



**EFEK EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH TERHADAP
JUMLAH SEMENTOBLAS DI PERMUKAAN SEMENTUM
DAERAH TARIKAN GIGI TIKUS WISTAR PADA
PERGERAKAN GIGI ORTODONTIK**

SKRIPSI

Oleh

Shabrina Akbar Nur Firdaus

NIM 171610101117

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2021



**EFEK EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH TERHADAP
JUMLAH SEMENTOBLAS DI PERMUKAAN SEMENTUM
DAERAH TARIKAN GIGI TIKUS WISTAR PADA
PERGERAKAN GIGI ORTODONTIK**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Kedokteran Gigi (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Oleh

Shabrina Akbar Nur Firdaus

NIM 171610101117

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2021

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Mama Akhirul Kusuma Akbarini dan Papa Sriyono, yang menjadi sumber semangat saya dan selalu memberikan dukungan dan doa.
2. Adik saya tercinta, Fitria Nur Fauziah dan Zakiyah Akbar Nur Izza.
3. Guru-guru dan dosen-dosen yang telah memberi saya ilmu dan pengetahuan yang sangat berharga.
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

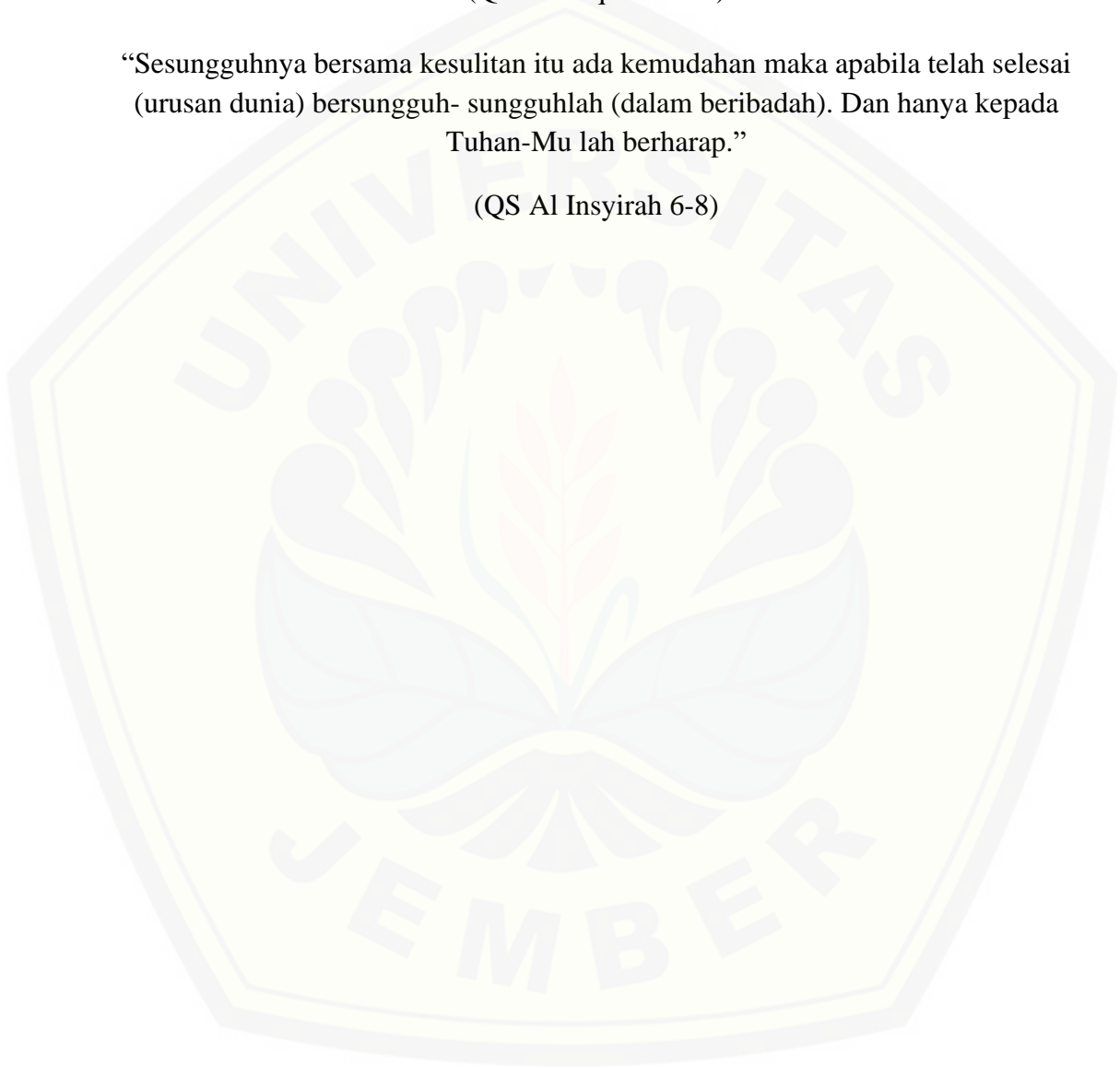
MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai kesanggupannya.”

(QS Al Baqarah: 286)

“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (urusan dunia) bersungguh- sungguhlah (dalam beribadah). Dan hanya kepada Tuhan-Mu lah berharap.”

(QS Al Insyirah 6-8)



^{*}) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahnya. Bandung: PT. Syaamil Cipta Media.

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Shabrina Akbar Nur Firdaus

NIM : 171610101117

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Efek Ekstrak Buah Delima Merah Terhadap Jumlah Sementoblas di Permukaan Sementum Daerah Tarikan Gigi Tikus Wistar pada Pergerakan Gigi Ortodontik”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 Juli 2021
Yang menyatakan,

Shabrina Akbar Nur Firdaus
NIM 17610101117

SKRIPSI

**EFEK EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH TERHADAP JUMLAH
SEMENTOBLAS DI PERMUKAAN SEMENTUM DAERAH TARIKAN
GIGI TIKUS WISTAR PADA PERGERAKAN GIGI ORTODONTIK**

Oleh

Shabrina Akbar Nur Firdaus

NIM 171610101117

Pembimbing

- Dosen Pembimbing Utama : drg. Melok Aris Wahyukundari, M. Kes, Sp.
Perio.
- Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Happy Harmono, M. Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Ekstrak Buah Delima Merah Terhadap Jumlah Sementoblas Daerah di Permukaan Sementum Tarikan Gigi Tikus Wistar pada Pergerakan Gigi Ortodontik” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Jumat, 2 Juli 2021

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

Prof. Dr. drg. Herniyati, M. Kes
NIP 195909061985032001

drg. Leliana Sandra Deviade Putri, Sp.Ort
NIP 197208242001122001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Melok Aris Wahyukundari, M. Kes, Sp. Perio.
NIP 197104092005012002

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP 196709011997021001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros.
NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Efek Ekstrak Buah Delima Merah terhadap Jumlah Sementoblas di Permukaan Sementum Daerah Tarikan Gigi Tikus Wistar pada Pergerakan Gigi Ortodontik; Shabrina Akbar Nur Firdaus., 171610101117; 2021: 73 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Masalah kesehatan gigi dan mulut cukup tinggi sedangkan tingkat kesadaran perawatan gigi dan mulut masih cukup rendah di Indonesia. Prevalensi nasional masalah gigi dan mulut di Indonesia berdasarkan Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 adalah sebesar 57,6%. Presentase prevalensi maloklusi di Indonesia cukup tinggi, yaitu mencapai 80% dari populasi. Perawatan ortodontik adalah perawatan yang bertujuan untuk mendapatkan susunan gigi yang teratur, kontak oklusal yang baik, sehingga dapat dicapai fungsi oklusi yang efisien. Ketika gaya mekanis diaplikasikan pada gigi, maka akan menimbulkan daerah tekanan dan daerah tarikan. Daerah tarikan akan mengalami *remodeling* ligamen periodontal sehingga terjadi banyak proses metabolik yang salah satunya melibatkan sel sementoblas.

Pemakaian piranti ortodontik gigi dalam jangka waktu yang lama menghasilkan suatu respon menyerupai inflamasi yang selanjutnya dapat memicu stres oksidatif berkaitan dengan peningkatan ekspresi faktor proinflamasi. Kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang tinggi dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan jaringan. Perlu adanya senyawa yang dapat menstabilkan ROS pada pergerakan gigi secara ortodontik salah satunya adalah senyawa antioksidan pada buah delima merah. Ekstrak buah delima merah memiliki kandungan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Ekstrak buah delima merah telah diteliti mampu meningkatkan jumlah osteoblas karena mampu menurunkan ROS. Buah delima merah kemungkinan juga efektif terhadap peningkatan jumlah sementoblas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek ekstrak buah delima merah terhadap jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi

ortodontik yang diberi ekstrak buah delima merah dengan lama waktu yang berbeda dan menganalisis perbedaan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus pada pergerakan gigi ortodontik di minggu ke-1, minggu ke-2 dan minggu ke-3.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *in vivo experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan sampel yaitu 36 ekor tikus Wistar yang terbagi dalam kelompok kontrol dan perlakuan. Setiap sampel diberi induksi gaya mekanis ortodontik sebesar 11,5 grF dan dilakukan sondase ekstrak buah delima merah dengan dosis 150mg/kgBB yang dilakukan setiap hari selama 1, 2, dan 3 minggu untuk kelompok perlakuan. Hewan coba kemudian dieuthanasia 24 jam setelah perlakuan terakhir dan dilanjutkan dengan pemrosesan serta pewarnaan jaringan menggunakan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 40x untuk menentukan daerah tarikan yaitu pada permukaan distal gigi M1 dan dilakukan perbesaran 400x untuk penghitungan sementoblas. Penghitungan jumlah sementoblas dengan cara melihat tiga lapang pandang yang terpilih yaitu sepertiga koronal, tengah, dan apikal pada permukaan sementum di daerah tarikan gigi M1 rahang atas kanan. Penghitungan dilakukan oleh tiga pengamat kemudian dihitung rata-rata jumlah sementoblasnya. Hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan uji normalitas, uji homogenitas, uji *One Way Anova* dan uji LSD.

Rata-rata jumlah sementoblas pada kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol dan jumlah sementoblas meningkat pada minggu ke-1, ke-2, dan ke-3. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan ekstrak buah delima merah selama 3 minggu menunjukkan jumlah rata-rata sementoblas yang paling tinggi, sedangkan jumlah rata-rata paling rendah yaitu pada kelompok kontrol 1 minggu. Pemberian ekstrak buah delima merah dapat meningkatkan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik dibandingkan tanpa pemberian ekstrak buah delima merah.

PRAKATA

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah serta karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Efek Ekstrak Buah Delima Merah terhadap Jumlah Sementoblas Daerah Tarikan Gigi Tikus Wistar pada Pergerakan Gigi Ortodontik”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian program sarjana (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Banyak sekali pihak yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih sedalam-dalamnya kepada:

1. Allah SWT atas berkat dan rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Kedua Orang Tua, Mama Akhirul Kusuma Akbarini dan Papa Sriyono atas segala doa, semangat, perhatian, kasih sayang, dan dukungan yang selalu diberikan;
3. Adik Tercinta Fitria Nur Fauziah dan Zakiyah Akbar Nur Izza atas dukungan dan motivasi selama ini;
4. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Dr.,drg. Masniari Novita M.Kes. selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Rendra Chriestedy Prasetya MD.Sc selaku Wakil Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. drg. Dwi Kartika Apriyono M.Kes selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. drg. Melok Aris Wahyukundari, M. Kes, Sp. Perio dan drg. Happy Harmono, M.Kes selaku dosen pembimbing utama dan pendamping skripsi, atas bimbingan, pengarahan, waktu serta perhatian yang diberikan dalam penyusunan skripsi ini;

9. Prof. Dr. drg. Herniyati,. M.Kes selaku penguji ketua, drg. Leliana Sandra Deviate Putri, Sp.Ort selaku penguji anggota atas saran yang bermanfaat dan bimbingan yang diberikan hingga terselesainya skripsi ini;
10. drg. Dessy Rachmawati M.Kes, Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik, atas perhatian dan motivasi selama ini;
11. Seluruh staf Labolatorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Bu Wahyu, Pak Agus, dan Pak Erwan terimakasih atas bimbingan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan;
12. Partner proyek penelitian Nawal, Dina, dan Vanny atas kerja sama dan telah menjadi partner yang hebat;
13. Sahabat Kost Mastrip 59, Indah yang selalu ada dan memberi semangat serta tempat berkeluh kesah selama kuliah di FKG UNEJ;
14. Ines, Milhatul, Naila, Putri, Afif dan Vinny yang yang selalu menemaniku dikala sedih dan senang serta banyak membantu selama di FKG UNEJ;
15. Sahabat-sahabat “Grumpy Squad” yang selalu menemaniku dikala sedih dan senang serta banyak membantu selama di FKG UNEJ;
16. Sahabat Tutorial 12 dan Tutorial 13 yang telah memberi semangat;
17. Seluruh teman-teman terdekatku di Surabaya, yang selalu menjadi tempat keluh kesahku;
18. Seluruh teman-teman Dentition Angkatan 2017 yang selalu ada;
19. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
20. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Penulis telah berusaha semaksimal mungkin dalam penyelesaian skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada bangsa, negara, agama, dan masyarakat luas.

Jember, 2 Juli 2021

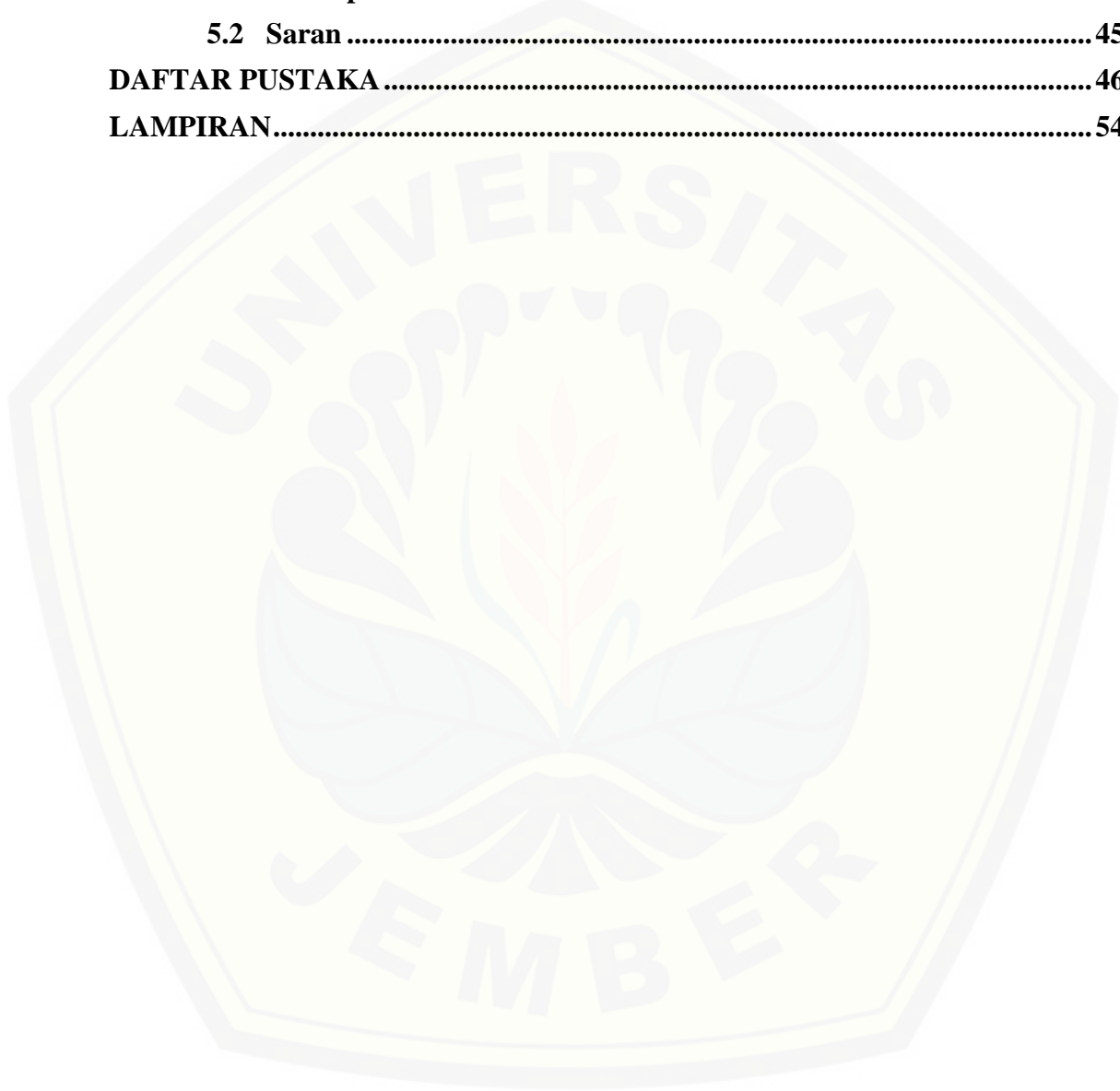
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Pergerakan Gigi Ortodontik.....	6
2.1.1 Teori Pergerakan Gigi.....	6
2.1.2 Tahap Pergerakan Gigi.....	7
2.2 Ligamen Periodontal	8
2.3 Sementum	10
2.4 Sementoblas.....	12
2.5 Delima	14
2.5.1 Morfologi Buah Delima.....	14
2.5.2 Taksonomi Buah Delima Merah	15
2.5.3 Kandungan Buah Delima Merah	16

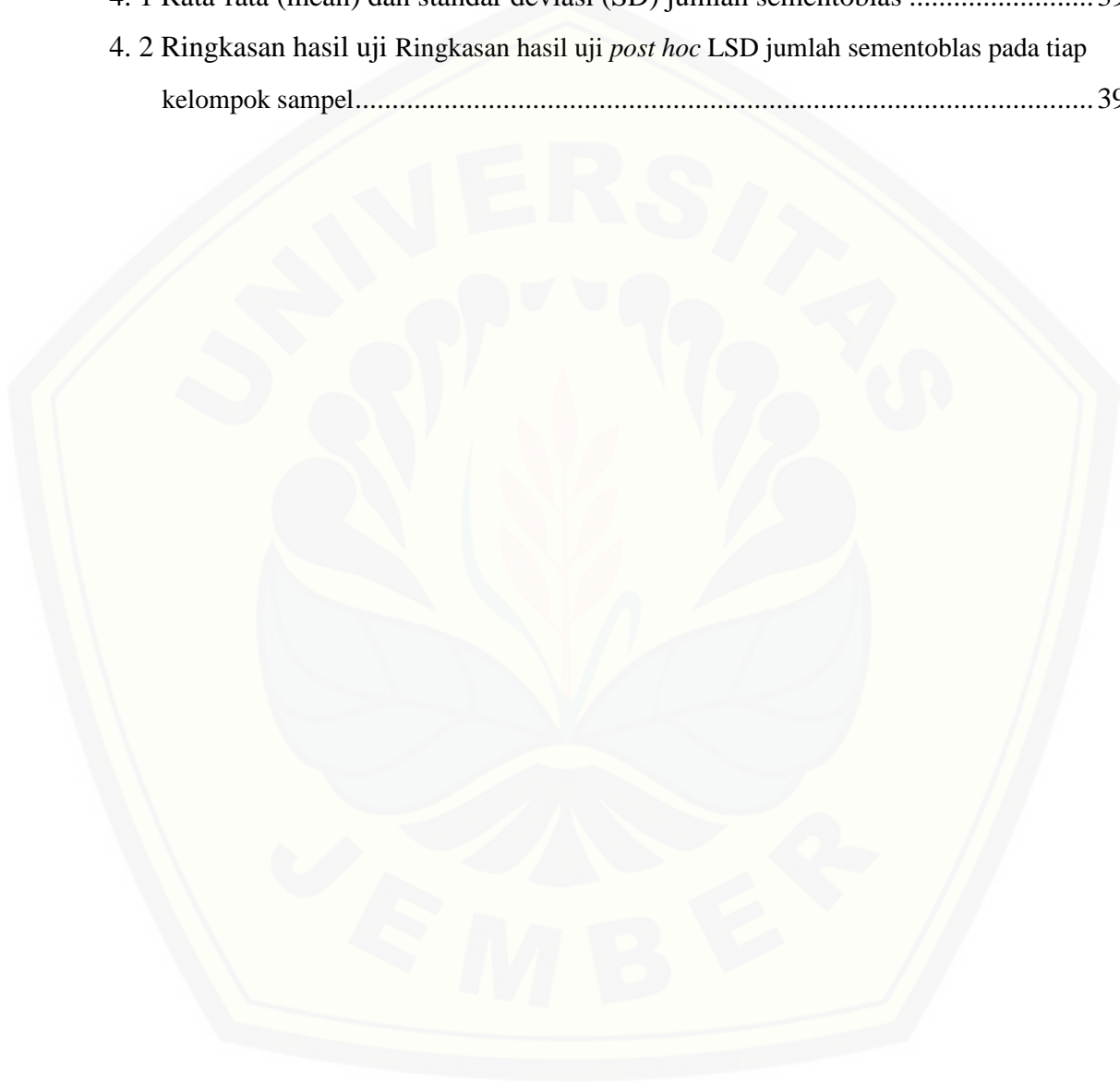
2.6	Efek Antioksidan Buah Delima Merah Terhadap Sementoblas	17
2.7	Kerangka Konsep Penelitian	19
2.8	Hipotesis.....	20
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	21
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	21
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	21
3.3.1	Populasi Penelitian.....	21
3.3.2	Sampel Penelitian.....	22
3.4	Identifikasi Variabel Penelitian.....	23
3.4.1	Variabel Bebas	23
3.4.2	Variabel Terikat.....	24
3.4.3	Variabel Terkendali.....	24
3.5	Definisi Operasional	24
3.5.1	Ekstrak Buah Delima	24
3.5.2	Induksi Gaya Mekanis Ortodontik	24
3.5.3	Sel Sementoblas.....	25
3.6	Bahan dan Alat Penelitian	25
3.6.1	Bahan Penelitian	25
3.6.2	Alat Penelitian.....	26
3.7	Prosedur Penelitian.....	27
3.7.1	Persiapan <i>Ethical Clearance</i>	27
3.7.2	Persiapan Hewan Coba	27
3.7.3	Pembagian Kelompok Perlakuan Hewan Coba.....	28
3.7.4	Persiapan Ekstrak Buah Delima	28
3.7.5	Konversi Penghitungan Dosis Ekstrak Buah Delima Merah.....	29
3.7.6	Pemasangan <i>Ni-Ti Closed Coil Spring</i>	30
3.7.7	Pemberian Ekstrak Buah Delima.....	31
3.7.8	Pembuatan Sediaan Histologi.....	31
3.8	Pengamatan dan Penghitungan Jumlah Sel Sementoblas	34
3.9	Analisis Data.....	35
3.10	Alur Penelitian	36
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37

