

**EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA
TIKUS WISTAR MODEL OSTEOPOROSIS**

KARYA TULIS AKHIR



Oleh :

SHELLA MARTHIANDARI
021518076306

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
DEPARTEMEN PROSTODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

**EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA TIKUS WISTAR MODEL
OSTEOPOROSIS**

KARYA TULIS AKHIR

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan
Pendidikan Dokter Gigi Spesialis di Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga Surabaya**

Oleh :

**Shella Marthiandari
021518076306**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
DEPARTEMEN PROSTODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

**EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA
TIKUS WISTAR MODEL OSTEOPOROSIS**

LEMBAR PENGESAHAN

Telah Disetujui Sebagai Karya Tulis Akhir
Untuk Menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi Spesialis
Program Studi Prostodonsia
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Airlangga

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



Dr. Nike Hendrijantini, drg., MKes., Sp.Pros (K)
NIP. 195910061986012001



Soekobagiono, drg., MS., Sp.Pros (K)
NIP. 195412151980021001

Ketua Program Studi Prostodonsia



Prof. Dr. Utari Kresnoadi, drg., MS., Sp.Pros (K)
NIP. 195401111979012001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
DEPARTEMEN PROSTODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

Karya tulis ini telah disetujui pada

Tanggal : 14 Desember 2017

PANITIA PENGUJI KARYA TULIS AKHIR

Ketua : Prof. Dr. Utari Kresnadi drg., MS, Sp.Pros (K)

Anggota : 1. Dr. Nike Hendrijantini, drg., MS, Sp.Pros (K)

2. Soekobagiono, drg., MS, Sp.Pros (K)

3. Agus Dahlan drg., Mkes., Sp.Pros (K)

4. Dr. Hendrik Setia Budi, drg., Mkes

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : Shella Marthiandari
NIM : 021518076306
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Prostodonsia
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya
Jenjang : Spesialis (Sp)

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

EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA TIKUS WISTAR MODEL OSTEOPOROSIS

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

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

Surabaya, 22 Desember 2017



Shella Marthiandari

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui karya ilmiah saya dengan judul :

**EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA TIKUS WISTAR
MODEL OSTEOPOROSIS**

Untuk dipublikasikan atau disampaikan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 22 Desember 2017



Shella Marthiandari

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis akhir ini. Karya tulis yang berjudul “EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA TIKUS WISTAR MODEL OSTEOPOROSIS” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Program Studi Prostodonsia di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Dalam penulisan karya tulis ini, penulis tidak lepas dari dorongan dan bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis ingin mengucapkan penghargaan dan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada :

1. Dr. R. Darmawan Setjianto, drg., Mkes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di fakultas ini.
2. Dr. Nike Hendrijantini, drg., MS, Sp.Pros (K) selaku Ketua Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, juga sebagai Pembimbing I yang telah memberikan banyak masukan dan bimbingan yang sangat berarti dalam penulisan karya ilmiah ini.
3. Prof. Dr. Utari Kresnoadi drg., MS, Sp.Pros (K) selaku Ketua Program Studi Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang selaku dosen penguji yang telah memberikan koreksi dan masukan yang berarti dalam penulisan karya tulis ini.

4. Soekobagiono, drg., MS, Sp.Pros (K) selaku Pembimbing II yang telah memberikan dukungan dan bimbingan yang berarti dalam penulisan karya ilmiah ini.
5. Agus Dahlan drg., Mkes., Sp.Pros (K) dan Dr. Hendrik Setia Budi, drg., Mkes selaku dosen penguji yang telah memberikan koreksi dan masukan yang berarti dalam penulisan karya tulis ini.
6. Seluruh staf pengajar Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Program Studi Prostodonsia yang telah banyak memberikan tambahan ilmu selama masa studi.
7. Pak Ari selaku tenaga laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Ibu Endang selaku tenaga Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Bapak Djoko Legowo, drh., Mkes., selaku staf di Departemen Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, dan Taufan Bramantoro, drg., Mkes., selaku dosen Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah membantu setiap tahapan penting dalam pelaksanaan penelitian.
8. Terima kasih sedalam-dalamnya kepada orang tua saya tercinta Drs. H. Marjoni Mamasta, MM , dan drg. Hj. Suriana Simanjuntak .; mertua saya dr. H. Abdul Razak Dalimunthe Sp.A dan Hj. Faizah Hanum Lubis bsc; kakak saya dr. Cynthea Prima M.Ked(Ped), Sp.A, Kakak dan abang ipar saya dr. Hafiza Soraya Sp.PK dan dr. Badai Buana Nasution M.Ked(Ped), Sp.A, adik saya tercinta Mario Rivando Mamasta SE, Annisa Ridha

Mutiara dan adik ipar saya dr. Wilda Khairani Dalimunthe yang dengan tulus telah memberikan doa, dukungan dan semangat hingga penulisan karya tulis akhir ini dapat terselesaikan.

