

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs
TERHADAP EKSPRESI NFATc1 PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

SKRIPSI



Oleh:

HUSNIYA JUWITA FARHA

NIM: 021911133044

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs
TERHADAP EKSPRESI NFATc1 PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

SKRIPSI



Oleh:

HUSNIYA JUWITA FARHA

NIM: 021911133044

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs
TERHADAP EKSPRESI NFATc1 PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan
Pendidikan Kedokteran Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga**

Oleh:

HUSNIYA JUWITA FARHA
NIM: 021911133044

Menyetujui

Pembimbing Utama



(Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes., SpPros (K))

NIP: 197909292006042002

Pembimbing Serta



(Agus Dahlan, drg., M.Kes., SpPros (K))

NIP: 196008141987011001

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 6 Januari 2023

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. Bambang Agustono, drg., M.Kes., Sp.Pros (K)
(Ketua Penguji)
2. Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes., Sp.Pros (K)
(Sekretaris Penguji /Pembimbing Utama)
3. Agus Dahlan, drg., M.Kes., Sp.Pros (K)
(Pembimbing Serta)
4. Ratri Maya Sitalaksmi, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.Pros (K)
(Anggota Penguji)
5. Primanda Nur Rahmania, drg., Sp.Pros
(Anggota Penguji)

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Husniya Juwita Farha
NIM : 021911133044
Program studi : Pendidikan Dokter Gigi
Fakultas : Kedokteran Gigi
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiarisme dalam penulisan skripsi saya dengan judul:

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs
TERHADAP EKSPRESI NFATc1 PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

Apabila pada suatu saat nanti terbukti melakukan tindak plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 9 Januari 2023



Husniya Juwita Farha

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan keberkahan-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP EKSPRESI NFATc1 PADA IMPLAN GIGI MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS”** dengan baik sebagai salah satu syarat kelulusan Sarjana 1 (S1) jurusan Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga.

Dengan selesainya skripsi ini tentu tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes., M.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga periode 2020-2025 yang telah memberikan saya kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Nike Hendrijantini, drg., M.Kes., Sp.Pros (K) selaku Kepala Departemen Prostodonsia.
3. Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes., Sp.Pros (K) selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan kesempatan, waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan penyusunan skripsi ini.
4. Agus Dahlan, drg., M.Kes., Sp.Pros (K) selaku dosen pembimbing serta yang senantiasa meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, nasihat, serta evaluasi dalam proses penyusunan skripsi.
5. Bambang Agustono, drg., M.Kes., Sp.Pros (K) selaku ketua penguji skripsi, serta Ratri Maya Sitalaksmi, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.Pros (K), dan Primanda Nur Rahmania, drg., Sp.Pros selaku anggota penguji skripsi yang telah memberikan saran, nasihat, masukan, dan arahan yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini.

6. Prof. Dr. Nike Hendrijantini, drg., M.Kes., Sp.Pros (K) selaku pembimbing khusus yang turut membimbing, mengarahkan, dan membantu penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Seluruh staff dosen dan administrasi Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas bantuan dan dukungan dalam pengerjaan skripsi.
8. Orang tua serta kedua kakak yang tidak henti-hentinya memberikan doa dan dukungan selama penyusunan skripsi ini.
9. Teruntuk diri saya sendiri terimakasih sudah kuat dan pantang menyerah hingga hari ini, kebahagiaan telah menantimu.
10. Teman-teman penelitian yaitu Alvin Phen, Anisa Catteleya, dan Mayang Aziza yang saling membantu proses penelitian dari awal hingga akhir.
11. Sahabat-sahabat yang senantiasa menemani, memberikan semangat, motivasi, dan dukungan selama proses penyusunan skripsi
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini sehingga dengan rendah hati penulis mengharapkan saran yang membangun dari semua pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca serta dapat memberikan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 9 Januari 2023

Penulis

RINGKASAN

Setelah implan gigi dipasang, terjadi sebuah proses oseointegrasi yaitu kontak langsung antara permukaan implan dan tulang. Keberhasilan oseointegrasi dapat dipengaruhi oleh gangguan metabolisme tubuh seperti diabetes dan osteoporosis. *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (hUCMSCs) merupakan sumber alternatif *stem cell* yang memiliki kemampuan berdiferensiasi menjadi sel osteoblas yang berperan pada proses remodeling tulang. Salah satu gen yang mengaktivasi osteoklas pada proses remodeling tulang adalah NFATc1.