4.1 Hasil Penelitian	37
4.2 Analisis Data.....	39
4.3 Pembahasan.....	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	54



DAFTAR TABEL

	Halaman
2. 1 Kandungan Fitokimia Buah Delima Merah	17
4. 1 Rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah sementoblas	39
4. 2 Ringkasan hasil uji Ringkasan hasil uji <i>post hoc</i> LSD jumlah sementoblas pada tiap kelompok sampel.....	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2. 1 Pergerakan Gigi Secara Ortodontik	10
2. 2 Histologi Sementum Aseluler	11
2. 3 Histologi Sementum Seluler	11
2. 4 Histologi Sementoblas	11
2. 5 Histologi Sementoblas	13
2. 6 Histologi Sementoblas	13
2. 7 Buah Delima.....	14
2. 8 Kerangka Konsep Penelitian	19
3. 1 Ilustrasi pemasangan <i>Ni-Ti closed coil spring</i> pada tikus.....	25
3. 2 Alur Penelitian	36
4. 1 Gambaran histologis potongan arah mesio-distal gigi tikus Wistar.....	36
4. 2 Gambaran histologis sementoblas daerah tarikan	36
4. 3 Histogram rata-rata jumlah sementoblas pada daerah tarikan	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3. 1 <i>Ethical Clearance</i>	54
3. 2 Surat Ijin Laboratorium Biomedik.....	55
3. 3 Alat Penelitian.....	57
3. 4 Bahan Penelitian.....	58
3. 5 Perlakuan hewan coba.....	60
4. 1 Gambaran Histologis Sementoblas pada Daerah Tarikan.....	62
4. 2 Hasil penghitungan jumlah osteoblas.....	67
4. 3 Hasil Analisis Data.....	71

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masalah kesehatan gigi dan mulut cukup tinggi sedangkan tingkat kesadaran perawatan gigi dan mulut masih cukup rendah di Indonesia (Hanindira dkk., 2020). Prevalensi nasional masalah gigi dan mulut di Indonesia berdasarkan Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 adalah sebesar 57,6%. Presentase prevalensi maloklusi di Indonesia cukup tinggi, yaitu mencapai 80% dari populasi. Maloklusi menduduki urutan ketiga setelah karies dan penyakit periodontal (Riskesdas, 2018; Ardani dkk., 2019; Fitri dkk., 2021).

Maloklusi gigi dapat didefinisikan sebagai suatu bentuk oklusi yang menyimpang dari bentuk standar yang diterima sebagai bentuk normal. Oklusi dikatakan normal apabila susunan gigi dalam lengkung rahang adalah teratur dan adanya hubungan yang harmonis antara gigi atas dan gigi bawah (Asmawati, 2012; Laguhi dkk., 2014). Maloklusi dapat menyebabkan terjadinya masalah periodontal, gangguan fungsi menelan, pengunyahan, masalah bicara dan psikososial yang berkaitan dengan estetika. Maloklusi juga dapat menyebabkan terjadinya risiko karies karena adanya gigi yang berjejal sehingga sulit untuk membersihkannya. Maloklusi dapat diatasi dengan melakukan perawatan ortodontik yaitu pemasangan piranti ortodontik (Farani & Abdillah, 2021; Fitri dkk., 2021).

Perawatan ortodontik adalah perawatan yang bertujuan untuk mendapatkan susunan gigi yang teratur, kontak oklusal yang baik, sehingga dapat dicapai fungsi oklusi yang efisien (Ardhana, 2013). Perawatan ortodontik menyebabkan pergerakan gigi yang diperoleh melalui *remodeling* jaringan periodontal sebagai respon terhadap adanya gaya mekanis pada gigi geligi. Gaya mekanis tersebut diperoleh melalui aktivasi dari alat ortodontik lepasan maupun cekat (Maulana, 2016). Pergerakan gigi ortodontik terdiri dari tiga tahap, yaitu *initial phase*, *lag phase*, dan *postlag phase*. Tahap yang dituju pada penelitian adalah tahap *lag phase* yang terjadi setelah *initial phase* yang berlangsung 20-30 hari (Asiry, 2018). Elemen jaringan yang mengalami perubahan sewaktu

pergerakan gigi, yang pertama adalah ligamen periodontal berserta sel-selnya (fibroblas, osteoblas, osteoklas, dan sementoblas), serat pendukung, kapiler dan persarafan, lalu yang kedua adalah tulang alveolar dan sementum (Wijaya dkk., 2015). Ketika gaya mekanis tersebut diaplikasikan pada gigi, maka akan menimbulkan daerah tekanan dan daerah tarikan. Daerah tekanan akan mengalami resorpsi tulang alveolar dan pada daerah tarikan akan mengalami pembentukan tulang (Nishimura dkk., 2008; Iskandar & Ismaniati, 2010). Pada daerah tarikan juga terjadi penyusutan diameter dan perpanjangan dari sabut kolagen selama proses *remodeling* ligamen periodontal yang memungkinkan Bergeraknya gigi (P. Wijayanti dkk., 2014). Pada *remodeling* ligamen periodontal, terjadi banyak proses metabolik yang salah satunya melibatkan sel sementoblas (B. Handayani & Mardanus, 2016).

Sel sementoblas berasal dari sel mesenkimal yang terdapat pada *follicle* gigi yang nantinya akan membentuk sementum. Sementum mempunyai fungsi utama yaitu melekatkan serat kolagen ligamen periodontal ke tulang alveolar serta menjaga keutuhan gigi (Noengki Prameswari, 2007). Sementoblas menyerupai osteoblas tetapi berbeda secara fungsional dan histologis (Bath-Balogh & Fehrenbach, 2014; Nanci, 2017). Sementoblas memiliki sel berbentuk bulat atau *polygon*, terletak di garis pinggir ligamen periodontal yang berhadapan dengan sementum dan seringkali tampak perpanjangan *processus* sitoplasmik pada sementum. Sementoblas memproduksi serabut kolagen intrinsik dan substansi dasar yang bersama-sama dengan serabut kolagen ekstrinsik membentuk sementum (Chandra, 2014; Newman dkk., 2018). Sementoblas mengekspresikan *alkaline phosphatase* (ALP) dengan cara yang mirip dengan osteoblas. Ekspresi ALP meningkat selama diferensiasi sementoblas dan menandakan peningkatan jumlah sel sementoblas pada daerah tarikan. Peningkatan ALP terjadi pada hari ke-7 dan meningkat signifikan pada hari ke-14. Proliferasi sel pada daerah tarikan ortodontik dapat terjadi hingga 3 minggu (Nemoto dkk., 2009; D'Apuzzo dkk., 2013).

Pemakaian piranti ortodontik gigi dalam jangka waktu yang lama menghasilkan suatu respon menyerupai inflamasi yang selanjutnya dapat memicu

stres oksidatif berkaitan dengan peningkatan ekspresi faktor proinflamasi (Wijayanti, 2019). Stres oksidatif merupakan suatu kondisi yang terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh (Puspitasari dkk., 2016). *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan faktor utama yang berperan pada kerusakan oksidatif sel dan jaringan dengan merusak peroksidasi rantai ganda asam lemak, protein, dan DNA melalui peningkatan stres oksidatif (Wijayanti, 2019). Kadar ROS yang tinggi dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan jaringan (Sandana dkk., 2017). Oleh karena itu, perlu adanya senyawa yang dapat menstabilkan ROS pada pergerakan gigi secara ortodontik salah satunya adalah senyawa antioksidan pada buah delima merah.

Buah delima (*Punica granatum*) adalah tanaman buah yang dapat tumbuh di Indonesia. Buah delima merah ini sangat terkenal dan merupakan buah asli Timur Tengah. Buah delima di Indonesia dikelompokkan sesuai dengan warnanya, yaitu delima merah, putih dan ungu. Buah delima merah adalah delima yang paling banyak ditemui di Indonesia dibandingkan delima putih dan ungu (Hernawati dkk., 2018). Delima merah sering ditanam di pekarangan rumah sebagai tanaman hias, juga dapat dikonsumsi buahnya. Ekstrak buah delima merah memiliki kandungan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Menurut penelitian Edrizal dkk., (2019), salah satu senyawa polifenol yaitu flavonoid dalam kulit buah delima merah efektif terhadap peningkatan jumlah osteoblas karena mampu menurunkan ROS. Flavonoid juga dilaporkan mampu meningkatkan *core-binding factor alpha 1* (Cbfa1)/*runt-related transcription factor 2* (Runx2), *osterix*, *osteocalcin*, kolagen tipe I dan ALP yang menunjukkan potensinya untuk menginduksi diferensiasi osteogenik (Hartono dkk., 2020). Buah delima merah kemungkinan juga efektif terhadap peningkatan jumlah sementoblas.

Penelitian untuk mengetahui efek dari bagian buah delima merah sudah banyak diteliti salah satunya adalah penelitian ekstrak kulit buah delima terhadap jumlah osteoblas. Penelitian efek dari ekstrak buah delima merah terhadap jumlah sementoblas masih belum diteliti. Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik

untuk mengetahui efek pemberian ekstrak buah delima merah terhadap peningkatan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gaya mekanis ortodontik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, peneliti memperoleh rumusan masalah yaitu:

- 1.2.1 Bagaimana efek ekstrak buah delima merah terhadap jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik dengan lama waktu yang berbeda?
- 1.2.2 Bagaimana perbedaan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik di minggu ke-1, minggu ke-2 dan minggu ke-3?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang penelitian, peneliti mempunyai tujuan yaitu:

- 1.3.1 Menganalisis efek ekstrak buah delima merah terhadap jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik dengan lama waktu yang berbeda.
- 1.3.2 Menganalisis perbedaan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus pada pergerakan gigi ortodontik di minggu ke-1, minggu ke-2 dan minggu ke-3.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang penelitian, peneliti mempunyai manfaat rumusan yaitu:

- 1.4.1 Memberikan informasi tentang efek ekstrak buah delima merah terhadap jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus pada pergerakan gigi ortodontik.
- 1.4.2 Menjadi bahan alternatif untuk meningkatkan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan ortodontik.

1.4.3 Menjadi sumber acuan untuk penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pergerakan Gigi Ortodontik

Pergerakan gigi dengan aplikasi ortodontik tergantung pada *remodeling* ligamen periodontal dan tulang alveolar. Pergerakan gigi secara ortodontik berkesinambungan dengan adanya keseimbangan antara deposisi tulang di daerah tarikan dan resorpsi tulang di daerah tekanan (D'Apuzzo dkk., 2013). Kekuatan yang diberikan pada gigi akan menyebabkan terbentuknya daerah-daerah tekanan dan tarikan pada struktur pendukung gigi. Agar gigi bisa digerakkan, harus terjadi resorpsi tulang sebagai respon terhadap stress dan agar gigi bisa melekat erat, juga harus terjadi deposisi tulang untuk mempertahankan keutuhan dari mekanisme perlekatan (Adilah, 2009).

2.1.1 Teori Pergerakan Gigi

Ada dua mekanisme yang mempengaruhi pergerakan gigi secara ortodontik, yaitu elektrisitas biologis (*biologic electricity*) dan teori tekanan-tarikan (*pressure-tension*) yang terjadi pada ligamen periodontal sehingga mempengaruhi aliran darah. Ada kemungkinan kedua teori tersebut bersama-sama memainkan peranan dalam pergerakan gigi (Rahardjo, 2012).

a. Teori Elektrisitas Biologis (*Piezoelectric*)

Teori ini berhubungan dengan perubahan metabolisme pada tulang yang dikontrol sinyal elektrik yang terjadi ketika tulang alveolar berubah bentuk karena tekanan. Sinyal elektrik mempengaruhi reseptor membran sel atau permeabilitas membran (atau mungkin keduanya) dan keadaan ini mempengaruhi aktivitas sel. Tulang adalah massa atau bahan piezoelektrik, yaitu menghasilkan loncatan elektrik permukaan bila dikenai tekanan. Proses piezoelektrik menjembatani *remodeling* yang disebabkan oleh kekuatan ortodontik. Pada suatu penelitian didapatkan bahwa kenyataan bahwa tulang mempunyai efek piezoelektrik kurang lebih delapan kali dentin dan sementum. Kekuatan efek piezoelektrik berkorelasi dengan kemampuan jaringan untuk

mengadakan *remodeling*. Tulang mempunyai efek piezoelektrik yang besar sehingga tulang paling mudah melakukan *remodeling*.

b. Teori Tekanan dan Tarikan

Adanya tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal menyebabkan perubahan kimiawi sebagai stimulus perubahan seluler pada pergerakan gigi. Perubahan aliran darah pada ligamen periodontal karena adanya tekanan yang lama menyebabkan gigi bergeser dalam soket gigi dan mempengaruhi ligamen periodontal. Aliran darah dan pasokan oksigen berkurang pada daerah ligamen periodontal yang tertekan sedangkan pada daerah ligamen periodontal yang tertarik pasokan darah tetap atau bertambah. Demikian juga metabolit yang lain juga berubah dalam hitungan menit. Perubahan kimiawi mempengaruhi pelepasan agen biologi aktif yang merangsang diferensiasi dan aktivitas sel. Secara garis besar kejadiannya dapat digambarkan sebagai berikut: 1) perubahan aliran darah karena terjadi tekanan pada ligamen periodontal 2) pembentukan atau pelepasan sinyal kimia, dan 3) aktivasi sel yang dipicu perubahan kimia.

2.1.2 Tahap Pergerakan Gigi

Pergerakan gigi secara ortodontik terdiri dari tiga fase, yaitu *initial phase*, *lag phase* dan *postlag phase* (Brustone & Marcotte, 2000).

a. *Initial phase*

Fase ini ditandai dengan gerakan yang terjadi 24 jam sampai 48 jam setelah aplikasi gaya pertama pada gigi. Fase ini sebagian besar disebabkan oleh perpindahan gigi di ruang ligamen periodontal dan tulang alveolar yang menekuk sampai batas tertentu. Pergerakan gigi sekitar 0,4-0,9 mm biasanya terjadi dalam waktu seminggu (Zainal Ariffin dkk., 2011).

b. *Lag phase*

Lag phase terjadi segera setelah *initial phase* yang berlangsung selama 20 sampai 30 hari dan menunjukkan perpindahan gigi yang relatif sedikit bahkan tidak sama sekali. Fase ini ditandai dengan terjadinya hialianisasi ligamen periodontal di daerah tekanan dan tidak ada pergerakan gigi sampai sel

membersihkan semua jaringan nekrotik. Daerah tekanan pada tahap ini terjadi distorsi yang menyebabkan zona hialinisasi semakin berkembang dan adanya perpindahan (Reddy dkk., 2015).

c. *Postlag phase*

Postlag phase mengikuti *lag phase*, di mana dimana pergerakan gigi secara bertahap atau tiba-tiba meningkat dan biasanya terlihat setelah 40 hari setelah penerapan gaya awal. Tahap ini mengakibatkan daerah hialinisasi hilang dan pergerakan gigi dapat terjadi secara cepat (Krishnan & Davidovitch, 2015).

2.2 Ligamen Periodontal

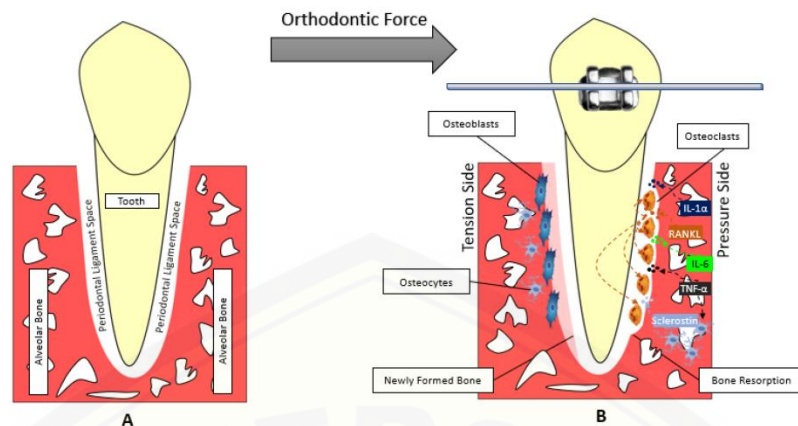
Ligamen periodontal merupakan komponen dari jaringan periodontal sebagai jaringan pendukung gigi yang terdapat pada sekeliling gigi (Saputri, 2018). Ligamen periodontal terdiri dari jaringan ikat fibrous yang padat dan sangat seluler yang mengelilingi akar gigi dan menghubungkannya ke tulang alveolar dengan lebar berkisar antara 0,15-0,38 mm (Priyatmoko, 2014). Ligamen periodontal terdiri atas komponen seluler dan komponen interseluler. Komponen interseluler, yaitu matriks ekstraseluler secara dominan tersusun atas elemen fibrous dan substansi dasar. Elemen fibrous mayor terdiri atas sabut kolagen tipe 1 dan tipe 3, yang berfungsi dalam menahan tekanan mekanik dan mempertahankan gigi dalam soketnya. Sedangkan substansi dasar dari ligamen periodontal terdiri dari proteoglikan dan glikoprotein yang berperan untuk menambah viskoelastisitas untuk *remodeling* periodontal (Narmada & Syafei, 2008). Komponen seluler dalam ligamen periodontal terdiri dari sel-sel jaringan ikat, sel-sel sisa epitel, sel-sel imun, dan sel-sel yang terkait dengan elemen interseluler. Sel jaringan ikat ligamen periodontal, yaitu fibroblas, sementoblas, dan osteoblas (Newman dkk., 2018).

Ligamen periodontal mempunyai komponen penting yaitu serat kolagen. Kolagen adalah protein yang terdiri dari asam amino yang berbeda, yang paling penting adalah glisin, prolin, hidroksilysin, dan hidroksiprolin. Beberapa jenis kolagen dapat dibedakan berdasarkan komposisi kimianya, distribusi, fungsi, dan

morfologinya. Serat kolagen disintesis oleh fibroblas, osteoblas, sementoblas, kondroblas, odontoblas, dan sel-sel lainnya. (Newman dkk., 2018).

Pergerakan gigi secara ortodontik terjadi karena adanya proses keseimbangan antara aposisi ligamen periodontal dan resorpsi ligamen periodontal yang dinamakan dengan *remodeling* ligamen periodontal (D'Apuzzo dkk., 2013). Ligamen periodontal akan terpapar oleh kekuatan fisik sebagai respon dari pengunyahan, parafungsi, bicara, dan pergerakan gigi secara ortodontik. Sel-sel ligamen periodontal berperan dalam proses aposisi dan resorpsi yang terjadi selama pergerakan fisiologis gigi untuk menyesuaikan terhadap beban oklusal serta memperbaiki kerusakan. Ligamen periodontal secara konstan mengalami *remodeling*. Sel yang rusak akan diganti dengan sel yang baru, dan aktivitas *mitotic* dapat diamati pada fibroblas dan sel endotel. Fibroblas akan membentuk serat kolagen dan sisa sel *mesencymal* berkembang menjadi osteoblas dan sementoblas sehingga laju pembentukan dan diferensiasi fibroblas, sementoblas, dan osteoblas berpengaruh terhadap laju pembentukan kolagen, sementum, dan tulang (Newman dkk., 2018).

Respon dari aplikasi ortodontik terhadap ligamen periodontal menghasilkan dua daerah, yaitu daerah tarikan dan daerah tekanan. Daerah tekanan ligamen periodontal adalah daerah yang searah dengan gaya aplikasi piranti ortodontik dan daerah tarikan ligamen periodontal adalah daerah yang berlawanan dengan arah gaya aplikasi ortodontik sehingga daerah tersebut mengalami elongasi dan meregang. Kekuatan piranti ortodontik menghasilkan penyimpangan matriks ligamen periodontal yang dapat menyebabkan perubahan pada sistem seluler dan konfigurasi sitoskeletal dan pelepasan neuropeptida dari ujung saraf aferen. Kekuatan ini dalam level biomolekuler dapat menginduksi pelepasan prostaglandin, faktor pertumbuhan dan beberapa sitokin seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α . Gigi dan jaringan pendukungnya yang terkena beban tersebut akan dapat menyebabkan terlepasnya sitokin sebagai respon terhadap proses resorpsi dan aposisi ligamen periodontal dan tulang alveolar (Gambar 2.2) (Narmada & Syafei, 2008; Hassan dkk., 2018).