9. Ucapan terimakasih yang mendalam kepada suami saya tercinta dr. Ikromi Dalimunthe M.Ked (Ped), Sp.A atas segala doa, kasih sayang, pengorbanannya dan ketulusannya untuk selalu menemani, mendukung dan memotivasiku dalam menjalani pendidikan ini.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan program pendidikan ini.
11. Teman-teman Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Prostodonsia FKG Unair angkatan 2015, terima kasih atas dukungan dan kerjasamanya dalam penyelesaian karya tulis akhir ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu secara langsung dan tidak langsung telah banyak membantu dari awal proses penulisan hingga penyelesaian karya tulis akhir ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa karya tulis akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu diharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dari karya tulis akhir ini. Semoga karya tulis akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya.

Surabaya, 22 Desember 2017

Penulis

RANKL AND OPG EXPRESSION IN THE WISTAR RATS MANDIBLE MODEL OF OSTEOPOROSIS

Abstract

Background : Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue. Elderly patients whose demands of oral prosthetic rehabilitation have high risk of this disease as decreasing amount of estrogen. RANKL is a key mediator in the osteoclast formation process. RANKL binding to RANK receptors in the pre-osteoblast surface leads to activation of the terminal kinase junction and the activation of the kappaB nuclear factor leading to osteoclast formation. OPG is a molecule that acts as a binder and inhibitor of RANKL bond to RANK because it can prevent osteoclastogenesis. **Purpose :** This research aimed to present correlation between Rankl expression with OPG expression on the mandibular bone rat model osteoporosis. **Material and Method :** 13 samples of females wistar rats were randomly assigned to *sham surgery* (SHS control group) or ovariectomy (OVX test group). 12 weeks after ovariectomized, wistar rats were sacrificed and were tested the expression of RANKL and OPG using immunohistochemistry. **Result :** In this study show there were significant RANKL and OPG expression in SHS and OVX groups and there was a significant difference between the RANKL-OPG ratio of SHS control group than the RANKL-OPG ratio of OVX group. **Conclusion :** Rankl ratio in OVX group were higher than the Rankl ratios in the SHS group, while the OVX group . OPG ratio in OVX group had a lower mean value than the SHS rats group.

Keywords : *Osteoporosis, RANKL , OPG , Ovariectomy.*

EKSPRESI RANKL DAN OPG PADA MANDIBULA TIKUS WISTAR MODEL OSTEOPOROSIS

ABSTRAK

Latar Belakang : Osteoporosis merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya masa tulang yang rendah dan kerusakan pada mikroarsitektur jaringan tulang yang menyebabkan peningkatan resiko fraktur. RANKL merupakan kunci mediator pada proses pembentukan osteoklas. Pengikatan RANKL pada reseptor RANK dipermukaan pre-osteoblas menyebabkan aktivasi *jun terminal kinase* dan aktivasi *nuclear factor-kappaB* yang mengarah pada pembentukan osteoklas. OPG merupakan molekul yang bertindak sebagai pengikat dan penghambat ikatan RANKL ke RANK karena dapat mencegah Osteoklastogenesis. **TUJUAN :** Melihat korelasi ekspresi RANKL dan OPG pada tulang mandibula antara tikus model Osteoporosis dibandingkan tikus normal dan rasio ekspresi RANKL dan OPG pada tulang mandibula antara tikus model Osteoporosis dibandingkan tikus normal. **Material dan Metode :** 13 sampel tikus wistar betina dipilih secara random untuk dilakukan *Sham surgery* (SHS) dan kelompok ovariektomi (OVX). 12 minggu setelah ovariektomi, tikus wistar dikorbankan dan di periksa dengan melihat ekspresi RANKL dan OPG dengan menggunakan imunohistokimia. **Hasil :** Pada penelitian ini terdapat signifikan ekspresi RANKL dan OPG pada kelompok SHS dan OVX dan terdapat perbedaan yang signifikan antara rasio RANKL-OPG tikus kontrol SHS dibandingkan rasio RANKL/OPG tikus OVX **Kesimpulan :** Ekspresi Rankl pada tikus model osteoporosis lebih tinggi daripada rasio Rankl pada kelompok tikus SHS , Ekspresi OPG kelompok tikus OVX memiliki nilai rerata yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus SHS dan rasio ekspresi RANKL/OPG pada tulang mandibula tikus model Osteoporosis lebih tinggi dibandingkan tikus normal .

