



**EVALUASI TUMBUH KEMBANG BENIH GIGI ANAK TIKUS YANG
DILAHIRKAN DARI INDUK HIPERGLIKEMIA DITERAPI DAN TIDAK
DITERAPI**

SKRIPSI

Oleh :

**Salsabila Qotrunnada
161610101031**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2020



**EVALUASI TUMBUH KEMBANG BENIH GIGI ANAK TIKUS YANG
DILAHIRKAN DARI INDUK HIPERGLIKEMIA DITERAPI DAN TIDAK
DITERAPI**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh :

**Salsabila Qotrunnada
161610101031**

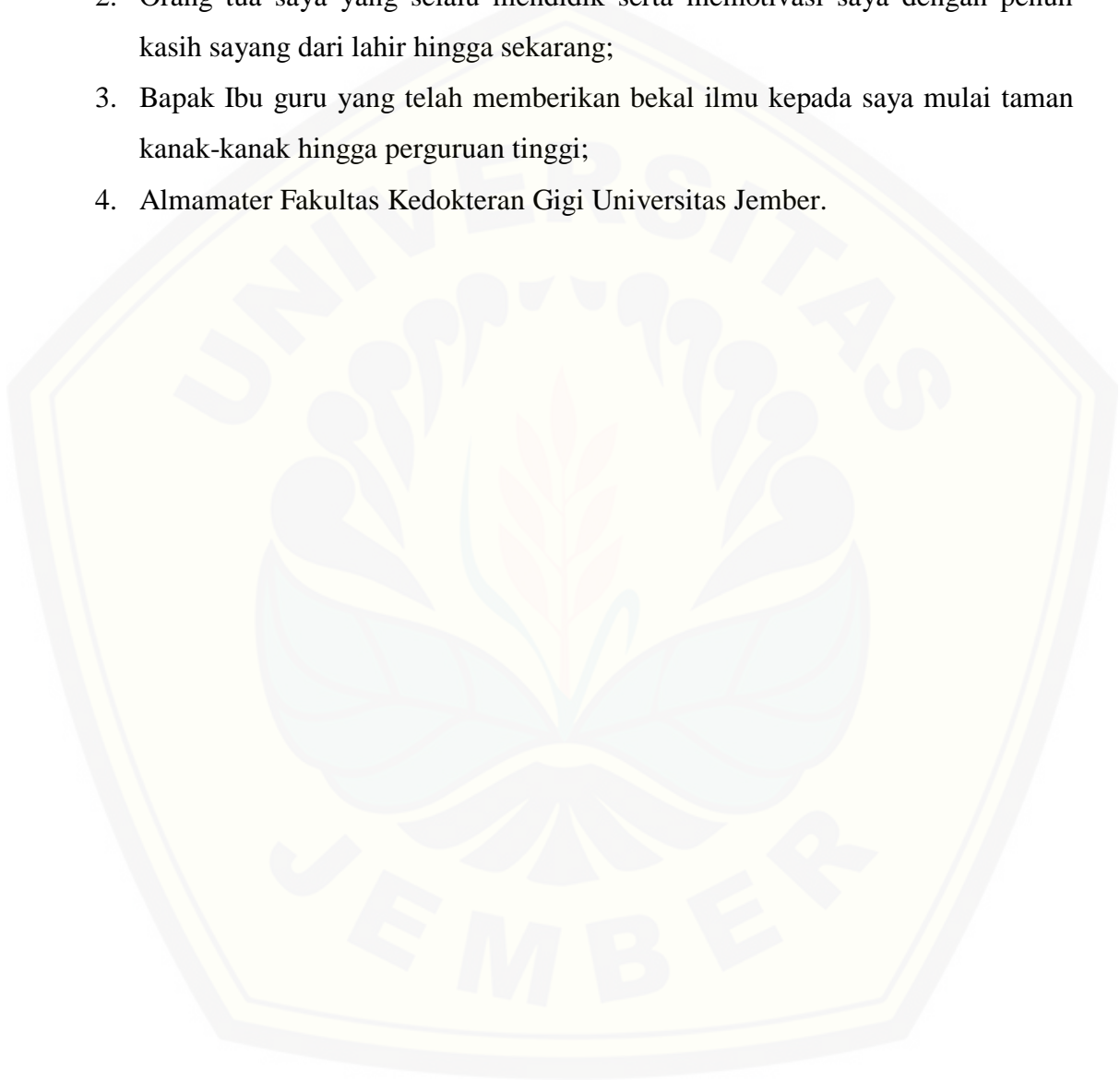
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Tuhan Yang Maha Esa, Allah SWT;
2. Orang tua saya yang selalu mendidik serta memotivasi saya dengan penuh kasih sayang dari lahir hingga sekarang;
3. Bapak Ibu guru yang telah memberikan bekal ilmu kepada saya mulai taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

“Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: "Berlapang-lapanglah dalam majlis", maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: "Berdirilah kamu", maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan.

