



**EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOKLAS  
PADA TULANG ALVEOLAR GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)  
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

**SKRIPSI**

Oleh

**RHANIFDA AMVITASARI  
NIM 111610101009**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOKLAS  
PADA TULANG ALVEOLAR GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)  
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

**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  
Rhanifda Amvitasari  
NIM 111610101009

BAGIAN PATOLOGI ANATOMI DAN ORTODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016

## PERSEMBAHAN

Bismillaahirrahmaanirrahiim, dengan segenap rasa syukur dan ketulusan hati skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. ALLAH SUBHANAHU WA TA'AALA, Tuhanku yang Esa. Atas segala limpahan rahmat, kasih sayang dan karunia-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini dan saya diberi kesempatan sehingga dapat menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. Kekasih ALLAH SWT, RASULULLAH SHALLALLAHU 'ALAIHI WASSALLAM beserta para sahabat beliau, para Ummul Mukminin dan orang-orang terkasih beliau. Terima kasih tiada tara atas segala cinta kasih, perjuangan dan suri tauladan yang telah engkau berikan untuk kami, kaum muslim;
3. Ibuku, Ibuku, Ibuku dan Ayahku yang tiada henti memberi do'a, kasih sayang, cinta luar biasa, dukungan, motivasi dan segala hal yang mereka miliki untuk keberhasilan dan kebahagiaan saya;
4. Pahlawan tanpa tanda jasa sejak TK Masyithoh Candi, Madrasah Ibtida'iyah Candi, SMPN 1 Candi dan SMAN 2 Sidoarjo yang telah bersedia mendidik, mengajari dan berbagi ilmu; dan
5. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTO**

*Laa yukallifullaahu nafsan illaa wus 'ahaa*

Allah tidak membebani seseorang melainkan kesanggupannya

(QS; Al-Baqarah ayat 286)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rhanifda Amvitasari

NIM : 111610101009

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “**Efek Pemberian Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoklas pada Tulang Alveolar Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti**” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,  
Yang menyatakan,

Rhanifda Amvitasari  
NIM 111610101009

**SKRIPSI**

**EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOKLAS  
PADA TULANG ALVEOLAR GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)  
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

Oleh

**Rhanifda Amvitasari**  
**NIM 111610101009**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Hj. Herniyati, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Leliana Sandra D. P., Sp.Ortho

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoklas pada Tulang Alveolar Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 20 Januari 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji Ketua

Penguji Anggota

**Prof. drg. Mei Syafriadi, MDsc, Ph.D**  
NIP 196805291994031003

**drg. Amandia Dewi P. S., M.Biomed**  
NIP 198006032006042002

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

**drg. Hj. Herniyati, M.Kes**  
NIP 195909061985032001

**drg. Leliana Sandra D.P., Sp. Ortho**  
NIP 197208242001122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

**drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost**  
NIP 196901121996011001

## RINGKASAN

**Efek Pemberian Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoklas pada Tulang Alveolar Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi Gaya Mekanis ortodonti;** Rhanifda Amvitasari, 111610101009; 2016; 50 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dewasa ini, kesadaran masyarakat untuk terus memperhatikan kesehatan gigi dan mulut semakin tinggi. Masyarakat mulai menyadari bahwa kesehatan rongga mulut sangat ditentukan oleh faktor kebersihannya. Posisi dan relasi oklusi gigi juga mempengaruhi tingkat kesulitan proses pembersihan di dalam rongga mulut. Oklusi yang salah dapat dikoreksi dengan menggunakan alat ortodonti lepasan, alat ortodonti cekat maupun alat miofungsional. Prinsip penggunaan alat ortodonti adalah pemberian beban berupa gaya mekanis yang adekuat pada gigi dan jaringan pendukungnya yaitu ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Gaya mekanis yang adekuat diperlukan untuk menginduksi proses pergerakan gigi. Proses perawatan ortodonti merupakan serangkaian proses yang kompleks sehingga para ortodontis banyak melakukan penelitian agar waktu terapi ortodonti dapat dipercepat, salah satunya adalah dengan menggunakan kafein. Kafein merupakan senyawa yang terkandung dalam beberapa jenis minuman seperti kopi, teh, coklat dan minuman berkarbonasi. Senyawa kafein diduga dapat mempercepat proses pergerakan gigi sehingga dapat mempercepat waktu terapi ortodonti. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar sisi tekanan gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti. Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian observasional deskriptif yang dilaksanakan pada bulan Januari-April 2015. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dan

Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya. Populasi penelitian adalah hewan coba marmut (*Cavia cobaya*) sebanyak 4 ekor untuk setiap kelompok. Kelompok terdiri atas kelompok kontrol dengan pemasangan karet separator ortodonti selama 2 dan 3 minggu, serta kelompok perlakuan dengan pemasangan karet ortodonti dan kafein selama 2 dan 3 minggu. Penelitian diawali dengan mengadaptasikan hewan coba dengan lingkungan kandang dan makanan. Kemudian melakukan pemasangan karet separator ortodonti dan pemberian kafein selama 2 dan 3 minggu. Setelah proses perlakuan selesai, hewan coba dieuthanasia dengan menggunakan ketamin dosis letal, kemudian bagian insisivus rahang atas dipotong dan dilakukan pemrosesan jaringan. Berdasarkan hasil penelitian, jumlah sel osteoklas meningkat setelah pemberian kafein. Jumlah sel osteoklas terbesar terdapat pada kelompok perlakuan dengan karet separator dan kafein 3 minggu. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa kafein dapat meningkatkan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar gigi marmut yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

## PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat, kasih sayang dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoklas pada Tulang Alveolar Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti” Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada jurusan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember beserta jajarannya;
2. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan drg. Leliana Sandra Deviade Putri, Sp. Ortho., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya guna memberikan bimbingan selama penyusunan skripsi ini;
3. Prof. drg. Mei Syafriadi, M.Dsc. Ph.D., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed., selaku Dosen Penguji Anggota. Terima kasih telah memberikan ilmu yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini;
4. Ibunda Kastani dan ayahanda Irwan Pramantono. Berjuta ucapan terima kasih rasanya tak cukup mewakili segala hal yang sudah dilakukan. Terima kasih atas setiap tetes keringat, setiap untaian do'a, setiap pengorbanan dan kasih sayang yang tak terhitung selama ini;
5. Adinda Rahmia Pangestita, adik perempuanku satu satunya. Terima kasih telah menjadi penyemangat dan penghibur dikala sedih serta selalu ada saat sempit, saat pahit manisnya hidup ini menghampiri;

6. drg. Winny Adriatmoko, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah sabar membimbing saya selama menempuh masa perkuliahan. Serta teman teman satu DPA, Lubna, Riskyana Dwi H.A.R, Vananda Duanta K., Dhani Yanuar P., dan Riza Jayabela Y.P., terima kasih atas kebersamaannya;
7. Sahabat *alayersku* Aulia Nurmadiyanti, Alifah Sarah D., Puspita Kusumasari dan Fathimatuz Zahro FR. Terima kasih tiada tara untuk kalian. Atas setiap waktu, kenangan dan kebersamaan selama ini;
8. Rumah keduku Dwi Sri Lestari, Rohmatul Ummah dan Yunita Saskia. Serta sahabat kosan lama *Mastrip Girls* Avinandri M., Eka Fani H., Fitria Krisnawati, Cindy Uswatun Kh., dan Meytika F.S., terima kasih atas segala cerita, canda tawa, senang susah, air mata dan bahagia yang telah kalian dengar dariku. Terima kasih karena dengan sabar mengerti dan menyayangiku;
9. Teman-teman yang telah berpartisipasi langsung dalam membantu penelitian ini, Tatit Fitri Pusparani selaku *partner* setia dalam suka dan duka selama penelitian. Asri Dinar dan Danang Dewantara A.P., yang selalu memberi semangat dalam penyusunan skripsi ini;
10. Sahabat sahabat yang meluangkan waktu bersama setiap hari dan saling memberi dukungan satu sama lain, Asyiah Hamasah I., Deo Agusta Rahmana P., Deasy Kusuma A., Ita Kurniawati, Tiara F.B.B, Sariwiwit Intan P.A., Redo Setyawan, Erfin Ramadana P., dan Galang Rikung, jangan patah semangat kawan. Serta sahabat sahabat baru yang saya kenal, Kumbolo. Terima kasih atas kebersamaannya selama di Ranu Kumbolo Rezha Priyana, Ceha Kartika, Hanif Nugroho, Sylvia Dona T., Theo Walid F.D., mas Mar'iy Muslih M., Arzaky Ardi S.N., Jerry Daniel dan mbak Iradatul Hasanah;
11. Sahabat KKN desa Wringinagung kelompok 98 & 225, mbak Misi Devi M., Rizki Nurmala, Fenty Tri A., Qorry Dinnia F., Alfiah Mawarni, mas Rizdani F., mas Yogi A., Bagus dan mas Ahmad Nizam;

12. *Wonder Smanda Ayu Sandra S., Elok Fatimah A., dan Ika Yulia N.,* walau terpisah jarak dan waktu, kalian tetap dihati. Serta Rizal Wahyu A. terima kasih atas waktunya;
13. Seluruh teman FKG 2011 yang telah mewarnai hari-hari perkuliahan;
14. Teknisi Lab Fisiologi FKG Universitas Jember mas Agus, teknisi Lab Histologi FKG Universitas Jember mbak Wahyu, Teknisi Lab Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Jember Pak Darma dan teknisi Lab HPA rs. Dr. Sutomo Surabaya mbak Tyas. Terima kasih atas bantuannya selama proses penelitian berlangsung;
15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember,

Penulis

**DAFTAR ISI**

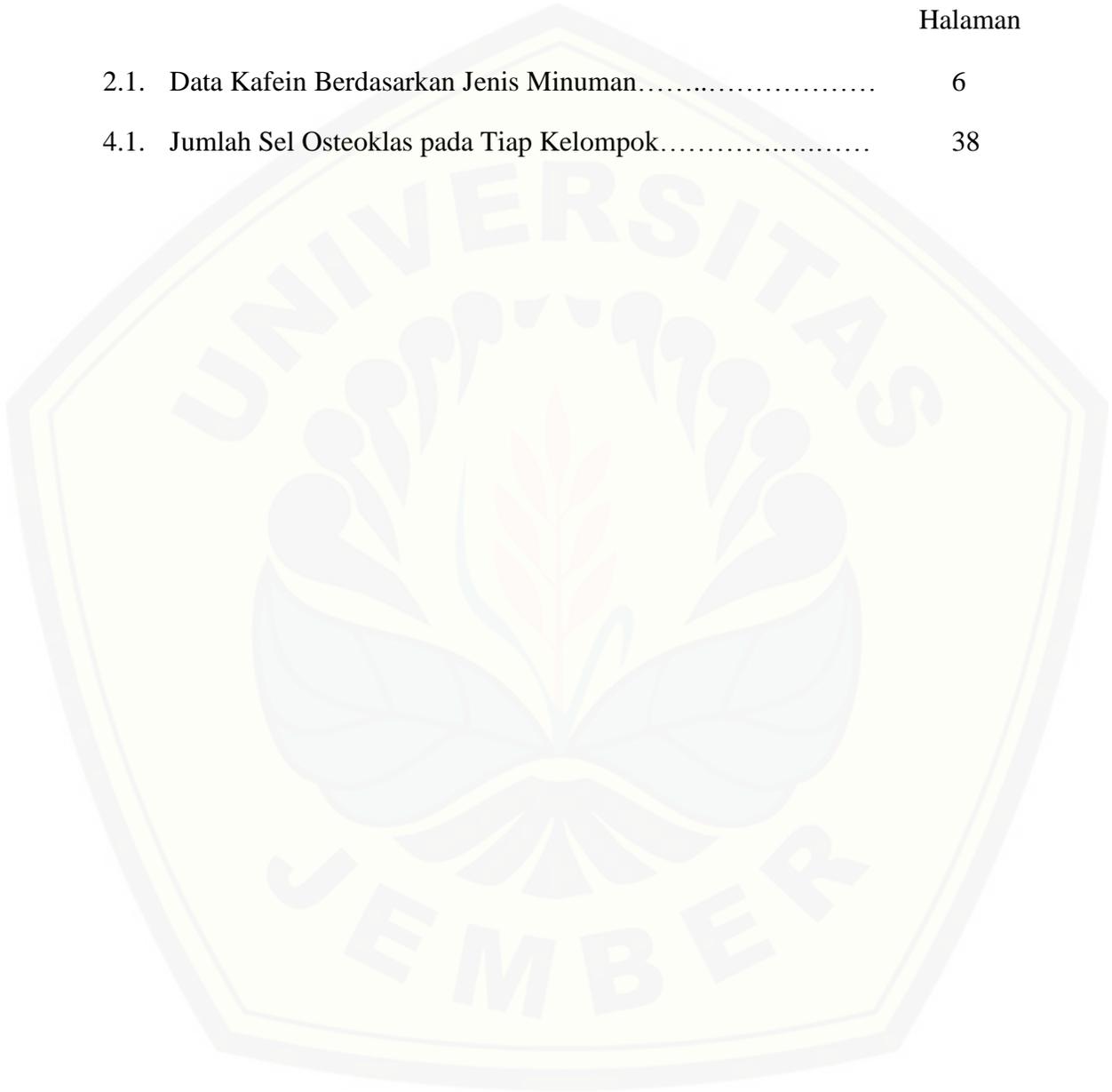
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>1. BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2. Rumusan Masalah</b> .....	<b>4</b>
<b>1.3. Tujuan Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4. Manfaat Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>2. BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1. Kafein</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Definisi Kafein .....	5
2.1.2 Kandungan Kafein pada Minuman .....	6
2.1.3 Efek Konsumsi Kafein .....	7
<b>2.2. Pergerakan Gigi Ortodonti</b> .....	<b>8</b>
2.2.1. Gigi, Ligamen Periodontal dan Tulang Alveolar .....	8
2.2.2. Teori Pergerakan Gigi .....	10