Kata Kunci : Osteoporosis, RANKL , OPG , Ovariektomy.

RINGKASAN

Osteoporosis merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya masa tulang yang rendah dan kerusakan pada mikroarsitektur jaringan tulang yang menyebabkan peningkatan resiko fraktur.

Pada wanita yang mengalami menopause, terjadi penurunan densitas mineral tulang (*Bone Mineral Density*) yang dapat menyebabkan resiko kehilangan gigi dan tulang alveolar.

Osteoporosis terjadi tidak hanya terjadi pada tulang lumbal, femur dan radius tetapi juga terjadi pada tulang mandibula oleh karena itu osteoporosis merupakan penyakit yang perlu mendapat perhatian oleh para dokter gigi karena osteoporosis terjadi pada tulang mandibula.

Resorpsi tulang mandibula merupakan salah satu masalah bagi dokter gigi, karena dapat mempengaruhi dukungan, retensi, stabilitas dan fungsi pengunyahan pemakai gigi tiruan, oleh karena itu penting bagi dokter gigi dan *prosthodontist* khususnya untuk mendiagnosis densitas tulang rahang terutama pada wanita pasca menopause sebelum melakukan perawatan prostodontik terutama dalam pemasangan implan. Pemasangan implan harus mengetahui densitas tulang rahang pada wanita *pasca menopause* untuk mencegah terjadinya kegagalan pada pemasangan implan (Lindawati, 2012).

Dental implan adalah suatu prosedur operasi dengan menanam logam seperti titanium pada tulang rahang melalui proses biologi yang dikenal dengan *osseointegration* sebagai tempat pegangan gigi tiruan. Terjadinya *osseointegration* antara implant dan tulang merupakan syarat penting untuk keberhasilan perawatan implan gigi. Pada penelitian Misch terjadi kegagalan implant hingga 35% pada tulang dengan densitas yang jelek sehingga tidak terjadinya *osseointegration* antara implant dan tulang (Misch, 2008).

Pada proses resorpsi tulang, osteoklas merupakan komponen utama yang berperan dalam proses tersebut. Osteoklas adalah multisel yang berasal dari monosit / makrofag dan merupakan sel penting yang berperan terhadap resorpsi

tulang. Osteoklas baru dapat bekerja apabila sudah dalam keadaan matur dan teraktivasi.

Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) merupakan kunci mediator pada proses pembentukan osteoklas. RANKL diekspresikan oleh osteoblas. Pengikatan RANKL pada reseptor RANK (*Receptor activator of nuclear factor kappaB*) dipermukaan pre-osteoblas menyebabkan aktivasi *jun terminal kinase* dan aktivasi *nuclear factor-kappaB* yang mengarah pada pembentukan osteoklas.

Osteoprotegrin (OPG) merupakan inhibitor alami dari RANKL. OPG merupakan molekul yang menyerupai reseptor *tumor necrosis factor* yang bertindak sebagai pengikat dan penghambat ikatan RANKL ke RANK karena dapat mencegah Osteoklastogenesis. OPG merupakan faktor penghambat osteoklastogenesis yang disekresi oleh progenitor osteoblast. OPG kemudian akan berikatan dengan RANKL untuk menghambat Osteoklastogenesis.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara ekspresi RANKL dan OPG pada tulang mandibula tikus model osteoporosis. 13 sampel tikus wistar betina usia 12 minggu dengan berat 200 gram dibagi secara acak menjadi dua kelompok, yaitu kelompok *Sham surgery* (SHS) dan Ovariectomi (OVX). Tikus model osteoporosis kelompok perlakuan ditimbang dan dilakukan anestesi intramuskulus dengan kombinasi 2% xylazine 1cc dan 10% ketamine, 12 minggu setelah dilakukan *Sham surgery* atau ovariectomi, tikus wistar determinasi lalu dilakukan pengambilan tulang rahang untuk pemeriksaan imunohistokimia RANKL dan OPG.

Hasil penelitian didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada parameter ekspresi RANKL antara kelompok SHS dan OVX. Pada parameter OPG menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok SHS dan OVX. Perbandingan rasio RANKL- OPG terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok SHS dan OVX.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa rasio jumlah Rankl pada tikus model osteoporosis lebih tinggi daripada rasio Rankl pada kelompok tikus kontrol (*sham surgery*), sedangkan rasio jumlah OPG kelompok tikus ovariectomi

diketahui memiliki nilai rerata yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol (*sham surgery*).