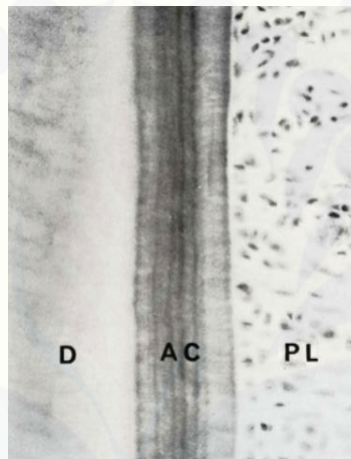
Gambar 2.1 Pergerakan Gigi secara Ortodontik. (A) Sebelum diaplikasikan piranti ortodontik. (B) Setelah diaplikasikan piranti ortodontik dan terlihat di daerah tarikan ada *remodeling* tulang alveolar dan *remodeling* ligamen periodontal, penambahan jumlah osteoblas dan sel-sel ligamen periodontal lainnya. Sedangkan di daerah tekanan terdapat resorpsi tulang alveolar dan pelepasan mediator kimia (Hassan dkk., 2018)

2.3 Sementum

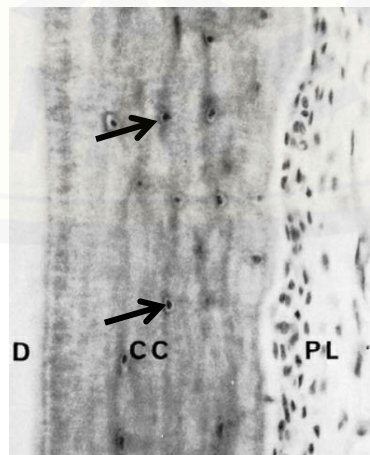
Sementum adalah jaringan mesenkim yang termineralisasi yang menutupi seluruh permukaan akar gigi. Sementum sering disebut sebagai jaringan mirip tulang, akan tetapi sementum bersifat avaskular, tidak mengalami *remodeling* dinamis, dan bertambah tebal sepanjang hidup (Yamamoto dkk., 2016). Komposisi utama dari matriks organik sementum terdiri dari kolagen tipe I (90%) dan tipe III (sekitar 5%). Kolagen tipe I merupakan kolagen utama sementum dan memiliki fungsi seperti di tulang yaitu menampung sebagian besar pengendapan mineral. Kolagen tipe I juga terdapat di dalam ligamen periodontal dan fungsi utamanya adalah untuk menyusun bundel serat yang mengikat gigi ke tulang dan mendistribusikan kekuatan pengunyahan. Sumber utama serat kolagen di sementum adalah serat *Sharpey* (ekstrinsik) yang merupakan bagian tertanam dari serat utama ligamen periodontal yang dibentuk oleh fibroblas, dan serat yang termasuk dalam matriks sementum (intrinsik), yaitu diproduksi oleh sementoblas. Serat *Sharpey* merupakan sebagian besar dari sebagian besar sementum yang utamanya terdiri dari kolagen tipe I. Kolagen tipe III tampaknya melapisi kolagen tipe I dari serat *Sharpey* (Nanci, 2017; Newman dkk., 2018).

Sementum diklasifikasikan menurut ada atau tidaknya sel di dalam matriksnya dan asal serat kolagen dari matriks tersebut. Sementum memiliki dua

jenis, yaitu sementum aseluler (primer) dan seluler (sekunder). Keduanya terdiri dari matriks interfibrillar terkalsifikasi dan fibril kolagen. Sementum yang melekat pada dentin akar dan menutupi bagian atas (servikal) dari akar adalah sementum aseluler (primer) dan sementum yang terdapat pada bagian bawah (apikal) adalah sementum seluler (sekunder). Sementum aseluler mempunyai fungsi untuk memberikan perlekatan pada gigi sedangkan sementum seluler memiliki peran adaptif dalam merespons keausan gigi dan gerakan dan berhubungan dengan perbaikan jaringan periodontal. Tulang, ligamen periodontal dan sementum bersama-sama membentuk unit fungsional yang sangat penting saat pergerakan gigi ortodontik dilakukan (Nanci, 2017; Newman dkk., 2018).



Gambar 2.2 Histologi Sementum Aseluler. Sementum aseluler (AC) menunjukkan garis inkremental yang sejajar dengan sumbu panjang gigi. PL = Ligamen Periodontal, D = Dentin (Newman dkk., 2018)



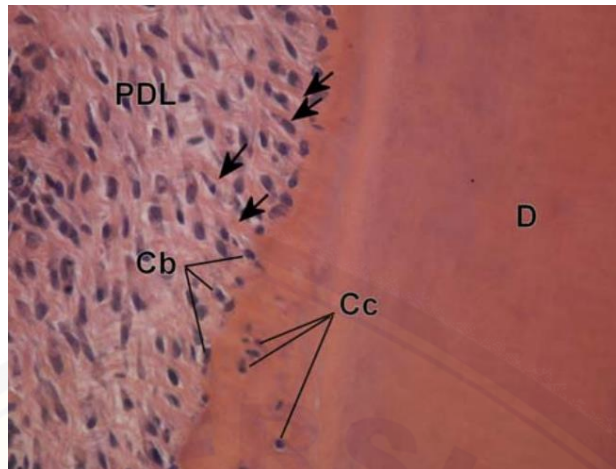
Gambar 2.3 Histologi Sementum Seluler. Sementum seluler (CC) menunjukkan sementosit yang terletak di dalam lakuna (tanda panah). Sementum

seluler lebih tebal dari sementum aseluler. PL = Ligamen Periodontal, D = Dentin (Newman dkk., 2018)

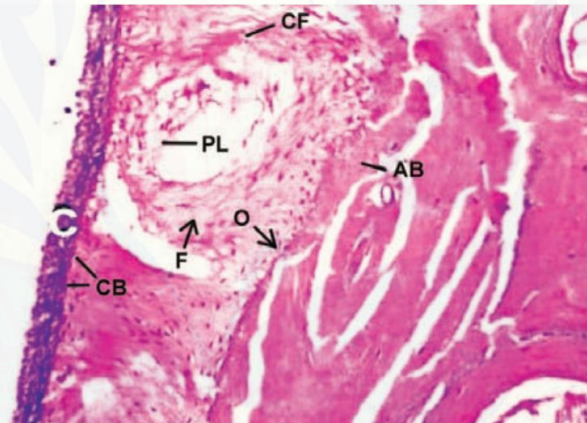
2.4 Sementoblas

Sementoblas adalah suatu sel yang memproduksi serat yang termasuk dalam matriks sementum (intrinsik) dan juga membentuk komponen nonkolagen dari bahan dasar interfibrillar, seperti proteoglikan, glikoprotein, dan fosfoprotein. Proteoglikan berperan sebagai pengatur interaksi sel dan matriks sel, baik selama perkembangan normal dan selama regenerasi sementum (Newman dkk., 2018). Morfologi sementoblas adalah selnya berbentuk bulat atau *polygon* dan berdekatan dengan sementum. Sementoblas juga mirip dengan sel-sel tulang dilihat dari matriks proteinnya, seperti kolagen tipe I, osteopontin, dan osteocalcin (Iwane & Kikuta, 2020). Berdasarkan asalnya, sementoblas dibedakan menjadi dua yaitu sementoblas yang berasal dari *Hertwig's Epithelial Root Sheath* (HERS) dan sementoblas yang berasal dari *cranial neural crest cell*. Sementoblas yang berasal dari HERS menghasilkan sementum aseluler sedangkan sementoblas yang berasal dari *cranial neural crest cell* menghasilkan sementum seluler (Kitagawa dkk., 2006).

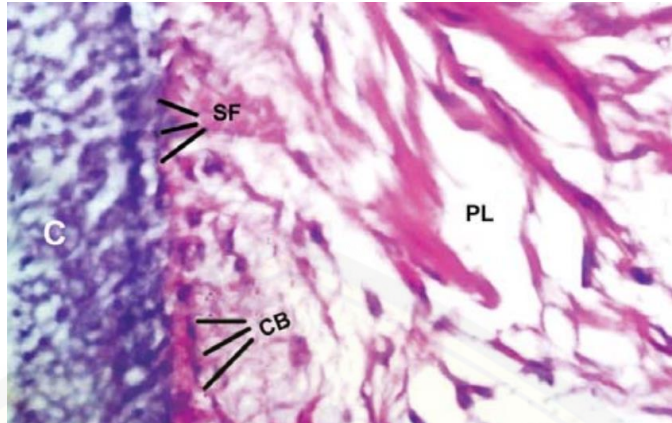
Sementoblas mengekspresikan ALP, Runx2, kolagen tipe I, dan protein nonkolagen seperti *bone sialoprotein* (BSP) dan *osteocalcin* (OCN) dengan cara yang mirip dengan osteoblas. BSP dan OCN akan naik selama diferensiasi sementoblas yang dipicu oleh protein morfogenetik tulang (BMP). Namun, mekanisme molekuler yang mengendalikan diferensiasi sementoblas tidak sepenuhnya dipahami (Nemoto dkk., 2009). Ekspresi ALP meningkat selama diferensiasi sementoblas dan menandakan adanya peningkatan jumlah sel sementoblas pada daerah tarikan. Peningkatan ALP terjadi pada hari ke-7, meningkat signifikan pada hari ke-14 dan penurunan yang tajam pada hari ke-21 (Nemoto dkk., 2009; D'Apuzzo dkk., 2013).



Gambar 2.4 Histologi Sementoblas. Tanda panah menunjukkan serabut utama ligamen periodontal. Mayoritas sel dalam ligamen periodontal adalah fibroblas. Cb = sementoblas, Cc = sementosit, D = dentin, PDL = ligamen periodontal (Berkovitz & Shellis, 2018)



Gambar 2.5 Histologi Sementoblas. Ligamen Periodontal (PL): Jaringan periodontal menempati ruang periodontal yang berada di antara sementum (C) dan tulang alveolar (AB). CB = Sementoblas, O = Osteoblas, CF = Serat Kolagen, F = Fibroblas (Satish Chandra dkk., 2010)



Gambar 2.6 Histologi Sementoblas. Sel-sel ligamen periodontal (PL) yang berada di pinggir sementum menjadi aktif dan khusus untuk menghasilkan sementum (C). Sel-sel ini disebut sementoblas (CB). Serat kolagen ligamen periodontal yang berada dekat sementum disebut serat Sharpey (SF) (Satish Chandra dkk., 2010)

2.5 Delima

Delima adalah tanaman yang tergolong dalam semak besar berduri atau berupa pepohonan kecil (*Punica granatum*) dari famili *Punicaceae*. Tanaman ini merupakan tanaman asli Asia semitropis dan banyak ditanam di wilayah tepi sungai Mediterania pada zaman dahulu. Delima telah dibudidayakan sebagai tanaman hias dan sebagai buah untuk dikonsumsi (Olivia, 2014).

2.5.1 Morfologi Buah Delima

Delima merupakan tanaman perdu berbatang kayu yang bernama latin *Punica granatum L.* (dalam bahasa Inggris disebut *pomegranate*), ketinggiannya bisa mencapai lima meter. Cabang batangnya cukup banyak dan berduri. Daun berbentuk lonjong, kecil-kecil, dan bertepi rata serta berwarna hijau mengkilap (Olivia, 2014). Buahnya bertipe buni berbentuk bulat bermahkotakan kelopak daun yang tidak rontok pada bagian bawah, warna kulit buah hijau kekuning-kuningan. Bagian dalam buah terdapat kulit tipis putih menjadi beberapa ruangan yang penuh dengan butir-butir daging buah, warna daging buah menarik mulai putih, kekuning-kuningan sampai merah jambu. Satu buah delima terdapat sekitar 700-800 benih biji padat yang disebut aril yang berwarna merah, dan bijinya berbentuk segi empat tumpul (Sudjijo, 2014).

Ada tiga jenis delima yang tersebar di Indonesia yaitu delima putih, delima merah, dan delima ungu atau hitam. Delima merah adalah yang paling terkenal dari ketiga jenis tersebut. Bunga delima merah berwarna merah tua dan bersusun. Buah mudanya berwarna hijau kemerahan dan menjadi oranye kecoklatan setelah tua. Daging buahnya merah bening dengan rasa yang manis. Sebaik-baik jenis delima adalah warnanya paling merah, berkulit halus dan banyak mengandung air (Gambar 2. 1) (Suranto, 2011).



Gambar 2.7 Buah Delima Merah (Istighfaricha, 2019)

2.5.2 Taksonomi Buah Delima Merah

Menurut Budka (2008) kedudukan tanaman delima merah di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Lythraceae</i>
Genus	: <i>Punica</i>
Spesies	: <i>Punica granatum L.</i>

2.5.3 Kandungan Buah Delima Merah

Pohon delima umumnya ditanam di pekarangan dan bermanfaat sebagai tanaman hias dan obat-obatan serta daging buahnya dapat dimakan langsung yang mempunyai rasa asam manis. Daging buahnya dapat diekstrak dijadikan minuman yang menyegarkan. Kandungan nutrisi buah delima per 100 g buah terdiri atas air (78 g), protein (1,6 g), lemak (0,1 g), karbohidrat (14,5 g), dan mineral (0,7 g). Analisis lain menunjukkan bahwa terdapat kandungan gula inversi (20%), glukosa (5–10%), asam sitrat (0,5–3,5%), dan vitamin C (14 mg/100 g) (Sudjijo, 2014). Buah delima memiliki sifat antioksidan karena mengandung vitamin C yang tinggi. Kandungan vitamin C pada buah delima mencapai 17% dari kebutuhan harian per 100 g. Delima juga merupakan sumber kelompok vitamin B kompleks yang vital, diantaranya *folates*, *pantothenic acid* (vitamin B5), *pyridoxine*, vitamin K, kalsium, *potassium*, *manganes*e dan *copper* (Setiawati, 2014). Buah delima juga kaya akan kandungan serat. Kandungan serat pada buah delima adalah 4 gr per 100 g (kira-kira 12% kebutuhan harian). Kandungan serat tersebut bermanfaat bagi pencernaan karena dapat memperlancar pencernaan dan gerakan usus (Marhari & Dewi, 2014).

Kandungan kimia yang terdapat pada buah delima antara lain oleat, icosanoic, linoleat, asam sitrat, palmitat, puniic, asam stearat, asam klorogenik, asam malic, flavanoid, fenol seperti asam gallic, asam protocatechuic, asam caffeic, asam ferulic, asam o- dan p-coumaric, phloridzin, katekin, dan quercetin (Pandey & Rizvi, 2009). Buah delima juga memiliki kelompok utama fitokimia yaitu senyawa polifenol. Senyawa polifenol tersebut terdiri dari *flavonoids* (*flavonols* dan *anthocyanins*), *hydrolysable tannins* (*ellagitannins* dan *gallotannins*) dan *condensed tannins* (*proanthocyanidins*) (Hernawati dkk., 2013).

Tabel 2. 1 Kandungan Fitokimia Buah Delima Merah (Aslam dkk., 2006)

Bagian Delima	Kandungan Fitokimia
Buah Delima	Glukosa, asam askorbat, ellagic acid, gallic acid, caffeic acid, katekin, quercetin, rutin; mineral, besi, asam amino, alkaloid, saponin, flavonoid
Biji Delima	95% punicalic acid; kandungan lain termasuk ellagic acid; asam lemak; sterols, alkaloid, saponin, flavonoid
Kulit Delima	Phenolic punicalagins; gallic acid asam lemak; katekin; quercetin, rutin, flavonols, flavones, flavonones, anthocyanidins, steroid, flavonoid

2.6 Efek Antioksidan Buah Delima Merah Terhadap Sementoblas

Salah satu zat dari buah delima merah yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu kandungan antioksidannya yang cukup tinggi. Antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya radikal bebas (V. Handayani dkk., 2014). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua bagian, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetik. Salah satu golongan senyawa antioksidan primer atau alami yang terdapat pada buah delima merah adalah antioksidan golongan polifenol. Antioksidan golongan polifenol adalah kelompok yang paling banyak terdapat dalam buah-buahan, sayuran, tanaman polong-polongan, biji-bijian, teh, rempah-rempah dan anggur (Inggrid & Santoso, 2014).

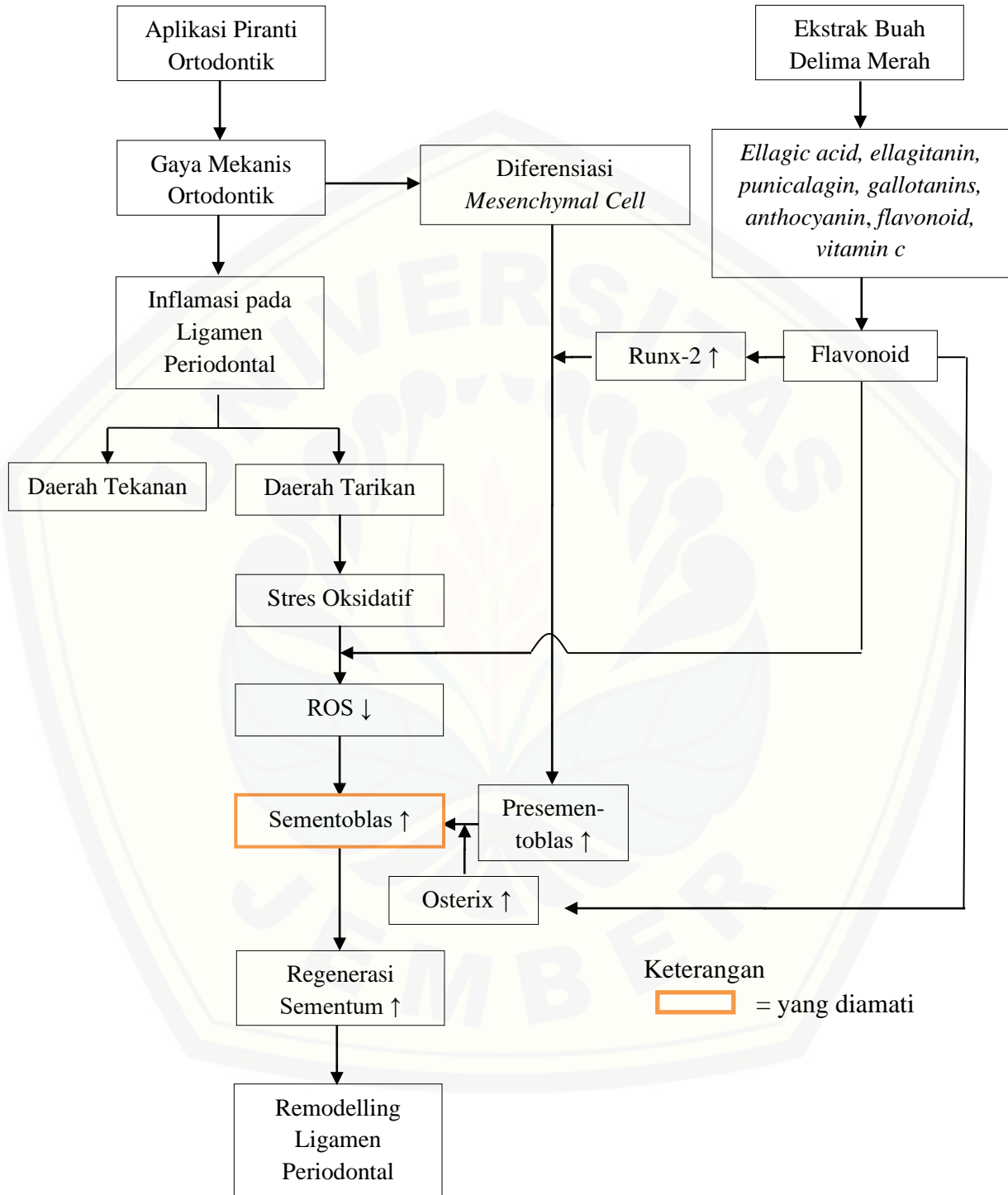
Kemampuan tersebut diperoleh dari kandungan flavonoid, anthocyanidin dan *ellagic acid* dalam buah delima merah (Hernawati, 2015). Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak diisolasi dari tanaman karena

manfaatnya sebagai antioksidan, anti mikroba, dan antikanker. Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menangkap radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh (Prestiandari dkk., 2018). *Anthocyanidin* merupakan aglikon yang menyusun antosianin, sedangkan *ellagic acid* (EA) merupakan hasil hidrolisis ellagitannins yang termasuk dalam *hydrolysable tannins* (Larrosa dkk., 2006). *Ellagic acid* juga memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Kemampuan tersebut akan semakin mengalami peningkatan apabila dikombinasikan dengan anthocyanidin yang juga terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Hernawati, 2015).