2.2.3. Pergerakan Gigi Ortodonti dan Proses Seluler Pergerakan Gigi Ortodonti .....	11
<b>2.3. Sel Osteoklas .....</b>	<b>14</b>
2.3.1 Definisi dan Fungsi Sel Osteoklas .....	14
2.3.2 Pembentukan Sel Osteoklas .....	15
<b>2.4. Efek Kafein Terhadap Pergerakan Gigi.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5. Kerangka Konsep Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3. BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1. Jenis Penelitian.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>21</b>
3.2.1. Tempat Penelitian .....	21
3.2.2. Waktu Penelitian.....	21
<b>3.3. Populasi dan Sampel Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.3.1. Populasi Penelitian .....	21
3.3.2. Sampel Penelitian .....	22
<b>3.4. Variabel Penelitian .....</b>	<b>23</b>
3.4.1. Variabel Bebas.....	23
3.4.2. Variabel Terikat.....	23
3.4.3. Variabel Terkendali.....	23
<b>3.5. Definisi Operasional.....</b>	<b>23</b>
3.5.1. Kafein.....	23
3.5.2. Induksi Gaya Mekanis .....	24
3.5.3. Jumlah Sel Osteoklas.....	24
<b>3.6. Bahan dan Alat Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.6.1. Bahan Penelitian.....	24
3.6.2. Alat Penelitian.....	25
<b>3.7. Prosedur Penelitian.....</b>	<b>25</b>
3.8.1 Persiapan <i>Ethical Clearance</i> .....	26
3.8.2 Persiapan Hewan Coba.....	26

3.8.3	Pembagian Kelompok Perlakuan.....	26
3.8.4	Persiapan Kafein .....	27
3.8.5	Cara Kerja Penelitian .....	27
<b>3.8.</b>	<b>Analisis Data.....</b>	<b>32</b>
<b>3.9.</b>	<b>Alur Penelitian.....</b>	<b>33</b>
<b>4.</b>	<b>BAB 4. HASIL, ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
4.1.	Hasil Penelitian .....	34
4.2.	Pembahasan .....	38
<b>5.</b>	<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>42</b>
5.1.	Kesimpulan .....	42
5.2.	Saran .....	42
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>46</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1. Data Kafein Berdasarkan Jenis Minuman.....	6
4.1. Jumlah Sel Osteoklas pada Tiap Kelompok.....	38

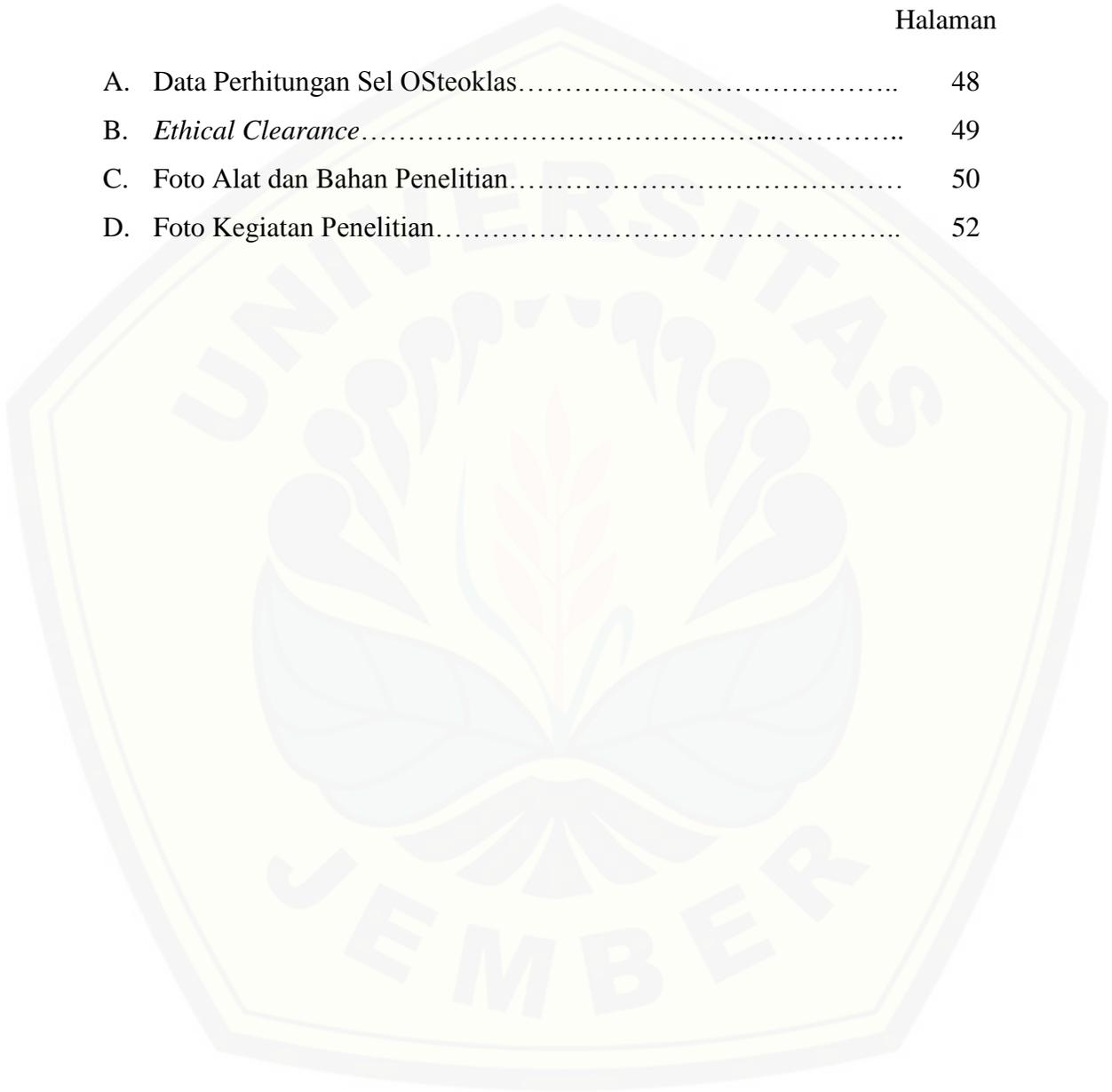


**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.2. Struktur Kimia Kafein .....	5
2.2. Gambaran Histologis Sel Osteoklas .....	15
2.3. Proses Aktifasi Osteoklas.....	16
4.1. Hail Preparat Perbesaran 40x.....	35
4.2 Hasil Preparat Perbesaran 100x.....	36
4.2. Hasil Preparat Perbesaran 400x.....	37

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Data Perhitungan Sel Osteoklas.....	48
B. <i>Ethical Clearance</i> .....	49
C. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	50
D. Foto Kegiatan Penelitian.....	52



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, kesadaran masyarakat untuk terus memperhatikan kesehatan gigi dan mulut semakin tinggi. Masyarakat mulai menyadari bahwa kesehatan rongga mulut sangat ditentukan oleh faktor kebersihannya. Posisi dan relasi oklusi gigi juga mempengaruhi tingkat kesulitan proses pembersihan di dalam rongga mulut (Narmada dan Syafei, 2008).

Oklusi yang salah dapat menyebabkan rusaknya jaringan periodontal, frekuensi karies gigi lebih tinggi, fungsi fonetik terganggu, fungsi pengunyahan terganggu, estetik terganggu dan pada akhirnya menimbulkan kelainan psikologis pada penderita (Foster, 2000). Oklusi yang salah dapat dikoreksi dengan menggunakan piranti ortodonti lepasan, piranti ortodonti cekat maupun piranti miofungsional. Prinsip penggunaan piranti ortodonti adalah pemberian beban berupa gaya mekanis pada gigi dan jaringan pendukungnya yaitu ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Gaya mekanis yang diberikan harus adekuat artinya beban mekanis tersebut tidak boleh berlebihan atau bahkan kurang. Pembebanan yang adekuat diperlukan untuk menginduksi proses pergerakan gigi (Hill, 1998).

Pergerakan gigi ortodonti yang terjadi karena pemberian beban mekanis dapat menyebabkan tarikan pada ligamen periodontal, aposisi pada tulang alveolar dan secara bersamaan terjadi tekanan pada ligamen periodontal, resorpsi pada tulang alveolar yang pada akhirnya membentuk suatu keseimbangan dari sementum, ligamen periodontal dan tulang alveolar. Karena proses pergerakan gigi ortodonti merupakan suatu perubahan yang kompleks, maka durasi terapi ortodonti membutuhkan waktu yang cukup lama sekitar 1-2 tahun. Penempatan piranti ortodonti di dalam rongga mulut dengan durasi waktu yang cukup lama tersebut

dapat memperburuk keadaan *oral hygiene* pasien serta dapat meningkatkan resiko penyakit periodontal dan karies (Yi *et al.*, 2012). Para ortodontis berupaya menggali informasi untuk mempercepat proses terapi ortodonti dengan melakukan banyak penelitian dan mendapat umpan balik dari beberapa pasien ortodonti bahwa dengan mengkonsumsi kopi dapat mempercepat proses perawatan ortodonti. Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa *Erigeron Breviscapus*, suatu obat tradisional dari Cina yang mengandung kafein, yang merupakan komponen utama dari kopi dapat mempersingkat durasi perawatan ortodonti dengan memicu proses pergerakan gigi (Yi *et al.*, 2012).

Pergerakan gigi ortodonti didasarkan atas suatu prinsip bahwa bila tekanan diberikan cukup lama pada gigi maka akan terjadi remodeling pada jaringan pendukung gigi termasuk ligamen periodontal dan tulang alveolar. Jika tekanan diaplikasikan pada mahkota gigi, tekanan akan diteruskan melalui akar gigi ke ligamen periodontal dan tulang alveolar. Agar dapat digerakkan, harus terjadi proses resorpsi tulang sebagai respon adanya beban mekanik, dan agar gigi permanen melekat erat juga harus terjadi aposisi tulang untuk mempertahankan mekanisme perlekatan (Adilah *et al.*, 2010). Reaksi jaringan selama proses pergerakan gigi ortodonti menunjukkan bahwa terjadi dilatasi sementara pembuluh-pembuluh darah di ligamen periodontal yang seringkali terjadi setelah aplikasi piranti ortodonti, terjadi perubahan elemen seluler pada ligamen periodontal dengan ditemukannya *prostaglandin*, *IL-1*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  yang berperan dalam proses resorpsi tulang alveolar, juga di temukan *RANKL* yaitu *receptor activator of nuclear factor kappa B ligand* yang berperan dalam proses pembentukan osteoklas (Taddei *et al.*, 2012).