Penurunan estrogen secara signifikan meningkatkan rasio Rankl / opg, sehingga meningkatkan penyerapan tulang. Selama fase pasca menopause, ekspresi rankl meningkat, diferensiasi osteoklas dimulai dan sinyal pematangan diperkuat. Namun peningkatannya melemah karena ekspresi OPG menurun, meningkatkan penyerapan tulang dan menyebabkan osteoporosis.

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	I
Lembar Pengesahan	ii
Lembar Panitia Penguji	iii
Surat Pernyataan Keaslian Penelitian.....	iv
Lembar Persetujuan Publikasi Ilmiah	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Abstract	ix
Abstrak	x
Ringkasan	xi
Daftar Isi.....	xiiv
Daftar Gambar.....	xvii
Daftar Tabel	xviii
Daftar Lampiran	xix

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Menopause	5
2.1.1 Definisi Menopause.....	5
2.1.2 Penyebab Menopause.....	5
2.1.3 Jenis Menopause	5
2.1.4 Faktor yang mempengaruhi menopause.....	6
2.1.5 Gangguan yang terjadi selama menopause	7
2.2 Hormon Estrogen	8
2.2.1 Definisi Hormon Estrogen	8
2.3 Osteoporosis.....	9

2.3.1	Definisi Osteoporosis	9
2.3.2	Osteoporosis Pada Tulang Mandibula	10
2.3.3	Patofisiologi Osteoporosis	12
2.3.4	Diagnosis Osteoporosis	13
2.3.5	Stadium Osteoporosis	14
2.3.6	Gejala Osteoporosis	14
2.4	Biologi Dasar Tulang	14
2.4.1	Sel Osteoblas	15
2.4.2	Sel Osteoklas	16
2.5	RANKL	17
2.5.1	Definisi RANKL	17
2.5.2	Fungsi RANKL terhadap Remodeling Tulang	17
2.6	Osteoprotegrin (OPG)	20
2.7	RANK	21
2.8	Imunohistokimia	21
2.8.1	Pewarnaan Histokimia	21
2.9	TIKUS	22
2.9.1	Tikus Wistar	23

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual	24
3.2	Hipotesis Penelitian	25

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1	Jenis Penelitian	26
4.2	Rancangan Penelitian	26
4.3	Lokasi Penelitian	26
4.4	Subjek Penelitian	26
4.5	Populasi Penelitian	26
4.6	Sampel Penelitian	27
4.6.1	Bentuk Sampel	27

4.6.2	Kriteria Sampel	27
4.6.3	Pengelompokan Sampel	27
4.7	Subjek sampel dan besar sampel	27
4.8	Variabel Penelitian	28
4.9	Definisi Operasional	28
4.10	Alat dan Bahan Penelitian	29
4.10.1	Alat Penelitian	29
4.10.2	Bahan Peneltian	29
4.11	Cara Kerja	30
4.11.1	Persiapan Awal	30
4.11.2	Prosedur Ovariektomi	30
4.11.3	Pengambilan tulang mandibula dan pembuatan sediaan mikroskopik	31
4.11.4	Pemeriksaan Imunohistokimia	33
4.12	Analisis Data	34
4.13	Alur Penelitian	35
BAB 5 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN		36
BAB 6 PEMBAHASAN		40
BAB 7 PENUTUP		45
7.1	Kesimpulan	45
7.2	Saran	45
DAFTAR PUSTAKA		46
Lampiran		52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur tulang mandibula.....	11
Gambar 2.2 Interaksi RANK, RANKL dan OPG.....	19
Gambar 4.1 Skema mandibular tikus.....	33
Gambar 5.1 Perbedaan jumlah sel-sel RANKL (panah) pada tulang mandibula antara kelompok kontrol (SHS= <i>Sham Surgery</i>) dan kelompok ovariektomi (OVX).....	38
Gambar 5.2 Perbedaan jumlah sel-sel OPG (panah) pada tulang mandibula antara kelompok kontrol (SHS= <i>Sham Surgery</i>) dan kelompok ovariektomi (OVX).....	39

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1 Rerata, standar deviasi dan hasil nilai ekspresi RANKL dan OPG antara kelompok tikus kontrol (<i>sham surgery</i>) dengan tikus model ovariektomi..	36
Tabel 5.2 Perbandingan rasio RANKL- OPG antara kelompok tikus kontrol (<i>sham surgery</i>) dengan tikus model ovariektomi	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan kelaikan etik	50
Lampiran 2 Hasil Analisa Data Jumlah ekspresi RANKL dan OPG	51
Lampiran 3 Hasil Analisa Data ratio ekspresi RANKL dan OPG	53