

Diterbitkan untuk  
Ujian Akhir Tahap II (Terbuka)

**DISERTASI**

**MEKANISME REGENERASI TULANG MANDIBULA  
OSTEOPOROSIS DENGAN PEMBERIAN  
HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS  
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS MODEL OSTEOPOROSIS)**



**Nike Hendrijantini**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**DISERTASI**

**MEKANISME REGENERASI TULANG MANDIBULA  
OSTEOPOROSIS DENGAN PEMBERIAN  
HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS  
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS MODEL OSTEOPOROSIS)**



**NIKE HENDRIJANTINI**

**NIM : 011217017312**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2015**

ii

**MEKANISME REGENERASI TULANG MANDIBULA  
OSTEOPOROSIS DENGAN PEMBERIAN  
HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS  
(PENELITIAN EKSPERIMENTAL PADA TIKUS MODEL OSTEOPOROSIS)**

**DISERTASI**

Untuk memperoleh gelar Doktor  
dalam Program Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor  
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

dan dipertahankan dihadapan  
Panitia Penguji Tahap II (Terbuka)

**OLEH**

**NIKE HENDRIJANTINI**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERANJENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERANUNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**2015**

iii

## LEMBAR PENGESAHAN

Disertasi ini telah disetujui oleh

**Promotor:**

Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat., drg., SU., Sp.BM (K)  
NIP. 19540210 197901 1 001

**Co- Promotor :**

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam., drh  
NIP.19591003 198701 1001

Disertasi ini telah diuji dan dinilai pada ujian akhir Tahap I (Tertutup) tanggal 28 -  
September - 2015

Panitia Penguji

Ketua : Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG(K)

Anggota :

1. Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat, drg., SU., SpBM(K)
2. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES
4. Prof. Dr. Ketut Sudiana, drs., MSi
5. Dr. Chiquita Prahasanti, drg.,Sp.Perio(K)
6. Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg.,M.Kes
7. Dr. Hari Basuki, dr., M.Kes

Ditetapkan dengan Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas  
AirlanggaNo. 376/UN/3.1.1/KD/2015Tanggal 28 – September – 2015

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Robbil' alamin, Puji syukur kehadiran Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Disertasi ini akhirnya dapat saya selesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Tim Promotor dan Ko-promotor, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati perkenankanlah saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Prof. R.M.Coen Pramono Danudiningrat., drg., SU., SP.BM(K) sebagai Promotor yang telah dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dukungan mental, meluangkan banyak waktu untuk berdiskusi dan memberi masukan, sekaligus yang memberikan dorongan kepada saya untuk menempuh pendidikan jenjang doktor. Saya ucapkan terima kasih yang tidak terhingga.

Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam., drh sebagai Ko-Promotor yang telah memberikan bimbingan yang besar sekali manfaatnya bagi kemajuan cara berpikir ilmiah saya, membimbing dalam penelitian dan membantu memberi arahan dalam menyusun penulisan naskah disertasi. Kepada beliau saya ucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya.

Dengan selesainya disertasi ini perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Prof. Dr. Moh. Nasih, SE.,MT.,Ak. sebagai Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt. sebagai Mantan Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD., K-EMD, FINASIM, beserta jajaran dekanat atas kesempatan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan ini.

Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A(K), Sp.JP, FIHA, sebagai Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Harjanto J.M., dr., AIFM, selaku mantan Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Pendidikan Pascasarjana Universitas Airlangga, yang telah memberikan asuhan akademik selama masa studi.

Direktur Sekolah Pascasarjana Prof. Dr. Hj. Sri Hajati, S.H., MS., beserta para pimpinan dan seluruh staf Sekolah Pendidikan Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan bantuan, kesempatan dan fasilitas selama belajar di Sekolah Pendidikan Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat., drg., SU., Sp.BM(K), beserta jajaran dekanat atas kesempatan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan ini.

Plt. Direktur RSUD Dr. Soetomo, Harsono, dr., mantan direktur RSUD Dr. Soetomo, Dodo Anondo, dr., MPH beserta jajaran direksi yang telah memberikan

dukungan fasilitas dalam mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp.A(K) Sp.JP.FIHA; Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES; Prof. R.M. Coen Pramono Danudiningrat, drg., SU., Sp.BM(K); Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh; Prof. Dr. Ketut Suidiana, drs., Msi; Dr. Sherman Salim, drg., MS., SpPros(K); Dr. Diah Savitri Ernawati, drg., M.Si., Sp.PM; Dr. Aditiawarman, dr., Sp.OG(K); Dr. Utari Kresnoadi, drg., MS., SpPros(K); Dr. Dwikora Novembri Utomo, dr., Sp.OT(K); Dr. Tuti Kusumaningsih, drg., MKes; Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG(K); Dr. Chiquita Prahasanti, drg., SpPerio(K); Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., MKes; dan Dr. Hari Basuki, dr., MKes., para penguji yang telah memberi masukan untuk perbaikan disertasi saya.