Kafein merupakan substansi farmakologi aktif yang sering digunakan di dunia dan banyak terkandung di dalam kopi, teh dan minuman berkarbonasi serta beberapa jenis obat. Konsumsi kafein beberapa tahun ini mengalami peningkatan seiring dengan semakin meningkatnya kebutuhan masyarakat pada minuman suplemen dan minuman penambah energi. Dosis aman konsumsi kafein adalah sekitar 300 mg/hari, jika mengkonsumsi lebih banyak dari yang dianjurkan dapat menimbulkan efek pada

sistem saraf pusat, sistem kardiovaskular dan mempengaruhi status kepadatan tulang. Pada beberapa studi observasional, konsumsi kafein dapat mereduksi kepadatan tulang dan meningkatkan resiko terjadinya fraktur dan dapat memicu proses pergerakan gigi ortodonti. Konsumsi kafein yang dapat memicu proses pergerakan gigi ortodonti berhubungan dengan efek kafein pada proses regulasi kalsium, osteoblas dan osteoklas (Liu *et al.*, 2011). Osteoklas merupakan sel yang berperan dalam melakukan resorpsi tulang alveolar di daerah tekanan pada proses pergerakan gigi ortodonti (Meikle, 2006). Ketika aplikasi gaya dilakukan maka reaksi sel osteoblas dan osteoklas pada ligamen periodontal akan dimulai. Aplikasi gaya mekanis yang diberikan besarnya harus memadai dan adekuat (Bohl *et al.*, 2003). Jika gaya yang diberikan tidak adekuat, misalnya tekanan terlalu kecil maka proses resorpsi dan aposisi tidak akan terjadi. Dan jika gaya yang diberikan terlalu besar, misalnya tekanan terlalu berlebihan, maka proses resorpsi dan aposisi tidak seimbang (Proffit *et al.*, 2007).

Konsumsi kafein dengan dosis tinggi dapat menimbulkan efek negatif bagi keseimbangan kalsium, dimana kafein dapat meningkatkan ekskresi kalsium di urin atau menurunkan absorpsi kalsium di usus (Nawrot *et al.*, 2003). Dengan mengkonsumsi kafein dapat mempercepat durasi perawatan ortodonti yang memicu proses pergerakan gigi dengan meningkatkan regulasi osteoklas (Yi *et al.*, 2012).

Berdasarkan uraian diatas, kafein diduga dapat mempengaruhi proses pergerakan gigi ortodonti dengan cara meregulasi pembentukan osteoklas. Dari permasalahan yang ada, penulis ingin mengetahui efek pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar gigi marmut yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar sisi tekanan gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar sisi tekanan gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang di induksi gaya mekanis ortodonti.

### 1.4 Manfaat Penelitian

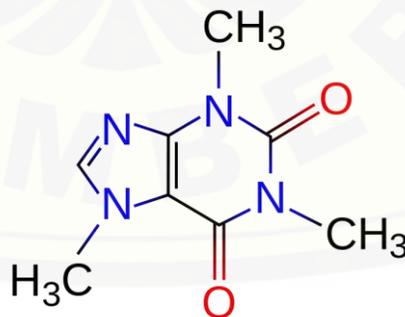
1. Hasil dari penelitian dapat memberikan informasi tentang efek pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar sisi tekanan gigi marmut yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.
2. Hasil dari penelitian dapat dijadikan sebagai informasi tentang manfaat dari kandungan kafein.
3. Hasil dari penelitian dapat dijadikan sebagai acuan dan informasi oleh para dokter gigi, ortodontis dan masyarakat secara luas yang akan melakukan perawatan ortodonti dapat dipercepat dengan mengkonsumsi kafein.
4. Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kafein

#### 2.1.1 Definisi Kafein

Kafein (1,3,7-metilxantin) yang merupakan keluarga dari golongan metilxantin dan merupakan substansi psikoaktif yang sering di konsumsi dan terkandung dalam kopi, teh, dan minuman berkarbonasi (Yi *et al.*, 2012). Kafein merupakan senyawa terpenting dalam biji kopi. Kandungan kafein dalam biji kopi robusta lebih banyak dibandingkan pada biji kopi arabika, dalam biji kopi robusta terdapat 2% kandungan kafein (Rahadian, 2009). Kafein dapat bereaksi dengan asam, basa, dan logam berat dalam asam. Bersifat basa mono-cidic yang lemah dan dapat memisah dengan penguapan air. Dengan asam, kafein akan bereaksi dan membentuk garam yang tidak stabil, sedangkan dengan basa akan membentuk garam yang stabil. Kafein mudah terurai dengan alkali panas membentuk kafeidin. Kafein disintesis dalam pericarp dan dapat larut dalam air, mempunyai aroma wangi tetapi memberikan cita rasa yang pahit (Violita, 2011).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Kafein 1,3,7 – *methylxanthine* (Violita, 2011).

### 2.1.2 Kandungan Kafein pada Minuman

Kafein merupakan senyawa yang terpenting dalam biji kopi. Jenis kopi yang banyak beredar di Indonesia adalah kopi Robusta dan kopi Arabika. Kandungan kafein dalam biji kopi Robusta lebih banyak dibandingkan pada kopi Arabika. Pada kopi Robusta terdapat 2% kandungan kafein. Kafein tidak hanya terdapat pada kopi namun juga pada tumbuhan teh, coklat, minuman berkarbonasi, dan minuman berenergi (Rahadian, 2009).

Tabel 2.1 Data kafein berdasarkan jenis minuman (Rahadian, 2009).

Beverage category	Beverage type/description	Caffeine content	
		(mg/fluid ounce)	(mg/8 fluid ounces)
<i>Coffee</i>			
Caffeinated	Regular, brewed, non-specialty, brand not specified	11.9	95.2
	Regular, brewed, brand specified, including K cups and other single-serve varieties	9.4–20.6	75.2–164.8
	Regular, instant, brand or no brand specified	9.4	75.2
	Prepared from flavored mix, all varieties	6.0	48.0
	Specialty coffees, with additional ingredients (e.g., latte, mocha, cappuccino, Americano)	7.9–15.8	63.2–126.4
	Specialty coffee, espresso	46.7–62.8	373.6–502.4
	Ready-to-drink, bottled or canned	4.1–20.0	32.8–160.0
Decaffeinated	All types including regular, brewed, specialty, brand or brand not specified, ready-to-drink, bottled or canned	0.25	2.0
<i>Carbonated soft drinks</i>			
Cola	All types, caffeinated, regular or diet, including with added flavors (e.g., cherry cola), brand not specified	3.0	24.0
Cola	All types, caffeinated, regular or diet, including with added flavors, brand specified	3.0–5.8	24.0–46.4
Citrus	All types, caffeinated, brand not specified	4.6	36.8
Citrus	All types, caffeinated, brand specified	4.6–5.9	36.8–47.2
Other flavors	All types, caffeinated, regular or diet, brand not specified	2.4–3.4	19.2–27.2
Other flavors	All types, caffeinated, regular or diet, brand specified	1.9–6.9	17.2–55.2
<i>Tea</i>			
Black	All types brewed, caffeinated, brand or no brand specified	5.9	47.2
Green	All types brewed, caffeinated, brand or no brand specified	3.1	24.8
White	All types brewed, caffeinated, brand or no brand specified	1.9	15.2
Powdered, instant	All types, brand or no brand specified	1.4–5.9	11.2–47.2
Ready-to-drink, bottled	Caffeinated, regular or diet, brand not specified	2.0	16.0
Ready-to-drink, bottled	Caffeinated, regular or diet, brand specified	0.625–8.1	5.0–40.8
<i>Energy drinks/shots</i>			
Drinks	Generic, brand not specified, diet or regular	10.0	80.0
	Brand specified, bottles or cans, diet or regular	3.4–20.5	27.2–164.0
Shots	Generic, brand not specified	60.0	480
	Brand specified	40.0–69.0	320.0–552.0
Chocolate milk or chocolate beverages	Including cocoa, bottled ready-to-drink or pre-prepared home, prepared from mix or syrup	0.2–2.0	1.6–16.0

Berdasarkan Tabel 2.1 dapat disimpulkan bahwa kandungan kafein pada kopi paling banyak daripada minuman teh dan coklat yang secara alami memiliki kandungan kafein tersebut.

### 2.1.3 Efek Konsumsi Kafein

Dewasa ini, konsumsi kafein masyarakat semakin meningkat. Hal ini dipicu maraknya produksi minuman berenergi, minuman berkarbonasi dan aneka olahan tumbuhan kopi, teh dan coklat dalam berbagai macam kemasan, rasa dan bentuk. Senyawa kafein bekerja sebagai stimulan susunan saraf pusat, jantung, pernafasan, memberikan efek relaksasi pada otot polos, merangsang diuresis, peningkatan denyut jantung, tekanan darah, dan aliran darah ke otot serta mengganggu fungsi hati (Rahadian, 2009). Pada sistem saraf pusat, kafein berpengaruh dalam mencegah rasa kantuk, menaikkan daya tangkap panca indera, mempercepat daya pikir dan mengurangi rasa lelah. Kafein diabsorpsi sempurna dalam sistem pencernaan dalam waktu 30-60 menit. Kadar atau level maksimum yang diperbolehkan adanya kafein dalam tubuh tak lebih dari 12 mikro gram dalam setiap 1 mL urin (Violita, 2011). Konsumsi harian kopi yang normal dan aman bagi tubuh dan kesehatan ialah sekitar 2-4 kali penyajian. Dalam setiap sajian, terkandung 100 mg kafein (Widyotomo *et al.*, 2007). Kontribusi positif yang diberikan oleh senyawa aktif dalam kafein memang berdampak baik untuk kesehatan tubuh, tetapi kontribusi negatif yang diberikan oleh kafein juga perlu dipertimbangkan. Kafein dapat menghalangi penyerapan kalsium ke dalam tubuh dan menghambat penghancuran lemak. Tidak hanya menghalangi penyerapan kalsium, kafein juga mengurangi kadar kalsium dan mengeluarkannya melalui urin yang berakibat pada merosotnya kepadatan tulang dan gigi (Indah, 2011).

Selain memberikan manfaat positif bagi tubuh, kafein juga memberikan manfaat negatif. Observasi terkini menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara kafein dengan kadar homosistein dalam tubuh berbanding lurus. Kadar asupan kafein yang tinggi akan meningkatkan konsentrasi plasma homosistein yang akan meningkatkan resiko penyakit kardiovaskuler (Rahadian, 2009). Konsumsi kafein lebih dari 300 mg/hari menyebabkan efek negatif pada metabolisme kalsium, termasuk meningkatkan konsentrasi kalsium pada urin dan plasma, dan menurunkan kepadatan mineral tulang (Septriani, 2013). Ada penelitian yang menunjukkan

dengan mengonsumsi kafein lebih dari normal (>300 mg/hari) berhubungan dengan penurunan mineral tulang/*low bone density* (Yi *et al.*, 2012). Konsumsi kafein telah diketahui dapat menyebabkan penurunan kepadatan mineral tulang dan meningkatkan resiko fraktur pinggang. Beberapa literature beranggapan bahwa kafein menurunkan ekspresi *VDR* (*Vitamin D Receptor*) dan berpengaruh pada aktifitas osteoblas yang dapat menyebabkan penurunan kepadatan mineral tulang. Sel osteoblas mengekspresikan *VDR* dan  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  secara langsung dan dapat memodulasi proliferasi seluler serta menstimulasi proses differensiasinya.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  merupakan regulator homeostasis kalsium utama dalam tubuh dan dikenal sebagai regulator osteoblas dalam pembentukan tulang serta regulator osteoklas pada resorpsi tulang (Rapuri *et al.*, 2007). Kafein meningkatkan konsentrasi *cAMP* dan secara konsekuen mengaktivasi *protein A kinase* (*PKA*) yang menyebabkan kehilangan kalsium lewat urin. Rendahnya konsentrasi kalsium dalam serum menyebabkan tersekresinya hormon paratiroid (*PTH*) yang menstimulasi penurunan kepadatan mineral tulang. Dalam jangka panjang, kafein menginduksi tingginya absorpsi kalsium dalam usus yang dapat memicu peningkatan produksi  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , sehingga keseimbangan kalsium kembali normal dan menurunkan kepadatan mineral tulang yang hanya bersifat sementara kemudian akan kembali ke level normal melalui regulasi neuro-hormonal (Yi *et al.*, 2012).