(terjemahan QS. Al-Mujadalah 58:11*)



*) Departemen Agama republik Indonesia. 2010. *Al Qur'an Terjemahan dan Tafsir Per Kata*. Bandung. Penerbit JABAL

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Salsabila Qotrunnada

NIM : 161610101031

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Evaluasi Tumbuh Kembang Benih Gigi Anak Tikus yang Dilahirkan dari Induk Hiperglikemia Diterapi dan Tidak Diterapi” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi 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, 3 Maret 2020

Yang Menyatakan,

Salsabila Qotrunnada

NIM 161610101031

SKRIPSI

**EVALUASI TUMBUH KEMBANG BENIH GIGI ANAK TIKUS YANG
DILAHIRKAN DARI INDUK HIPERGLIKEMIA DITERAPI DAN TIDAK
DITERAPI**

Oleh

Salsabila Qotrunnada

NIM 161610101031

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. drg. Mei Syafriadi, M.D.Sc.,Ph.D.,Sp.PMM (K)

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Leni Rokhma Dewi, Sp. PM

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Evaluasi Tumbuh Kembang Benih Gigi Anak Tikus yang Dilahirkan dari Induk Hiperglikemia Diterapi dan Tidak Diterapi” karya Salsabila Qotrunnada telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Selasa, 3 Maret 2020

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama,

Penguji Anggota,

drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed

NIP. 198006032006042002

Dr.drg. Erna Sulistyani, M.Kes

NIP.196711081996012001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Prof. drg. Mei Syafriadi, M.D.Sc., Ph.D.,Sp.PMM(K)

NIP. 196805291994031003

drg. Leni Rokhma Dewi, Sp.PM

NIP. 760009241

Mengesahkan, Dekan

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

NIP. 19690112199601100

RINGKASAN

EVALUASI TUMBUH KEMBANG BENIH GIGI ANAK TIKUS YANG DILAHIRKAN DARI INDUK HIPERGLIKEMIA DITERAPI DAN TIDAK DITERAPI; Salsabila Qotrunnada, 161610101031; 2020:62 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Hiperglikemia (kadar glukosa darah tinggi) jika terdeteksi selama kehamilan maka diklasifikasikan sebagai Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) atau hiperglikemia dalam kehamilan. Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) merupakan intoleransi glukosa yang terjadi pada masa kehamilan. DMG dikaitkan dengan stress Retikulum Endoplasma (RE) Plasenta yang berkaitan dengan transportasi nutrisi. Gangguan pada fungsi plasenta dapat mengakibatkan bayi lahir dengan berat badan yang rendah. Penghambatan pensinyalan (*mammalian Target of Rapamycin*) mTOR terhadap (*Insuline like growth factor-1*) IGF-1 dapat menyebabkan keterlambatan pertumbuhan pada fase inisiasi, fase proliferasi, fase histodeferensiasi, fase morfodirensiasi, fase aposisi kalsifikasi maupun pada fase erupsi. Terapi diabetes biasanya ditangani dengan pemberian medikamentosa seperti metformin, yang aman digunakan pada kehamilan, bekerja dengan cara menghambat proses glukoneogenesis, tetapi memiliki efek samping pada gastrointestinal seperti mual dan muntah. Peneliti mencoba menggunakan *Thymoquinone* yang merupakan bahan bioaktif dari biji jintan hitam yang dapat digunakan sebagai obat antidiabetik yang memiliki sifat antioksidan sehingga dapat melindungi sel β pankreas dari stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tumbuh kembang benih gigi anak tikus postnatal yang dilahirkan dari induk hiperglikemia diterapi dan tidak diterapi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris menggunakan anak tikus postnatal yang berasal dari model induk tikus hiperglikemia yang bunting (*Rattus Norvegicus L.*). Sejumlah 48 ekor yang diambil secara *simple random sampling*, 1 ekor anak tikus tiap 1 induk tikus. Kriteria induk tikus berjenis kelamin betina, kondisi bunting perkiraan 10 hari, berperilaku normal dan kondisi baik. Kelompok penelitian terdiri dari empat kelompok, antara lain : kelompok sehat merupakan anak tikus dari induk KGD normal; kelompok kontrol negatif merupakan anak tikus dari induk dengan KGD ≥ 120 mg/dl dan tidak diterapi, kelompok kontrol

positif merupakan anak dari induk hiperglikemia dan diterapi metformin 100mg/KgBB intragastrik 2x1/ hari pagi dan sore, kelompok perlakuan yaitu anak dari induk hiperglikemia yang diterapi dengan *Thymoquinone* 80mg/KgBB intragastrik 1x1/hari pada pagi hari, pemberian terapi dilakukan sejak dinyatakan positif hiperglikemia hingga hari ke-14 postnatal. Keempat kelompok dibagi menjadi 3 sub kelompok berdasarkan hari pengamatan sampel anak tikus, yaitu hari ke-1, ke-7, dan ke-14 postnatal. Kondisi hiperglikemia diperoleh dengan cara menginjeksi STZ 40mg/KgBB intraperitoneal secara *single dose*. Data yang diamati berupa kadar gula darah induk, tumbuh kembang gigi molar 1 (M1) rahang atas kanan, serta erupsi gigi yang dihitung melalui, jarak cusp (permukaan *Outer Enamel Epithelium*) ke epithelial prosesus alveolaris gigi M1 rahang atas kanan. Dilakukan pewarnaan *Hematoxillin Eosin* dan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya 40x (satu lapang pandang gigi M1).