Antioksidan dalam senyawa polifenol mampu menstabilkan ROS. ROS merupakan faktor utama yang berperan pada kerusakan oksidatif sel dan jaringan dengan merusak peroksidasi rantai ganda asam lemak, protein, dan DNA melalui peningkatan stres oksidatif (Wijayanti, 2019). Kadar ROS yang tinggi dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan jaringan (Sandana dkk., 2017). Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbitalnya sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau ROS (Werdhasari, 2014).

Uji efektivitas ekstrak kulit buah delima yang dilakukan oleh Edrizal dkk. (2019) diketahui efektif dan dapat meningkatkan proliferasi osteoblas karena terdapat kandungan flavonoidnya. Hartono dkk. (2020) juga melaporkan senyawa polifenol termasuk flavonoid juga mampu meningkatkan *Cbfa1/Runx2*, *osterix*, *osteocalcin*, kolagen tipe I, dan ALP yang menunjukkan potensinya untuk menginduksi diferensiasi osteogenik. Penelitian-penelitian tersebut memperkirakan bahwa flavonoid juga dapat meningkatkan proliferasi sementoblas karena sementoblas memiliki pola ekspresi gen yang sama dengan osteoblas (Nemoto dkk., 2009).

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.8 Kerangka Konsep Penelitian

Pemakaian piranti ortodontik pada gigi menimbulkan gaya mekanik ortodontik. Gaya mekanik tersebut menyebabkan inflamasi pada sekitar ligamen periodontal sehingga terbentuknya dua daerah, yaitu daerah tekanan dan daerah tarikan. Daerah tarikan menimbulkan kadar ROS meningkat sehingga terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif menimbulkan kerusakan jaringan termasuk kerusakan jaringan pada area ligamen periodontal. Gaya mekanis ortodontik juga menyebabkan diferensiasi *mesenchymal cells*. *Mesenchymal cells* akan berdiferensiasi menjadi sementoblas melalui faktor transkripsi yaitu Runx-2, yang menginduksi diferensiasi *mesenchymal cells* menjadi prementoblas dan osteorix yang menginduksi diferensiasi prementoblas menjadi sementoblas.

Ekstrak delima merah mempunyai senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu *Ellagic acid, ellagitanin, punicalagin, gallotanins, anthocyanin, flavonoid* dan *vitamin c*. Flavonoid salah satu senyawa dari ekstrak delima merah diduga dapat menurunkan kadar ROS sehingga dapat meningkatkan proliferasi sel sementoblas di daerah tarikan dan mempercepat remodeling ligamen periodontal. Flavonoid juga dilaporkan berperan pada ekspresi Runx-2 dan osteorix. Runx-2 menginduksi diferensiasi *mesenchymal cells* menjadi prementoblas sedangkan osteorix menginduksi diferensiasi prementoblas menjadi sementoblas, sehingga terjadi peningkatan jumlah sel sementoblas. Jumlah sel sementoblas yang bertambah akan meningkatkan regenerasi sementum sehingga mempercepat remodeling ligamen periodontal.

2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

- 2.8.1 Ekstrak buah delima merah dapat meningkatkan jumlah sementoblas daerah tarikan gigi tikus pada pergerakan gigi ortodontik di minggu ke-1, minggu ke-2 dan minggu ke-3.
- 2.8.2 Semakin lama pemberian ekstrak buah delima merah semakin besar peningkatan jumlah sementoblas daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang mencari hubungan sebab akibat dengan cara memanipulasi variabel dalam satu atau lebih kelompok. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu rancangan penelitian dimana peneliti memungkinkan untuk mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol (Notoadmodjo, 2014).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September 2020 – Januari 2021. Penelitian ini dilaksanakan di:

- a. Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk mengambil ekstrak buah delima merah.
- b. Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk keseluruhan proses perlakuan hewan coba dan pengambilan jaringan dari penelitian ini.
- c. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk proses pembuatan preparat histologi, pemeriksaan, dan pembacaan preparat jaringan yang telah didapat.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian dapat didefinisikan sebagai suatu kelompok individu atau objek yang menempati suatu daerah tertentu dan menggambarkan karakteristik tertentu (Permana, 2016). Dalam penelitian ini populasinya adalah hewan coba tikus jantan spesies *Rattus norvegicus*.

3.3.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Sampel Penilaian

Pemilihan sampel penelitian dengan menggunakan *Purposive Sampling*, merupakan salah satu cara pengambilan sampel yang dilakukan dengan memilih subjek berdasarkan kriteria spesifik yang ditetapkan peneliti (Arikunto dan Suharsimi, 2010). Adapun kriteria sampel, antara lain:

1. Tikus putih (Wistar) spesies *Rattus Norvegicus* jantan
2. Kondisi fisik sehat
3. Berat badan 225-250 gram
4. Umur tikus 3-4 bulan

b. Kriteria Inklusi, Eksklusi dan *Drop out*

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah jenis tikus yang digunakan dalam penelitian, yaitu tikus *Rattus Norvegicus*, jenis kelamin jantan, kondisi fisik sehat, berat badan 225-250 gram, dan umur 3-4 bulan.

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kriteria dimana subjek atau objek penelitian tidak dapat mewakili sampel karena tidak memenuhi syarat sebagai sampel penelitian (Notoadmodjo, 2014). Kriteria eksklusi penelitian ini yaitu tikus yang mengalami cacat atau kelainan dan terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.

3. *Drop Out*

Hewan coba dinyatakan drop out apabila tikus mati selama penelitian dan spesimen tidak dapat diamati.

c. Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 6 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) tiap kelompok perlakuan. Adapun besar sampel didapat dari penghitungan rumus sebagai berikut (Daniel & Cross, 2013):

$$n \geq \frac{z^2 x \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n: jumlah sampel minimum

σ : standart deviasi sampel

d: kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

Z: konstanta disuatu tingkat kesalahan, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$

Penghitungan:

$$n \geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}, \text{ diasumsikan } d = \sigma, \text{ maka } n = Z^2$$

$$n \geq (1,96)^2$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Sampel penelitian yang berjumlah 4 tersebut, ditambahkan dengan faktor koreksi dengan rumus sebagai berikut (Usman dan Akbar, 2008):

$$N = \frac{n}{(1-f)}$$

Keterangan:

N: besar sampel setelah dikoreksi

n: jumlah sampel minimum

f: perkiraan terjadinya drop out pada sampel sebesar 30% (0,30)

maka didapatkan hasil:

$$N = \frac{4}{(1-0,30)} = \frac{4}{0,7}$$

$$N = 5,714$$

$$N = 6$$

Berdasarkan rumus di atas, sampel yang digunakan sebanyak 6 ekor pada masing-masing kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 36 ekor yang terbagi dalam 6 kelompok.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak buah delima merah.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel sementoblas pada ligamen periodontal daerah tarikan gigi tikus.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Jenis makanan hewan coba
- b. Kriteria hewan coba
- c. Alat ortodontik dan cara pemasangan
- d. Prosedur penelitian
- e. Dosis ekstrak buah delima merah

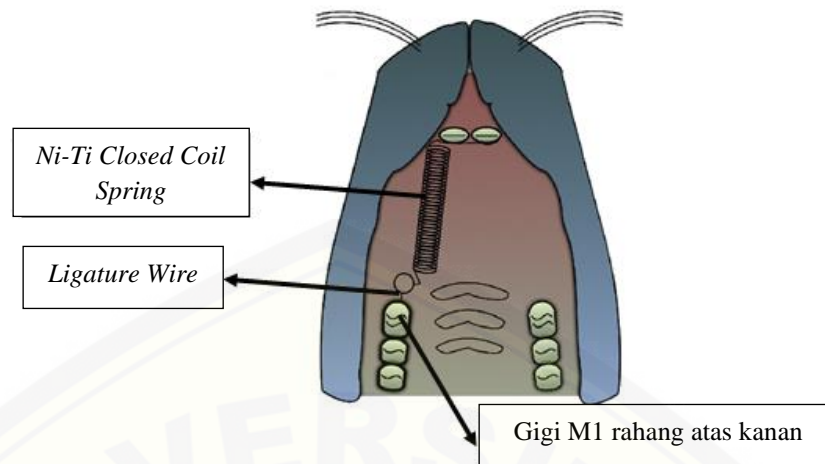
3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Buah Delima

Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) adalah sediaan yang dihasilkan dari ekstraksi secara kimiawi buah delima merah. Ekstrak delima diberikan per oral 1 kali sehari sebanyak 33,75 mg yang dilarutkan dalam 2 ml aquades dengan menggunakan sonde lambung untuk satu tikus. Buah delima merah yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari lereng Gunung Muria, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus.

3.5.2 Induksi Gaya Mekanis Ortodontik

Gaya mekanis ortodontik yang diberikan pada tikus dilakukan dengan memasang kawat ligatur dengan diameter 0,20 mm pada gigi molar pertama kanan rahang atas dan pada kedua gigi insivus RA. Kemudian molar pertama rahang atas kanan digerakkan ke mesial menggunakan *Tension Gauge* untuk menghasilkan kekuatan 11,5 grF dengan *Nickel Titanium Orthodontic closed coil spring* dengan diameter 0,010 inch dan panjang 6 mm.



Gambar 3.1 Ilustrasi pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* pada tikus (D'Apuzzo dkk., 2013)

3.5.3 Sel Sementoblas

Jumlah sel sementoblas merupakan banyaknya sel yang berbentuk *polygonal*, memiliki bentukan seperti osteoblas yang berbentuk kuboid, dan tersusun seperti selubung pada permukaan sementum. Sel sementoblas diamati pada permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus *Rattus norvegicus* pasca induksi gaya mekanis ortodonti dengan perbedaan waktu 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu. Penghitungan jumlah sel sementoblas dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

3.6 Bahan dan Alat Penelitian

3.6.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

- a. Hewan coba yaitu tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) jantan
- b. Buah delima merah
- c. Etanol 96%
- d. Ketamin (*Ilium, Australia*)
- e. Aquadest (*WIDA, Indonesia*)
- f. *Buffered Neutral Formalin 10%* (*Millipore, Germany*)
- g. Asam Formiat 10% (*Ultradent, Germany*)

- h. Alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 100% (*Kimia Farma, Indonesia*)
- i. Xylazine (*Millipore, Germany*)
- j. Meyer egg albumin (*Medsupplypartners, USA*)
- k. Paraffin solid (*Histoplast, USA*)
- l. Haematoksin Eosin (HE)
- m. Entellan/Canada Balsam (*Millipore, Germany*)
- n. Label (*Self Adhesive Labels, Indonesia*)
- o. Kertas saring (*Whatman, England*)
- p. Pakan standar untuk hewan coba (*Turbo, Indonesia*)
- q. Air mineral (*Aqua, Indonesia*)
- r. Aquadest steril (*Aqua Bideest Steril, Indonesia*)
- s. Glass Ionomer type IX (*Fuji, Japan*)
- t. Tension gauge (*Ormco, USA*)
- u. Nickel titanium orthodontic closed coil spring 0,010 inch (*3M Unitek, Germany*)
- v. Kawat ligatur diameter 0,20 mm (*3M Unitek, Germany*)

3.6.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

- a. Kandang pemeliharaan hewan coba (*Lion Star, Indonesia*)
- b. Tempat makan dan minum hewan coba (*Lion Star, Indonesia*)
- c. Welding machine (*Dental room*)
- d. Tabung spittoon (*Lion Star, Indonesia*)
- e. Timbangan digital (*Lucky, Indonesia*)
- f. Syringe (*Pro-Ject, Indonesia*)
- g. Sonde lambung
- h. Gelas ukur (*Pyrex, Japan*)
- i. Beaker glass (*Pyrex, Japan*)
- j. Blade Scalpel (*Dentica, USA*)
- k. Scalpel (*Dentica, USA*)
- l. Alat potong tulang/knoble tang (*Yamaco, Japan*)

- m. Pinset anatomi (*Dentica, USA*)
- n. Botol untuk dekalsifikasi (*Lion Star, Indonesia*)
- o. Mikrotom (*Roundfin, China*)
- p. *Waterbath* (*Roundfin, China*)
- q. *Paraffin dispenser* (*Roundfin, China*)
- r. *Base mould* (*Vision, Indonesia*)
- s. *Cold plate* (*Lytron, USA*)
- t. *Slide warmer* (*Tissue-tek, Japan*)
- u. Mikroskop Binokuler (*Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12 mpx*)
- v. Kamera Optilab[®] (*Adition advance plus*)
- w. Oven (*Memmert, Germany*)
- x. *Object glass* dan *Deck glass* (*Sail Brand, China*)
- y. Sarung tangan dan masker (*Sensi Gloves, Indonesia*)
- z. *Low Speed Handpiece* (*NSK, Japan*)
- aa. Mata bur *wheel* kecil (*Edenta, Switzerland*)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Persiapan *Ethical Clearance*

Keterangan kelaikan etik penelitian yang diproses bertujuan agar peneliti dapat melaksanakan penelitian dengan serangkaian kegiatan pada hewan coba. Keterangan kelayakan etik penelitian ini dikeluarkan oleh Komite Etik Penelitian (KEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba disiapkan untuk aklimatisasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan yang bertujuan untuk proses adaptasi dengan tempat tinggal, makanan dan minuman. Tikus diberi makan berupa pakan standart merek turbo serta air minum aquades. Sebelum dilakukan perlakuan, tiap tikus ditimbang berat badannya dan diamati kesehatannya seperti pada gerakan, berat badan, pola makan dan minum. Berat badan hewan coba ditimbang dengan menggunakan

timbangan digital sampai memenuhi kriteria yaitu 225-250 gram per ekor. Hal tersebut bertujuan untuk memperoleh keseragaman dalam melakukan penelitian.

3.7.3 Pembagian Kelompok Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan 6 kelompok, yaitu:

- a. Kelompok A (6 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis ortodontik berupa pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* dengan panjang 6 mm, diameter 0,010 inch selama 1 minggu.
- b. Kelompok B (6 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis ortodontik berupa pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* dengan panjang 6 mm, diameter 0,010 inch selama 2 minggu.
- c. Kelompok C (6 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis ortodontik berupa pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* dengan panjang 6 mm, diameter 0,010 inch selama 3 minggu.
- d. Kelompok D (6 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis ortodontik berupa pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* dengan panjang 6 mm, diameter 0,010 inch dan ekstrak buah delima selama 1 minggu.
- e. Kelompok E (6 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis ortodontik berupa pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* dengan panjang 6 mm, diameter 0,010 inch dan ekstrak buah delima selama 2 minggu.
- f. Kelompok F (6 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis ortodontik berupa pemasangan *Ni-Ti closed coil spring* dengan panjang 6 mm, diameter 0,010 inch dan ekstrak buah delima selama 3 minggu.

3.7.4 Persiapan Ekstrak Buah Delima

- a. Membuat Simplisia Buah Delima

Buah delima merah dicuci menggunakan air bersih kemudian semua bagian buah delima merah yaitu kulit, daging, dan biji dirajang untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan. Pengeringan dilakukan menggunakan oven. Bagian kulit buah delima dioven pada suhu 50°C selama 3 hari

sedangkan daging dan biji buah delima dioven pada suhu 50°C selama 6 hari. Pengovenan delima ini dilakukan hingga semua bagian delima merah menjadi kering. Buah delima yang telah kering dihaluskan sampai membentuk serbuk halus bahan aktif yang mudah terekstraksi (Prasetyo & Inorih, 2013; Kholisa dkk., 2018). Simplisia buah delima merah didapatkan dari Laboratorium *Bioscience* RSGM UNEJ.

b. Membuat Ekstrak Buah Delima

Pembuatan ekstrak buah delima merah menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Metode maserasi merupakan salah satu cara ekstraksi paling sederhana yang menggunakan bahan simplisia berupa serbuk lalu dilarutkan dengan bahan pelarut. Metode ini dapat mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak karena metode maserasi tidak menggunakan panas (Prestiandari dkk., 2018; Damanik dkk., 2014). Simplisia delima merah dimasukkan ke dalam botol kaca dan ditambahkan etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan berlebih yaitu 1:4 selama 3 hari dan diaduk setiap 24 jam hingga homogen. Setelah itu hasil disaring dengan menggunakan kertas saring dan hasil filtratnya dimasukkan ke dalam evaporator. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan dipasangkan ke alat *rotary vacuum evaporator*. Etanol diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60-80°C selama 3-4 jam hingga etanol habis. Proses pemekatan dihentikan pada saat mulai terlihat batas garis tebal pada dasar labu dan larutan mulai kental. Larutan ekstrak dioven dalam *drying oven vacuum* sampai kering pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak pekat (Susanty & Bachmid, 2016). Ekstrak buah delima merah didapatkan dari Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.5 Konversi Penghitungan Dosis Ekstrak Buah Delima Merah

Dosis yang diberikan sebesar 150 mg/kg BB tikus/hari (Yuniarti dkk., 2013). Jika setiap tikus memiliki berat 225 gr maka dosis ekstrak buah delima merah yang diberikan sebesar:

$$\text{Dosis 1 ekor tikus} = \frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ grBB}} \times 225 \text{ grBB} = 33,75 \text{ mg}$$

Volume cairan maksimal yang dapat diberikan secara per oral pada tikus adalah 3-5 ml, disarankan pemberian takaran tidak melebihi setengah kali volume maksimalnya. Oleh karena itu dilakukan pengenceran ekstrak dengan rincian 3 gr ekstrak dilarutkan dalam 200 ml.

$$\begin{aligned}\text{Pengenceran ekstrak} &= 3 \text{ gr ekstrak} / 200 \text{ ml larutan} \\ &= 3000 \text{ mg ekstrak} / 200 \text{ ml larutan} \\ &= 30 \text{ mg ekstrak dalam } 2 \text{ ml larutan}\end{aligned}$$

Apabila dosis untuk tiap tikus adalah 33,75 mg maka volume ekstrak yang diberikan adalah 2 ml tiap tikus.

3.7.6 Pemasangan Ni-Ti Closed Coil Spring

Pemasangan *Ni-Ti Closed Coil Spring* pada gigi tikus dengan cara, sebagai berikut:

- a. Hewan coba dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin dengan dosis 0,2 ml/grBB dan xylazine 0,1 ml/grBB dengan cara menyuntikkan ke paha bagian belakang hewan coba yaitu secara *intramuscular* pada muskulus *quadriceps/triceps*. Anestesi ini dilakukan supaya hewan coba tidak merasa kesakitan dan bisa tenang saat dilakukan pemasangan *Ni-Ti closed coil spring*.
- b. Meletakkan hewan coba pada papan hewan coba dengan cara menelentangkan tubuh hewan coba dan mengikat keempat kaki dan kepala dengan kawat.
- c. Membuka mulut hewan coba dengan alat bantu agar mulut hewan coba terbuka selama pemasangan *Ni-Ti closed coil spring*.
- d. Mengikat kawat yang sudah dipotong pendek pada masing-masing ujung koil spring.
- e. Membuat tempat untuk melekatkan salah satu kawat di ujung koil spring tadi pada kedua gigi insisivus dengan cara membuat seperti cerukan di bagian servikal gigi menggunakan bur *low speed* dan mata bur *wheel* kecil.
- f. *Ligature wire* pada ujung koil spring dililitkan pada gigi molar pertama dengan cara memasukkan kawat pada sela-sela antara gigi molar pertama dengan gigi molar kedua. Setelah itu dibuat simpul dan diikat dengan kuat.

- g. Selanjutnya gigi molar pertama rahang atas kanan digerakkan ke mesial menggunakan *Tension Gauge* untuk menghasilkan kekuatan 11,5 grF dengan *Nickel Titanium Orthodontics closed coil spring* dengan diameter 0,010 inch dan panjang 6 mm
- h. Melilitkan kawat pada bagian cerukan gigi insisivus tersebut kemudian membuat tali simpul untuk mengikat dengan erat agar kawat tidak terlepas. Mengikatkan kawat pada kedua gigi insisivus sebagai retensi atau tumpuan saat menarik gigi molar pertama agar terjadi pergeseran.
- i. Memotong ujung kawat yang tersisa menggunakan gunting.
- j. Menutup hasil potongan kawat pada simpul dengan Semen *Glass Ionomer* menggunakan ujung sonde supaya ujung kawat tidak melukai jaringan lunak di dalam rongga mulut hewan coba.
- k. Menunggu Semen *Glass Ionomer* sampai kering \pm 2-5 menit agar tidak larut oleh saliva dan darah yang keluar, kemudian boleh menutup mulut hewan coba.
- l. Membersihkan darah yang keluar menggunakan kapas atau kasa apabila keluar darah.
- m. Mengembalikan hewan coba ke dalam kandang seperti semula

3.7.7 Pemberian Ekstrak Buah Delima

Ekstrak buah delima yang telah dibuat sesuai penghitungan dosis diletakkan pada tabung *spitton* yang telah diberi label nomor sampel hewan coba, berat badan hewan coba, dan dosis. Selanjutnya diberikan kepada kelompok tikus perlakuan dengan cara sondase pada lambung tikus supaya penyerapan ekstrak buah delima dalam tubuh lebih optimal. Sondase ekstrak buah delima pada tikus dilakukan setiap hari pada sore hari selama 7, 14, dan 21 hari tanpa pembiusan.