## 2.2 Pergerakan Gigi Ortodonti

### 2.2.1 Gigi, Ligamen Peridontal dan Tulang Alveolar

Gigi dilindungi dan disangga oleh soket tulang alveolar melalui fibrovaskular ligamen periodontal. Ligamen periodontal terdiri atas komponen seluler dan komponen interseluler yang mengisi ruang antar sel. Komponen interseluler seperti matriks ekstraseluler, yang secara dominan tersusun atas elemen fibrous, dan substansi dasar. Elemen fibrous mayor terdiri atas serat kolagen tipe 1 dan tipe 3, yang berfungsi dalam menahan tekanan mekanik dan mempertahankan gigi dalam soketnya. Komponen utama dalam substansi dasar dari ligamen periodontal adalah

proteoglikan dan glikoprotein yang dibutuhkan dalam proses remodeling ligamen periodontal karena dapat menambah viskoelastisitas dari ligamen periodontal. Fibroblas merupakan sel yang terpenting dalam ligamen periodontal dan kaya akan alkaline fosfatase dan osteokalsin. Dengan adanya enzim alkaline fosfatase tersebut, fibroblas berperan dalam metabolisme tulang alveolar dan formasi sementum (Narmada dan Syafei, 2008). Sel-sel ligamen periodontal berperan dalam proses resorpsi dan aposisi sementum dan tulang alveolar selama proses pergerakan gigi secara fisiologis dalam menyesuaikan terhadap beban oklusal serta memperbaiki kerusakan. Ligamen periodontal selalu mengalami remodeling, yaitu sel tua dan serat yang rusak akan turun dan diganti oleh yang baru. Tulang secara kontinyu dirusak dan dibentuk kembali. Jaringan tulang alveolar terdiri atas 4 sel yaitu osteoprogenitor, osteoblas, osteoklas, dan osteosit. Osteoprogenitor dapat mengalami mitosis dan berkembang menjadi osteoblas. Sel osteoprogenitor akan menjadi lebih aktif pada saat pembentukan, perbaikan atau fraktur tulang. Ada dua jenis sel osteoprogenitor yaitu preosteoblas yang kemudian menjadi osteoblas dan preosteoklas yang menghasilkan osteoklas (Adilah *et al.*, 2010).

Aplikasi piranti ortodonti pada gigi dapat menyebabkan perubahan pada gigi dan jaringan pendukungnya termasuk ligamen periodontal. Ligamen periodontal akan mengalami peningkatan proliferasi sel dan mengalami apoptosis. Dalam fase inisial pergerakan gigi ortodonti, banyak reaksi yang hampir sama dengan reaksi inflamasi terjadi pada jaringan periodontal. Salah satunya adalah perubahan vascular dan migrasi beberapa sel leukosit dari pembuluh darah kapiler ligamen periodontal (Wise dan King, 2008). Ketika tekanan dari piranti ortodonti diberikan, komponen seluler dan komponen fibrous ligamen periodontal memiliki kekuatan untuk membelokkan sebagai respon singkatnya. Ligamen periodontal akan mengalami tekanan dan regangan sebagai respon aplikasi piranti ortodonti. Daerah ligamen periodontal yang mengalami tekanan searah dengan arah gaya dari piranti ortodonti. Sedangkan daerah ligamen periodontal yang mengalami regangan berlawanan arah dengan arah gaya piranti ortodonti sehingga mengalami elongasi dan meregang. Kekuatan piranti

ortodonti dapat membelokkan matriks ligamen periodontal yang dapat menyebabkan perubahan pada sistem seluler dan konfigurasi sitoskeletal dan pelepasan neuropeptida dari ujung saraf aferen. Dalam level biomolekuler, kekuatan mekanik dari piranti ortodonti dapat menginduksi pelepasan prostaglandin, faktor pertumbuhan dan beberapa sitokin seperti *IL-1*, *IL-6* dan *TNF- $\alpha$* . Pembebanan yang diberikan pada gigi dan jaringan pendukungnya akhirnya dapat menyebabkan terlepasnya sitokin sebagai respon terhadap proses resorpsi dan aposisi tulang alveolar. Salah satu sitokin yaitu *TNF- $\alpha$*  yang merupakan substansi penting dalam menjalankan proses resorpsi ditemukan dalam cairan krevikular gingival (GCF). Sel osteoklas aktif dalam 4 hari setelah pemasangan piranti ortodonti dan mulai melakukan resorpsi tulang alveolar di daerah tekanan (Narmada dan Syafei, 2008).

### 2.2.2 Teori Pergerakan Gigi

Ada dua teori yang menerangkan tentang pergerakan gigi ortodonti. Teori yang pertama berkaitan dengan aliran listrik dan teori yang kedua mengenai tekanan dan regangan yang berhubungan dengan aliran darah dalam ligamen periodontal. Teori aliran listrik atau bioelektrik menghubungkan gerakan pada metabolisme tulang yang dikontrol oleh sinyal listrik yang dihasilkan oleh perubahan tulang alveolar. Sedangkan teori tekanan dan regangan menghubungkan gerakan gigi pada perubahan seluler akibat produksi senyawa kimia yang disebabkan perubahan aliran darah pada ligamen periodontal. Tekanan atau regangan pada ligamen periodontal akan mempengaruhi aliran darah (Adilah *et al.*, 2010).

Sinyal elektrik yang merangsang pergerakan gigi disebut *piezoelectric*. Bila suatu gaya diberikan pada gigi dan dapat menyebabkan pelengkungan tulang (*bending*) tulang, maka sinyal tersebut dapat terlihat. Bila matriks jaringan tulang mengalami distorsi karena pemberian tekanan, polaritas negatif dan positif akan terlihat di permukaan tulang. Aliran negatif akan menghasilkan osteoblas dan osteoklas akan memberikan respon terhadap aliran positif. Aposisi dan resorpsi akan terjadi sesuai dengan jenis listrik yang terjadi dan hasil akhir adalah remodeling

tulang untuk mengantisipasi gaya mekanis yang dibebankan pada tulang (Adilah *et al.*, 2010).

Teori tekanan dan regangan dapat menerangkan proses terjadinya pergerakan gigi yang berhubungan dengan aliran darah. Aliran darah akan berkurang bila ligamen periodontal mendapat tekanan dan akan bertambah bila mendapat regangan. Perubahan pada aliran darah akan mengubah keadaan kimia darah. Level oksigen akan berkurang pada daerah tekanan dan akan bertambah pada daerah regangan. Proporsi relative metabolit yang lain juga akan mengalami perubahan selama proses pergerakan gigi, perubahan seluler ini akan menyebabkan gigi dapat berpindah dari tempatnya. Perubahan kimia yang terjadi, bekerja secara langsung ataupun secara tidak langsung dengan cara menstimulasi agen aktif yang lain sehingga terjadi diferensiasi dan aktivasi seluler. Pergerakan gigi dapat di bagi dalam 3 tahapan yaitu: (1) perubahan aliran darah akibat tekanan pada ligamen periodontal, (2) pembentukan dan pelepasan dari senyawa kimia, (3) aktivasi sel-sel (Adilah *et al.*, 2010).

### 2.2.3 Pergerakan Gigi Ortodonti dan Proses Seluler Pergerakan Gigi Ortodonti

Induksi gaya mekanis yang diberikan oleh piranti ortodonti akan menyebabkan terbentuknya daerah tekanan dan regangan pada struktur pendukung gigi geligi. Agar pergerakan gigi dapat tercapai maka harus terjadi proses resorpsi sebagai respon terhadap stress dan agar gigi tetap melekat erat harus terjadi proses aposisi untuk mempertahankan mekanisme perlekatan. Akibatnya, soket gigi harus ikut bergerak, sejalan dengan pergerakan dari gigi melalui tulang alveolar. Hal penting yang harus diperhatikan dalam menggerakkan gigi secara ortodonti adalah pemberian kekuatan yang adekuat dan dengan presentase yang telah diperkirakan sebelumnya. Durasi dari pemberian tekanan yang telah diperhitungkan juga merupakan komponen penting untuk menghasilkan second messenger yang berfungsi untuk menstimulasi diferensiasi seluler. Artinya pemberian gaya harus mencukupi, tidak terlalu besar dan tidak pula terlalu kecil agar dapat menstimulasi proses resorpsi. Jika proses resorpsi sudah terjadi akibat induksi gaya mekanis dari piranti

ortodonti, maka sebagai proses homeostasis akan terjadi aposisi untuk menggantikan tulang yang telah diresorpsi. Pemberian gaya mekanis yang terlalu besar akan menyebabkan kegoyangan pada gigi sebaliknya gaya yang terlalu kecil tidak akan menstimulasi osteoklas untuk melakukan tugasnya. Induksi gaya mekanis yang diberikan pada gigi akan menyebabkan *displacement* dan deformasi pada gigi (Adilah *et al.*, 2010).

Tekanan piranti ortodonti dapat menstimulasi remodeling dari tulang alveolar yang memungkinkan terjadinya pergerakan gigi. Sebelum terjadinya proses remodeling, terlebih dahulu terjadi perubahan pada ligamen periodontal. Beberapa *signaling pathways* teraktivasi sehingga terjadi *turnover* pada ligamen periodontal, resorpsi dan aposisi tulang alveolar. Proses remodeling tulang merupakan proses interaksi antara resorpsi dan aposisi, yang memegang peran penting dalam menjaga sistem homeostasis tulang. Beberapa faktor yang memodulasi remodeling tulang yaitu prostaglandin, vitamin D, kalsitonin, hormon paratiroid, faktor pertumbuhan dan sitokin. Resorpsi yang terjadi di tulang alveolar pada daerah tekanan berkaitan dengan proses osteoklastogenesis yang melibatkan molekul penting didalamnya yaitu *RANKL*, *RANK* dan *OPG*. *RANKL* di ekspresikan oleh osteoblas yang mengikat *RANK* sebagai reseptornya. *RANK* sendiri di ekspresikan oleh osteoklas progenitor, interaksi antara *RANKL* dan *RANK* menyebabkan diferensiasi osteoklas progenitor menjadi osteoklas yang aktif. *OPG* sendiri di produksi oleh osteoblas yang berperan sebagai reseptor umpan untuk *RANKL* dan menghambat formasi osteoklas dengan menginterupsi interaksi antara *RANKL* dan *RANK*. *RANKL* yang memicu proses osteoklastogenesis di daerah tekanan dapat ditingkatkan dengan adanya prostaglandin. Dimana stimulasi prostaglandin oleh osteoblas membutuhkan induksi *COX-2* dan ketersediaan asam arakidonat (Liu *et al.*, 2011). Ekspresi protein *COX-2* berhubungan dengan produksi dari prostaglandin yang berakhir pada peningkatan ekspresi *RANKL*. Tekanan mekanik dari piranti ortodonti menginduksi diferensiasi osteoklas dengan cara meningkatkan ekspresi *RANKL* dan menurunkan produksi *OPG* diosteoblas. Selama masa pemakaian piranti ortodonti, pada ligamen

periodontal daerah yang mengalami regangan terjadi proses penurunan proliferasi sel fibroblas, osteoblas dan sel precursor sementoblas. Sedangkan pada daerah tekanan pada permukaan tulang alveolar terjadi peningkatan proliferasi sel osteoklas. Pada ligamen periodontal selama proses pergerakan gigi ditemukan adanya prostaglandin, *IL-1*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  dan *RANKL*. *RANKL* berperan dalam pembentukan osteoklas. *IL-1* di produksi oleh makrofag dan fibroblas yang berfungsi untuk menginduksi prostaglandin *E2 (PGE2)* dan *IL-6* dan juga berperan dalam aktivitas osteoklas. *IL-1* berperan dalam menstimulasi pembentukan osteoklas. *TNF- $\alpha$*  di produksi oleh makrofag yang berfungsi untuk menginduksi *IL-1*, *IL-6* dan berperan dalam proses resorpsi tulang. Penemuan sitokin-sitokin ini dalam ligamen periodontal menunjukkan proses resorpsi dan aposisi saling melibatkan reaksi sistemik dan lokal secara bersamaan dan saling mendukung (Adilah *et al.*, 2010).