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata KGD pada hari ke-14 kelompok hiperglikemia tanpa terapi dan hiperglikemia dengan terapi metformin masih menunjukkan kategori hiperglikemia, sedangkan kelompok sehat dan kelompok yang diterapi *Thymoquinone* dalam kategori normal. Berdasarkan gambaran histologis terdapat keterlambatan tumbuh kembang pada beberapa sampel kelompok hiperglikemia, dan berdasarkan pengamatan fase erupsi menggunakan pengukuran jarak cusp ke epithelial prosesus alveolaris gigi M1, rata-rata kelompok hiperglikemia memiliki jarak terbesar dibandingkan dengan kelompok lainnya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, terjadi keterlambatan perkembangan dan pertumbuhan benih gigi anak tikus postnatal pada kelompok hiperglikemia yang tidak diterapi. Sedangkan pada kelompok dengan terapi metformin dan terapi *Thymoquinone* keterlambatan tumbuh kembang gigi dapat diperbaiki.

PRAKATA

Assalamu'alaikum wa rahmatullahi wa barakatuh

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat, berkah, dan hidayah-Nya skripsi yang berjudul “Evaluasi Tumbuh Kembang Gigi Anak Tikus yang Dilahirkan dari Induk Hiperglikemia Diterapi dan Tidak Diterapi” dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam juga penulis kirimkan kepada nabi Muhammad SAW., beserta para sahabat, dan keluarga beliau yang telah memberikan tauladan untuk menjalani kehidupan di duni maupun di akhirat.

Penyusunan skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dan kemurahan hati dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan banyak-banyak terimakasih kepada:

1. Prof. drg. Mei Syafriadi, M.D.Sc., Ph.D., Sp.PMM (K), selaku dosen pembimbing utama dan drg. Leni Rokhma Dewi, Sp.PM selaku dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing, meluangkan waktu, mencurahkan pikiran dan tenaga demi terselesaikannya skripsi ini.
2. drg. Amandia Dewi Permana S.,M.Biomed, selaku dosen penguji ketua dan Dr.drg. Erna Sulistyani, M.Kes selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan masukan serta saran yang sangat membangun demi kesempurnaan dari skripsi ini
3. drg. Dyah Indartin Setyorini, M.Kes, selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan serta dukungan selama menjadi mahasiswa
4. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes Sp.Pros, selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember beserta jajarannya
5. Semua dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan ilmunya
6. Kepada orang tua saya, ibu Siti Eko Sulistyowati dan ayah Heru Wahyudi yang telah mendidik saya dari kecil dan selalu memberikan doa serta dukungan. Serta adik saya Savira yang selalu memberikan dorongan serta doa.
7. Staf Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; Bapak Agusmurdjohadi, Ibu Nur, Ibu Sri Wahyuni, dan Bapak Bagus
8. Staf kemahasiswaan dan Akademik Fakultas Kedokteran Gigi Univeristas Jember

9. Dina Zakiyatul Ummah, Jevina Secilia, dan Safira Zahra yang sama-sama berjuang, saling memotivasi, memberikan dukungan, dan menghabiskan waktu bersama selama satu rahun terakhir guna menyelesaikan tugas akhir sebagai mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi di Universitas Jember.
10. Teman-teman Atha Ramadhona, Elfrida Maya, Karelina Amarta, Nada Ocarina, dan Anindita Permata yang telah bersama-sama saling memotivasi, membantu, dan mendoakan
11. Sahabat Shiwi Linggarjati, Dinda Nur Aisyah, dan Rizki Ratna yang selalu memotivasi dan turut mendoakan saya
12. Kakak tingkat Mas Nadhir dan Mba Nosya yang merupakan peneliti sebelumnya yang turut serta membantu, serta memotivasi
13. Teman-teman Tutorial D selaku teman seperjuangan yang saling bertukar pendapat, memotivasi, mendukung, dan mendoakan kesuksesan masing-masing.
14. Teman-teman seperjuangan DEXTRA Angkatan 2016
Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak guna kesempurnaan isi skripsi ini. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat dikemudian hari.

