

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP
EKSPRESI TNF- α PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

SKRIPSI



Oleh:

ANISA CATTELEYA NUR SYA'BANI

NIM: 021911133191

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2022

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP
EKSPRESI TNF- α PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

SKRIPSI



Oleh:

ANISA CATTELEYA NUR SYA'BANI

NIM: 021911133191

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2022

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP
EKSPRESI TNF- α PADA IMPLAN GIGI
MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS**

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan
Dokter Gigi Di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya**

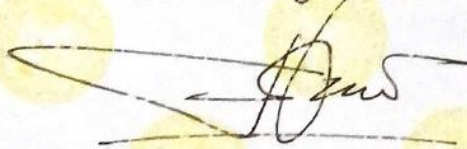
Oleh:

ANISA CATTELEYA NUR SYA'BANI

NIM: 021911133191

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Bambang Agustono, drg., M.Kes.,

Sp.Prof(K)

NIP: 196308271989031002

Pembimbing Serta



Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes.,

Sp.Prof(K)

NIP: 197909292006042002

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2022

PENETAPAN PANITIA PENGUJI SKRIPSI

Skripsi ini telah diuji pada tanggal 5 Januari 2022

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. Bambang Agustono Satmoko Tumali., 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. Agus Dahlan, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) (Anggota Penguji)
4. Harry Laksono, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) (Anggota Penguji)
5. Muhammad Dimas Aditya Ari, drg., M.Kes., Sp.Pros(K)
(Anggota Penguji)

SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Anisa Catteleya Nur Sya'bani

NIM : 021911133191

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas : Kedokteran Gigi

Jenjang : Sarjana (S1)

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

“PENGARUH INDUKSI hUCMSCs TERHADAP EKSPRESI TNF- α PADA
IMPLAN GIGI MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS”

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

Surabaya, 4 Januari 2022



10000
METEAI
TEMPEL
6D13AAKX266486280

Anisa Catteleya Nur Sya'bani

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat beserta karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Induksi hUCMSCs Terhadap Ekspresi TNF- α Pada Implan Gigi Model Osteoporosis dan Diabetes Melitus”** ini dengan tepat waktu sebagai salah satu syarat menyelesaikan Sarjana 1 (S1) program studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes., M.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas untuk menempuh pendidikan S1 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Nike Hendrijantini, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) selaku Ketua Departemen Prostodonsia Universitas Airlangga sekaligus pembimbing khusus yang telah memberikan fasilitas serta meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing saya dalam pengerjaan skripsi ini hingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. Bambang Agustono., drg., M.Kes., Sp.Pros(K) selaku dosen pembimbing utama, yang telah memberikan bimbingan ilmu, moral, dan psikologis serta memberikan saran dan masukan yang bermanfaat di setiap tahapan pengerjaan skripsi ini.
4. Dr. Mefina Kuntjoro, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) selaku dosen pembimbing serta, yang telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk senantiasa

membimbing dan mengarahkan dengan sabar dan teliti sehingga skripsi ini bisa terselesaikan dengan baik.

5. Agus Dahlan, drg., M.Kes., Sp.Pros(K), Harry Laksono, drg., M.Kes., Sp.Pros(K), dan Muhammad Dimas Aditya Ari, drg., M.Kes., Sp.Pros(K) selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang bermanfaat bagi skripsi ini.
6. Yuliati, drg., M.Kes., selaku dosen wali yang telah memberikan masukan dan arahan selama menjalani program pendidikan S1 di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
7. Seluruh staff dan administrasi Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga atas arahan dan bantuannya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
8. Djoko Legowo, drh., M.Kes dan Annise, drh., Patologi Anatomi FKH UNAIR, Mbak Ayu dan Pak Ari Patologi Anatomi FK UNAIR yang telah membantu kelancaran penelitian ini sampai akhir.
9. Keluarga besar saya, Hari Purnomo, Lilik Sugiharti, Ummu Aiman Zulfa, Alm. Zahidah Nisrina Ikbar yang telah memberikan dukungan material, dan non material berupa motivasi dan do'a tiada henti selama penyusunan skripsi ini.