3.7.8 Pembuatan Sediaan Histologi

a. Pengambilan Sampel Jaringan

Hewan coba dari semua kelompok dieuthanasia pada hari ke 8 untuk kelompok A dan D, pada hari ke 15 untuk kelompok B dan E, dan pada hari ke 22 untuk

kelompok C dan F. Euthanasia dilakukan dengan cara melakukan anestesi pada hewan coba secara inhalasi menggunakan larutan eter yang ada di dalam tabung berisi kapas, kemudian memasukkan hewan coba ke dalam tabung, menutup tabung dan menunggu sampai hewan coba mati. Pengambilan jaringan dilakukan dengan menggunakan *knable* tang dan *scalpel* pada bagian anterior rahang atas. Pemotongan jaringan dilakukan pada tulang rahang atas regio kanan secara vertical dengan arah mesial-distal. Jaringan yang diambil adalah rahang atas regio posterior gigi molar (Muntiha, 2001).

b. Perendaman Jaringan dalam Larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10%

Jaringan direndam dalam larutan *buffered neutral formalin* (BNF) 10% yang berfungsi sebagai bahan pengawet jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri serta melindungi struktur fisik sel dan mempertahankan morfologi sel seperti semula (Muntiha, 2001). Fiksasi jaringan dilakukan selama minimal 24 jam (Santoso, 2006).

c. Perendaman dalam Larutan Dekalsifikasi

Setelah jaringan direndam dalam larutan BNF 10%, selanjutnya dilaksanakan proses dekalsifikasi untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, serta memudahkan proses pemotongan nantinya. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan asam formiat 10% selama 7 hari. Proses dekalsifikasi selesai ditandai dengan jaringan yang terlihat sudah lunak dan siap untuk proses pembuatan preparat. Jaringan dibersihkan pada air mengalir selama 1,5 jam dengan tujuan untuk menghilangkan larutan dekalsifikasi yang tersisa (Muntiha, 2001).

d. Dehidrasi

Dehidrasi bertujuan untuk menarik atau mengeluarkan air dalam jaringan dengan bahan dehidran yang umum digunakan, yaitu alkohol bertingkat 80%, 70%, 50%, 30% atau aseton (Miranti, 2010). Tahapan dehidrasi dilaksanakan dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan alkohol 70% selama 2 jam, alkohol 80% selama 2 jam, alkohol 95% selama 2 jam, kemudian jaringan dimasukkan ke dalam 3 wadah berisi alkohol 96% masing-masing selama 2 jam (Anondo, 2015).

e. *Clearing*

Setelah dikeluarkan dari cairan dehidran, jaringan dimasukkan dalam cairan penjernih (*clearing*) yang pada akhir proses ini dihasilkan suatu jaringan yang transparan (Miranti, 2010). *Clearing* adalah proses penjernihan jaringan dengan menggunakan bahan-bahan *clearing* yaitu *xylol* (Syafriadi, 2008). Tahapan *clearing* dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam tiga wadah yang berisi *xylol* masing masing selama 1 jam, 1 jam dan 2 jam (Anondo, 2015).

f. Impregnasi

Impregnasi adalah proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan (Syafriadi, 2008). Impregnasi dilakukan dengan cara membungkus jaringan menggunakan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu paraffin dengan titik didih 48° C selama 2 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Sudiana, 1993).

Tahapan impregnasi yang dilakukan adalah:

- a. Parafin (56° - 60° C) selama 2 jam
- b. Parafin (56° - 60° C) selama 2 jam
- c. Parafin (56° - 60° C) selama 2 jam

g. Pembuatan Blok Jaringan (*embedding*)

Embedding adalah proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*. *Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* dengan menggunakan parafin dengan titik didih 56° - 60° C. Tahapan *embedding* dilakukan dengan cara menuangkan parafin cair di alat cetak blok, kemudian meletakkan jaringan ke dalamnya dengan memberi label identitas jaringan pada saat *embedding*. Tunggu beberapa menit hingga parafin beku. Setelah beku, parafin dilepas dari alat cetak dan dilakukan pemotongan (Sudiana, 1993).

h. Pemotongan Jaringan Menggunakan Mikrotom

Blok *paraffin* yang telah mengandung spesimen jaringan, kemudian dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6-7 μ m dengan *rotary* mikrotom

dari arah koronal ke apikal gigi tikus. Pemotongan jaringan ini dilakukan dengan arah mesio-distal pada jaringan yang telah diletakkan pada holder mikrotom. Potongan jaringan yang diperlukan adalah terdapat bentukan gigi dan tulang alveolar utuh pada bagian tarikan dan tekanan. Potongan jaringan yang telah memenuhi kriteria, diambil dengan menggunakan kuas dan diletakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur 45°C hingga sayatan jaringan mekar. Sayatan yang telah mekar diambil dengan obyek glass, kemudian dikeringkan di atas *hot plate*, dan dimasukkan dalam oven dengan suhu sekitar 30°-35°C minimal selama 12 jam.

i. Pewarnaan Menggunakan *Haematoksilin Eosin (HE)*

Sediaan dilakukan deparafinisasi menggunakan larutan clearing yaitu sediaan dimasukkan ke dalam xylol dalam 3 wadah masing-masing selama 3 menit untuk menghilangkan parafin. Setelah itu dilakukan proses rehidrasi yaitu sediaan dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat (100%, 90%, 70%) masing-masing selama 3 menit lalu dicuci dengan air mengalir selama 1 menit. *Object glass* direndam ke dalam larutan Haematoksilin selama 6-7 menit dan bilas dengan air mengalir selama 1 menit. Selanjutnya *Object glass* dimasukkan dalam larutan Eosin selama 1-5 menit dan dibilas dengan air mengalir selama 1 menit. Irisan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 95% dan 100% lalu dikeringkan. Proses clearing pada jaringan dengan cara direndam dalam xylol, tiga kali dalam wadah yang berbeda masing-masing selama 3 menit. Preparat diangkat satu persatu dari xylol dalam keadaan basah kemudian diberi satu tetes entellan (Canada Balsam) lalu ditutup dengan kaca penutup/*deck glass* (Anondo, 2015).

3.8 Pengamatan dan Penghitungan Jumlah Sel Sementoblas

Pengamatan sediaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 40 kali untuk menentukan daerah tarikan, kemudian untuk melakukan penghitungan sel sementoblas dilakukan perbesaran 400 kali. Penghitungan jumlah sel sementoblas dengan cara melihat tiga lapang pandang

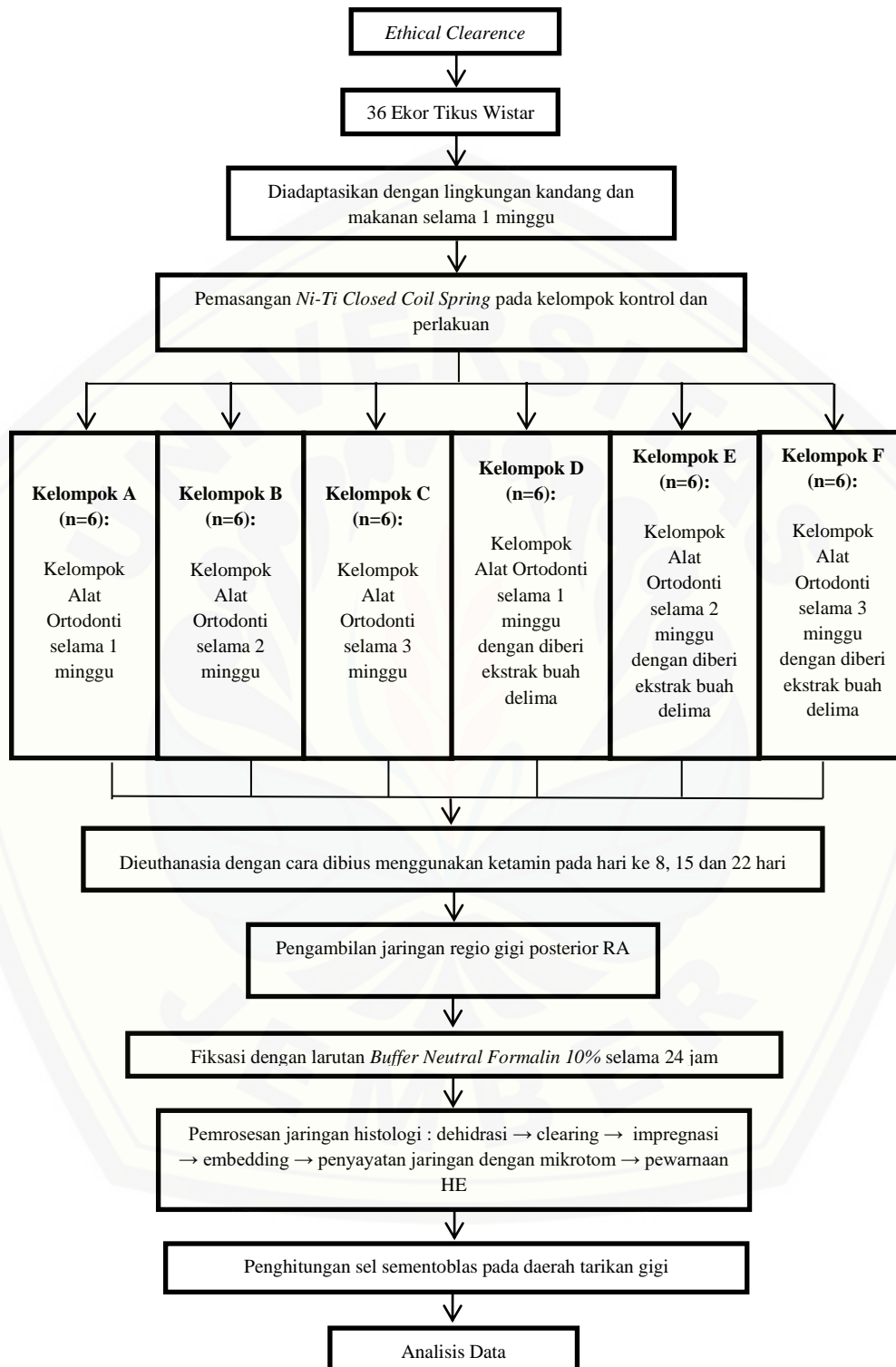
yang terpilih yaitu pada area koronal (puncak *alveolar crest*), mid dan apikal oleh tiga pengamat.

Setiap sediaan terdapat tiga hasil penghitungan sel sementoblas, yang kemudian dijumlahkan dan dibagi tiga untuk mendapatkan rata-rata jumlah sel sementoblas dalam satu sediaan. Rata-rata jumlah sel sementoblas pengamat satu dijumlahkan dengan rata-rata jumlah sel sementoblas pengamat dua dan tiga. Kemudian hasil penjumlahan tersebut dibagi tiga untuk mendapatkan rata-rata akhir dari sementoblas (Pusparani, 2016).

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian akan diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan diuji homogenitas dengan uji *Levene* dengan nilai signifikansi 95% ($p > 0,05$). Apabila data berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan uji statistik parametrik yaitu uji *One-way Anova* yang merupakan uji parametrik lebih dari 2 sampel bebas untuk menganalisa rata-rata hasil penelitian. Apabila hasilnya bermakna dilanjutkan dengan uji beda lanjut (*pos hoc test*) yaitu *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan antar kelompok perlakuan, jika hasilnya tidak bermakna dilakukan uji statistik non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis* dan kemudian dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan makna (Notoadmodjo, 2014).

3.10 Alur Penelitian

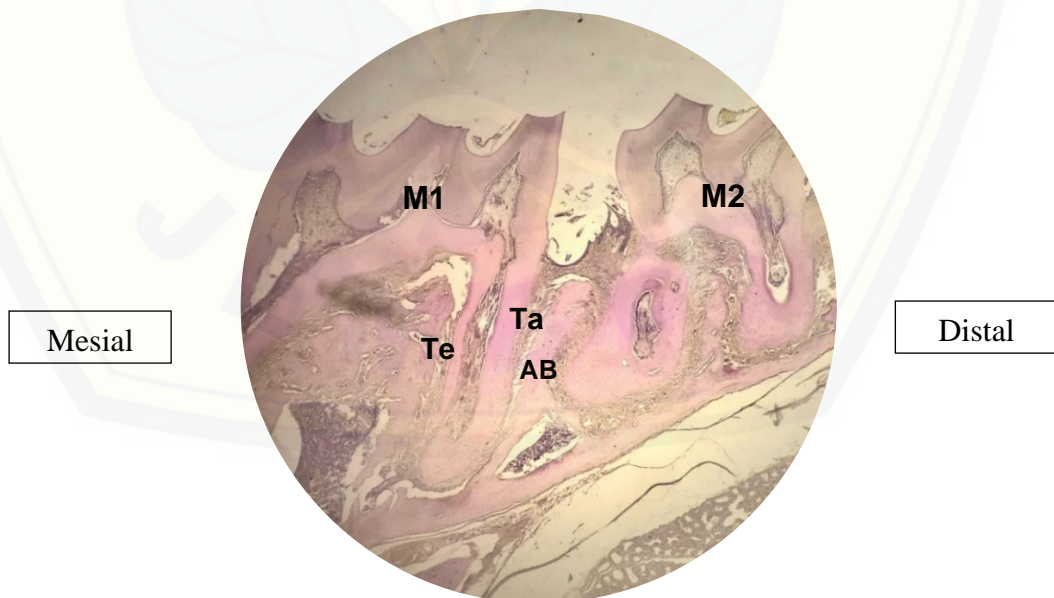


Gambar 3. 2 Alur Penelitian

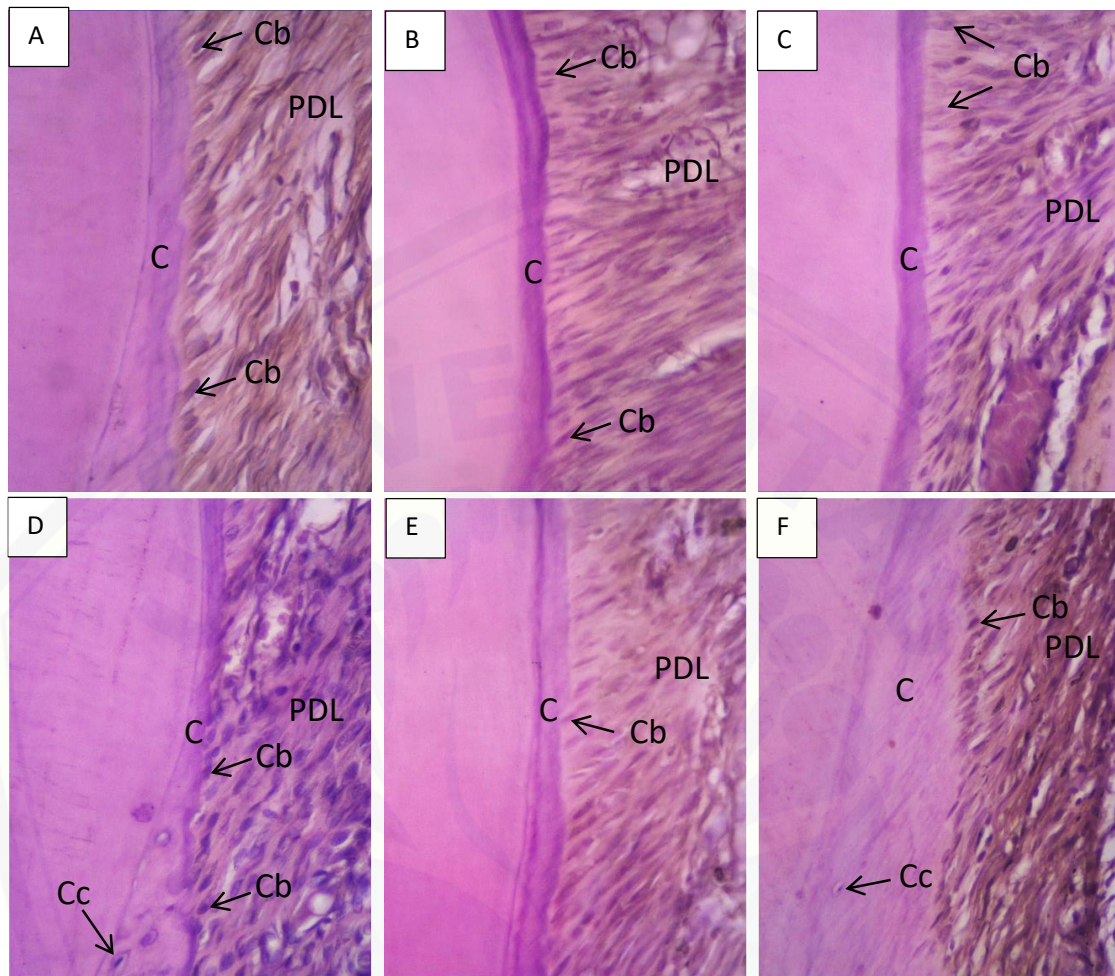
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis efek ekstrak buah delima merah terhadap jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik di minggu ke-1, ke-2 dan ke-3. Penelitian ini menggunakan 36 ekor tikus Wistar tetapi hanya dapat diperoleh 33 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi enam kelompok yaitu, kelompok kontrol minggu ke-1 terdapat 6 sampel, kelompok kontrol minggu ke-2 terdapat 6 sampel, kelompok kontrol minggu ke-3 terdapat 6 sampel, kelompok perlakuan minggu ke-1 terdapat 5 sampel, kelompok perlakuan minggu ke-2 terdapat 5 sampel dan kelompok perlakuan minggu ke-3 terdapat 5 sampel. Pada kelompok perlakuan minggu ke-1 dan ke-2 menggunakan 5 ekor tikus karena hanya tersedia 5 ekor tikus Wistar pada saat penelitian untuk tiap kelompok ini. Pada kelompok perlakuan minggu ke-3 menggunakan 5 ekor tikus Wistar karena satu tikus mengalami *drop out* atau mati. Pengamatan sementoblas daerah tarikan gigi tikus Wistar dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2.



Gambar 4.1 Gambaran histologis potongan gigi tikus Wistar dengan arah mesio-distal dengan pewarnaan *Hematoksilin Eosin* perbesaran 40X. M1 = gigi molar 1 M2 = gigi molar 2, AB = tulang alveolar, Ta = daerah tarikan, Te = daerah tekanan

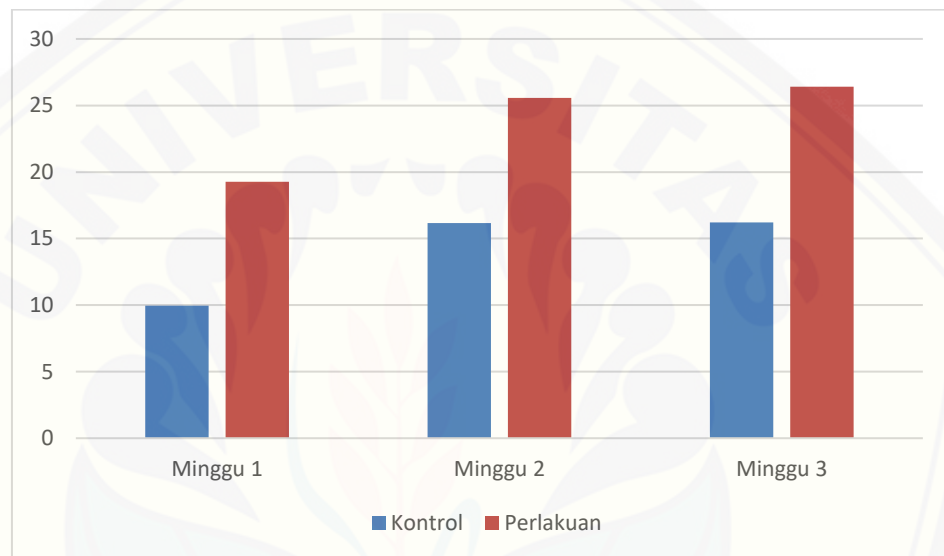


Gambar 4.2 Gambaran histologis osteoblas daerah tarikan dengan pewarnaan HE perbesaran 400X. Cb = sementoblas, Cc = sementosit PDL = ligamen periodontal, C = Sementum, A) Kelompok kontrol 1 minggu, B) Kelompok kontrol 2 minggu, C) Kelompok kontrol 3 minggu, D) Kelompok perlakuan 1 minggu, E) Kelompok perlakuan 2 minggu, F) Kelompok perlakuan 3 minggu. Tanda panah menunjukkan sementoblas

Rata-rata jumlah sementoblas dan standar deviasi pada masing-masing kelompok dari hasil pengamatan dan penghitungan sementoblas pada preparat histologis dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rata-rata (*mean*) dan standar deviasi (*SD*) jumlah sementoblas pada daerah tarikan kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok	Mean \pm SD
Kontrol Minggu 1	9,97 \pm 1,79
Kontrol Minggu 2	16,17 \pm 4,11
Kontrol Minggu 3	16,22 \pm 6,18
Perlakuan Minggu 1	19,27 \pm 4,29
Perlakuan Minggu 2	25,58 \pm 3,63
Perlakuan Minggu 3	26,41 \pm 3,16



Gambar 4.3 Histogram rata-rata jumlah sementoblas pada daerah tarikan kelompok kontrol dan perlakuan.

Berdasarkan Tabel 4.1 dan Gambar 4.3 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sementoblas pada kelompok kontrol minggu ke-1, ke-2, dan ke-3 mengalami peningkatan. Pada kelompok perlakuan minggu ke-1, ke-2, dan ke-3 juga terjadi peningkatan rata-rata jumlah sementoblas. Kelompok perlakuan menunjukkan rata-rata jumlah sementoblas lebih tinggi dibanding kelompok kontrol. Rata-rata jumlah sementoblas terendah terdapat pada kelompok kontrol 1 minggu, sedangkan rata-rata jumlah sementoblas tertinggi yaitu pada kelompok perlakuan 3 minggu.

