

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

SKRIPSI



Oleh:

MAYANG AZIZA HANIF ARDIANTO

NIM: 021911133142

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

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

SKRIPSI



Oleh:

MAYANG AZIZA HANIF ARDIANTO

NIM: 021911133142

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

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

SKRIPSI

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

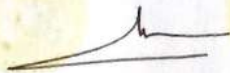
Oleh:

MAYANG AZIZA HANIF ARDIANTO

NIM: 021911133142

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Nike Hendrijantini, drg.,

M.Kes., Sp.Prod(K)

NIP: 195910061986012001

Pembimbing Serta



Dr. Mefina Kuntjoro, drg.,

M.Kes., Sp.Prod(K)

NIP: 197909292006042002

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 6 Januari 2023.

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

- 1. Prof. Dr. Nike Hendrijantini, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) (Ketua Penguji/Pembimbing Utama)**
- 2. Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) (Sekretaris Penguji/Pembimbing Serta)**
- 3. Bambang Agustuno S.T., drg., M.Kes., Sp.Pros(K) (Anggota Penguji)**
- 4. Ratri Maya Sitalaksmi, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.Pros(K) (Anggota Penguji)**
- 5. Imam Safari Azhar, drg., M.Kes., Sp.Pros (Anggota Penguji)**

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Mayang Aziza Hanif Ardianto

NIM : 021911133142

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

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

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

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 6 Januari 2023



Mayang Aziza Hanif Ardianto
NIM. 021911133142

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur saya pajatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul **“PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP EKSPRESI OSTEOKALSIN PADA IMPLAN GIGI MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS”** dapat diselesaikan dengan tepat waktu. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes., M.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Nike Hendrijantini, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) selaku ketua departemen prostodonsia sekaligus dosen pembimbing utama yang telah memberikan kesempatan serta meluangkan waktu dan tenaga dalam membimbing dan mengarahkan penelitian selama penyusunan skripsi.
3. Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) selaku dosen pembimbing serta yang turut memberikan bimbingan dan masukan serta meluangkan waktu dalam pengerjaan skripsi.
4. Bambang Agustuno S.T., drg., M.Kes., Sp.Pros(K), Ratri Maya Sitalaksmi, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.Pros(K), Imam Safari Azhar, drg., M.Kes., Sp.Pros, selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyempurnaan penulisan skripsi.
5. Seluruh staff dosen dan administrasi Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

6. Prof. Dr. Theresia Indah Budhy S., drg., M.Kes. selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan selama proses perkuliahan Strata 1 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
7. Ibu tercinta, Endah Rachmawati, Kakak Bagus Ardianto, dan Kakak Shira Qudrati yang telah memberikan semangat, doa dan dukungan dalam pengerjaan skripsi.
8. Teman-teman penelitian yaitu Alvin Phen, Anisa Cattleleya, dan Husniya Juwita yang telah membantu proses penelitian dari awal hingga akhir pengerjaan skripsi.
9. Sahabat-sahabat yang telah memberikan semangat, motivasi, dan dukungan dalam pembuatan skripsi.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu-satu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, 29 Desember 2022

Penulis

RINGKASAN

Kasus kehilangan gigi seringkali ditemukan pada orang lanjut usia (Lansia). Kehilangan gigi pada lansia berkaitan erat dengan proses penuaan yang menyebabkan lansia lebih rentan terkena penyakit kronis seperti osteoporosis dan diabetes melitus. Pada kondisi tersebut terjadi gangguan metabolisme tulang sehingga dianggap sebagai faktor risiko pemasangan implan gigi. *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (hUCMSCs) dapat menjadi alternatif terbaru terapi *stem cell* yang berperan dalam menginduksi dan mendorong pembentukan tulang. Osteokalsin merupakan parameter baik pada saat pembentukan tulang.

Metode: hUCMSCs diisolasi dari tali pusat plasenta manusia, dikultur, dan diekspansi pada medium *in vitro*. Pada pasase 5 *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) dari hUCMSCs diinjeksikan pada daerah pemasangan implan gigi di femur tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) model osteoporosis dan model diabetes melitus. Tikus model osteoporosis dilakukan prosedur ovariectomi dan tikus model diabetes diberi injeksi *streptozotocin* (STZ) secara intraperitoneal. Penelitian ini menggunakan 30 tikus Wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol osteoporosis (KO), kelompok kontrol diabetes (KD), kelompok perlakuan osteoporosis dengan induksi hUCSMCs (PO), dan kelompok perlakuan diabetes dengan induksi hUCMSCs (PD). Seluruh tikus diterminasi pada minggu keempat dan dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi osteokalsin. Data ekspresi osteokalsin dihitung dengan menggunakan indeks imunohistokimia Remmele dari 5 lapang pandang berbeda dengan pembesaran 400x.

Hasil dari penelitian ini terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi osteokalsin antara kelompok yang diinduksi dengan hUCMSCs dengan kelompok yang tidak diinduksi dengan hUCMSCs ($p < 0,05$). **Kesimpulan** yang diperoleh yaitu induksi *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (hUCMSCs) dapat meningkatkan ekspresi osteokalsin pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus.