Pada daerah yang mengalami tekanan, terjadi pelepasan *tartrateresistant acid phosphatase (TRAP)* dan naiknya jumlah enzim lisosom yang berperan dalam proses degradasi jaringan dengan meningkatkan jumlah makrofag. Osteoklas merupakan sel yang kaya akan lisosom yang mengandung *TRAP* dan hanya akan meresorpsi tulang yang banyak mengandung mineral. Penemuan ini menunjukkan pada daerah tekanan terdapat peningkatan osteoklas sehingga terjadi resorpsi tulang. Setelah proses resorpsi berjalan, sebagai respon terhadap sistem homeostasis tulang, maka di daerah regangan terdapat hambatan degradasi matriks dengan cara menghambat *MMP-1*. *MMP-1* berfungsi dalam proses degradasi matriks ekstraseluler pada ligamen periodontal. Dengan dihambatnya pembentukan *MMP-1* proses resorpsi terhambat dan akan terjadi proses aposisi tulang. Menurut penelitian yang dilakukan oleh para peneliti ini jelas menunjukkan bahwa pada daerah regangan terjadi proses aposisi tulang dengan ditemukannya beberapa sel inhibitor resorpsi tulang dan sel stimulator pembentukan tulang (Adilah *et al.*, 2010).

## 2.3 Sel Osteoklas

### 2.3.1 Definisi dan Fungsi Sel Osteoklas

Osteoklas adalah sel multinukleus besar yang terdapat di sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi, remodeling, dan perbaikan tulang. Sel osteoklas berasal dari penyatuan sel-sel progenitor homopoietik atau darah yang termasuk turunan makrofag mononuklearis-monosit di sumsum tulang. Sel-sel ini melekat ke tulang melalui integrin yang dinamakan zona tertutup. Keadaan ini menciptakan suatu daerah yang terisolasi antara tulang dan osteoklas. Osteoklas matang dihasilkan oleh hasil akhir dari proses diferensiasi dan tidak mampu untuk mengatur proliferasi mereka sendiri (Arnett, 2003).

Fungsi utama sel osteoklas adalah melakukan resorpsi tulang selama terjadinya proses remodeling. Osteoklas sering terdapat di dalam lekukan dangkal pada matriks tulang yang di sebut *lacuna Howship*. Enzim-enzim lisosom yang dikeluarkan sel osteoklas mengikis lekukan ini (Eroschenko, 2010). Sel osteoklas memiliki pergerakan yang tinggi dan selama melaksanakan proses resorpsi, osteoklas membentuk sebuah *tight annular seal* dengan tulang yang mengeluarkan asam yang bertujuan untuk memecah komponen mineral dan enzim proteolitik untuk memisahkan bahan organik. Osteoklas berinteraksi dengan daerah permukaan tulang yang luas atas bantuan dari sebuah *convulted membranous organ* yang disebut *ruffled border* (daerah resorpsi) (Arnett, 2003).



Gambar 2.2 Gambaran histologi 2 sel *multinuclear* osteoklas dalam *Lacuna Howship* (Newman dan Michael, 2002).

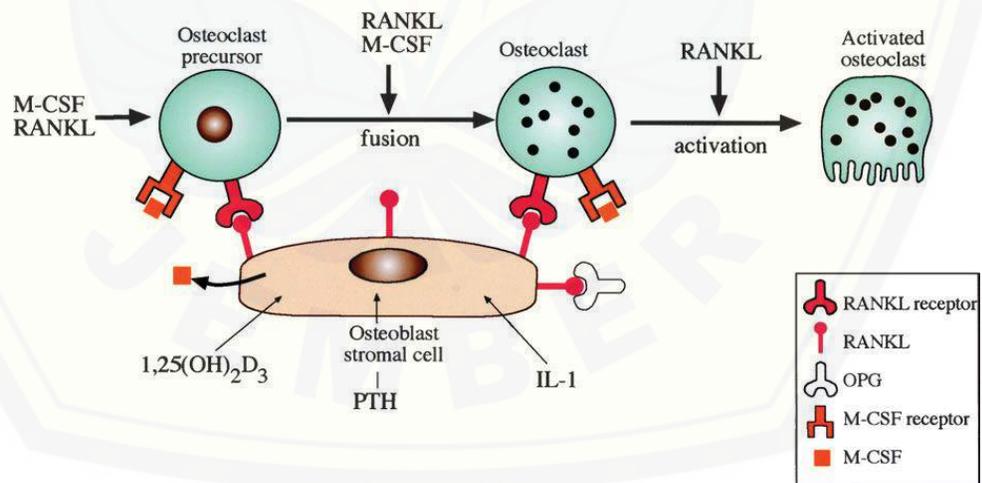
### 2.3.2 Pembentukan Sel Osteoklas

Beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya proses pembentukan sel osteoklas antara lain:

a. Faktor sitokin

Pada stadium awal dari proses hematopoisis dan osteoklastogenesis melalui suatu jalur yang memerlukan suatu mediator berupa sitokin dan faktor-faktor koloni stimulator. Diantara grup sitokin yang menstimulasi osteoklastogenesis adalah *IL-1*, *IL-6*, *Tumor Necrosis Faktor (TNF)*, *Granulocyte* dan *Macrophage Colony Stimulating Faktor (M-CSF)*. Sedangkan *IL-4*, *IL-10* *IL-18* dan *interferon- $\gamma$*  merupakan sitokin yang menghambat osteoklastogenesis. Terjadinya peningkatan *IL-6* memegang peranan penting akan terjadinya beberapa penyakit, antara lain berpengaruh pada remodeling dan terjadinya penyerapan tulang secara berlebihan (Kawiyana, 2009).

*RANKL* yang merupakan salah satu family ligan dari *TNF* disebut juga *OPG-L*, *ODF* dan memiliki reseptor *RANK* yang merupakan kunci pengaturan remodeling tulang dan sangat esensial dalam perkembangan dan aktivasi sel osteoklas. *RANKL* dan reseptornya, *RANK* di ekspresikan di osteoklas dan sel prekursor *RANKL* dan *RANK* berubah menjadi sebuah molekul yang berfungsi dalam formasi dan meningkatkan fungsi osteoklas. Selanjutnya, *RANKL* akan berikatan *RANK* pada permukaan sel osteoklas progenitor untuk merangsang differensiasi sel tersebut. Selain itu, sel osteoblas juga mensekresikan suatu substansi yang berfungsi sebagai reseptor dan dapat juga mengikat *RANKL* yang disebut *OPG*, *OPG* dapat beraksi sebagai penghambat pembentukan osteoklas dengan cara berikatan dengan *RANKL* sehingga mencegah interaksi antara *RANKL* dan *RANK* pada progenitor osteoklas. *RANKL* dan *OPG* yang diproduksi di osteoblas dan fibroblas ligamen periodontal memegang peran penting dalam regulasi jaringan ikat dan resorpsi tulang selama proses pergerakan gigi ortodonti (Meikle, 2006).



Gambar 2.3 Proses Aktivasi Osteoklas (Meikle, 2006).

b. Pembebanan

Tulang merupakan jaringan dinamik yang secara konstan melakukan remodeling akibat respon mekanik dan perubahan hormonal. Remodeling tulang terjadi dalam suatu unit yang dikenal dengan *bone remodelling unit*, yang merupakan keseimbangan dinamik antara penyerapan tulang oleh sel osteoklas dan pembentukan tulang oleh sel osteoblas. Remodeling ini dimulai dari perubahan permukaan tulang yang pasif menjadi perubahan permukaan tulang yang mengalami resorpsi (Adilah *et al.*, 2010).

Pembebanan mekanik pada tulang menimbulkan stress mekanik dan strain atau *resultant tissue deformation* yang menimbulkan efek pada jaringan tulang yaitu pembentukan tulang pada permukaan periosteal sehingga memperkuat tulang dan menurunkan *bone turnover* yang mengurangi penyerapan tulang. Dengan demikian, pembebanan mekanik dapat memperbaiki ukuran, bentuk, dan kekuatan jaringan tulang (Kawiyana, 2009).

Ketika aplikasi dari piranti ortodonti dikenakan pada gigi, maka ligamen periodontal akan mengalami tekanan dan menimbulkan pergerakan gigi dimana sebelumnya juga terjadi distorsi matriks ligamen periodontal dan perubahan seluler dari ligamen periodontal. Pada sisi tekanan, osteoklas progenitor tersebar dalam aliran darah, kemudian berproliferasi dan berdiferensiasi selanjutnya menginduksi proses resorpsi tulang. Setelah beberapa jaringan nekrotik tereliminasi, osteoklas yang berada pada ruang ligamen periodontal meresorpsi tulang alveolar pada sisi tekanan dan menyebabkan gigi bergerak pada tingkat yang konsisten. Remodeling tulang merupakan proses biologis penting dalam proses pergerakan gigi ortodonti (Yi *et al.*, 2012).

Proses remodeling tulang merupakan proses siklus yang terdiri dari 4 tahap yaitu, aktivasi, resorpsi, pematangan dan aposisi. Terjadinya remodeling tulang berawal dari sebuah keretakan mikro yang terjadi pada tulang akibat adanya suatu pembebanan misalnya aplikasi piranti ortodonti, trauma tulang yang kemudian merangsang sel osteosit untuk mensekresikan molekul bioaktif ke matriks

ekstraseluler. Proses remodeling tulang juga merupakan proses *coupling* antara proses resorpsi tulang dan aposisi atau formasi tulang dimana faktor seluler juga ikut berperan di dalamnya. Setelah *RANKL* dan *RANK* berikatan untuk mengaktifasi sel osteoklas, kemudian sel osteoklas melakukan tugasnya untuk meresorpsi tulang, ikatan *RANKL* dan *RANK* akan di ganggu oleh *OPG*. Dengan peningkatan jumlah *OPG*, maka proses osteoklastogenesis mengalami penurunan dengan cara menghambat *RANKL* selama proses pembebanan dengan piranti ortodonti (Yi *et al.*, 2012).

c. Faktor Sistemik

Proses remodeling tulang juga melibatkan faktor sistemik. Reaksi sistemik berperan dalam meregulasi kadar mineral dalam tulang serta mengatur aktivitas osteoblas dan osteoklas. Reaksi sistemik tersebut berupa aktivitas hormon paratiroid, vitamin D, kalsitonin dan esterogen. Hormon paratiroid akan mengaktifkan *adenil siklase* yang akhirnya menghasilkan *c-AMP*. Paratiroid juga menstimulasi *RANKL* yang meningkatkan produksi osteoklas. Kalsitonin bertindak sebagai antagonis fisiologis terhadap paratiroid yang berfungsi untuk menghambat resorpsi tulang (Adilah *et al.*, 2010).