Ketua Departemen Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. Soetomo yang telah memberikan dukungan fasilitas pemeriksaan laboratorium. Endang Retnowati., dr., SpPK yang telah membantu melakukan pemeriksaan laboratorium.

Djoko Legowo., drh., M.Kes staf di Departemen Patologi Veterinarian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan fasilitas untuk pemeriksaan laboratorium. Kepada Iwan Syahrial., drh staf di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian pada hewan coba.

Ketua Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Eha Djulaeha, drg., MS., Sp Pros (K) dan Sekretaris Departemen, Rostiny drg., MKes., Sp Pros(K), yang telah memberikan kesempatan dan



dukungan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada seluruh staf pengajar Departemen Prostodonsia FKG Unair atas kerja sama dan dorongan yang diberikan kepada saya selama saya menempuh pendidikan jenjang doktor.

Prof. Dr. I Ketut Suidiana, drs., M.Si, yang telah memberikan bimbingan, saran dalam penyusunan usulan penelitian hingga penulisan naskah disertasi.

Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes yang telah memberikan bimbingan dan saran yang sangat berharga mulai penyusunan usulan penelitian, pengolahan statistik hingga penulisan naskah disertasi.

Terima kasih yang tulus saya ucapkan kepada Pembimbing dan Panitia Penguji. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada staf pengajar di Program Doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof. Soetjipto, dr, MS, PhD; Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr, SpBK; Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr, MS; Prof. Dr. Zainuddin, Apt;, Widodo JP, dr. MPH., Dr.PH; Siti Pariani, dr, MS, MSc, PhD; Dr. Sunaryo, dr., MS, MSc; Dr. F. Sustini, dr, MS; Prof. Dr. I. Ketut Suidiana, Drs., M.Si; Dr. F.M. Judajana, dr., SpPK(K.Im) yang telah memberikan ilmu pengetahuan dasar dan terapan yang sangat berharga dan bermanfaat membantu saya dalam menyusun disertasi.

Terima kasih yang tak terhingga juga saya ucapkan kepada Direktur Institut Tropical Disease Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD K-KPTI FINASIM., Sp PD, kepada Wakil Direktur Institut Tropical Disease Prof. Maria Inge Lusida.,

dr., M.Kes., PhD., SpMK.(K) dan seluruh staf yang telah banyak memberi fasilitas dan bimbingan selama saya penelitian di ITD.

Terima kasih yang tak terhingga juga saya ucapkan kepada Dra. Aniek Setiya Budiatin, Apt yang telah membantu dalam hal pengadaan bahan untuk penelitian saya.

Kepada guru dan dosen saya semenjak saya masih di Taman Kanak-Kanak sampai pendidikan Spesialis Prostodonsia yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, yang telah memberi bekal ilmu dan wawasan pengetahuan kepada saya.

Kepada seluruh teman seperjuangan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga angkatan 2012/2013, yang saling menemani, memotivasi, dan memberi masukan. Tanpa mengurangi rasa penghargaan karena tidak dapat disebutkan satu persatu, saya menyampaikan ungkapan terima kasih atas segala keakraban dan kekompakan yang telah terjalin selama ini.

Akhirnya pada kesempatan ini, saya sampaikan rasa hormat dan kasih sayang serta terima kasih yang terdalam dari lubuk hati saya kepada:

Almarhum ayah saya yang saya cintai, Bapak Henri Santoso dan Ibu Sri Amijati yang telah mengasuh, mendidik, mengayomi, menafkahi, memberikan tauladan yang baik dan penuh kasih sayang selama ini dan senantiasa mendoakan saya pada saat saya dalam suka maupun duka. Semoga Allah SWT menerima dan membalas segala amal ibadah beliau.

Almarhum mertua saya yang saya cintai, Bapak Moechtadi dan Ibu Moedjiati yang telah mengasuh, mendidik, mengayomi, menafkahi, memberikan

tauladan yang baik dan penuh kasih selama ini, dan senantiasa mendoakan saya pada saat saya dalam suka maupun duka. Semoga Allah SWT. menerima dan membalas segala amal ibadah beliau.