Surabaya, 4 Januari 2023

Penulis

RINGKASAN

Keberhasilan perawatan implan gigi ditentukan oleh proses osseointegrasi. Osseointegrasi adalah proses tercapainya kontak struktural dan fungsional antara permukaan implan gigi dengan jaringan tulang. Proses ini dapat terganggu oleh adanya penyakit sistemik, seperti, osteoporosis dan diabetes melitus. Keduanya memiliki prevalensi cukup tinggi di Indonesia. Baik osteoporosis maupun diabetes melitus, keduanya dapat meningkatkan TNF- α yang menstimulasi osteoklastogenesis, sehingga terjadi resorpsi tulang yang apabila berkepanjangan dapat menurunkan massa tulang yang diperlukan untuk osseointegrasi implan gigi. Untuk itu, terapi alternatif hUCMSCs dipertimbangkan untuk meningkatkan osseointegrasi implan gigi. **Metode:** Jenis penelitian ini adalah *true experimental randomized posttest only control group design*. Sebanyak 30 ekor tikus Wistar dibagi kedalam 5 kelompok secara acak yang terdiri dari kelompok kontrol dan perlakuan. Seluruh tikus diterminasi 4 minggu untuk mengamati ekspresi TNF- α menggunakan pemeriksaan imunohistokimia dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x pada 5 lapang pandang. **Hasil:** Terdapat penurunan ekspresi TNF- α pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus dengan induksi hUCMSCs pada minggu ke-4. **Kesimpulan:** Pada minggu ke-4, induksi hUCMSCs dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada model osteoporosis dan diabetes melitus.

ABSTRACT**THE EFFECT OF hUCMSCs INDUCTION ON TNF- α ON DENTAL IMPLANT IN OSTEOPOROSIS AND DIABETES MELLITUS MODELS**

Background: Osteoporosis and diabetes mellitus are two systemic diseases with a relatively high prevalence in Indonesia. The success of dental implant treatment is determined by the osseointegration process. The osseointegration process requires the quality, quantity, and capacity of bone healing. This condition is disrupted in people with osteoporosis and diabetes mellitus. Both increase Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) through different mechanisms resulting in bone resorption. Under normal conditions, Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells (hUCMSCs) can reduce inflammation by suppressing the number of pro-inflammatory cytokines, one of which is TNF- α . For this reason, hUCMSCs have the potential to become an alternative therapy to optimize dental implant osseointegration in patients with osteoporosis and diabetes mellitus. **Objective:** The aim of this study was to prove hUCMSCs induction had an effect on reducing TNF- α expression on dental implant in osteoporosis and diabetes mellitus models. **Methods:** This study is a true experimental randomized posttest only control group design. Thirty Wistar rats were randomly divided into 5 groups consisting of the control and treatment groups to be observed for 4 weeks. All mice were terminated to observe TNF- α expression using immunohistochemical examination. **Results:** There was a decrease in TNF- α expression after induction of hUCMSCs on dental implant in osteoporosis and diabetes mellitus models. **Conclusion:** hUCMSCs have anti-inflammatory properties that can reduce TNF- α expression on dental implant in osteoporosis and diabetes mellitus models so that dental implant osseointegration becomes better.

Keywords: Dental Implant, Osseointegration, Osteoporosis, Diabetes Mellitus, TNF- α , Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells

ABSTRAK

PENGARUH INDUKSI *hUCMSCs* TERHADAP EKSPRESI TNF- α PADA IMPLAN GIGI MODEL OSTEOPOROSIS DAN DIABETES MELITUS

Latar Belakang: Osteoporosis dan diabetes melitus merupakan dua penyakit sistemik dengan prevalensi cukup tinggi di Indonesia. Keberhasilan perawatan implan gigi ditentukan oleh proses osseointegrasi. Proses osseointegrasi memerlukan kualitas, kuantitas dan kapasitas penyembuhan tulang. Kondisi tersebut terganggu pada penderita osteoporosis dan diabetes melitus. Keduanya meningkatkan *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α) melalui mekanisme yang berbeda sehingga terjadi resorpsi tulang. Dalam kondisi normal, *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (hUCMSCs) dapat menurunkan inflamasi dengan menekan jumlah sitokin pro inflamasi, salah satunya, TNF- α . Untuk itu, hUCMSCs berpotensi menjadi terapi alternatif untuk mengoptimalkan osseointegrasi implan gigi pada penderita osteoporosis dan diabetes melitus. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan pemberian induksi hUCMSCs berpengaruh terhadap penurunan ekspresi TNF- α pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus. **Metode Penelitian:** Jenis penelitian ini adalah *true experimental randomized posttest only control group design*. 30 ekor tikus Wistar dibagi kedalam 5 kelompok secara acak yang terdiri dari kelompok kontrol dan perlakuan untuk diamati selama 4 minggu. Seluruh tikus diterminasi untuk mengamati ekspresi TNF- α menggunakan pemeriksaan imunohistokimia. **Hasil:** Terdapat penurunan ekspresi TNF- α setelah induksi hUCMSCs pada implan gigi model osteoporosis dan diabetes melitus. **Kesimpulan:** hUCMSCs memiliki sifat anti inflamasi yang dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada model osteoporosis dan diabetes melitus sehingga osseointegrasi implan gigi menjadi lebih baik.

Kata Kunci: Implan Gigi, Osseointegrasi, Osteoporosis, Diabetes Melitus, TNF- α , *Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells*

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
<i>ABSTRACT</i>	ix
ABSTRAK	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Penyembuhan Tulang	6
2.1.1 Fase Inflamasi.....	6
2.1.2 Fase Perbaikan Tulang.....	7
2.1.3 Fase Remodeling Tulang	8
2.2 Implan Gigi.....	9
2.2.1 Osseointegrasi Implan Gigi	10

2.2.2 Stabilitas Primer Implan Gigi	13
2.3 Diabetes Melitus	14
2.4 Osteoporosis	16
2.5 <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF- α)	17
2.6 <i>Stem Cells</i>	19
2.6.1 <i>Mesenchymal Stem Cells</i> (MSC)	20
2.6.2 <i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells</i> (hUCMSCs)	21
2.6.3 Pengaruh hUCMSCs Terhadap Ekspresi TNF- α	23
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	 24
3.1 Kerangka Konsep	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
4.4.3 Variabel Terkendali	30
4.5 Definisi Operasional Variabel	31
4.6 Lokasi Penelitian	31
4.7 Alat dan Bahan penelitian	32
4.7.1 Alat Penelitian	32
4.7.2 Bahan Penelitian	34
4.8 Cara Kerja	36
4.8.1 Pengajuan Etik Penelitian	36
4.8.2 Prosedur pengambilan tali pusat	37

4.8.3 Prosedur isolasi dan kultur ekspansi hUCMSCs	37
4.8.4 Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus dan Osteoporosis	39
4.8.5 Prosedur Persiapan Injeksi hUCMSCs dengan Pelarut Gelatin.....	41
4.8.6 Prosedur Pemasangan Implan Pada Femur Tikus.....	42
4.8.7 Prosedur Injeksi hUCMSCs dan Pelarut Gelatin Pada Daerah Pemasangan Implan di Femur Tikus Diabetes dan Osteoporosis.....	43
4.8.8 Terminasi Hewan Coba dan Pengambilan Spesimen Penelitian	43
4.8.9 Pemrosesan dan Pemeriksaan Spesimen Penelitian.....	44
4.8.10 Pewarnaan Imunohistokimia	45
4.9 Alur Penelitian.....	47
4.10 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data	48
4.11 Pengolahan dan Analisis Data	49
 BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	 50
5.1 Data Penelitian.....	50
5.2 Analisis dan Hasil Penelitian	53
 BAB 6 PEMBAHASAN	 56
BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN	62
7.1 Simpulan	62
7.2 Saran	62
 DAFTAR PUSTAKA	 63
 LAMPIRAN	 73