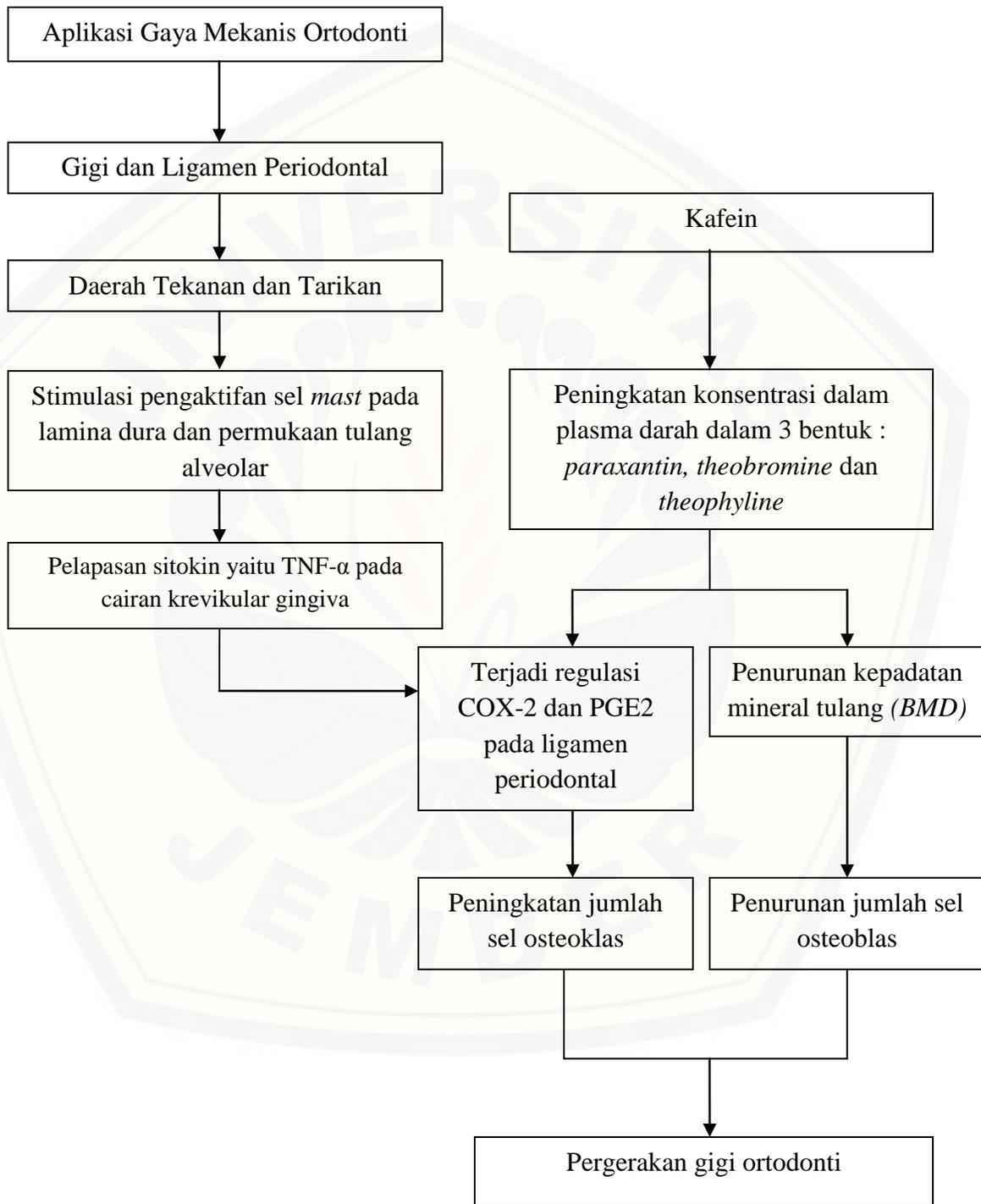
Esterogen mengatur pembedakan *transforming growth faktor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )* yang dapat mengakibatkan turunnya osteoklas. Level esterogen dalam tubuh berpengaruh dalam proses remodeling tulang, khususnya bagi wanita. Perawatan ortodonti pada wanita yang mengalami peningkatan kadar esterogen akan berjalan lambat, sedangkan bagi wanita yang mengalami defisiensi esterogen, proses pergerakan gigi ortodonti akan berjalan dengan cepat (Adilah *et al.*, 2010).

## 2.4 Efek Kafein Terhadap Pergerakan Gigi

Seperti yang diketahui bahwa kandungan senyawa kimia kafein dapat menginduksi proses pergerakan gigi ortodonti dengan meningkatkan jumlah osteoklas di daerah tekanan. Kafein dengan dosis rendah dapat memicu *COX-2* dan *PGE2* yang meregulasi peningkatan *RANKL* di osteoblas, yang menghasilkan peningkatan

pembentukan sel osteoklas (Liu *et al.*, 2011). Melalui dua cara kafein dapat meningkatkan konsentrasi *cyclic adenosine monophosphat (cAMP)* yang merupakan mediator untuk menurunkan regulasi dari proliferasi osteoblas. Cara pertama, kafein menghambat *fosfodiester* yang dapat merusak *cAMP* dan kedua, kafein menginduksi peningkatan *PGE2* secara *in vitro* maupun *in vivo*. Tingginya konsentrasi *PGE2* dapat meningkatkan regulasi osteoklas dan menghambat sintesis kolagen yang mengarah pada percepatan resorpsi tulang dan keterlambatan aposisi sehingga terjadi penurunan kepadatan mineral tulang. Penurunan kepadatan mineral tulang dapat mengarah pada percepatan remodeling tulang dan menimbulkan pergerakan gigi ortodonti, sehingga dapat mempercepat waktu terapi perawatan ortodonti. Efek pemberian kafein dengan dosis tinggi akan menahan proliferasi dan diferensiasi sel osteoblas, bukan menghambat kerja sel osteoblas yang bertugas untuk melakukan perbaikan/aposisi pada tulang, sehingga berpengaruh pada penurunan kepadatan mineral tulang. Walaupun kafein memiliki efek samping berupa penurunan kepadatan mineral tulang, efek yang ditimbulkan hanya bersifat sementara dan dapat balik (Yi *et al.*, 2012).

## 2.5 Kerangka Konsep Penelitian



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian observasional deskriptif yaitu penelitian yang diarahkan untuk menggambarkan atau menguraikan keadaan yang ditemukan, baik berupa faktor resiko, efek atau hasil (Notoatmojo, 2002).

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari-April 2015. Penelitian ini dilaksanakan di :

- a. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk keseluruhan proses perlakuan hewan coba dan pengambilan jaringan penelitian.
- b. Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya, untuk proses pembuatan preparat histologi.
- c. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk proses pembacaan preparat jaringan secara mikroskopik untuk perhitungan sel osteoklas.

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah hewan coba marmut spesies *Cavia cobaya*.

### 3.3.2 Sampel Penelitian

#### a. Kriteria Sampel Penelitian

Pemilihan sampel penelitian menggunakan teknik *Purposive sampling*, yaitu sampel dipilih berdasarkan berbagai pertimbangan dari peneliti dengan kriteria-kriteria tertentu yang diterapkan berdasarkan tujuan penelitian (Notoatmojo, 2002). Adapun kriteria sampel, antara lain:

1. Marmut spesies *Cavia cobaya*
2. Jenis kelamin jantan
3. Kondisi fisik sehat
4. Berat badan 300-350 gram
5. Umur 3-4 bulan (Putri, 2013).

#### b. Besar Sampel Penelitian

Rumus perhitungan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut (Steel dan Torrie, 1991) :

$$n = \frac{(Z_{\alpha})^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

Keterangan :

$n$  : besar sampel minimal

$Z_{\alpha}$  : batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas atas kemungkinan (1,96)

$\sigma^2$  : variansi populasi yang diasumsikan  $\sigma^2 = \delta^2$

$\delta$  : simpangan baku kelompok kontrol

Maka, hasil perhitungan sampel minimal adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z_{\alpha})^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84 \approx 4$$

Dari hasil perhitungan dengan menggunakan rumus di atas, diperoleh jumlah sampel minimal untuk setiap kelompok adalah 4 sampel.

### 3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kafein dan marmut.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel osteoklas.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Jenis makanan hewan coba
- b. Berat badan hewan coba
- c. Kriteria hewan coba
- d. Alat Ortodonti dan cara pemasangan
- e. Prosedur penelitian
- f. Dosis kafein

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Kafein

Kafein adalah senyawa yang merupakan keluarga dari golongan metilxantin dan merupakan substansi psikoaktif yang sering dikonsumsi dan terkandung dalam kopi, teh, dan minuman berkarbonasi. Kafein merek MERCK (*made in Germany*) dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Jember.

### 3.5.2 Induksi Gaya Mekanis

Induksi gaya mekanis adalah pemberian suatu gaya mekanis pada gigi insisivus kiri rahang atas marmut dan jaringan pendukungnya yang diperoleh dari pemasangan piranti ortodonti sehingga menimbulkan proses pergerakan gigi. Piranti ortodonti yang digunakan adalah karet separator merk *American orthodontic* berwarna biru dengan kekuatan 0,0284 kN (Putri, 2013; Sartika, 2013).

### 3.5.3 Jumlah Sel Osteoklas

Jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar adalah banyaknya sel multinukleus besar yang terdapat disepanjang permukaan tulang alveolar tempat terjadinya resorpsi di daerah tekanan dan terdapat pada lekukan dangkal pada matriks tulang yang disebut *Lacuna Howship*.

## 3.6 Bahan dan Alat Penelitian

### 3.6.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

- a. Hewan coba yaitu marmut
- b. Kafein (*Merck, Germany*)
- c. Ketamin (*Ilium, Australia*)
- d. *Aquadest* (*WIDA, Indonesia*)
- e. *Buffered Neutral Formalin 10%* (*Millipore, Germany*)
- f. *EDTA 14%* (*Ultradent, Germany*)
- g. Alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 100% (*Kimia Farma, Indonesia*)
- h. *Xylol* (*Millipore, Germany*)
- i. *Meyer egg albumin* (*Medsupplypartners, USA*)
- j. *Paraffin solid* (*Histoplast, USA*)
- k. *Haematoksin Eosin* (*Millipore, Germany*)
- l. *Entellan/Canada Balsam* (*Millipore, Germany*)

- m. Label (*Self Adhesive Labels*, Indonesia)
- n. Kertas saring (*Whatman*, England)
- o. Minuman dan makanan standar untuk hewan coba (*Guyofeed*, Indonesia)
- p. *Glass Ionomer type IX* (*Fuji*, Japan)

### 3.6.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kandang pemeliharaan hewan coba (*Lion Star*, Indonesia)
- b. Tempat makan dan minum hewan coba (*Lion Star*, Indonesia)
- c. Karet separator ortodonti (*American Orthodontics*, USA)
- d. Separator *applier* (*Medesy*, Italy)
- e. Neraca (*Lucky*, Indonesia)
- f. *Syringe* (*Pro-Ject*, Indonesia)
- g. Gelas ukur (*Pyrex*, Japan)
- h. *Rat dental chair* (Indonesia)
- j. *Beaker glass* (*Pyrex*, Japan)
- k. *Blade Scalpel* (*Dentica*, USA)
- l. *Scalpel* (*Dentica*, USA)
- m. Alat potong tulang/*knable* tang (*Yamaco*, Japan)
- n. Pinset anatomi (*Dentica*, USA)
- o. Botol untuk dekalsifikasi (*Lion Star*, Indonesia)
- p. Mikrotom (*Roundfin*, China)
- q. *Waterbath* (*Roundfin*, China)
- r. *Paraffin dispenser* (*Roundfin*, China)
- s. Kuas kecil (*Mastona*, China)
- t. Mikroskop cahaya (*Leica*, Germany)
- u. Objek *glass* (*Sail Brand*, China)
- v. *Deck glass* (*Sail Brand*, China)
- w. Sarung tangan dan masker (*Sensi Gloves*, Indonesia)

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Persiapan *Ethical Clearance*

Keterangan kelaikan etik penelitian yang diproses agar peneliti dapat melakukan penelitian dengan serangkaian kegiatan pada hewan coba. Keterangan kelaikan etik penelitian ini dikeluarkan oleh Unit Etika dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

#### 3.7.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dilakukan aklimatisasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan untuk proses adaptasi dengan tempat tinggal dan makanan.

#### 3.7.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu:

- a. Kelompok A (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi alat mekanis berupa pemasangan karet separator selama 2 minggu.
- b. Kelompok B (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator selama 3 minggu.
- c. Kelompok C (4 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator dan kafein selama 2 minggu.
- d. Kelompok D (4 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator dan kafein selama 3 minggu.

#### 3.7.4 Persiapan Kafein

Kafein diperoleh dalam bentuk bubuk berwarna putih produksi *Merck Germany*.