4.2 Analisis Data

Data penelitian yang didapat kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas menggunakan *software* SPSS versi 25. Penelitian ini menggunakan

sampel berjumlah kurang dari 50 sehingga uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shapiro Wilk*. Uji normalitas menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi ($p > 0,05$) (Lampiran 4.3). Hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene* didapatkan nilai signifikansi 0,608 ($p > 0,05$) (Lampiran 4.3) menunjukkan bahwa varian kelompok data adalah homogen.

Data yang dihasilkan berdistribusi normal dan homogen, maka selanjutnya dilakukan uji statistik parametrik yaitu uji *One-Way Anova* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan jumlah pada seluruh sampel. Hasil uji *One-Way Anova* (Lampiran 4.3) diperoleh nilai signifikansi jumlah sementoblas sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar keenam kelompok (terdapat perbedaan jumlah sementoblas antar keenam kelompok). Uji beda lanjut (*post hoc test*) yaitu *Least Significant Difference (LSD)* akan dilakukan untuk mengetahui besarnya perbedaan jumlah sementoblas antar kelompok dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$). Hasil uji tersebut didapatkan bahwa ada kelompok memiliki nilai signifikansi sebesar $p < 0,05$ dan ada kelompok memiliki nilai signifikansi sebesar $p > 0,05$. Ringkasan hasil uji *post hoc LSD* disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan hasil uji *post hoc LSD* jumlah sementoblas pada tiap kelompok sampel

Kelompok	K1	K2	K3	P1	P2	P3
K1						
K2	0,046*					
K3	0,044*	0,984				
P1	0,005*	0,296	0,305			
P2	0,000*	0,004*	0,005*	0,042*		
P3	0,000*	0,002*	0,002*	0,024*	0,776	

Keterangan:

* : Terdapat perbedaan signifikan

K1 : Kontrol minggu 1

K2 : Kontrol minggu 2

K3 : Kontrol minggu 3

P1 : Perlakuan minggu 1

P2 : Perlakuan minggu 2

P3 : Perlakuan minggu 3

Berdasarkan hasil uji *post hoc LSD* sesuai Tabel 4.2 dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sementoblas antara kelompok K1 dengan kelompok K2, K3, P1, P2 dan P3. Kelompok K2 dengan kelompok P2 dan P3

terdapat perbedaan yang signifikan akan tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok K3 dan P1. Kelompok K3 dengan kelompok P2 dan P3 terdapat perbedaan yang signifikan akan tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok P1. Kelompok P1 dengan kelompok P2 dan P3 terdapat perbedaan yang signifikan sedangkan kelompok P2 dengan kelompok P3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

4.3 Pembahasan

Perawatan ortodontik menyebabkan pergerakan gigi yang diperoleh melalui *remodeling* jaringan periodontal dan tulang alveolar sebagai respon terhadap adanya gaya mekanis (gaya ortodontik). Aplikasi gaya ortodontik pada gigi geligi menyebabkan *remodeling* jaringan periodontal pada daerah tarikan sedangkan daerah tekanan mengalami resorpsi jaringan periodontal (Hikmah, 2015). Komponen pertama yang terlibat dalam proses *remodeling* adalah ligamen periodontal beserta sel-selnya (fibroblas, osteoblas, osteoklas, dan sementoblas), serat pendukung, kapiler, dan persarafan, lalu yang kedua adalah tulang alveolar dan sementum (Wijaya dkk., 2015). Sementoblas adalah suatu sel yang berasal dari sel mesenkimal yang terdapat pada *follicle* gigi yang akan membentuk sementum. Sementoblas mengekspresikan ALP sehingga peningkatan ALP menandakan bahwa adanya proliferasi sementoblas (Nemoto dkk., 2009; Bao dkk., 2013; D'Apuzzo dkk., 2013). ALP adalah enzim glikoprotein yang terlibat dalam pembentukan mineral di jaringan seperti tulang dan sementum (Ramadhani dkk., 2018).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah sementoblas pada kontrol minggu ke-1 dan ke-2 mengalami peningkatan yang signifikan (Tabel 4.2) dan hal tersebut sesuai dengan peningkatan kadar ALP yang terjadi pada hari ke-7 dan meningkat signifikan pada hari ke-14. Kelompok kontrol antara minggu ke-2 dan ke-3 tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Batra dkk., (2006) bahwa kadar ALP pada hari ke-21 menurun dengan tajam sedangkan hasil penelitian ini antara minggu ke-2 dan minggu ke-3 masih terdapat peningkatan proliferasi sel namun tidak signifikan,

hal ini dikarenakan kekuatan ortodontik sudah mengalami penurunan. Studi histologis yang telah diamati bahwa pada daerah tarikan ortodontik terjadi proliferasi sel dalam waktu antara 36 sampai 50 jam dan berlangsung selama 10 hari sampai 3 minggu (D'Apuzzo dkk., 2013; Herniyati, 2017).

Jumlah sementoblas kelompok perlakuan minggu ke-1, ke-2 dan ke-3 juga mengalami peningkatan di setiap minggunya (Tabel 4.1). Kelompok kontrol minggu ke-1 dengan kelompok perlakuan minggu ke-1 mengalami peningkatan, begitu juga antara kelompok kontrol minggu ke-2 dengan kelompok perlakuan minggu ke-2 dan kelompok kontrol minggu ke-3 dengan perlakuan minggu ke-3. Hasil tersebut membuktikan bahwa ekstrak buah delima merah dapat meningkatkan jumlah sementoblas. Peningkatan jumlah sementoblas sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Edrizal dkk., (2019) bahwa ekstrak kulit buah delima efektif terhadap proliferasi osteoblas sehingga meningkatkan *remodeling* osteoblas dimana osteoblas dengan sementoblas memiliki pola ekspresi gen yang sama (Nemoto dkk., 2009). Hal ini disebabkan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak kulit buah delima merah. Penelitian ini menggunakan ekstrak buah delima merah yang juga memiliki kandungan flavonoid. Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki efek antioksidan yang mencegah kerusakan sel akibat peningkatan ROS karena terjadi inflamasi selama perawatan ortodontik (Arifin & Ibrahim, 2018; Kovac dkk., 2019).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi. Telah diketahui bahwa flavonoid memiliki sejumlah kemampuan antioksidan yaitu dengan cara menghambat pembentukan radikal bebas hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, radikal alkoksil, singlet oksigen, hidrogen peroksida. Mekanisme kerja antioksidan flavonoid yaitu dengan cara (1) menekan pembentukan radikal bebas atau ROS dengan cara menghambat enzim, pengkelatan ion logam (*metal ion chelating*) yang terlibat produksi radikal bebas; (2) meredam radikal bebas (*free radicals scavengers*). Flavonoid menghambat enzim yang bertanggung jawab pada produksi radikal anion superoksida seperti xantin oksidase dan protein kinase.

Flavonoid juga menunjukkan penghambatan terhadap siklooksigenase, lipoksigenase, mikrosomal monooksigenase, glutathion S-transferase, suksin oksidase mitokondria, dan NADH oksidase yang seluruhnya terlibat dalam pembentukan ROS. Flavonoid dioksidasi oleh radikal sehingga menghasilkan radikal yang lebih stabil dan tidak reaktif. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan spesies oksigen reaktif melalui reaksi dengan senyawa reaktif radikal (Widowati dkk., 2010; Simanjuntak, 2012; Arifin & Ibrahim, 2018).

Flavonoid dapat mengatur ekspresi Runx2 yang merupakan regulator penting dalam proses diferensiasi sementoblas. Hal ini sejalan dengan penelitian Hirata dkk. (2009) melaporkan bahwa Runx2 serta osterix merupakan penanda untuk diferensiasi sementoblas. *Mesenchymal cell* berproliferasi menjadi *follicle cell* kemudian Runx2 menginduksi *follicle cell* menjadi prementoblas selanjutnya osterix menginduksi diferensiasi prementoblas menjadi sementoblas. Penelitian oleh Hartono dkk. (2020) melaporkan bahwa senyawa polifenol juga mampu meningkatkan ekspresi osteocalcin, kolagen tipe I, dan ALP yang dimana sementoblas mengekspresikan osteocalcin, kolagen tipe I dan ALP sehingga dapat menandakan adanya aktivitas diferensiasi sementoblas. Penelitian lain yang dilakukan Sreekumar dkk. (2014) bahwa pemberian ekstrak buah delima secara signifikan meningkatkan aktivitas ALP dimana peningkatan ALP menandakan adanya peningkatan sementoblas pada daerah tarikan gigi. (Saygin dkk., 2000; Hirata dkk., 2009; Sreekumar dkk., 2014; Hartono dkk., 2020).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu pemberian ekstrak buah delima merah semakin meningkat juga jumlah sementoblas di daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik. Peningkatan jumlah sementoblas pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak buah delima merah selama 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu disebabkan adanya kandungan flavonoid yang terdapat pada ekstrak buah delima merah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sitasari dkk. (2020) melaporkan bahwa flavonoid yang terdapat pada ekstrak methanol teh hijau dapat meningkatkan Runx2 dan osterix di hari ke-7 dan hari ke-14 pada daerah tarikan

ortodontik gigi tikus Wistar. Prameswari & Handayani (2019) juga melaporkan bahwa kandungan flavonoid pada *Sticopus hermanii* meningkatkan ekspresi Runx2 pada daerah tarikan ortodontik selama 14 hari. Peningkatan jumlah sementoblas dengan pemberian ekstrak buah delima merah paling tinggi terdapat pada minggu ke-3 meskipun tidak signifikan, hal ini karena kekuatan piranti ortodontik sudah mengalami penurunan meskipun proliferasi sel masih terus terjadi (Herniyati, 2017).

Penelitian ini secara keseluruhan menunjukkan bahwa adanya peningkatan yang signifikan jumlah sementoblas kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini terbukti bahwa ekstrak buah delima merah dapat meningkatkan jumlah sementoblas di daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik. Peningkatan jumlah sementoblas akan berpengaruh pada proses *remodeling* ligamen periodontal.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1 Ekstrak buah delima merah efektif meningkatkan jumlah sementoblas di permukaan sementum daerah tarikan gigi tikus Wistar pada pergerakan gigi ortodontik di minggu ke-1, minggu ke-2 dan minggu ke-3.
- 5.1.2 Terdapat perbedaan jumlah sementoblas yang signifikan antara kelompok perlakuan minggu ke-1 dengan kelompok minggu ke-2 ($p < 0,05$) dan terdapat perbedaan jumlah sementoblas yang tidak signifikan antara kelompok minggu ke-2 dengan minggu ke-3 ($p > 0,05$).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, penulis menyarankan beberapa hal yaitu:

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variasi waktu yang lebih panjang untuk mengetahui waktu optimal pemberian ekstrak buah delima merah.
- 5.2.2 Perlu dilakukan pemberian dosis ekstrak buah delima merah yang bervariasi untuk mengetahui pengaruhnya masing-masing terhadap jumlah sementoblas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adilah. 2009. *Proses Fisiologis Pergerakan Gigi Ortodonti (Studi Pustaka)*. Universitas Airlangga.
- Anondo, I. K. 2015. *Teknik Praktis untuk Jaringan Sel*. CV Dharma Sandi.
- Ardani, I. G. A. W., Anandamaya, D., & Alida. 2019. The Relationship Between Skeletal and Dental Characteristics in Patients with Class II Malocclusion. *Journal of International Dental and Medical Research*, 12(4), 1421–1425.
- Ardhana, W. 2013. Identifikasi Perawatan Ortodontik Spesialistik dan Umum. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 20(1), 1–8.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Arikunto dan Suharsimi. 2010. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik* (Ed. Revisi). PT. Rineka Cipta.
- Asiry, M. A. 2018. Biological aspects of orthodontic tooth movement: A review of literature. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(6), 1027–1032.
- Aslam, M. N., Lansky, E. P., & Varani, J. 2006. Pomegranate as a cosmeceutical source: pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(3), 311–318.
- Asmawati. 2012. *Malposisi Gigi Anterior Rahang Atas dan Rahang Bawah dengan Status Gingiva di RSUP dr. Sardjito Yogyakarta*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Yogyakarta.
- Bao, X., Liu, Y., Han, G., Zuo, Z., & Hu, M. 2013. The Effect on Proliferation and Differentiation of Cementoblast by Using Sclerostin as Inhibitor. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 21140–21152.
- Bath-Balogh, M., & Fehrenbach, M. J. 2014. *Illustrated Dental Embryology, Histology, and Anatomy-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Batra, P., Kharbanda, O. P., Duggal, R., Singh, N., & Parkash, H. 2006. Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during canine retraction. *Orthodontics and Craniofacial Research*, 9(1), 44–51.
- Berkovitz, B. K. B., & Shellis, R. P. 2018. *The teeth of mammalian vertebrates*. Academic Press.

- Brustone, C. J., & Marcotte, M. R. 2000. *Problem Solving in Orthodontics: Goal Oriented Treatment Strategies*.
- Budka, D. 2008. Active Ingredients, Their Bioavailability and the Health Benefits of the Punica granatum Linn (Pomegranate). *MSML Research Unit, London*.
- Chandra, Satish, Chandra, S., Chandra, M., Chandra, N., & Chandra, G. 2010. *Textbook of Dental and Oral Histology with Embryology and MCQS, 2/E*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.
- Chandra, Suresh. 2014. *Grossman's endodontic practice*. Wolters kluwer india Pvt Ltd.
- D'Apuzzo, F., Cappabianca, S., Ciavarella, D., Monsurrò, A., Silvestrini-Biavati, A., & Perillo, L. 2013. Biomarkers of Periodontal Tissue Remodeling during Orthodontic Tooth Movement in Mice and Men: Overview and Clinical Relevance. *The Scientific World Journal*, 2013, 8.
- Damanik, D. D. P., Surbakti, N., & Hasibuan, R. (2014). Ekstraksi katekin dari daun gambir (*Uncaria gambir roxb*) dengan metode maserasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 3(2), 10–14.
- Daniel, W. W., & Cross, C. L. 2013. *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. Wiley.
- Edrizal, Busman, & Novera, Y. 2019. Efektifitas Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punicagranatum*) Secara Topikal Terhadap Proses Pembentukan Kembali (Remodelling) Pada Fraktur Tulang Paha Tikus Putih Galur Wistar Betina (*Rattusnorvegicus*). *Menara Ilmu*, XIII(10), 1–12.
- Farani, W., & Abdillah, M. I. 2021. Prevalensi Maloklusi Anak Usia 9-11 Tahun di SD IT Insan Utama Yogyakarta. *Insisiva Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi Insisiva*, 10(1), 26–31.
- Fitri, A. A., Suharyono, & Khasanah, F. 2021. Motivasi control pasien dan kepatuhan control orthodonti cekat pada masa pandemic COVID-19 antar lengkung disetiap bidang spatial atau kelainan pada posisi gigi (Bakar , 2012). mempertahankan posisi gigi geligi atau hubungan oklusi gigi untuk mencapai t. *Puinovakesmas*, 1(2), 78–83.
- Handayani, B., & Mardanus, L. 2016. *Pengaruh ekstrak propolis dalam meningkatkan fibroblas untuk remodeling di daerah tarikan pada pergerakan gigi Ortodonti*. 10(2), 142–148.
- Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan

- Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- Hanindira, M., Zen, Y., & Juliani, M. 2020. Prevalensi Maloklusi Dengan Etiologi Premature Loss Gigi Sulung. *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu*, 2(1), 61–63.
- Hartono, M. R., Suardita, K., & Yuliati, A. 2020. Proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cell after exposure to red flesh dragon fruit extract. *Dental Research Journal*, 17(2), 107–113.
- Hassan, M., Zaher, A., Palomo, J., & Palomo, L. (2018). Sclerostin Modulation Holds Promise for Dental Indications. *Healthcare*, 6(4), 134.
- Hernawati, S. 2015. Ekstrak Buah Delima sebagai Alternatif Terapi Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS). *Stomatognatic*, 12(1), 20–25.
- Hernawati, S., Purwanto, & Kholisa. 2018. Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn) Terhadap Penurunan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* (The Potential of Red Pomegranate Fruit Extract (*Punica granatum* Linn) on the Reduction Number of *Streptococcus Mutans* Colony). *Journal Pustaka Kesehatan*, 6(2), 351–357.
- Hernawati, S., Rantam, F. A., Sudiana, I. K., & Rahayu, R. P. 2013. Efek ekstrak buah delima (*Punica Granatum* L) terhadap ekspresi wild p53 pada sel ganas rongga mulut mencit strain swiss webster. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 46(3), 148.
- Herniyati. 2017. Analisis Vegf Pada Pergerakan Gigi Ortodonti Setelah Pemberian Seduhan Kopi Robusta (*Coffeacanephora*). *Jurnal Teknosains*, 5(2), 90.
- Hikmah, N. 2015. Profil Osteoblas dan Osteoklas Tulang Alveolar pada Model Tikus Diabetes Tahap Awal dengan Aplikasi Gaya Ortodonti yang Berbeda. *El-Hayah*, 5(2), 97–102.
- Hirata, A., Sugahara, T., & Nakamura, H. 2009. Localization of Runx2, Osterix, and Osteopontin in Tooth Root Formation in Rat Molars. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 57(4), 397–403.
- Inggrid, H. M., & Santoso, H. 2014. Ekstraksi antioksidan dan senyawa aktif dari buah kiwi (*Actinidia deliciosa*). *Research Report-Engineering Science*, 2.
- Iskandar, P., & Ismaniati, N. A. 2010. Peran prostaglandin pada pergerakan gigi ortodontik. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 9(2), 91–100.

- Istighfaricha, S. H. 2019. *Tanin Pada Buah Delima Berkhasiat Hambat Laju Virus HIV*. <https://fk.unair.ac.id/tanin-pada-buah-delima-berkhasiat-hambat-laju-virus-hiv/>
- Iwane, T., & Kikuta, J. 2020. Notch Signaling Response to Heavy Compression Force Induces Orthodontic Root Resorption via RANKL and IL-6 from Cementoblasts. *International Journal of Oral-Medical Sciences*, 18(3–4), 287–295.
- Kitagawa, M., Tahara, H., Kitagawa, S., Oka, H., Kudo, Y., Sato, S., Ogawa, I., Miyaichi, M., & Takata, T. 2006. Characterization of established cementoblast-like cell lines from human cementum-lining cells in vitro and in vivo. *Bone*, 39(5), 1035–1042.
- Kovac, V., Poljsak, B., Perinetti, G., Primožic, J., & Reis, F. S. 2019. Systemic Level of Oxidative Stress during Orthodontic Treatment with Fixed Appliances. *BioMed Research International*, 2019, 1–6.
- Krishnan, V., & Davidovitch, Z. 2015. *Biological mechanisms of tooth movement*. Wiley Online Library.
- Laguhi, V. A., Anindita, P. S., & Gunawan, P. N. 2014. Gambaran Maloklusi Dengan Menggunakan Hmar Pada Pasien Di Rumah Sakit Gigi Dan Mulut Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal E-GIGI*, 2(2).
- Larrosa, M., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. 2006. The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17, 611–625.
- Marhari, O. yonita, & Dewi, K. K. 2014. Khasiat ajaib delima. *Cetakan Pertama*. Jakarta Timur. Penerbit Padi.
- Maulana, H. 2016. Evaluasi Pergerakan Gigi Insisif Menggunakan Desain Alat Ortodonsi Terbaru dengan Gaya Mekanis yang Berbeda. *Stomatognatic (J. K. G Unej)*, 13(1), 1–4.
- Miranti, I. P. 2010. Pengolahan jaringan untuk penelitian hewan coba. *Media Medika Muda (M3)*, 4, 1–4.
- Muntiha, M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*, 1001, 156–163.
- Nanci, A. 2017. *Ten Cate's oral histology-e-book: development, structure, and function*. Elsevier Health Sciences.

