB 6 PEMBAHASAN	51
6.1 Penurunan ekspresi TNF- α pada pemberian kombinasi nHA dan EGCG.....	53
6.2 Peningkatan ekspresi kolagen tipe 1 pada pemberian kombinasi nHA dan EGCG.....	54
 BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	57
7.1 Kesimpulan	57
7.2 Saran	57
 DAFTAR PUSTAKA	58
 LAMPIRAN.....	xviii

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Skema Rancangan Penelitian	26
Tabel 5.1 Jumlah sampel, mean, dan standar deviasi ekspresi TNF- α pada Hari ke-3 dan ke-7	41
Tabel 5.2 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada ekspresi TNF- α Hari ke-3	43
Tabel 5.3 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada ekspresi TNF- α Hari ke-7	43
Tabel 5. 4 Jumlah sampel, mean, dan standar deviasi jumlah Kolagen Tipe 1 Hari ke-3 dan ke-7	45
Tabel 5.5 Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Multiple Comparison Tukey HSD pada Kolagen Tipe 1 Hari ke-3.....	47
Tabel 5. 6. Uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Mann Whitney pada Kolagen Tipe 1 Hari ke-7.....	47
Tabel 5.7 Hasil Uji Independent T-Test dan Mann Whitney Test pada hari 3 dan 7.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Peran TNF- α dalam proses inflamasi	13
Gambar 2.2 Gigi Molar Rahang Atas Tikus	20
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	39
Gambar 5.1 Grafik mean nilai ekspresi TNF- α pada EGCG, nHA, dan kombinasi EGCG dan nHA	42
Gambar 5.2 Ekspresi TNF- α dengan pemberian EGCG	44
Gambar 5.3 Ekspresi TNF- α dengan pemberian nHA	44
Gambar 5.4 Ekspresi TNF- α dengan pemberian kombinasi EGCG dan nHA.....	44
Gambar 5.5 Grafik mean nilai ekspresi Kolagen Tipe I pada EGCG, nHA, dan kombinasi EGCG dan nHA	46
Gambar 5.6 Ekspresi Kolagen Tipe I dengan pemberian EGCG.....	48
Gambar 5.7 Ekspresi Kolagen Tipe I dengan pemberian nHA.....	48
Gambar 5.8 Ekspresi Kolagen Tipe I dengan pemberian kombinasi EGCG dan nHA.....	49

DAFTAR SINGKATAN

EGCG = *Eppigallocatechin-3-gallate*

n-HA = Nano Hidroksiapatit

TNF- α = *Tumor Necrosis Factor - α*

CaOH = *Calcium Hydroxide*

BMP-2 = *Bone Morphogenic Protein - 2*

TGF- β = *Transforming Growth Factor*

β FGF = *Fibroblast Growth Factor*

ALP = *Alkaline Phosphatase*

DPSCs = *Dental Pulp Stem Cells*

MTA = *Mineral Trioxide Aggregate*

SHED = *Human exfoliated deciduous teeth*

SPDC = *dental pulp stem cell*

SCAP = *Stem cell apical papilla*

CaSR = *Calcium Sensing Receptor*

PLC = *phospholipase C*

PKC = *Protein Kinase*