Jember, 3 Maret 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAM PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN BIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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	5
2.1 Diabetes Mellitus	5
2.1.1 Klasifikasi Diabetes Melitus	5
2.1.2 Patofisiologi Diabetes Melitus	6
2.2 Diabetes Mellitus Gestasional	8
2.2.1 Patofisiologi Diabetes Melitus Gestasional	9
2.3 Pertumbuhan dan Perkembangan Gigi	12
2.4 Gangguan Pertumbuhan dan Perkembangan gigi	16
2.4.1 Efek Diabetes Mellitus pada Gigi	16
2.5 Metformin	17
2.6 Ekstrak Jintan Hitam	18
2.7 Tikus Putih	19

2.7.1	Tikus Galur Wistar	19
2.7.2	Tumbuh Kembang Gigi Anak Tikus	20
2.8	Kerangka Konseptual	23
2.9	Penjelasan Kerangka Konseptual	24
2.10	Hipotesis	25
BAB 3. METODE PENELITIAN		26
3.1	Jenis Penelitian	26
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2.1	Waktu penelitian	26
3.2.2	Tempat Penelitian	26
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	26
3.3.1	Populasi Penelitian	26
3.3.2	Sampel Penelitian	26
3.3.3	Kriteria Sampel Penelitian	29
3.4	Identifikasi Variabel Penelitian	29
3.4.1	Variabel Bebas	29
3.4.2	Variabel Terikat	29
3.4.3	Variabel Terkendali	30
3.5	Definisi Operasional	31
3.5.1	Tikus Hiperglikemia	31
3.5.2	Tikus Bunting	31
3.5.3	<i>Thymoquinone</i>	31
3.5.4	Metformin	31
3.5.5	Fase Pertumbuhan dan Perkemabangan Benih Gigi M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus	31
3.5.6	Fase Erupsi Gigi M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus.	31
3.5.7	Pengamatan Perhitungan Jarak Erupsi Cusp Benih Gigi ke Epithelial Prosesus Alveolaris M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal H+1, H+7, dan H+14	31
3.6	Alat dan Bahan Penelitian	32
3.7	Prosedur Penelitian	34
3.8	Prosedur Pengukuran Berat Badan Tikus	38
3.9	Prosedur Pengamatan Fase Pertumbuhan dan Perkembangan Benih Gigi M1 Rahang Atas	38

3.10 Prosedur Penghitungan Jarak Erupsi Cusp Benih Gigi ke Epithelial Prosesus Alveolaris M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal H+1, H+7, dan H+14	38
3.11 Analisis Data	38
3.12 Alur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil	40
4.1.1 Kadar Glukosa darah Induk Tikus	40
4.1.2 rata-Rata Berat Badan Anak Tikus	41
4.1.3 Fase Pertumbuhan dan Perkembangan Benih Gigi Molar 1 Rahang Rahang Atas Kanan Postnatal Anak Tikus	42
4.1.4 Pengukuran Jarak Cusp Benih Gigi ke Ephetelial Prosesus Alveolaris	45
4.2 Pembahasan	47
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
Daftar Pustaka	55
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Data Fase Pembentukan Gigi anak tikus (Rat) Molar	
1 Maksila	20
Tabel 2.2 Data Fase Pembentukan Gigi anak tikus mencit Molar	
1 Mandibula	21
Tabel 3.1 Pengelompokan Subyek	28
Tabel 4.1 Rerata Kadar Glukosa Darah	40
Tabel 4.2 Uji Statistik Kruskal Wallis Rerata Kadar Gula Darah	40
Tabel 4.3 Rerata Berat Badan Anak Tikus Postnatal	41
Tabel 4.4 Uji Statistik Rerata Berat Badan Anak Tikus Postnatal	42
Tabel 4.5 Fase Pertumbuhan dan perkembangan Benih Gigi M1 Anak Tikus Postnatal	43
Tabel 4.6 Pembentukan Predentin/Preenamel, HERS, Bifurkasi, dan Akar ..	45
Tabel 4.7 Hasil Pengukuran Rerata Jarak Cusp benih Gigi M1	46
Tabel 4.8 Hasil Uji Beda Jarak Cusp benih Gigi M1	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pensinyalan Insulin	11
Gambar 2.2 Gambaran Histologi Perkembangan Gigi	13
Gambar 2.3 Pertumbuhan dan Perkembangan Gigi	15
Gambar 2.4 Gambaran Histologi Benih Gigi M1 Anak Tikus	17
Gambar 2.5 Biji Jintan Hitam	18
Gambar 2.6 Tikus Galur Wistar	19
Gambar 2.7 Gambaran HPA Fase pertumbuhan Gigi	22
Gambar 2.8 Gambar Ilustrasi dan Histologi Erupsi Gigi	22
Gambar 2.9 Kerangka Konseptual	23
Gambar 3.1 Gambaran Histologi Fase Pertumbuhan Benih Gigi Molar Anak Tikus Postnatal hari ke- 1 dan 7	32
Gambar 3.2 Alur Penelitian	39
Gambar 4.1 Gambaran Histologis Benih Gigi M1 Rahang Atas Kanan	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN A. <i>Ethical Clearance</i>	63
LAMPIRAN B. Surat Ijin Penelitian	64
LAMPIRAN C. Perhitungan Dosis.....	65
LAMPIRAN D. Alat dan Bahan	66
LAMPIRAN E. Prosedur Penelitian	67
LAMPIRAN F. Perhitungan Kadar Glukosa Darah Induk Tikus Sebelum dan Sesudah Injeksi <i>Streptozotocin</i> (STZ)	74
LAMPIRAN G. Perhitungan Berat Badan Anak Tikus	75
LAMPIRAN H. Perhitungan Pengukuran Jarak Cusp Gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan Ke Ephetelial Processus Alveolaris	80
LAMPIRAN I. Gambaran Histologis Benih Gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus	
LAMPIRAN J. Analisis Data	81