#### 3.7.5 Cara Kerja Penelitian

1. Pemasangan Separator Ortodonti

Pemasangan karet separator dilakukan tanpa menggunakan anestesi. Marmut diletakkan pada *rat dental chair* untuk melakukan pemasangan karet separator berwarna biru dengan kekuatan 0,0284 kN. Karet separator diinsersikan dengan menggunakan separator *applier* pada insisivus kiri rahang atas marmut kemudian difiksasi dengan menggunakan *glass ionomer* tipe IX selama 2 minggu untuk kelompok A dan C, dan 3 minggu untuk kelompok B dan D. Kekuatan sebesar 0,0284 kN (Putri, 2013; Sartika, 2013) setara dengan 2840 cN atau 2895 gF, karena  $1\text{cN} = 1,0197\text{ gF}$  (Ren *et al.*, 2004).



Gambar 3.1 Pemasangan karet separator ortodonti pada gigi insisivus kiri marmut.

## 2. Pemberian Kafein

Kafein yang akan diberikan pada hewan coba terlebih dahulu dikonversikan dari konsumsi kopi dan kafein pada manusia. Secara normal dan tanpa menimbulkan resiko bagi kesehatan, manusia dapat mengkonsumsi 2-4 kali penyajian kopi dalam satu hari. Dalam setiap penyajian mengandung 100

mg kafein. Hal ini menunjukkan bahwa konsumsi aman kafein bagi manusia adalah sekitar 200-400 mg/hari (Puslit Koka, 2010). Menurut Yi *et al.*, (2012) konsumsi kafein yang aman bagi manusia adalah 300 mg/hari. Pemberian kafein pada hewan coba marmut dapat dilakukan peroral dengan menggunakan sonde dengan volume larutan maksimal 6 mL (Laurence Bacharach, 1981).

### 3. Konversi Perhitungan Dosis Kafein

Penentuan dosis kafein dalam penelitian ini berdasarkan hasil konversi dosis maksimal yang digunakan oleh manusia ke marmut mengikuti tabel konversi perhitungan dosis antar jenis hewan menurut cara Laurence dan Bacharach (1981). Angka konversi dosis dari manusia 70 kg ke 400 gram marmut = 0,031. Sajian satu cangkir kopi yang biasanya dikonsumsi manusia dengan mencampur 10 gram bubuk kopi ke dalam 150 mL air dan menghasilkan 0,2621 gram kafein (Puslit Koka, 2010). Dosis pemberian kafein pada marmut perhari adalah angka konversi marmut dikalikan dengan hasil isolat kafein dalam satu cangkir kopi, yaitu  $0,031 \times 0,2621 \text{ gram} = 0,0081251 \text{ gram}$  setara dengan 8 mg, sehingga kafein yang akan diberikan pada marmut adalah 8 mg/400 gr BB. Pemberian kafein kepada hewan coba marmut dilakukan dengan melarutkan kafein ke dalam aquadest sebanyak 3 mL. Kemudian larutan kafein disondasekan ke marmut tanpa dilakukan pembiusan.

### 4. Pengambilan Jaringan Penelitian

Hewan coba dari semua kelompok dieuthanasia pada akhir minggu ke 2 untuk kelompok A dan C, dan pada akhir minggu ke 3 untuk kelompok B dan D dengan cara dibius dengan menggunakan ketamin dengan dosis 45 mg/kgBB marmut (Mannes, 2005). Pengambilan jaringan dilakukan dengan menggunakan *knable* tang dan *scalpel* pada bagian anterior rahang atas.

Jaringan yang diambil untuk penelitian harus segar artinya, jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan coba dieuthanasia (Muntiha, 2001).

#### 5. Pembuatan Preparat Jaringan

- a. Perendaman Jaringan dengan Larutan Buffered Neutral Formalin (BNF) 10%

Jaringan yang sudah terambil, dilakukan fiksasi dengan menggunakan larutan BNF 10% untuk mengawetkan jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel dan mempertahankan morfologi sel seperti semula. Bahan pengawet yang digunakan adalah larutan formalin 10% (Muntiha, 2001). Fiksasi jaringan dilakukan selama minimal 24 jam (Santoso, 2006).

- b. Perendaman dalam Larutan Dekalsifikasi

Setelah jaringan direndam dalam larutan BNF 10%, selanjutnya dilakukan proses dekalsifikasi dengan tujuan untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, dan memudahkan proses pemotongan. Dekalsifikasi hanya bisa dilakukan apabila jaringan difiksasi dengan sempurna. Waktu perendaman selama 4 minggu dan larutan dekalsifikasi diganti apabila larutan dekalsifikasi sudah mulai mengeruh (Santoso, 2006). Setelah proses dekalsifikasi selesai ditandai bahwa jaringan sudah lunak dan siap untuk proses selanjutnya yaitu proses pembuatan preparat, Jaringan dibersihkan pada air mengalir selama 1,5 jam dengan tujuan untuk menghilangkan larutan dekalsifikasi yang tersisa. Dekalsifikasi menggunakan EDTA 14% (Muntiha, 2001).

c. Proses Pembuatan Preparat Histologi

Setelah proses dekalsifikasi dilakukan, maka dilakukan pemrosesan jaringan yang berfungsi untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut :

1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan alkohol konsentrasi rendah ke tinggi/bertingkat (Syafriadi, 2008). Tahapan dehidrasi dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan alkohol 70% selama 2 jam, alkohol 80% selama 2 jam, alkohol 95% selama 2 jam, selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam 3 wadah berisi alkohol 96% masing-masing selama 2 jam (Anondo, 2015).

2) *Clearing*

*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan *clearing* yaitu *xylol* (Syafriadi, 2008). Tahapan *clearing* dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam *xylol* yang berisi dalam 3 wadah masing masing selama 1 jam, 1 jam dan 2 jam (Anondo, 2015).

3) Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan (Syafriadi, 2008). Caranya yaitu jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu *paraffin solid* 60°C selama 2 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali (Anondo, 2015).

4) *Embedding*

*Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*. Tahapan *embedding* dilakukan dengan cara

menyiapkan *base mould* dan kaset pada suhu 60°C, tekan kran *paraffin* dispenser pada *base mould* sampai volumenya cukup, masukkan spesimen jaringan ke dasar *base mould* dengan menggunakan pinset, letakkan kaset diatas *base mould* yang sudah terisi spesimen jaringan, letakkan *base mould* yang sudah terisi pada *cold plate*, tunggu 2-4 menit dan *base mould* akan berbunyi “klik” kemudian letakkan kaset dengan *base mould* dan blok *paraffin* siap untuk dilakukan penyayatan (Anondo, 2015).

#### 5) Penyayatan

Blok *paraffin* yang sudah mengandung spesimen jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 µm. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam *waterbath* bersuhu 46°C, pada kesempatan ini, bentuk irisan dirapikan kemudian diletakkan di atas objek *glass* yang telah diolesi *meyer egg albumin*. Objek *glass* disusun di dalam rak dan dimasukkan pada inkubator bersuhu 60°C sampai siap untuk diwarnai (Anondo, 2015).

#### 6) Pengecatan *Haematoksin Eosin (HE)*

Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak dan dicelupkan ke dalam 2 wadah berisi *xylol* masing-masing selama 3 menit untuk menghilangkan *paraffin* dari jaringan (deparafinasi), kemudian preparat dimasukkan dalam alkohol *absolute* masing-masing selama 3 menit sebanyak 2 kali berturut-turut, alkohol 90% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, bilas dengan air mengalir selama 1 menit, selanjutnya dimasukkan kedalam larutan *Haematoksin* selama 6-7 menit, bilas dengan air mengalir 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan *Eosin* selama 1-5 menit, bilas dengan air mengalir 1 menit kemudian masukkan preparat ke dalam alkohol 80% sebanyak 10 celupan, alkohol 90% sebanyak 10 celupan, alkohol *absolute* 10

celupan dan alkohol *absolute* selama 1 menit, selanjutnya preparat jaringan dimasukkan ke dalam 3 wadah berisi *xylol* masing-masing selama 3 menit. Preparat diangkat satu persatu dari *xylol* dalam keadaan basah kemudian diberi satu tetes entellan (*Canada balsam*). Dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup/*deck glass* (Anondo, 2015).

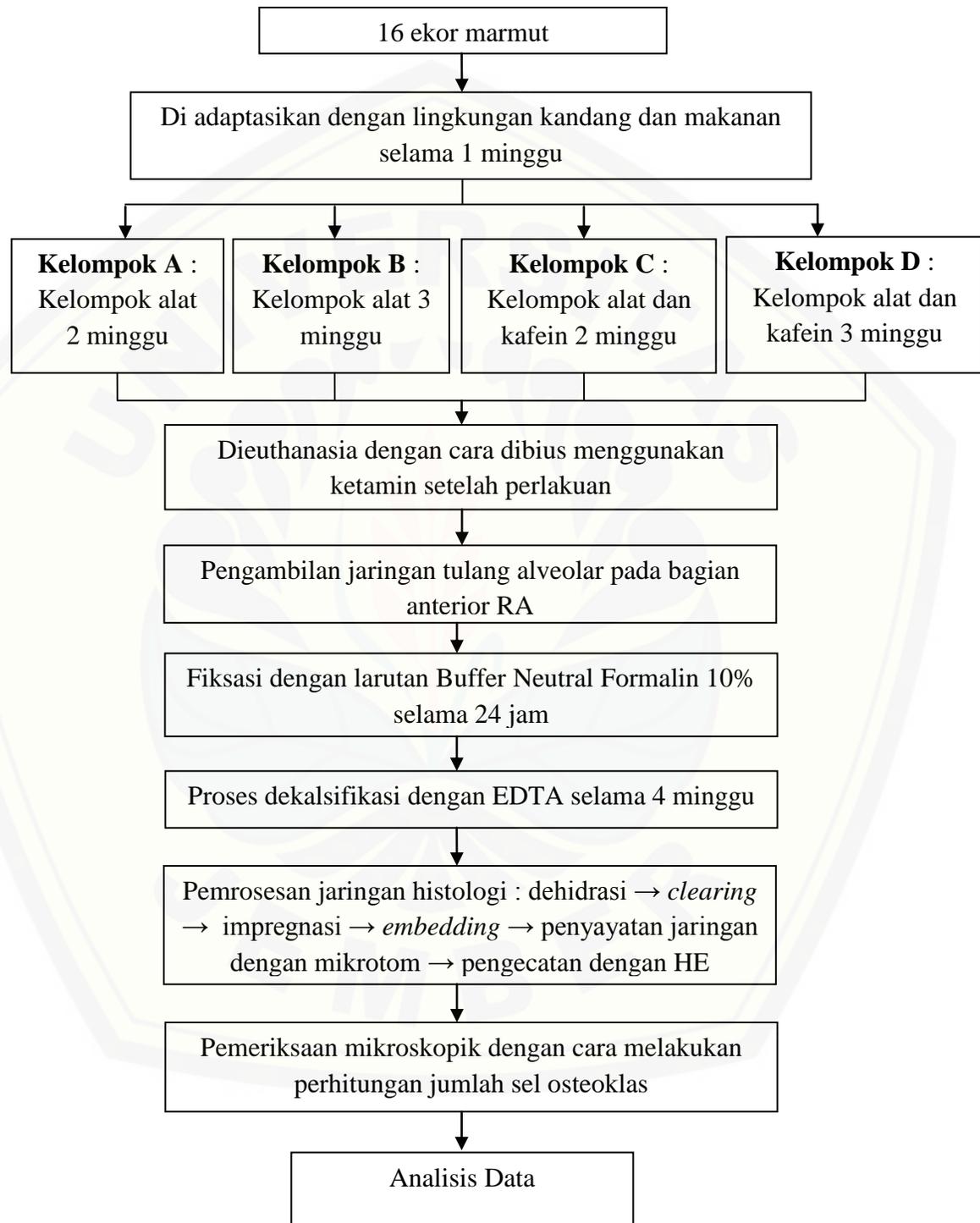
#### 6. Pengamatan

Pengamatan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x, 100x untuk menentukan daerah penghitungan dan 400x untuk penghitungan sel osteoklas. Satu *slide* preparat terdiri atas 3-5 sayatan/ulangan. Dari 3-5 sayatan/ulangan pada *slide* preparat, dipilih 1 sayatan yang paling baik dan terlihat gambaran tulang alveolar pada daerah tekanan. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar oleh 2 orang pengamat pada 3 lapangan pandang, yaitu sepertiga atas tulang alveolar, sepertiga tengah dan sepertiga bawah tulang alveolar. Hasil penghitungan dari 2 orang pengamat kemudian dirata-rata.