- Narmada, I. B., & Syafei, A. 2008. The Role of Mechanical Force in Molecular and Cellular during Orthodontic Tooth Movement. *Journal of Dentistry Indonesia*, 15(3), 226–231.
- Nemoto, E., Koshikawa, Y., Kanaya, S., Tsuchiya, M., Tamura, M., Somerman, M. J., & Shimauchi, H. 2009. Wnt signaling inhibits cementoblast differentiation and promotes proliferation. *Bone*, 44(5), 805–812.
- Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. 2018. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Nishimura, M., Chiba, M., Ohashi, T., Sato, M., Shimizu, Y., Igarashi, K., & Mitani, H. 2008. Periodontal tissue activation by vibration: Intermittent stimulation by resonance vibration accelerates experimental tooth movement in rats. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 133(4), 572–583.
- Notoadmodjo, S. 2014. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. PT. Rineka Cipta.
- Olivia, F. 2014. *Health Secret of Delima (Pomegranate)*. PT. Elex Media Komputindo.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
- Permana, A. 2016. *Pola Distribusi Dan Kelimpahan Populasi Kelomang Laut di Pantai Sindangkerta Kecamatan Cipatujah Kabupaten Tasikmalaya*. FKIP UNPAS.
- Prameswari, N., & Handayani, B. 2019. Stichopus hermanii stimulation to Runx2 expression as Periodontal Remodeling Biomarkers to accelerate Orthodontic Tooth Movement. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 217(1), 1–5.
- Prameswari, Noengki. 2007. The response of periodontal ligament collagen fibres and the thickness of inserting periodontal ligament fibre bundles at cementum pressure sites of fixed orthodontic appliances. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 40(2), 70–75.
- Prasetyo, M. S., & Inorih, E. 2013. Pengelolaan budidaya tanaman obat-obatan (Bahan Simplisia). In *Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB*.
- Prestiandari, E., Hernawati, S., & Dewi, L. R. 2018. Daya Hambat Ekstrak Buah

- Delima Merah (*Punica granatum* Linn) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (The Inhibition of Red Pomegranate Fruit Extract (*Punica granatum* Linn) on The Growth of *Staphylococcus aureus*). *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 6(1), 192–198.
- Prijatmoko, D. 2014. *Biomekanik Pergerakan Gigi*. Sagung Seto.
- Pusparani, T. F. 2016. *Efek Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Tulang Alveolar Daerah Tarikan Gigi Marmut (Cavia cobaya) Jantan yang di Induksi Gaya Mekanis Ortodonti*. Universitas Jember.
- Puspitasari, M. L., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., Maligan, J. M., & Nugrahini, N. I. P. 2016. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.): Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 283–290.
- Rahardjo, P. 2012. *Orthodonti Dasar Edisi 2*. Airlangga University.
- Ramadhani, V., Narmada, I. B., & Hamid, T. 2018. The Effect of Combination of Soy Milk and Calcium in Orthodontic Tooth Movements on Female Rats With Estrogen Deficiency. *Indonesian Journal of Dental Medicine*, 1(2), 70–80.
- Reddy, S. R., Mandava, P., & Ganugapanta, V. R. 2015. Biology of Tooth Movement. *Annals & Essences of Dentistry*, 7(4).
- Riskesdas. 2018. *Potret Sehat Indonesia dari Riskesdas 2018*. <https://www.kemkes.go.id/article/print/18110200003/potret-sehat-indonesia-dari-riskesdas-2018.html>
- Sandana, I. K. I., Velisia, J., Yuniar, A., Brahmanta, A., & Prameswari, N. 2017. Potensi gel *Stichopus hermannii* dan Hyperbaric Oxygen Therapy untuk mempercepat perawatan ortodonti. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 29(3), 196–204.
- Santoso, H. B. 2006. Struktur mikroskopis kartilago epifisialis tibia fetus mencit (*Mus musculus* L.) dari induk dengan perlakuan kafein. *Berkala Penelitian Hayati*, 12(1), 69–74.
- Saputri, D. 2018. Gambaran Radiograf Pada Penyakit Periodontal. *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(3), 16–21.
- Saygin, N. E., Giannobile, W. V., & Somerman, M. J. 2000. Molecular and cell biology of cementum. *Periodontology 2000*, 24(1), 73–98.
- Setiawati, R. M. 2014. *Pengaruh variasi komposisi tanaman delima (Punica*

granatum linn) terhadap sifat fisis membran komposit untuk menangkap radikal bebas asap rokok. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Simanjuntak, K. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*, 23(3), 135–140.

Sitasari, P. I., Narmada, I. B., Hamid, T., Triwardhani, A., Nugraha, A. P., & Rahmawati, D. 2020. East Java green tea methanolic extract can enhance RUNX2 and Osterix expression during orthodontic tooth movement in vivo. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*, 8(4), 290–298.

Sreekumar, S., Sithul, H., Muraleedharan, P., Azeez, J. M., & Sreeharshan, S. 2014. Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. *BioMed Research International*, 2014, 1–12.

Sudjijo. 2014. Sekilas Tanaman Delima dan Manfaatnya. *Iptek Hortikultura*, 10, 40–43.

Suranto, A. 2011. *Terbukti pome tumpas penyakit*. Puspa Swara.

Susanty, S., & Bachmid, F. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87–92.

Syafriadi, M. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.

Widowati, W., Safitri, R., Rumumpuk, R., & Siahaan, M. 2010. Penapisan aktivitas superoksida dismutase pada berbagai tanaman. *Jurnal Kedokteran Maranatha*, 5(1), pp-33.

Wijaya, S., Prameswari, N., & T, M. L. 2015. Pengaruh Pemberian Gel Teripang Emas Terhadap Remodeling Tulang Pergerakan Gigi Ortodonti (*The Effect of Stichopus hermanii Gel on The Number of Osteoclast in the Pressure Area Bone Remodeling Ortodontic Tooth Movement*). *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*, 9(2), 1–6.

Wijayanti, P., Krisnawati, & Ismah, N. 2014. Gambaran maloklusi dan kebutuhan perawatan ortodonti pada anak usia 9-11 tahun (studi pendahuluan di SD At-Taufiq, Cempaka Putih, Jakarta). *Jural PDGI*, 63(1), 25–29.

Wijayanti, R. P. A. 2019. *Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (Coffea Canephora) Terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen*

Periodontal Daerah Tarikan Pada Gigi Marmut (Cavia Cobaya) Yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti. Universitas Jember.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan alami & radikal bebas.* Kanisius.

Yamamoto, T., Hasegawa, T., Yamamoto, T., Hongo, H., & Amizuka, N. 2016. Histology of human cementum: Its structure, function, and development. *Japanese Dental Science Review*, 52(3), 63–74.

Yuniarti, W., Handajani, R., Kusumobroto, H., & Sudiana, K. 2013. Ekstrak Buah Delima Terstandar Menurunkan Derajat Fibrosis Hati Pada Hewan Model Tikus Putih. *Jurnal Veteriner*, 14(4), 511–518.

Zainal Ariffin, S. H., Yamamoto, Z., Zainol Abidin, L. Z., Megat Abdul Wahab, R., & Zainal Ariffin, Z. 2011. Cellular and molecular changes in orthodontic tooth movement. *TheScientificWorldJournal*, 11, 1788–1803.

LAMPIRAN

Lampiran 3. 1 *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL No.1014/UN25.8/KEPK/DL/2020</p>	
<p>Title of research protocol : "Effect of Red Pomegranate Extract on the Number of Fibroblas in Periodontal Ligaments of Wistar Teeth Tension Area at Orthodontic Dental Movement"</p>	
Document Approved	: Dina Nur Rosyidah
Pincipal investigator	: Research Protocol
Member of research	: 1. Vanny Septian 2. Ivanka Nawal Daneshty 3. Sabrina Akbar Nur Firdaus
Responsible Physician	: Dina Nur Rosyidah
Date of approval	: September 2020-Selesai
Place of research	: 1. Laboratatorium Fisiologi Biomedik FKG UNEJ 2. Laboratorium Histologi Biomedik FKG UNEJ 3. Laboratorium Bioscience RSGM UNEJ
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, September 21th 2020</p>	
<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>	
<p> (Prof. Dr. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)</p>	
<p></p>	

Lampiran 3. 2 Surat Ijin Laboratorium Biomedik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto Kotak Pos 159 Jember 68121
 Telepon (0331) 333536, 331743 Faksimili (0331) 331991
 Laman : fkg.unej.ac.id

Nomor : 202/UN25.8/PG/2020
 Perihal : Ijin Penelitian

06 OCT 2020

Kepada Yth.
Ketua Bagian Biomedik
FKG Universitas Jember
 Di
 Jember


Dalam rangka penelitian maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi Mahasiswa kami:

- | | | |
|---|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Shabrina Akbar Nur Firdaus |
| 2 | NIM | : 171610101117 |
| 3 | Semester/Tahun Akademik | : Gasal 2020/2021 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip No. 59, Kabupaten Jember, Jawa Timur |
| 6 | Judul Penelitian | : Efek Ekstrak Buah Delima Merah Terhadap Jumlah Sementoblas di Daerah Tarikan Gigi Tikus Wistar pada Pergerakan Gigi Ortodontik |
| 7 | Lokasi Penelitian | : a) Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk keseluruhan Proses Perlakuan Hewan Coba dan Pengambilan Jaringan dari Penelitian ini.
b) Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk Proses Pembuatan Preparat |
| 8 | Data/alat yg di pinjam | : a) Berikut bahan yang dibutuhkan, antara lain:
- Hewan coba yaitu tikus wistar (<i>Rattus Novergicus</i>) jantan
- Buah delima merah
- Etanol 96%
- Ketamin (<i>Ilium, Australia</i>)
- Aquadest (<i>WIDA, Indonesia</i>)
- Buffered Neutral Formalin 10% (<i>Millipore, Germany</i>)
- Asam Formiat 10% (<i>Ultradent, Germany</i>)
- Alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 100% (<i>Kimia Farma, Indonesia</i>)
- Xylol (<i>Millipore, Germany</i>)
- Meyer egg albumin (<i>Medsupplypartners, USA</i>)
- Paraffin solid (<i>Histoplast, USA</i>)
- Haematoksilin Eosin (HE)
- Entellan/Canada Balsam (<i>Millipore, Germany</i>)
- Label (<i>Self Adhesive Labels, Indonesia</i>)
- Kertas saring (<i>Whatman, England</i>)
- Pakan standar untuk hewan coba (<i>Turbo, Indonesia</i>)
- Air mineral (<i>Aqua, Indonesia</i>)
- Aquadest steril (<i>Aqua Bidesteril, Indonesia</i>)
- Glass Ionomer type IX (<i>Fuji, Japan</i>) |








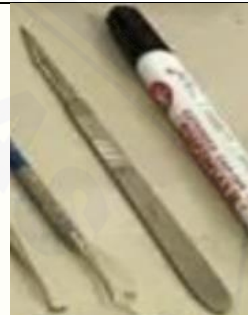








- Matrix band (Ortho-technology, USA)
- Tension gauge (Ormco, USA)
- Nickel titanium orthodontic closed coil spring 0,01 inch (3M Unitek, Germany)
- Kawat ligatur diameter 0,20 mm (3M Unitek, Germany)
- b) Berikut alat yang dibutuhkan, antara lain:**
- Kandang pemeliharaan hewan coba (Lion Star, Indonesia)
- Tempat makan dan minum hewan coba (Lion Star, Indonesia)
- Welding machine (Dental room)
- Tabung spittoon (Lion Star, Indonesia)
- Timbangan digital (Lucky, Indonesia)
- Syringe (Pro-Ject, Indonesia)
- Sonde lambung
- Gelas ukur (Pyrex, Japan)
- Beaker glass (Pyrex, Japan)
- Blade Scalpel (Dentica, USA)
- Scalpel (Dentica, USA)
- Alat potong tulang/knabbe tang (Yamaco, Japan)
- Pinset anatomi (Dentica, USA)
- Botol untuk dekalsifikasi (Lion Star, Indonesia)
- Mikrotom (Roundfin, China)
- Waterbath (Roundfin, China)
- Paraffin dispenser (Roundfin, China)
- Base mould (Vision, Indonesia)
- Cold plate (Lytron, USA)
- Slide warmer (Tissue-tek, Japan)
- Mikroskop Binokuler (Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12 mpx)
- Kamera Optilab® (Adition advance plus)
- Oven (Mommert, Germany)
- Object glass dan Deck glass (Sail Brand, China)
- Sarung tangan dan masker (Sensi Gloves, Indonesia)
- Low Speed Handpiece dan Mata bur wheel kecil

- 9 Waktu : September 2020 s/d selesai
- 10 Tujuan Penelitian : a) Untuk menganalisis efek ekstrak buah delima merah terhadap peningkatan jumlah sementoblas daerah tarikan gigi tikus pada pergerakan gigi ortodontik.
b) Untuk mengetahui jumlah sementoblas pada minggu ke-1, minggu ke-2 dan minggu ke-3.
- 11 Dosen Pembimbing : drg. Melok Artis Wahyukundari, M. Kes, Sp. Perio.
: drg. Happy Harmono, M. Kes.

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an, Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. Masnjari Novita, M.Kes., Sp.OF (K)
NIP.196811251999032001

Lampiran 3. 3 Alat Penelitian

			
Kandang dan tempat pakan	Tempat minum	Timbangan digital	Syringe
			
Sonde lambung	Beaker glass	Tension gauge	Scalpel dan blade
			
Pinset anatomi	Wadah untuk dekalsifikasi	Mikrotom	Waterbath
			
Slide warmer	Tissue Processor Automatic	Oven	Mikroskop dan kamera optilab






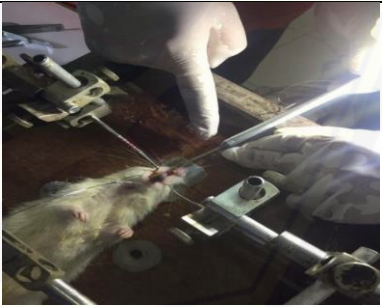
Lampiran 3. 4 Bahan Penelitian

			
Tikus Wistar jantan	Ekstrak buah delima merah	Ketamin	Aquadest
			
BNF 10%	Asam formiat 10%	Alkohol	Xylazine
			
Paraffin solid	Mayers hematoksin	Eosin	Entellan
			
Label	Pakan standar	GIC dan paper pad	Ni-Ti closed coil spring

			
<p>Kawat ligatur</p>	<p><i>Object glass</i></p>	<p>Masker</p>	<p>Sarung tangan</p>



Lampiran 3.5 Perlakuan hewan coba

 <p>1) Adaptasi hewan coba</p>	 <p>2) Proses anestesi dengan ketamin dosis 0,2 ml/grBB dan xylazine 0,1 ml/grBB</p>
 <p>3) Meletakkan hewan coba pada papan hewan coba</p>	 <p>4) Membuat cerukan di servikal gigi dengan bur <i>low speed</i></p>
 <p>5) <i>Ligature wire</i> pada ujung koil spring dililitkan pada gigi molar pertama rahang atas regio kanan</p>	 <p>6) Gigi M1 rahang atas kanan digerakkan ke mesial menggunakan <i>tension gauge</i></p>



7) Melilitkan *ligature wire* pada bagian cerukan gigi insisif kemudian membuat tali simpul



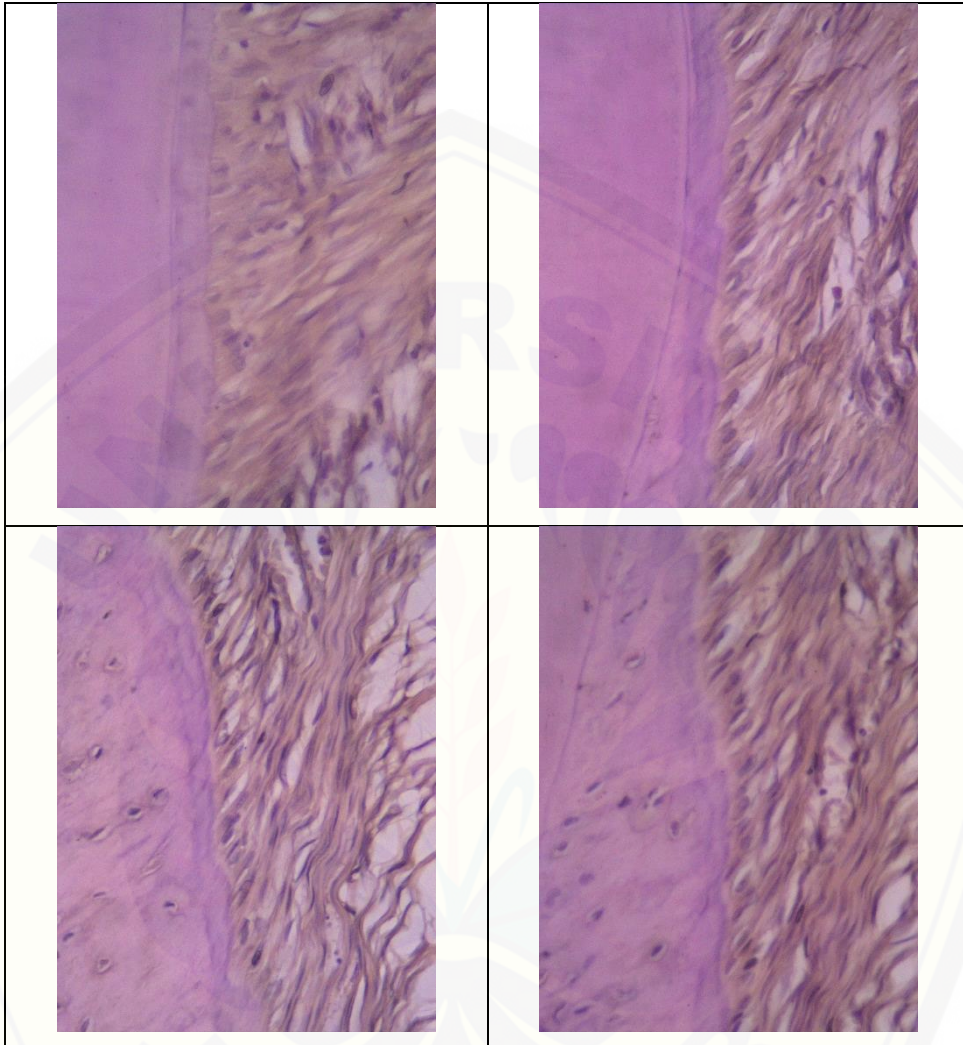
8) Menutup *ligature wire* dengan GIC



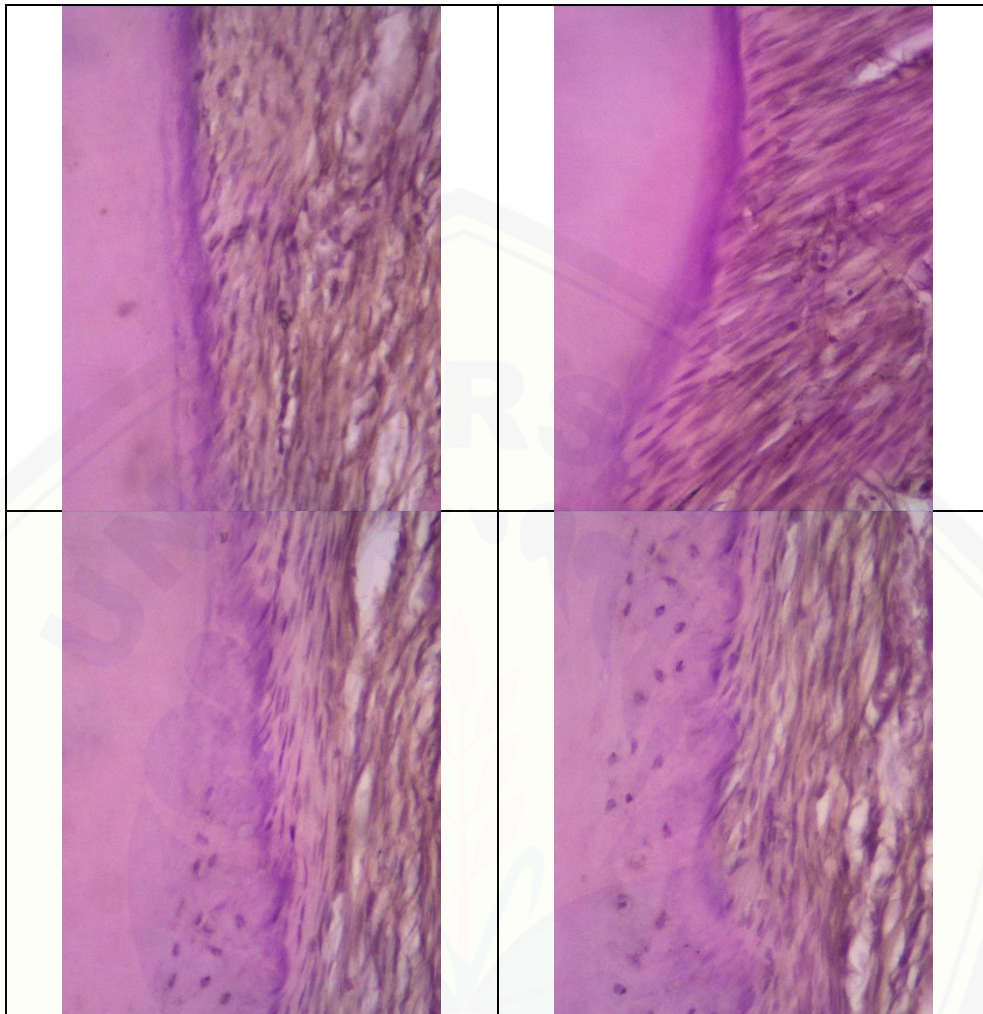
9) Proses sondase ekstrak buah delima pada hewan coba