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperglikemia (kadar glukosa darah tinggi) jika terdeteksi selama kehamilan maka dikalsifikasikan sebagai Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) atau hiperglikemia dalam kehamilan. DMG dapat terjadi pada ibu dengan usia muda, dimana jika dibiarkan maka anak dan ibunya akan mengarah pada Diabetes mellitus (DM) tipe 2 dimasa mendatang. DMG dapat mengakibatkan gangguan tumbuh kembang pada janin yang dikandungnya, salah satunya adalah gangguan tumbuh kembang gigi. Saat ini penelitian mengenai gangguan tumbuh kembang gigi anak yang dilahirkan dari ibu diabetes mellitus geastasional masih belum jelas.

Pravelensi hiperglikemia pada kehamilan meningkat seiring bertambahnya usia dan paling tinggi terjadi pada wanita diatas usia 45 tahun (45,4%), dan sebanyak 10,4 juta penderita terjadi pada wanita hamil yang berumur 30 tahun. Sedangkan DMG yang berakibat pada anak yang dilahirkan yaitu sebanyak 21,3 juta (*International Federation Diabetes,2017*). Ibu yang menderita DMG dapat mengalami gangguan metabolisme yang dapat menyebabkan malnutrisi energi protein pada janin. Malnutrisi dapat mempengaruhi proses pembentukan gigi karena nutrisi diperlukan dalam fase tumbuh kembang gigi. Nutrisi ini akan berperan dalam maturasi gigi, penentuan komposisi gigi, serta menentukan bentuk dan ukuran gigi. Jika terjadi malnutrisi pada fase pre erupsi dan fase erupsi maka dapat terjadi gangguan seperti keterlambatan tumbuh kembang gigi, penurunan panjang tulang alveolar, serta hipoplasia enamel (Dewi,2014). Pada fase kalsifikasi terjadi pengendapan garam kalsium anorganik, apabila kalsifikasi terganggu maka butir kalsium didalam dentin tidak akan menyatu hal ini yang dapat menyebabkan amelogenesis pada anak. Kalsifikasi email dan dentin sangat sensitif terhadap perubahan metabolik yang kecil pada anak-anak (Indahyani, 2013).

Diabetes Melitus Gestasional (DMG) terjadi ketika sel β pankeas tidak mampu menghasilkan insulin yang cukup untuk mengimbangi resistensi insulin yang terjadi pada wanita hamil. Umumnya pada kehamilan normal terjadi penurunan sensitivitas insulin dan semakin parah seiring bertambahnya usia, hal ini disebabkan oleh efek penghambatan peptide plasenta (protein C-reaktif, laktin, dan laktogen plasenta

manusia). Efek dari peptide dan hormone plasenta ini dapat menyebabkan pembesaran pulau sel langerhans dan atau hyperplasia sel-sel β pancreas yang dapat menghasilkan kompensasi hyperinsulinemia. Obesitas dan resistensi insulin kronis selama kehamilan adalah faktor paling umum yang dapat memperburuk disfungsi sel β pankreas (Ngala *et al*, 2017).

Seperti halnya manusia, gigi tikus mengalami pertumbuhan dan perkembangan melalui interaksi yang berkelanjutan antara *dental epithelium* dan *neural crest*. Perkembangan gigi molar 1 anak tikus dimulai dengan fase proliferasi *dental sheet* yang terjadi pada kehamilan 12,5 hari Intrauterin (Iu), dilanjutkan dengan fase *bud* pada 13,5 – 14,5 hari Iu, fase *cap* mulai terlihat pada 14,5 -16,5 hari Iu, dan fase *early bell* pada hari ke 17,5 hari Iu. Predentin mulai muncul pada 18,5 hari Iu. Kemudian pada hari ke-1 postnatal matriks dentin terbentuk, bentukan yang biasa ditemukan pada tikus yang baru lahir adalah terbentuknya $\frac{1}{2}$ mahkota gigi, dan proses pembentukan dentin masih terus berlanjut (Gaete *et al.*, 2004; Alqahtani,2010). Pada hari ke 7-8 postnatal maturasi enamel mulai terlihat, dentin telah terbentuk secara baik dan mulai terbentuk *Hertwig's Epithelial Root Sheet* (HERS), pada hari ke 13-14 postnatal maturasi enamel hampir selesai, bagian serviks dari enamel masih mengalami maturasi dan pembentukan dentin akar sedang berlangsung, pada hari ke 19 postnatal dengan maturasi enamel yang telah selesai, pembentukan akar gigi mulai terlihat, ujung dari cusp *central* sejajar dengan mukosa oral, sedangkan pada hari ke 42 postnatal diketahui pembentukan akar hampir selesai dan telah erupsi secara sempurna (Prasanth dan Saraswathi, 2012 ; Correa *et al.*, 2007) Penelitian yang dilakukan oleh Alkaff (2018), Terjadi perlambatan tumbuh kembang gigi anak tikus prenatal yang induknya mengalami hiperglikemia, jika dibandingkan dengan anak tikus dari induk yang normal, hal ini ditemukan pada kelompok tikus diabetik yang memiliki kadar gula darah (KGD) sangat tinggi, perkembangan gigi masih berada pada fase *cap* jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain dengan nilai KGD yang rendah. Hal ini disebabkan karena pada KGD yang tinggi terdapat malnutrisi yang parah, dimana nutrisi sangat diperlukan dalam tumbuh kembang gigi.