Metode: Tiga puluh ekor tikus Wistar secara acak dibagi menjadi lima kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol negatif yang disuntik gelatin (K-), kelompok osteoporosis yang disuntik gelatin (KO), kelompok osteoporosis yang disuntik hUCMSCs-gelatin (PK), kelompok diabetes yang disuntik gelatin (KD), dan kelompok diabetes yang disuntik dengan hUCMSCs-gelatin (PD). Setelah 4 minggu, tikus diterminasi lalu dibuat sediaan jaringan. Spesimen kemudian dilakukan pewarnaan dengan immunohistokimia (IHC) dan diamati ekspresi NFATc1 dari 5 lapang pandang berbeda dengan pembesaran 400x. Selanjutnya data penelitian dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Hasil dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan diabetes dan kontrol negatif serta kelompok perlakuan diabetes dan kontrol osteoporosis. Pada kelompok perlakuan didapatkan ekspresi NFATc1 yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol. **Kesimpulan** yang diperoleh yaitu pemberian induksi hUCMSCs berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi NFATc1 pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus.

THE EFFECT OF hUCMSCs ON NFATc1 EXPRESSION ON DENTAL IMPLANT IN OSTEOPOROSIS AND DIABETES MELLITUS MODELS

ABSTRACT

Background: Diabetes mellitus and osteoporosis affect the osseointegration process around dental implants. Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by an increase in blood plasma glucose as a result of defects in insulin secretion, resistance or both which can reduce bone formation and density. Post-menopause osteoporosis is osteoporosis caused by decreased estrogen secretion which has an impact on increasing bone resorption and inhibiting NFATc1 activation as an osteoclast differentiation factor. **Objective:** The aim of this study was to prove induction of hUCMSCs can affect the reduction of NFATc1 expression in osteoporosis and diabetes mellitus rat models. This research was a true experimental post-test only control group design. Thirty Wistar rats randomly divided into five groups consisting of the negative control group injected with gelatin (K-), the osteoporosis group injected with gelatin (KO), the osteoporosis group injected with hUCMSCs-gelatin (PK), the diabetes group injected with gelatin (KD), and the diabetes group injected with hUCMSCs-gelatin (PD). After 4 weeks, the rats were terminated and specimens were made and stained with immunohistochemistry (IHC) and the expression of NFATc1 was observed. Furthermore, the research data were analyzed using the Kruskal-Wallis test. **Results:** NFATc1 expression in the treatment group was higher than in the control group. There was a significant difference in the mean value of NFATc1 expression between the negative control and diabetes treatment groups and the osteoporosis control and diabetes treatment groups ($p < 0.05$). **Conclusion:** Induction of hUCMSCs has an effect on increasing NFATc1 expression in dental implant models of osteoporosis and diabetes mellitus.

