

DISERTASI

**EFEK PELAPISAN KOLAGEN PADA MATERIAL TITANIUM PADUAN
JENIS TNTZ TERHADAP EKSPRESI GEN *BMP2*, *RUNX2*, dan *IBSP*
PADA PROSES OSTEOGENESIS SEL *Wharton Jelly-Mesenchymal
Stem Cells (WJ-MSCs)***



Promotor : Prof. Dr. Eng. Gunawarman, M.T.

Co-Promotor : Dr. Djong Hon Tjong, M.Si

Prof. Dr. dr. Menkher Manjas, SpB, SpBO

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS PROGRAM DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG**

2021

**EFEK PELAPISAN KOLAGEN PADA MATERIAL TITANIUM PADUAN
JENIS TNTZ TERHADAP EKSPRESI GEN *BMP-2*, *RUNX2*, dan *IBSP*
PADA PROSES OSTEOGENESIS SEL *Wharton Jelly-Mesenchymal*
*Stem Cells (WJ-MSCs)***

ABSTRAK

Titanium paduan jenis TNTZ (Ti29Nb13Ta4.6Zr) merupakan salah satu paduan titanium tipe β yang memiliki sifat mekanis dan biologis yang bagus untuk digunakan terutama dalam bidang ortopedi baik untuk pemakaian temporal maupun permanen. TNTZ merupakan material logam yang bersifat *inert* sehingga perlu diberi perlakuan agar bersifat bioaktif yang menginisiasi adhesi, proliferasi, diferensiasi dan maturasi sel agar proses regenerasi dan penyembuhan berlangsung lebih cepat. Pelapisan permukaan TNTZ dengan kolagen yang merupakan salah satu komponen matriks ekstraselular tulang adalah salah satu pilihan yang dapat digunakan untuk meningkatkan biokompatibilitas dan bioaktif TNTZ. Pelapisan ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan diferensiasi sel melalui pengaktifasian jalur persinyalan osteogenesis sel dan mineralisasinya sehingga regenerasi dan penyembuhan menjadi lebih cepat.

Material TNTZ yang diuji berbentuk *disk* dan pelapisan dengan metode perendaman dalam larutan kolagen agar terjadi adsorpsi kolagen kepermukaan *disk*. Karakterisasi permukaan yang sudah terlapis diamati dengan mikroskop optik dan SEM (*Scanning Electron Microscope*). Pengujian respon biologis dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel WJ-MSC dengan mengamati ekspresi gen *BMP2*, *RUNX2*, dan *IBSP* yang terlibat dalam jalur persinyalan osteogenesis dengan metoda RT-PCR dan persentase pembentukan nodul kalsifikasi (osteosit) sebagai tanda terjadinya mineralisasi pada sel melalui pewarnaan Alizarin dihitung dengan *Image Analyzing*. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1, 3, 7 dan 10 untuk pengukuran ekspresi *marker BMP2*, *RUNX2*, dan *IBSP* dan hari ke 3, 7, 10, 14, dan 21 untuk pengukuran persentase nodul kalsifikasi (osteosit) terbentuk.

Berdasarkan hasil analisis statistik ditemukan bahwa pelapisan kolagen dapat meningkatkan persentase pembentukan nodul kalsifikasi pada sel WJ-MSC dengan nilai $p = 0,0001$ ($p < 0,05$) yakni sebesar 96,9%. Analisis statistik terhadap *marker* osteogenik juga menunjukkan bahwa pelapisan kolagen menunjukkan adanya perbedaan bermakna untuk kadar ekspresi gen *BMP2* ($p = 0,000/ p < 0,05$), tidak bermakna (lemah tereksresi) untuk gen *RUNX2* ($p = 0,32/ p > 0,05$), dan tidak bermakna (lemah tereksresi) untuk gen *IBSP* ($p = 0,464/ p > 0,05$) antara kelompok kontrol, kelompok TNTZ tanpa pelapisan, dan TNTZ dilapisi kolagen. Uji Regresi untuk melihat pengaruh ekspresi *marker BMP2*, *RUNX2*, dan *IBSP* terhadap nilai pembentukan osteosit menunjukkan bahwa *BMP2* berpengaruh kuat terhadap nilai pembentukan osteosit sebesar 53,4% sedangkan *RUNX2* dan *IBSP* berpengaruh lemah terhadap nilai pembentukan osteosit yaitu sebesar 31,6% dan 25,5%. Dapat disimpulkan bahwa pelapisan kolagen berpengaruh terhadap proses osteogenesis dan mineralisasi sel WJ-MSC.

Kata kunci: TNTZ, lapisan Kolagen, sel WJ-MSC, ekspresi gen, osteogenesis.

**EFFECT OF COLLAGEN COATING ON TITANIUM ALLOY TNTZ-TYPE
ON THE EXPRESSION OF BMP-2, RUNX2, and IBSP GENES IN THE
OSTEOGENESIS PROCESS OF Wharton Jelly-Mesenchymal
Stem Cells (WJ-MSCs)**

ABSTRACT

Titanium alloy type TNTZ (Ti29Nb13Ta4.6Zr) is one of the type titanium alloys which has good mechanical and biological properties to be used, especially in the orthopedic field for both temporary and permanent use. TNTZ is an inert metal material so it needs to be treated to be bioactive which initiates cell adhesion, proliferation, differentiation, and maturation so that the regeneration and healing process takes place more quickly. Coating the surface of TNTZ with collagen which is one of the components of the extracellular matrix of bone is one option that can be used to increase the biocompatibility and bioactivity of TNTZ. This coating is expected to increase the ability of cell differentiation by activating the cell osteogenesis signaling pathway and its mineralization so that regeneration and healing become faster.

TNTZ material tested was in the form of a disk and the coating method was by immersion in a collagen solution so that collagen adsorption occurred to the disk surface. The characterization of the coated surface was observed with an optical microscope and SEM (Scanning Electron Microscope). Biological response testing was carried out in vitro using WJ-MSC (Wharton Jelly-Mesenchymal Stem Cells) cells by observing the expression of BMP2, RUNX2, and IBSP genes involved in the osteogenesis signaling pathway by RT-PCR method and the percentage of calcified nodule formation (osteocytes). As a sign of mineralization in cells through Alizarin staining calculated by Image Analyzing. Observations were made on days 1, 3, 7, and 10 to measure the expression of BMP2, RUNX2, and IBSP markers and on days 3, 7, 10, 14, and 21 to measure the percentage of calcified nodules (osteocytes) formed.

Based on the results of statistical analysis, it was found that collagen coating could increase the percentage of calcified nodule formation in WJ-MSC cells with a value of $p = 0.0001$ ($p < 0.05$) which was 96.9%. Statistical analysis of osteogenic markers also showed that collagen coating showed a significant difference for the level of expression of the BMP2 gene ($p = 0.000/p < 0.05$), not significant (weakly expressed) for the RUNX2 gene ($p = 0.32/p > 0.05$), and not significant. significantly (weakly expressed) for the IBSP gene ($p = 0.464/p > 0.05$) between the control group, the uncoated TNTZ group, and the collagen-coated TNTZ group. Regression test to see the effect of marker expression BMP2, RUNX2, and IBSP on the value of osteocyte formation showed that BMP2 had a strong effect on the value of osteocyte formation by 53.4% while RUNX2 and IBSP had a weak effect on the value of osteocyte formation, namely 31.6%, and 25.5%, respectively. It can be concluded that collagen coating affects the process of osteogenesis and mineralization of WJ-MSC cells.

Keywords: TNTZ, Collagen layer, WJ-MSC cells, gene expression, osteogenesis.