Penelitian ini menggunakan tikus model hiperglikemia yang bunting, yang terdiri dari 4 kelompok sampel yaitu, kelompok sehat, kelompok hiperglikemia yang tidak diterapi, kelompok hiperglikemia yang diterapi dengan metformin dan kelompok hiperglikemia yang diterapi dengan *Thymoquinone*. Metfomin merupakan antihiperglikemia oral golongan biguanid yang dalam penelitian *in vivo* tidak terbukti

mengganggu fertilitas hewan coba (tikus) baik jantan atau betina dan tidak terbukti teratogenik pada hewan coba (tikus dan kelinci). Metformin terlihat cukup baik mencegah makrosomi fetus pada wanita dengan berat badan normal atau berlebih dan mengalami diabetes gestasional lambat. Metformin memiliki efek samping seperti mual dan perut kembung yang dapat menimbulkan rasa tidak nyaman (*International Diabetes Federation*, 2017 ; Abdushsofi *et al.*, 2016). Pengobatan alternatif menggunakan tanaman obat telah sering dilakukan dan diyakini mampu menyembuhkan berbagai penyakit dengan meminimalisir adanya efek samping, sehingga sangat penting untuk diketahui manfaat beberapa tanaman jika dijadikan obat (Harahap, 2014). Salah satu tanaman yang diyakini oleh masyarakat adalah Jintan hitam (*Nigella sativa Linn*) dikenal sebagai bahan alam berpotensi sebagai anti-diabetik. *Thymoquinone*, merupakan salah satu bioaktif didalamnya yang dapat mengontrol kadar glukosa darah, dengan sifat antioksidan yang dimiliki oleh *thymoquinone* dapat melindungi sel β pancreas dari stress oksidatif dan menjaga integritasnya (Abukhader, 2012).

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang tumbuh kembang benih gigi anak tikus postnatal yang dilahirkan dari induk hiperglikemia diterapi dan tidak diterapi.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana tumbuh kembang benih gigi anak tikus postnatal hari ke-1, ke-7, dan ke-14 yang dilahirkan dari induk normal, induk dengan hiperglikemia, induk hiperglikemia yang diterapi metformin dan induk hiperglikemia yang diterapi *Thymoquinone*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi tumbuh kembang benih gigi anak tikus postnatal yang dilahirkan dari induk normal, induk dengan hiperglikemia, induk hiperglikemia yang diterapi metformin dan induk hiperglikemia yang diterapi *Thymoquinone*.

2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui pengaruh tumbuh kembang benih gigi anak tikus yang dilahirkan dari induk normal, induk dengan hiperglikemia, induk hiperglikemia yang diterapi metformin dan induk hiperglikemia yang diterapi *Thymoquinone*. Berdasarkan pengukuran jarak puncak cusp terhadap epitelial proses alveolaris gigi molar 1 rahang atas kanan anak tikus postnatal pada hari ke -1 , ke-7, dan ke-14

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Mengkaji dan mengetahui tumbuh kembang benih gigi anak tikus postnatal yang dilahirkan dari induk normal, induk hiperglikemia, induk hiperglikemia yang diterapi metformin dan induk diabetes yang diterapi *Thymoquinone*.

2. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa diabetes dapat menyebabkan berbagai gangguan pada janin terutama fase tumbuh kembang, serta agar masyarakat mengetahui bahwa jintan hitam dengan kandungan bioaktif *Thymoquinone* dapat digunakan sebagai terapi alternatif obat anti diabetik dengan efek samping minimal.