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Tabel indeks skala Remmele.....	49
Tabel 5. 1 Hasil rata-rata skor indeks skala Remmele ekspresi TNF- α pada masing-masing kelompok.....	52
Tabel 5. 2 Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk	53
Tabel 5. 3 Hasil Uji Homogenitas Data dengan Levene's Test.....	53
Tabel 5. 4 Hasil Uji Statistik dengan One Way Anova.....	54
Tabel 5. 5 Hasil Uji Tukey	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Kondisi diabetes melitus menyebabkan kehilangan tulang.....	15
Gambar 2. 2 Peran hormon estrogen dalam meregulasi sel tulang.....	17
Gambar 2. 3 Pengaruh peningkatan jumlah TNF- α terhadap patogenesis penyakit osteoporosis.....	18
Gambar 4. 1 Skema rancangan penelitian pada model diabetes melitus dan osteoporosis.....	27
Gambar 4. 2 Bahan titanium implan untuk hewan coba dengan ukuran 1 x 2 mm..	42
Gambar 4. 3 Daerah pemeriksaan area tulang di sekitar implan gigi.....	46
Gambar 5. 1 Gambar mikroskopis ekspresi TNF- α	50
Gambar 5. 2 Gambar mikroskopis perbandingan ekspresi TNF- α pada area sekeliling implan gigi.. ..	51
Gambar 5. 3 Diagram perbandingan rata-rata skor Indeks Remmele kelompok K-, PO, KO, PD, dan KD	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat kelaikan etik penelitian.....	73
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	74
Lampiran 3. Hasil Rata-rata Skor Ekspresi TNF- α	79
Lampiran 4. Hasil Analisis Data Statistik.....	81

DAFTAR SINGKATAN

α - MEM	<i>α - minimum essential medium</i>
AGE	<i>Advanced Glycation End Products</i>
ALP	<i>Alkaline Phosphatase</i>
BMP	<i>Bone Morphogenic Protein</i>
BMP-2	<i>Bone Morphogenic Protein-2</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
DAMPS	<i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
EDTA	<i>Ethylene Dianine Tetra Acetic Acid</i>
ESC	<i>Embryonic Stem Cells</i>
FACS	<i>Fluorescent Activated Cell Sorting</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FDA	<i>Food and Drug Association</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
GBPT	Gedung Bedah Pusat Terbuka
HRP	<i>Horseradish Peroxidase</i>
hUCMSCs	<i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells</i>
IFN- γ	Interferon gamma
IHK	Imunohistokimia
IgG1	<i>Immunoglobulin G-1</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-1 β	<i>Interleukin-1β</i>
IL-4	<i>Interleukin-4</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
IL-12	<i>Interleukin-12</i>
ISQ	<i>Implant Stability Quotient</i>
IT	<i>Insertion Torque</i>

M-CSF	<i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
M1	<i>Macrophage 1</i>
M2	<i>Macrophage 2</i>
MDA	<i>Malonyldialdehyde</i>
MLD-STZ	<i>Multiple Low Dose-Streptozotocin</i>
MSC	<i>Mesenchymal Stem Cells</i>
MEM	<i>α –Minimum Essential Medium</i>
NF- κ B	<i>Nuclear Factor Kappa-light- chain-enhancer of activated B cells</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NLRP3	<i>NLR Family Pyrin Domain Containing 3</i>
Nrf2	<i>Nuclear Factor Erythroid 2–Related Factor 2</i>
OPG	<i>Osteoprotegerin</i>
Osx	<i>Osterix</i>
Ovx	<i>Ovariektomi</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PDGF	<i>Platelet-derived Growth Factor</i>
PGE2	<i>Prostaglandin E2</i>
RAGE	<i>Receptor of Advanced Glycation End Products</i>
RANK	<i>Receptor Activator of Nuclear factor-Kappa B</i>
RANKL	<i>Receptor for RANK 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>
SRDC	<i>Stem Cell Research and Development Center</i>
STZ	<i>Streptozotocin</i>
TGF- β	<i>Transforming growth factor β</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TRAP	<i>Tartrate-resistant acid phosphatase</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>