### 3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian berupa gambar histologi gigi dan jaringan periodontalnya yang dianalisis secara deskriptif dan tabel yang berisi jumlah sel osteoklas.

### 3.9 Alur Penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa kafein dapat meningkatkan jumlah sel osteoklas pada tulang alveolar gigi marmut sisi tekanan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

### 5.2 Saran

Ada beberapa hal yang perlu dikembangkan dari penelitian ini, antara lain :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis kafein yang lebih bervariasi agar dapat mengetahui potensi kafein dalam mempengaruhi proses pergerakan gigi, mempercepat waktu perawatan ortodonti dan siap diaplikasikan pada penggunaan klinis.
2. Perlu adanya ketelitian yang tinggi dalam proses pembuatan preparat sampel dan prosedur yang baik pada waktu pemrosesan dan pemotongan jaringan sehingga semua komponen yang akan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik dapat terlihat dengan jelas.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adilah, *et al.* 2010. Proses Fisiologi Pergerakan Gigi Ortodonti. *Orthodontic Dental Journal*, 1 (1): 8-13.
- Arnett, T. 2003. *Bone Structure and Bone Remodelling*. London: University College London.
- Bohl, *et al.* 2003. Changes in the Periodontal Ligament After Experimental tooth Movement Using High and Low Continuous Forces in Beagle Dogs. *The Angle Orthodontist*, 74 (1): 16-25.
- Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi diFiore*. Jakarta : EGC.
- Foster, T.D. 2000. *Buku Ajar Ortodonsi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Guyton and Hall. 2012. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Alih Bahasa: dr. Irawati Setiawan, *et al.* Jakarta : EGC.
- Hill, P.A. 1998. Bone Remodelling. *British Journal of Orthodontics*, 25 (1): 101-107.
- Indah, T.P. 2011. *Hubungan Mengonsumsi Kopi dengan Kadar Kalsium pada Urin*. Skripsi. Semarang: Universitas Muhammadiyah.
- Kawiyana, I.K.S. 2009. Osteoporosis: Patogenesis Diagnosis dan Penanganan Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam*, 10 (2): 157-170.
- Laurence, D.R. dan Bacharach, A.L. 1981. "Evaluation of Drug Activities": Pharmacometrics.
- Liu, Shing-Hwa., *et al.* 2011. Caffeine Enhances Osteoclast Differentiation from Bone Marrow Hematopoietic Cells and Reduces Bone Mineral Density in Growing Rats. *Orthopaedic Research Society*. Published by Wiley Periodicals, Inc.

- Meikle, M. C. 2006. The Tissue, Cellular, and Molecular Regulation of Orthodontic Tooth Movement: 100 Years After Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics*, 28: 221-240. London: Oxford University Press.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*.
- Narmada, I. B., dan Syafei, A. 2008. The Role of Mechanical Force in Molecular and Cellular During Orthodontic Tooth Movement. *Indonesian Journal of Dentistry*, 15 (3): 226-231.
- Nawrot, P., et al. 2003. Effects of Caffeine on Human Health. *Food Additives and Contaminants*, 20 (1): 1-30.
- Newman dan Michael G. 2002. *Carranza's Clinical of Periodontology*. 9<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. (Edisi Revisi). Jakarta: PT. Rineka Pustaka.
- Proffit, R.W, et al. 2007. *Contemporary Orthodontics Fourth Edition*. Missouri: Mosby, Inc.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2010. *Press Conference ASIC (Assocoiation for Science and Information on Coffee) Coffee and Health*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Putri, A. 2013. Effect of Aloevera Extracts on Osteoblasts Counts Around Alveolar Bone During Orthodontics Tooth Movement in Cavia Cobaya. *Dental Journal*, 4 (1): 21-26.
- Rahadian, D. 2009. *Sifat-Sifat Kopi*. Surakarta: Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Sebelas Maret.
- Ralston, H. 2002. Bone Anatomy and Cell Biology. *Department of Medicine and Therapeutics*, 75 (4): 13-18.
- Rapuri, PB., et al. 2007. Caffeine Decrease Vitamin D Receptor Protein expression and 1,25 (OH)2D3 Stimulated Alkaline Phosphatase Activity in Human

- Osteoblast Cell. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 103: 386-371.
- Ren, Y., *et al.* 2004. The Rat As A Model for Orthodontic Tooth Movement-A Critical Review and A Proposed Solution. *European Journal of Orthodontic*, 26 (5): 483-490.
- Santoso, H. B. 2006. Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisialis Tibia Fetus Mencit (Mus musculus L.) dari Induk dengan Perlakuan Kafein. *Bek. Penel. Hayati*, 12: 69-74.
- Sartika, N. 2013. Effect of Propolis Extracts in Osteoblasts Expression Around Alveolar Bone During Orthodontics Tooth Movement in Cavia Cobaya. *Dental Journal*, 4 (1): 5-9.
- Septriani, R.S. 2013. *Hubungan Asupan Protein dan Kafein Dengan Kepadatan Tulang pada Wanita Dewasa Muda*. Skripsi. Semarang: Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Steel, R.G.D., dan Torrie, J. H. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Syafriadi, M. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Taddei, *et al.* 2012. Experimental Model of Tooth Movement: A Standardized Protocol for Studying bone Remodeling Under Compression and Tensile Strains. *Journal of Biomechanics, Oxford*, 45 (16): 2729-2735.
- Violita, R.E. 2011. Kopi. *Artikel Ilmu Bahan Makanan Bahan Penyegar*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Widyotomo, *et al.* 2007. Kafein: Senyawa Penting Pada Biji Kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*, 23 (1): 45-51.
- Wise, G.E., dan King, G.J. 2008. Mechanism of Tooth Eruption and Orthodontic Tooth Movement. *J Dent*, 87 (5): 414-434.
- Yi, Jianru., *et al.* 2012. Drinking Coffee May Accelerates Orthodontic Tooth Movements Trough Enhancing Osteoclastogenesis. *International Association for Dental Research*, 3 (2): 72-76.

LAMPIRAN

Lampiran A. Data Perhitungan Sel Osteoklas (Daerah Tekanan)

No Preparat	Pengamat 1	Pengamat 2	Rata- Rata
A2.1	-	-	-
A2.2	-	-	-
A2.3	-	-	-
A2. 4	-	-	-
A3.1	4	5	4.5
A3.2	-	-	-
A3.3	-	-	-
A3.4	-	-	-
AK2.1	4	6	5
AK2.2	8	10	9
AK2.3	-	-	-
AK2.4	-	-	-
AK3.1	8	8	8
AK3.2	-	-	-
AK3.3	-	-	-
AK3.4	-	-	-

Lampiran B. *Ethical Clearance*

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN**  
**("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 00137/KKEP/FGK-UGM/EC/2015

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOKLAS PADA LIGAMEN PERIODONTAL GIGI MARMUT YANG DI INDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

Peneliti Utama : Rhanifda Amvitasari

Penanggung Jawab Medis : drg. Hj. Herniyati, M.Kes.

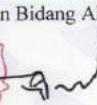
Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : 1. Laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember  
 2. Laboratorium Histologi FKG Universitas Jember  
 3. Laboratorium Organik Fakultas MIPA Universitas Jember

Waktu Penelitian : Februari 2015 – Selesai

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 10 Februari 2015

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan  
  
 drg. Diatri Nari Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM  
  
 drg. Suryono, S.H, Ph.D.

**Lampiran C. Foto Alat dan Bahan Penelitian**

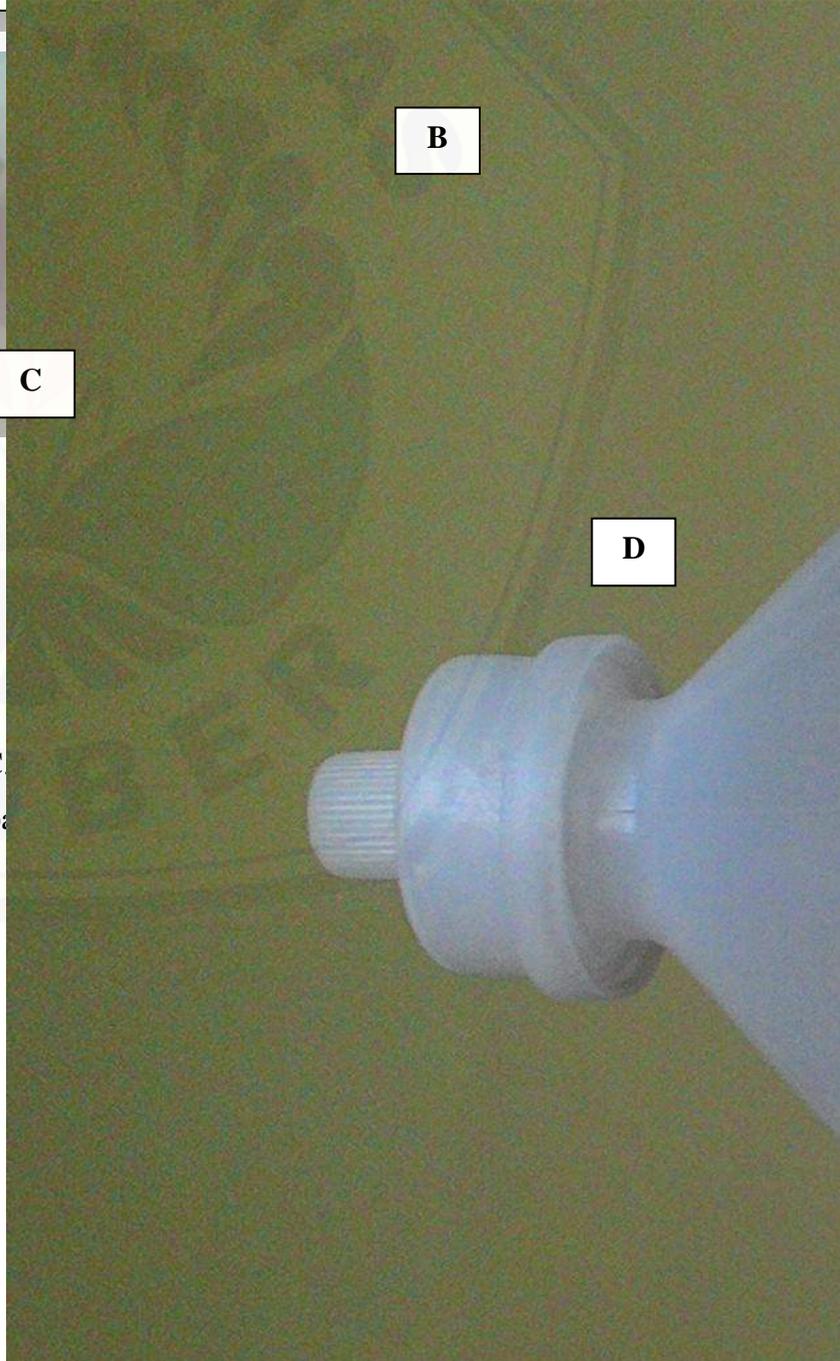
## C.1 Foto Alat Penelitian



Keterangan :

A. Karet separator ortodonti dan alat kedokteran gigi, B. Neraca untuk menimbang kafein, C. Separator *applier* untuk memasang karet separator pada gigi marmut, D. *Slide* mikroskop dan rak penyimpanan, E. Mikroskop cahaya untuk pengamatan mikroskopik preparat.

C.2 Foto Bahan Penelitian



Keterangan :

A. Kafein bubuk, B. Aquades steril, C

D. Kandang hewan coba dengan tempa

**Lampiran D. Foto Kegiatan Penelitian**

Keterangan :

A. Gigi insisivus marmut sebelum dipasang karet separator, B. Gigi insisivus marmut setelah dipasang karet separator ortodonti, C dan D. Pemberian kafein pada hewan coba marmut.