Keywords: dental implant, diabetes mellitus, hUCMSCs, NFATc1, osteoporosis, post-menopause

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP EKSPRESI NFATc1
PADA IMPLAN GIGI MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES
MELITUS**

ABSTRAK

Latar belakang: Diabetes melitus dan osteoporosis berpengaruh pada proses osseointegrasi di sekitar implan gigi. Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan kenaikan glukosa plasma dalam darah akibat dari kerusakan sekresi insulin, resistensi insulin ataupun keduanya yang dapat menurunkan pembentukan serta kepadatan tulang. Osteoporosis pascamenopause merupakan osteoporosis yang disebabkan oleh penurunan sekresi estrogen yang berdampak pada peningkatan resorpsi tulang dan penghambatan aktivasi NFATc1 sebagai faktor diferensiasi osteoklas. **Tujuan:** Membuktikan pemberian induksi hUCMSCs dapat mempengaruhi penurunan ekspresi NFATc1 pada tikus model osteoporosis dan diabetes melitus. **Metode penelitian:** Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental post-test only control group*. Tiga puluh ekor tikus Wistar secara acak dibagi menjadi lima kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol negatif yang disuntik gelatin (K-), kelompok osteoporosis yang disuntik gelatin (KO), kelompok osteoporosis yang disuntik hUCMSCs-gelatin (PK), kelompok diabetes yang disuntik gelatin (KD), dan kelompok diabetes yang disuntik dengan hUCMSCs-gelatin (PD). Setelah 4 minggu, tikus diterminasi lalu dibuat sediaan jaringan. Spesimen kemudian dilakukan pewarnaan dengan immunohistokimia (IHC) dan diamati ekspresi NFATc1. Selanjutnya data penelitian dianalisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. **Hasil:** Ekspresi NFATc1 pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol. Terdapat perbedaan nilai rerata ekspresi NFATc1 yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan perlakuan diabetes serta kelompok kontrol osteoporosis dan perlakuan diabetes ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Pemberian induksi hUCMSCs berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi NFATc1 pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus.

Kata kunci: diabetes melitus, hUCMSCs, implan gigi, NFATc1, osteoporosis, post-menopause

DAFTAR ISI

SAMPUL LUAR	i
SAMPUL DALAM.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vi
RINGKASAN	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
ABSTRAK.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	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 Implan gigi	7
2.1.1 Proses osseointegrasi implan gigi	8

2.1.2 Remodeling tulang	11
2.1.3 Osteoklastogenesis	15
2.2 NFATc1	17
2.3 Osteoporosis.....	18
2.4 Diabetes Mellitus	21
2.5 MSCs	22
2.5.1 hUCMSCs	23
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	24
3.1 Kerangka Konseptual.....	24
3.2 Keterangan Kerangka Konsep	25
3.3 Hipotesis	26
BAB 4 METODE PENELITIAN	27
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	27
4.2 Sampel.....	28
4.2.1 Kriteria Inklusi	28
4.2.2 Kriteria Eksklusi	28
4.2.3 Kriteria putus uji	29
4.3 Besar Replikasi	29
4.4 Variabel Penelitian.....	30
4.4.1 Variabel bebas.....	30
4.4.2 Variabel terikat.....	30
4.4 Definisi Operasional Variabel.....	31
4.6 Tempat Penelitian	31
4.6.1 Tempat penelitian:.....	31
4.7 Materi dan bahan penelitian.....	32
4.7.1 Materi penelitian	32
4.7.2 Bahan penelitian.....	32
4.8 Cara Kerja	34
4.8.1 Perizinan <i>Ethical Clearance</i>	34
4.8.2 Prosedur Pengambilan Tali Pusat	34
4.8.3 Prosedur Isolasi dan Kultur Ekspansi hUCMSCs.....	35
4.9 Prosedur Pemberian hUCMSCs untuk Evaluasi Osseointegrasi Implan gigi pada Tikus Model Diabetes dan Osteoporosis	37