3. Bagi Institusi

- a. Menambah referensi penelitian di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- b. Agar dapat dijadikan referensi ilmiah untuk penelitian selanjutnya

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) merupakan kondisi dimana level glukosa dalam darah tinggi karena gangguan pada kinerja hormon insulin, penyebabnya bermacam-macam. Kekurangan insulin menyebabkan tingginya kadar glukosa dalam darah. Hal ini biasanya disertai dengan gangguan metabolisme (karbohidrat, lipid, dan protein), serta dapat menimbulkan komplikasi kronik seperti mikrovaskular, makrovaskular, dan gangguan neuropati sebagai akibat kekurangan insulin (*International Diabetes Federation*, 2017; Almasdy *et al.*, 2015). Pada tahun 2000 diperkirakan prevalensi diabetes adalah 2.8% atau sekitar 171 juta penderita untuk semua usia. Pada tahun 2030 diperkirakan angka ini akan meningkat hingga 4,4% atau sekitar 200-366 juta penderita. Di Indonesia, prevalensi DM adalah mencapai 5.7%, namun hanya 1.5% penderita yang mengetahui dirinya menderita penyakit DM. Sedangkan berdasarkan jenis kelamin, DM lebih banyak dijumpai pada perempuan dibanding laki-laki (Almasdy *et al.*, 2015).

Menurut Kementerian Kesehatan RI pusat data dan Informasi (2019), Kriteria diagnosis DM (Konsensus PERKENI 2015):

1. Pada pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL, tidak ada asupan kalori minimal 8 jam, atau
2. Glukosa plasma ≥ 200 mg/dL 2 jam setelah makan, atau
3. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dL dengan adanya keluhan (poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak diketahui penyebabnya), atau
4. Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh *Glycohaemoglobin Standardization Program* (NGSP) .

2.1.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Diabetes melitus dibagi dalam 4 tipe :

- 1) DM tipe-1, kekurangan insulin secara absolut yang disebabkan oleh karena kerusakan sel beta pankreas. Faktor predisposisi terjadinya DM tipe 1 adalah faktor genetik, faktor epigenetik, faktor lingkungan, dan faktor imunologi (Kerner dan Bruckle, 2014)

- 2) DM tipe-2, disebabkan karena terjadi resistensi insulin. Hal ini dapat mengganggu penyerapan glukosa di jaringan perifer dan mengakibatkan produksi glukosa yang berlebihan sehingga, glukosa dalam darah meningkat. Resistensi insulin bisa diakibatkan oleh obesitas dan kurangnya aktivitas fisik. Pada DM tipe 2 dapat juga terjadi produksi glukosa hepatik yang berlebihan tetapi tidak terjadi pengrusakan sel beta langerhans. Defisiensi insulin pada DM tipe 2 tidak bersifat absolut (Tjandrawinata, 2016 ; Fatimah, 2015).
- 3) DM tipe-3 atau juga dikenal dengan Diabetes Melitus Gestasional (DMG) merupakan suatu gangguan intoleransi glukosa, diabetes pada kehamilan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu DM yang sebelumnya telah diketahui dan kemudian menjadi hamil (Diabetes Melitus Pregestasional) dan diabetes yang baru teridentifikasi selama masa kehamilan (Diabetes Melitus Gestasional) (Purnamasari, *et al*, 2013).
- 4) DM tipe lain, yaitu DM yang disebabkan oleh beberapa penyakit seperti defek genetik, penyakit oleh karena eksokrin pankreas seperti (pankreatitis, kista fibrosis, dan hemochromatosis), endokrinopati, akibat induksi obat, infeksi, dan sindrom genetik lainnya yang memiliki hubungan dengan diabetes (Kerner dan Bruckle, 2014).

Diabetes Melitus tipe 2 merupakan golongan diabetes dengan prevalensi tertinggi. Hal ini disebabkan karena berbagai faktor diantaranya faktor lingkungan dan faktor keturunan yang biasanya berasal dari ibu yang menderita diabetes gestasional. Diabetes Melitus Gestasional merupakan salah satu faktor risiko terjadinya komplikasi pada janin dan berkaitan dengan terjadinya DM tipe 2 pada ibu dan anak di masa yang akan datang (Firdaus *et al.*,2016).

2.1.2 Patofisiologi Diabetes Melitus

Beberapa jalur patofisiologi yang berperan dalam terjadinya diabetes melitus :

1. Jalur Poliol

Hiperglikemia dapat meningkatkan jalur poliol, jalur poliol terdiri atas 2 enzim, *Aldose Reductase* (AR) mengurangi glukosa menjadi sorbitol dengan bantuan *co-factor nicotinamida adenin dinukleotida phosphat* NADPH, dan yang kedua *Sorbitol Dehydrogenase* (SDH), mengubah sorbitol menjadi fruktosa dengan bantuan *co-factor nicotinamida adenin dinukleotida* (NAD⁺). Enzim tersebut mengurangi rasio NADPH / NADP dan meningkatkan rasio NADH/ NAD, yang berakibat pada stress oksidatif dan

protein C kinase. Fruktosa dan metabolitnya fruktosa-3-fosfat dan 3-deoksiglukoson adalah agen glikasi nonenzimatik yang lebih kuat daripada glukosa, Sorbitol dapat mengganggu penyerapan dan metabolisme myo-inositol. Peran fisiologis jalur AR sebagian besar masih belum diketahui. Namun, AR, sorbitol dan myo-inositol dianggap berperan osmoregulasi ginjal. Konsumsi NADPH oleh AR menghasilkan penipisan tingkat NADPH. NADPH juga berperan sebagai co faktor untuk reduktase glutathion yang mengurangi reduktasi glutathion menjadi glutathion tereduksi. Kelebihan sorbitol akan dioksidasi menjadi fruktosa. Peningkatan glukosa melalui jalur poliol dapat meningkatkan pembentukan Advance Glycation End Product (AGE) . AGEs serta pengikatan AGE pada reseptornya, diketahui menyebabkan stress oksidatif (Aghadavod *et.al.*, 2016 ; Sharma *et al.*, 2013).