Terima kasih saya yang sebesar besarnya saya ucapkan kepada suami saya yang saya cintai: Dr. Poedjo Hartono., dr. SpOG(K) yang telah mendampingi saya dan memberikan dorongan moril, doa dan semangat dalam menempuh pendidikan jenjang doktor. Sekaligus tak lupa saya ucapkan terima kasih sebesar besarnya juga kepada anak, menantu dan cucu saya yang saya cintai: Pungky Mulawardhana, dr., SpOG dan Mirna Paramita, SE, Manggala Pasca Wardhana, dr., SpOG dan Henriette Agustia Wijayanti, dr., Putri Hendria Wardhani, dr., dan Febrian Brahmana, dr., Akhtar, Lei, Kei, Malovra, Rachila dan Nikela yang selalu membantu dan memberikan dorongan serta semangat dalam menyelesaikan pendidikan jenjang doktor ini.

Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran pada khususnya dan semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayahNya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi.

**Oktober 2015**

**Penulis**

## RINGKASAN

Perawatan gigi tiruan implan merupakan perawatan rehabilitasi untuk penggantian gigi tiruan yang paling banyak diminati dan dipilih sebagai alternatif utama, karena pemakaiannya seperti gigi asli yang tanpa harus dilepas sehingga lebih nyaman. Perawatan tersebut merupakan bagian perawatan di bidang gigi tiruan, yang mayoritas dilakukan padapenderita lanjut usia. Pasien pada usia ini sering mengalami osteoporosis yang disebabkan faktor menopause terutama pada wanita diatas 50 tahun. Osteoporosis yang terjadi pada mandibula dapat mengakibatkan penolakan implan atau lepasnya implan akibat tidak terjadinya osteointegrasi antara implan dan tulang mandibula. Beberapa pengobatan untuk memperbaiki tulang osteoporosis dapat memberikan efek samping yang tidak ringan. Penelitian eksperimental terbaru dengan rekayasa jaringan menggunakan sumsum tulang untuk regenerasi tulang yang osteoporosis pada tulang panjang hewan coba menunjukkan hasil yang memuaskan, akan tetapi bagaimana peran Mesenchymal Stem Cells (MSCs) didalam proses regenerasi pada tulang mandibula belum pernah dilakukan dan belum diketahui pasti mekanismenya.

Selama ini penggunaan Bone Marrow-derived mesenchymal stem cell (BM-MSCs) yang memiliki potensi osteogenik sudah banyak digunakan pada kasus yang membutuhkan regenerasi tulang. Kekurangan dari BM-MSCs adalah prosedur pengambilannya yang invasif, menimbulkan morbiditas penderita, terbatas jumlahnya dan kualitas MSCs dipengaruhi oleh kondisi fisik dan usia penderita.

Saat ini, Mesenchymal stem cell yang berasal dari tali pusat bayi (hUCMSCs) yang bersifat multipoten, mulai banyak dipertimbangkan sebagai pilihan MSC dan mulai banyak disimpan di tempat penyimpanan jaringan sebagai alternatif terapi sel punca berbagai macam penyakit atau kelainan, akan tetapi penelitian hUCMSCs untuk aplikasi rekayasa jaringan tulang mandibula juga belum pernah dilakukan sampai saat ini.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan keberhasilan dan menjelaskan mekanisme regenerasi tulang mandibula osteoporosis dengan pemberian hUCMSCs.

Penelitian ini adalah true experimental dengan rancangan Post Test Only Control Group Design. Sebanyak 34 ekor tikus Wistar betina dibagi ke dalam 6 kelompok masing masing kelompok 5 ekor yaitu kelompok tikus kontrol normal (sham surgery) (KN), kelompok tikus model osteoporosis / dilakukan ovariectomi (KO), kelompok ovariectomi dengan injeksi pelarut gelatin 4 minggu (KG-4) dan 8 minggu (KG-8), kelompok ovariectomi dengan injeksi hUCMSCs + gelatin 4 minggu (P-4) dan 8 minggu (P-8). Sebagai tambahan 4 ekor tikus adalah kelompok ovariectomi yang dilakukan injeksi hUCMSCs yang dilabel sel-nya dengan PKH26 untuk melihat distribusi perkembangan hUCMSCs. Variabel tergantung yang digunakan berupa penanda diferensiasi osteoblastogenesis yaitu TGF- $\beta$ 1 dan Runx-2 serta jumlah sel osteoblas yang dihasilkan dan juga penanda kemampuan pembentukan dan mineralisasi tulang seperti ALP, Kolagen tipe 1 dan Osteocalcin serta hasil akhirnya yaitu pengamatan luas trabekula tulang.

Tikus model osteoporosis (KO) yang dilakukan ovariektomi menunjukkan jumlah sel osteoblast dan luas area trabekula tulang mandibula yang lebih rendah dibandingkan tikus yang dilakukan sham surgery (KN). Hal ini menunjukkan model tikus ovariektomi yang digunakan pada penelitian ini dapat mewakili kondisi osteoporosis.