4.9.1 Pembuatan Tikus Model Osteoporosis	37
4.9.2 Pembuatan Tikus Model Diabetes	38
4.9.3 Prosedur Persiapan Injeksi hUCMSCs dengan Pelarut Gelatin	39
4.9.4 Prosedur Pemasangan Implan gigi pada Tulang Femur Tikus Model Osteoporosis dan Diabetes	40
4.9.5 Prosedur Injeksi hUCMSCs dan Pelarut Gelatin Pada Daerah Pemasangan Implan gigi di Femur Tikus Osteoporosis dan Diabetes	41
4.9.6 Terminasi Hewan Coba dan Pengambilan Spesimen Penelitian.....	41
4.9.7 Pemrosesan dan Pemeriksaan Spesimen Penelitian	42
4.9.8 Pewarnaan Imunohistokimia (IHC)	42
4.9.9 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data	44
4.10 Analisis Data.....	44
4.11 Alur penelitian	45
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	47
5.1 Hasil dan Analisis Data.....	49
5.2 Analisis Hasil Penelitian	49
BAB 6 PEMBAHASAN.....	52
BAB 7 PENUTUP	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Komponen implan gigi.....	7
Gambar 2.2. Proses osseointegrasi di sekitar implan	10
Gambar 2.3. Tahapan remodeling pada tulang	15
Gambar 4.1. Bahan implan gigi titanium untuk hewan coba	45
Gambar 4.2. Indeks Skala Remmele.....	49
Gambar 4.3. Daerah pemeriksaan area tulang di sekitar implan gigi.....	49
Gambar 5.1. Gambaran mikroskopis NFATc1 pada pembesaran 400x.....	52
Gambar 5.2. Grafik perbandingan rata-rata ekspresi NFATc1 kelompok kontrol dan perlakuan pada minggu keempat.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	54
Tabel 5.2. Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i>	54
Tabel 5.3. Hasil uji <i>Mann Whitney</i> antar kelompok.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Laik Etik.....	71
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	72
Lampiran 3. Hasil Analisis Sampel.....	75
Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik.....	76

DAFTAR SINGKATAN

α -MEM	: <i>α-Minimum Essential Medium</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation End Products</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
BM-MSCs	: <i>Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells</i>
BMP-2	: <i>Bone Morphogenetic Protein 2</i>
CLPs	: <i>Common Lymphoid Progenitors</i>
CMPs	: <i>Common Myeloid Progenitors</i>
DM	: <i>Diabetes Mellitus</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DXA	: <i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GBPT	: <i>Gedung Bedah Pusat Terpadu</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HSCs	: <i>Hematopoietic Stem Cells</i>
hUCMSCs	: <i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells</i>
IDF	: <i>International Diabetes Federation</i>
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IKK	: <i>Inhibitory κB (IκB) Kinases</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1β</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IR	: <i>Insulin Receptor</i>

ITD	: <i>Institute of Tropical Disease</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
M-CSF	: <i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
MEPs	: <i>Megakaryocyte–erythrocyte Progenitors</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor-κB</i>
NFAT	: <i>Nuclear Factor of Activated T-cells</i>
NFATc1	: <i>Nuclear Factor of Activated T-cells cytoplasmic-1</i>
OPG	: <i>osteoprotegerin</i>
Osx	: <i>osterix</i>
OVX	: <i>ovariectomy</i>
PBM	: <i>Peak Bone Mass</i>
PBS	: <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PTH	: <i>Parathyroid hormone</i>
RANK	: <i>Receptor Activator of Nuclear factor-κB</i>
RANKL	: <i>Receptor Activator of Nuclear factor-κB Ligand</i>
RL	: <i>Ringer Lactate</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RSUD	: <i>Rumah Sakit Umum Daerah</i>
Runx2	: <i>Runt-related transcription factor 2</i>
SCRDC	: <i>Stem Cell Research and Development Center</i>
SD	: <i>standar deviasi</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>

STZ	: Streptozotocin
T1DM	: <i>Type 1 Diabetes Mellitus</i>
T2DM	: <i>Type 2 Diabetes Mellitus</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming Growth Factor-β1</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
TRAF6	: <i>TNFR associated factors 6</i>
TRAP-	: <i>Tartrate-Resistant Acid Phosphatase-</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WJ	: <i>Wharton's Jelly</i>