ABSTRACT

***THE EFFECT OF hUCMSCs INDUCTION ON OSTEOCALCIN
EXPRESSION ON DENTAL IMPLANT IN OSTEOPOROSIS AND
DIABETES MELLITUS MODELS***

Background: Tooth loss are often found in elderly people. Tooth loss in the elderly is closely related to the aging process, in which cell function decrease physiologically. Decreased cell function can make the elderly more susceptible to chronic diseases such as diabetes mellitus and osteoporosis. In conditions of diabetes and osteoporosis, bone metabolism disorders occur so that they are considered as risk factors for dental implant. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells (hUCMSCs) can be an alternative to the latest stem cell therapy that plays a role in inducing and promoting bone formation. Osteocalcin is a good parameter in bone formation. **Purpose:** To determine the induction of hUCMSCs can increase or decrease osteocalcin expression in dental implant models of osteoporosis and diabetes mellitus. **Material and Methods:** The type of research used was an experimental laboratory posttest-only control group design. This study used 30 Wistar rats and randomly divided into 5 groups: osteoporosis control group without post-implant hUCMSCs induction (KO), osteoporosis treatment group with post-implant hUCMSCs induction (KD), diabetes control group without post-implant hUCMSCs induction (KD), the diabetes treatment group with hUCMSCs induced post implant (PD), and the negative control group without hUCMSCs induced post implant (K-). All rats were terminated in the fourth week and were subjected to IHC examination to see osteocalcin expression. **Results:** The expression of osteocalcin in the hUCMSCs-induced group was higher than the entire control group. There was a significant difference in the mean osteocalcin expression score in the hUCMSCs induced group and all control groups ($p < 0.05$). **Conclusion:** Induction of hUCMSCs can increase osteocalcin expression in dental implant models of osteoporosis and diabetes mellitus.

Keywords: osteocalcin, osteoporosis, diabetes melitus, hUCMSCs, dental implant

ABSTRAK

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

Latar Belakang: Kasus kehilangan gigi seringkali ditemukan pada orang lanjut usia (Lansia). Kehilangan gigi pada lansia berkaitan erat dengan proses penuaan, yaitu penurunan fungsi sel secara fisiologis. Penurunan fungsi sel dapat menyebabkan lansia lebih rentan terkena penyakit kronis seperti diabetes melitus dan osteoporosis. Pada kondisi diabetes dan osteoporosis terjadi gangguan metabolisme tulang sehingga dianggap sebagai faktor risiko pada pemasangan implan. *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (hUCMSCs) dapat menjadi alternatif terbaru terapi *stem cell* yang berperan dalam menginduksi dan mendorong pembentukan tulang. Osteokalsin merupakan parameter baik pada pembentukan tulang. **Tujuan:** Untuk mengetahui induksi hUCMSCs dapat meningkatkan atau menurunkan ekspresi osteokalsin pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus. **Materi dan Metode:** Jenis penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratory posttest-only control group design*. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus Wistar dan dibagi acak menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol osteoporosis tanpa induksi hUCMSCs pasca pemasangan implan (KO), kelompok perlakuan osteoporosis dengan induksi hUCMSCs pasca pemasangan implan (KD), kelompok kontrol diabetes tanpa induksi hUCMSCs pasca pemasangan implan (KD), kelompok perlakuan diabetes dengan induksi hUCMSCs pasca pemasangan implan (PD), dan kelompok kontrol negatif tanpa induksi hUCMSCs pasca pemasangan implan (K-). Seluruh tikus diterminasi pada minggu keempat dan dilakukan pemeriksaan IHC untuk melihat ekspresi osteokalsin. **Hasil:** Ekspresi osteokalsin pada kelompok dengan induksi hUCMSCs lebih tinggi daripada seluruh kelompok kontrol. Terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata skor ekspresi osteokalsin pada kelompok induksi hUCMSCs dengan seluruh kelompok kontrol ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Induksi hUCMSCs dapat meningkatkan ekspresi osteokalsin pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus.

Kata Kunci: osteokalsin, osteoporosis, diabetes melitus, hUCMSCs, implan gigi.

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN.....	i
SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI.....	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN.....	viii
<i>ABSTRACT</i>	x
ABSTRAK.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
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.....	5
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 Osseointegrasi Implan Gigi.....	8
2.2 Osteoporosis	11
2.2.1 Pengaruh Osteoporosis pada Metabolisme Tulang	11
2.3 Diabetes Melitus.....	13