Dengan pemberian hUCMSC didapatkan diferensiasi osteoblastogenesis yang lebih tinggi pada tikus model osteoporosis yang diberikan terapi tersebut, ditunjukkan dengan ekspresi TGF- $\beta$ 1 dan Runx-2 yang lebih tinggi serta dibuktikan dengan jumlah sel osteoblas yang juga lebih banyak dibandingkan kontrol ( $p < 0,05$ ). Setelah terbukti terjadi diferensiasi MSC pada hUCMSC menjadi sel osteoblas yang lebih banyak, dilakukan juga evaluasi kemampuannya dalam melakukan pembentukan dan mineralisasi tulang. Pada penelitian ini didapatkan ekspresi kolagen tipe 1 sebagai protein utama matriks tulang yang lebih tinggi pada tikus osteoporosis yang diberikan hUCMSCs. Meskipun penanda pembentukan tulang lainnya seperti ALP dan osteocalcin didapatkan hasil yang lebih tinggi namun tidak signifikan, secara keseluruhan didapatkan area trabekula tulang yang lebih luas pada tikus osteoporosis yang diberikan hUCMSCs sehingga terbukti pemberian terapi rekayasa jaringan ini dapat memperbaiki kondisi osteoporosis di mandibula ditunjukkan dengan osteoblastogenesis dan pembentukan serta mineralisasi tulang yang lebih tinggi.

Kesimpulan penelitian ini adalah hUCMSCs merupakan salah satu sumber sel punca atau MSCs yang dapat meningkatkan regenerasi tulang mandibula osteoporosis pada hewan coba.

## SUMMARY

Dental prosthesis implant a rehabilitation treatment for dental prosthesis which is a popular main alternative technique for its comfortability in usage, in which the user feels like having comfort of unremovable original teeth. That type of treatment is a part of dental prosthesis treatment majority used in elderly, while most elderly already subjected to osteoporosis due to menopausal status, especially for women above 50 years old. Osteoporosis can also occurs in mandibula, which in turn can cause the implant rejection or detachment as the consequence of failure in implant-mandibular osteointegration. Many treatment of this issue has been established but with some bad adverse effects. Tissue engineering experimental research for therapy or osteoporotic bone regeneration on animal long bone showed promising results, but the exact mechanism about healing or bone regeneration of MSCs in mandibular bone has never been completely understood.

Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell (BM-MSCs) were used as gold standart due to the best osteogenic potential among other MSCs sources. BM-MSC have some drawbacks such as invasive extraction process which caused morbidity, limited availability and age related MSCs quality. Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell (hUCMSCs) is a multipotent and immunomodulatory MSC used as alternative for many diseases or abnormalities. Yet, there is no research of hUCMSCs for mandibular bone tissue engineering until this present day.

The purpose of this research is to explain the mechanism of osteoporotic mandibular bone regeneration by using hUCMSCs.

This research is a true experimental with post test only control group design. Thirty-four female Wistar rats were divided into 6 groups which comprises of 5 rats for each group, the groups are normal control group/ sham surgery (KN), osteoporosis rat model / ovariectomized group (KO), ovariectomized with gelatin injection after 4 weeks (KG-4) and 8 weeks (KG-8) group, ovariectomized with hUCMSCs + gelatin injection after 4 weeks (P-4) and 8 weeks (P-8) groups. Four more rats were in ovariectomized group with hUCMSCs injection and also labelled with PKH26 to identify the hUCMSCs development distribution. Dependent variable used were osteoblastogenesis differentiation markers such as TGF- $\beta$ 1, Runx-2 and also the number of osteoblast cells produced. This study also examined bone mineralization marker such as ALP, Collagen type 1, Osteocalcin with end result of bone trabecular area.

Rat osteoporosis model with ovariectomy intervention has shown significantly lower number of osteoblast cells and mandibular trabecular area compared to sham surgery rat or osteoporotic control group. This result showed that ovariectomized rat model used in this study may represent the condition of osteoporosis.

By giving hUCMSCs, there were higher osteoblastogenesis differentiation capacity that showed by higher of TGF- $\beta$ 1, Runx-2 expression and proved by higher number of osteoblast cells than osteoporotic control. Having shown occurred of MSC differentiation into more osteoblast cells in hUCMSC, this study



also evaluated the ability of mineralization and bone formation. There were higher expression of collagen type 1 in hUCMSCs treatment group. In spite of non-significant higher expression of other bone formation marker such as ALP and osteocalcin, in the whole result there was a wider trabecular area of mandibula in this treatment group. This result proved that tissue engineering method could be used to repair osteoporotic condition in mandibula by its higher capacity of osteoblastogenesis and also higher ability in bone formation and mineralization.

This research concluded that hUCMSCs as one of the source of stem cells or MSCs can regenerate osteoporotic mandibular bone on the animal model.