Lampiran 4. 1 Gambaran Histologis Sementoblas pada Daerah Tarikan

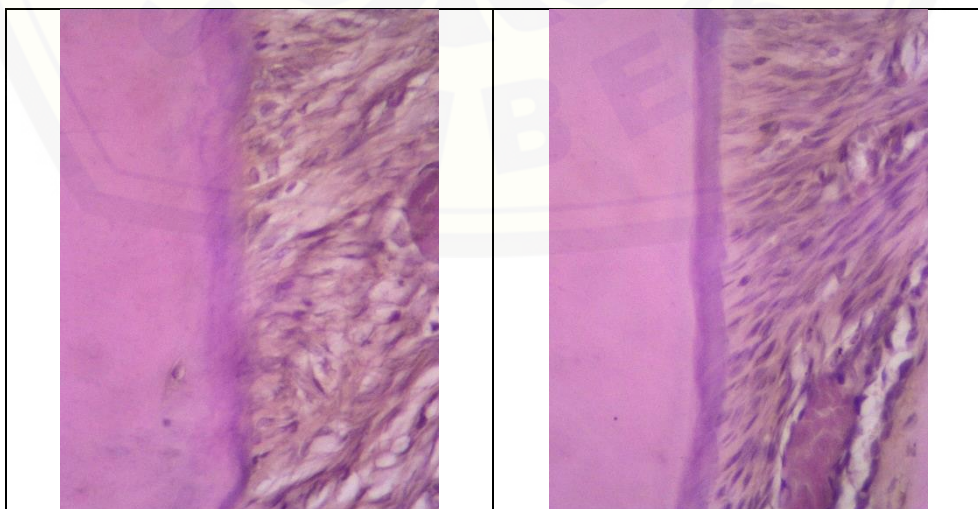
A. Kelompok Kontrol 1 Minggu (Kelompok A)

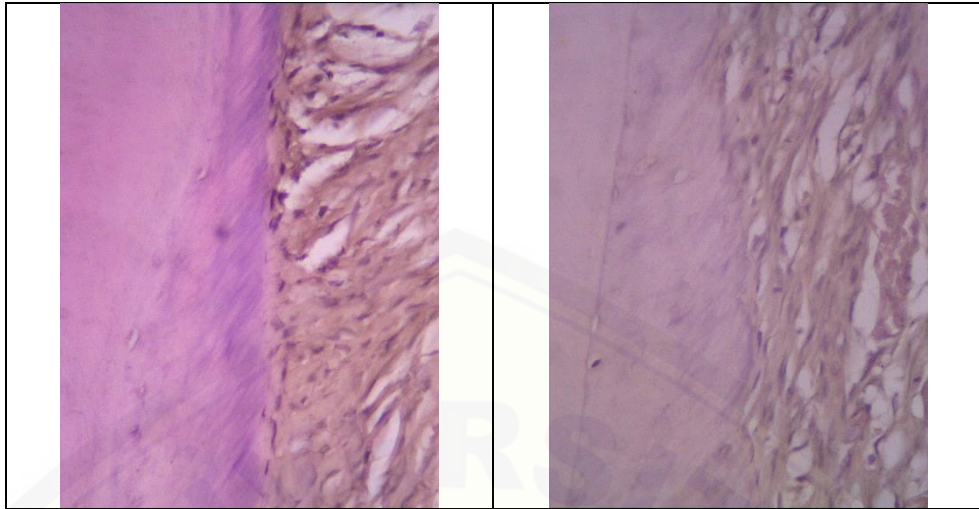


B. Kelompok Kontrol 2 Minggu (Kelompok B)

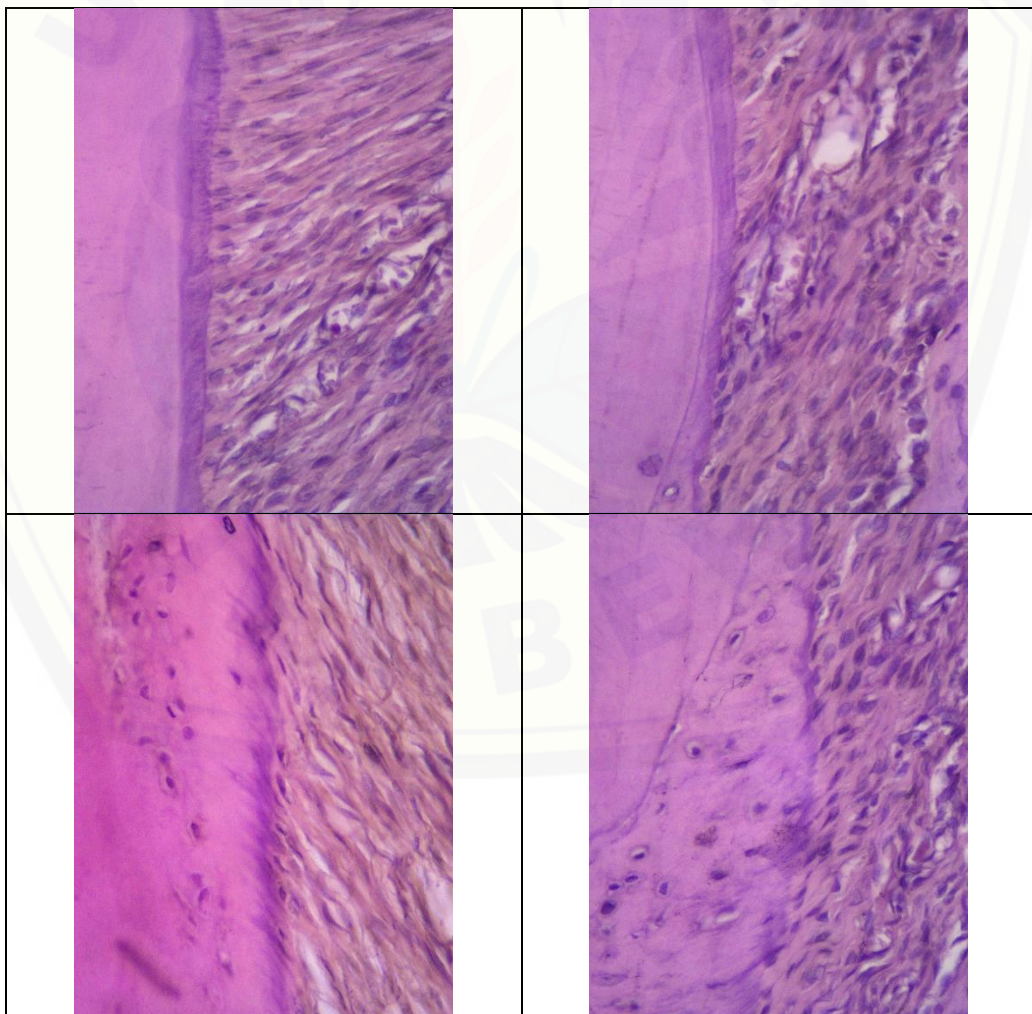


C. Kelompok Kontrol 3 Minggu (Kelompok C)

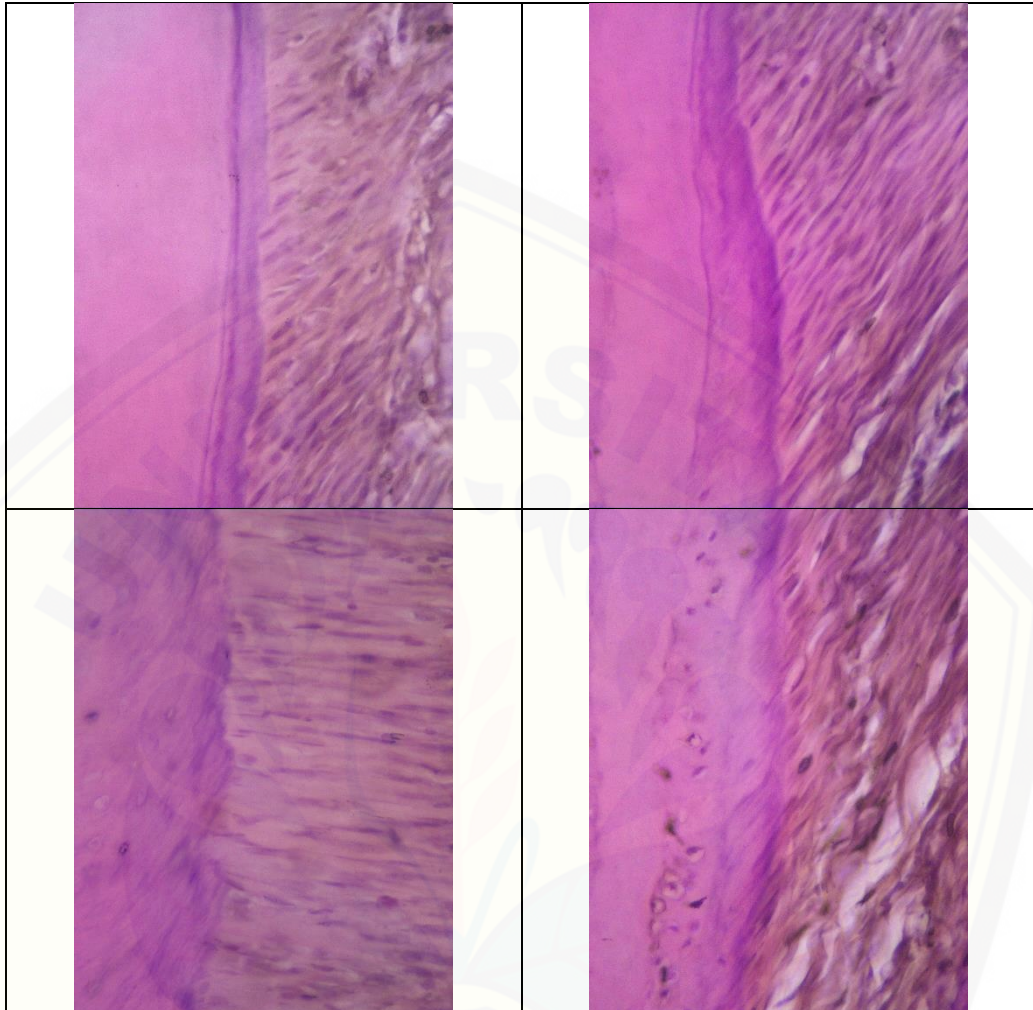




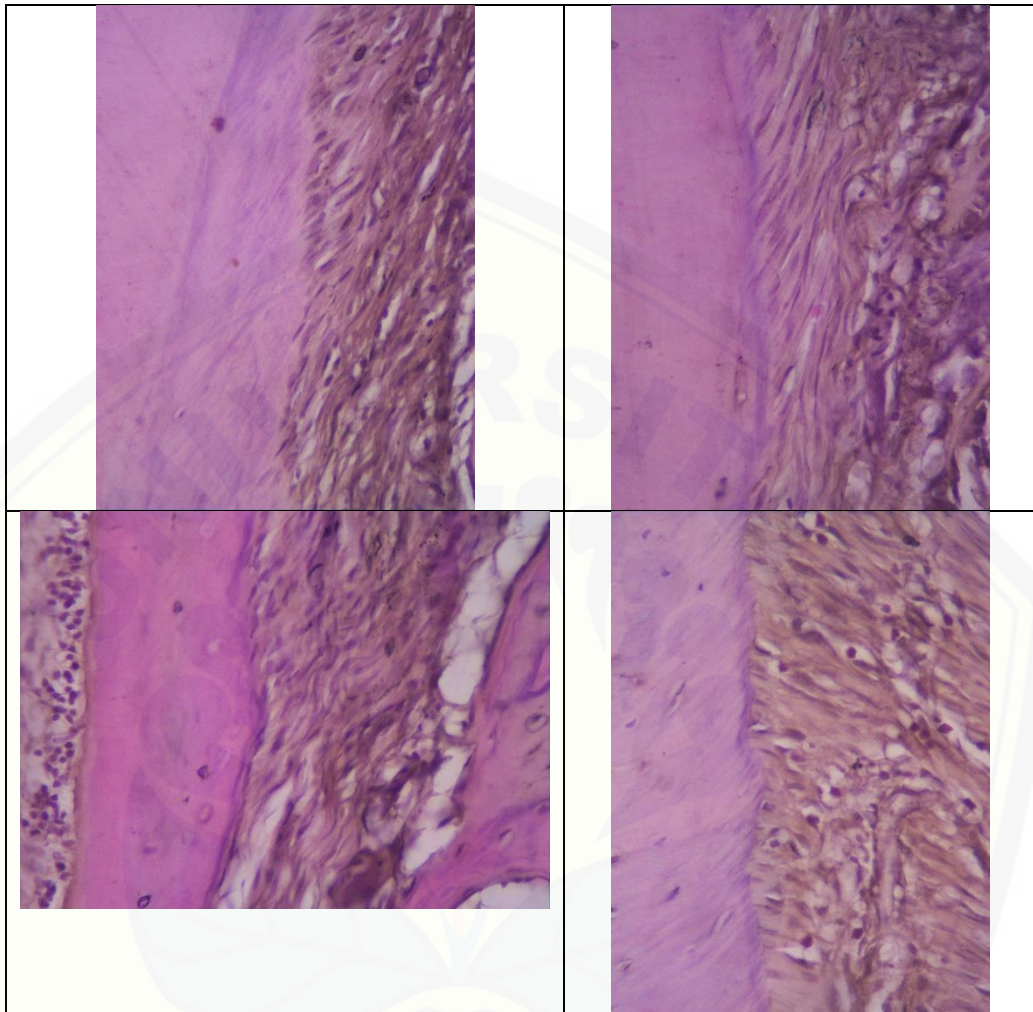
D. Kelompok Perlakuan 1 Minggu (Kelompok D)



E. Kelompok Perlakuan 2 Minggu (Kelompok E)



F. Kelompok Perlakuan 3 Minggu (Kelompok F)



Lampiran 4. 2 Hasil penghitungan jumlah osteoblas**A. Kelompok Kontrol**

KELOMPOK	LAPANG PANDANG	PENGAMAT			RATA-RATA HASIL PENGAMAT	RATA-RATA TIAP SAMPEL
		1	2	3		
A1	1	10	8	7	8,33	8,89
	2	11	11	8	10	
	3	9	10	6	8,33	
A2	1	5	5	9	6,33	8,11
	2	11	11	10	10,67	
	3	9	7	6	7,33	
A3	1	12	11	10	11	12
	2	13	11	13	12,33	
	3	15	12	11	12,67	
A4	1	7	9	7	7,67	10,89
	2	12	10	14	12	
	3	12	14	13	13	
RATA-RATA KONTROL 1 MINGGU					9,97	

KELOMPOK	LAPANG PANDANG	PENGAMAT			RATA-RATA HASIL PENGAMAT	RATA-RATA TIAP SAMPEL
		1	2	3		
B1	1	8	10	11	9,67	10,56
	2	9	11	12	10,67	
	3	12	12	10	11,33	
B2	1	23	24	22	23	20,11
	2	16	19	21	18,67	
	3	17	19	20	18,67	
B3	1	12	14	11	12,33	15,89
	2	19	18	20	19	

	3	17	15	17	16,33	
B4	1	15	14	15	14,67	18,11
	2	17	20	21	19,33	
	3	19	20	22	20,33	
RATA-RATA KONTROL 2 MINGGU					16,17	

KELOMPOK	LAPANG PANDANG	PENGAMAT			RATA-RATA HASIL PENGAMAT	RATA-RATA TIAP SAMPEL
		1	2	3		
C1	1	14	15	15	14,67	15,67
	2	15	16	15	15,33	
	3	21	16	17	18	
C2	1	22	25	23	23,33	22,56
	2	23	18	18	19,67	
	3	27	25	22	24,67	
C3	1	12	13	8	11	18,45
	2	26	22	23	23,67	
	3	20	22	20	20,67	
C4	1	7	6	7	6,67	7,89
	2	11	9	8	9,33	
	3	10	5	8	7,67	
RATA-RATA KONTROL 3 MINGGU					16,22	

B. Kelompok Perlakuan

KELOMPOK	LAPANG PANDANG	PENGAMAT			RATA-RATA HASIL PENGAMAT	RATA-RATA TIAP SAMPEL
		1	2	3		
D1	1	23	19	22	21,33	24,55
	2	28	26	25	26,33	
	3	26	26	26	26	

D2	1	17	15	13	15	17,22
	2	21	16	17	18	
	3	22	17	17	18,67	
D3	1	17	21	14	17,33	14,66
	2	13	8	10	10,33	
	3	14	19	16	16,33	
D4	1	14	16	19	16,33	20,67
	2	21	20	24	21,67	
	3	24	25	23	24	
RATA-RATA PERLAKUAN 1 MINGGU					19,27	

KELOMPOK	LAPANG PANDANG	PENGAMAT			RATA-RATA HASIL PENGAMAT	RATA-RATA TIAP SAMPEL
		1	2	3		
E1	1	31	29	33	31	30,33
	2	32	30	27	29,67	
	3	32	27	32	30,33	
E2	1	25	23	30	26	23,89
	2	24	25	25	24,67	
	3	19	24	20	21	
E3	1	21	22	20	21	21,89
	2	26	20	23	23	
	3	24	19	22	21,67	
E4	1	26	28	27	27	26,22
	2	32	29	29	30	
	3	24	19	22	21,67	
RATA-RATA PERLAKUAN 2 MINGGU					25,58	

KELOMPOK	LAPANG PANDANG	PENGAMAT			RATA-RATA HASIL PENGAMAT	RATA-RATA TIAP SAMPEL
		1	2	3		
F1	1	34	32	35	33,67	31,11
	2	32	35	31	32,67	
	3	27	29	25	27	
F2	1	22	25	27	24,67	24,22
	2	25	24	28	25,67	
	3	22	22	23	22,33	
F3	1	33	28	29	30	25,33
	2	22	27	20	23	
	3	20	24	25	23	
F4	1	26	26	31	27,67	25
	2	28	26	23	25,67	
	3	24	19	22	21,67	
RATA-RATA PERLAKUAN 3 MINGGU					26,41	

Lampiran 4. 3 Hasil Analisis Data

A. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Minggu	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah	Kontrol Minggu 1	.228	4	.	.942	4	.667
Sementoblas	Kontrol Minggu 2	.223	4	.	.945	4	.687
	Kontrol Minggu 3	.235	4	.	.960	4	.780
	Perlakuan Minggu 1	.184	4	.	.983	4	.917
	Perlakuan Minggu 2	.180	4	.	.971	4	.846
	Perlakuan Minggu 3	.384	4	.	.764	4	.052

a. Lilliefors Significance Correction

B. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Jumlah Sementoblas	Based on Mean	.733	5	18	.608
	Based on Median	.679	5	18	.645
	Based on Median and with adjusted df	.679	5	11.555	.648
	Based on trimmed mean	.733	5	18	.608

C. Uji *One Way* Anova

ANOVA

Jumlah Sementoblas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	782.339	5	156.468	9.394	.000
Within Groups	299.814	18	16.656		
Total	1082.153	23			

D. Uji *Pos Hoc* LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Sementoblas

LSD

(I) Minggu	(J) Minggu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Minggu 1	Kontrol Minggu 2	-6.19500 [*]	2.88586	.046	-12.2580	-.1320
	Kontrol Minggu 3	-6.25250 [*]	2.88586	.044	-12.3155	-.1895
	Perlakuan Minggu 1	-9.30250 [*]	2.88586	.005	-15.3655	-3.2395
	Perlakuan Minggu 2	-15.61000 [*]	2.88586	.000	-21.6730	-9.5470
	Perlakuan Minggu 3	-16.44250 [*]	2.88586	.000	-22.5055	-10.3795
Kontrol Minggu 2	Kontrol Minggu 1	6.19500 [*]	2.88586	.046	.1320	12.2580
	Kontrol Minggu 3	-.05750	2.88586	.984	-6.1205	6.0055
	Perlakuan Minggu 1	-3.10750	2.88586	.296	-9.1705	2.9555
	Perlakuan Minggu 2	-9.41500 [*]	2.88586	.004	-15.4780	-3.3520
	Perlakuan Minggu 3	-10.24750 [*]	2.88586	.002	-16.3105	-4.1845
Kontrol Minggu 3	Kontrol Minggu 1	6.25250 [*]	2.88586	.044	.1895	12.3155
	Kontrol Minggu 2	.05750	2.88586	.984	-6.0055	6.1205
	Perlakuan Minggu 1	-3.05000	2.88586	.305	-9.1130	3.0130
	Perlakuan Minggu 2	-9.35750 [*]	2.88586	.005	-15.4205	-3.2945
	Perlakuan Minggu 3	-10.19000 [*]	2.88586	.002	-16.2530	-4.1270
Perlakuan Minggu 1	Kontrol Minggu 1	9.30250 [*]	2.88586	.005	3.2395	15.3655
	Kontrol Minggu 2	3.10750	2.88586	.296	-2.9555	9.1705
	Kontrol Minggu 3	3.05000	2.88586	.305	-3.0130	9.1130
	Perlakuan Minggu 2	-6.30750 [*]	2.88586	.042	-12.3705	-.2445

	Perlakuan Minggu 3	-7.14000*	2.88586	.024	-13.2030	-1.0770
Perlakuan Minggu 2	Kontrol Minggu 1	15.61000*	2.88586	.000	9.5470	21.6730
	Kontrol Minggu 2	9.41500*	2.88586	.004	3.3520	15.4780
	Kontrol Minggu 3	9.35750*	2.88586	.005	3.2945	15.4205
	Perlakuan Minggu 1	6.30750*	2.88586	.042	.2445	12.3705
	Perlakuan Minggu 3	-.83250	2.88586	.776	-6.8955	5.2305
Perlakuan Minggu 3	Kontrol Minggu 1	16.44250*	2.88586	.000	10.3795	22.5055
	Kontrol Minggu 2	10.24750*	2.88586	.002	4.1845	16.3105
	Kontrol Minggu 3	10.19000*	2.88586	.002	4.1270	16.2530
	Perlakuan Minggu 1	7.14000*	2.88586	.024	1.0770	13.2030
	Perlakuan Minggu 2	.83250	2.88586	.776	-5.2305	6.8955

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.