2.3.1 Pengaruh Diabetes Melitus pada Metabolisme Tulang.....	13
2.4 <i>Stem Cell</i>	14
2.4.1 <i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells</i> (hUCMSCs).....	16
2.5 Osteokalsin	17
2.5.1 Osteokalsin Sebagai Biomarker	18
 BAB 3 KERANGKA KONSEP	 19
3.1 Kerangka Konseptual	19
3.2 Keterangan Kerangka Konseptual.....	20
3.3 Hipotesis.....	21
 BAB 4 METODE PENELITIAN	 22
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	22
4.2 Sampel	23
4.2.1 Kriteria Inklusi	23
4.2.2 Kriteria Eksklusi.....	23
4.2.3 Kriteria Putus Uji	23
4.3 Besar Replikasi.....	23
4.4 Variabel Penelitian	25
4.4.1 Variabel Bebas	25
4.4.2 Variabel Terikat.....	25
4.4.3 Variabel Terkendali.....	25
4.5 Definisi Operasional Variabel.....	25
4.6 Lokasi Penelitian	26
4.7 Materi dan Bahan Penelitian	27
4.7.1 Materi Penelitian	27
4.7.2 Bahan Penelitian.....	27
4.8 Cara Kerja	28
4.8.1 Perijinan <i>Ethical Clearance</i>	28
4.8.2 Prosedur Pengambilan Tali Pusat.....	28
4.8.3 Prosedur dan Isolasi Kultur Ekspansi hUCMSCs	29
4.8.4 Pembuatan Tikus Model Osteoporosis dan Diabetes Melitus.....	31
4.8.5 Prosedur Persiapan Injeksi hUCMSCs dengan Pelarut Gelatin	32
4.8.6 Prosedur Pemasangan Implan pada Femur Tikus	33

4.8.7 Prosedur Injeksi hUCMSCs dan Pelarut Gelatin pada Daerah Pemasangan Implan di Femur Tikus Osteoporosis dan Diabetes Melitus	33
4.8.8 Terminasi Hewan Coba dan Pengambilan Spesimen Penelitian.....	34
4.8.9 Pemrosesan dan Pemeriksaan Spesimen Penelitian	35
4.8.10 Pewarnaan Imunohistokimia.....	35
4.9 Alur Penelitian.....	37
4.10 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	37
4.11 Pengolahan dan Analisis Data.....	38
 BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	40
5.1 Hasil Pemeriksaan Histologi	40
5.2 Hasil Penelitian	41
 BAB 6 PEMBAHASAN.....	45
 BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	49
7.1 Kesimpulan.....	49
7.2 Saran.....	49
 DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Komponen dasar implan gigi	7
Gambar 2.2 <i>Timeline</i> Osseointegrasi	9
Gambar 2.3 Skema proses diferensiasi MSCs	15
Gambar 2.4 Diagram tali pusat manusia	16
Gambar 4.1 Skema rancangan penelitian	22
Gambar 4.2 Skema alur penelitian	37
Gambar 4.3 Daerah pemeriksaan area tulang di sekitar implan gigi	38
Gambar 4.4 Indeks skala remmele (IRS)	38
Gambar 5.1 Perbandingan hasil pemeriksaan mikroskopik ekspresi osteokalsin antar kelompok	40
Gambar 5.2 Grafik perbandingan rata-rata skor ekspresi osteokalsin antar kelompok.	41

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	42
Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene's Test</i>	42
Tabel 5.3 Hasil Uji <i>Oneway Anova</i>	43
Tabel 5.4 Hasil Uji <i>Post-hoc Tukey</i>	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat <i>Ethical Clearance</i>	57
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	58
Lampiran 3. Hasil Skor Ekspresi Osteokalsin	60
Lampiran 4. Hasil Analisis Data Statistik.....	61

DAFTAR SINGKATAN

α -MEM	: <i>α-Minimum Essential Medium</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation End products</i>
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
BGALP	: <i>Bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein</i>
BIC	: <i>Bone-Implant Contact</i>
BMD	: <i>Bone Mineral Density</i>
BMP-2	: <i>Bone Morphogenetic Protein 2</i>
BMP-R	: <i>Bone Morphogenetic Protein Receptor</i>
DAMPs	: <i>Damage-associated molecular patterns</i>
DMSO	: <i>Dimethyl sulfoxide</i>
ESC	: <i>Embryonic stem cell</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
GLA	: <i>Gama Carboxyglutamic Acid</i>
HRP	: <i>Horseradish Peroxidase</i>
hUCMSCs	: <i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells</i>
IL-1 β	: <i>interleukin-1β</i>
IL-6	: <i>interleukin-6</i>
IL-8	: <i>interleukin-8</i>
iPSCs	: <i>induced pluripotent stem cells</i>
IRS	: <i>Immunoreactive score</i>
ISQ	: <i>Implant Stability Quotient</i>
MLD-STZ	: <i>Multiple Low Dose-Streptozotocin</i>
MSCs	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>

NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
OPG	: <i>Osteoprotegrin</i>
Osx	: <i>Osterix</i>
PBS	: <i>Phosphate-buffered saline</i>
PT	: <i>Periotest</i>
RAGEs	: <i>Receptor for advanced glycation end products</i>
RANKL	: <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
RFA	: <i>Resonance Frequency Analysis</i>
RL	: <i>Ringer lactate</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
Runx2	: <i>Runt-related transcription factor 2</i>
Smad	: <i>Small Mothers Against Decapentaplegic</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming Growth Factor Beta 1</i>
TGF β R	: <i>Transforming Growth Factor Beta Receptor</i>