2. Jalur Hexosamin

Glukosa intraseluler yang berlebihan dapat menginduksi aktivasi jalur hexosamin. Hexosinase mengubah fruktosa-6-fosfat menjadi glukosamin 6-fosfat (GFAT). GFAT merupakan enzim pembatas laju dari jalur ini. Ekspresi berlebihan GFAT menyebabkan peningkatan ekspresi Transforming Growth Factor β (TGF- β) dan fibronektin. Kadar glukosamin yang tinggi menyebabkan perubahan metabolik yang akan menginduksi terjadinya resistensi insulin, sintesis berlebihan dari asam lemak oleh hati dan sekresi tinggi insulin oleh sel beta yang menyebabkan hiperinsulinemia. Glukosa yang tinggi akan menyebabkan terjadinya peningkatan glikosilasi protein seluler termasuk faktor transkripsi dan induksi disregulasi gen. Peningkatan fluks dari jalur ini juga berhubungan dengan terjadi aktivasi jalur protein C kinase (Sharma *et al.*,2013).

3. Jalur Protein C Kinase

Protein Kinase C (PKC) diaktifkan oleh diacygliserol yang berlebihan yang terbentuk dari glyceraldehid 3 fosfat. Meningkatnya konsentrasi glukosa mengakibatkan meningkatnya diacygliserol yang mengaktifkan PKC. Aktivasi PKC menyebabkan perubahan aliran darah pada ginjal. Aktifasi protein C kinase juga akan meningkatkan stres oksidatif (Sharma *et al.*,2013)

4. Peningkatan Advanced Glycation End Product (AGEs)

Peningkatan AGEs dipacu oleh proses glikasi lipid dan protein yang disebabkan oleh karena kadar glukosa darah yang tinggi. AGEs diproduksi

melalui reaksi maillard yang ditandai dengan adanya asam amino teralkilasi, residu fluoresens, dan ikatan silang (*cross linkage*) intramolekul maupun intermolekul. AGEs memegang peran yang cukup signifikan dalam proses terjadinya berbagai komplikasi pada diabetes, baik AGEs yang berada di jaringan (intraseluler) maupun di sirkulasi plasma darah (ekstraseluler). Interaksi antara AGEs dalam sirkulasi dengan RAGE (*receptor for advanced glycation end product*) akan meningkatkan produksi ROS (*reactive oxygen species*) intraseluler dan meningkatkan faktor transkripsi *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) dan produknya, yakni *endothelin-1*, *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *E-selectin*, *tissue factor*, *thrombomodulin*, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), sitokin proinflamasi IL(interleukin)-1 α , IL-6, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), dan RAGE (Al-Farabi, 2013).

2.2 Diabetes Mellitus Gestasional

Diabetes Mellitus Gestasional (DMG) atau yang lebih umum dengan Diabetes pada Ibu hamil merupakan komplikasi kehamilan, dimana hiperglikemia terjadi pada masa kehamilan. DMG dapat terjadi pada wanita yang terkena DM tipe 1 selama kehamilan dan wanita yang tidak terdiagnosis DM tipe 2 kemudian baru terdiagnosis saat kehamilannya, atau wanita yang baru terkena DM pada masa kehamilannya, gangguan ini biasanya terjadi pada trimester ke-3 (Baynest,2015 ;Pearl *et al.*, 2017). DMG didefinisikan sebagai intoleransi glukosa yang ditemukan pada masa kehamilan, hal ini menimbulkan gejala klinis yang bermacam-macam dikarakteristikkan oleh metabolisme dan abnormalitas endokrin yang berefek pada homeostasis. Defisiensi insulin secara total maupun parsial dapat mempengaruhi metabolisme tubuh, seperti abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, protein, maupun lemak. Risiko DMG terbesar yaitu pada ibu yang sedang mengandung dengan usia lebih dari 30 tahun, Ibu dengan riwayat keluarga diabetes, tekanan darah tinggi, Ibu dengan riwayat kehamilan lebih dari 5 kali, dan aborsi (Ghapanchi *et al.*, 2015).

Menurut *International Diabetes Federation* 2017, setiap tahun DMG mempengaruhi sekitar 14% kehamilan diseluruh dunia. Faktor risiko yang mempengaruhi DMG termasuk kelebihan berat badan (obesitas), diet berlebihan, defisiensi mikronutrien, ibu dengan lanjut usia, dan genetik. Ibu yang hamil dengan

kondisi diabetes memiliki risiko yang sangat besar pada Ibu dan bayinya. Kadar glukosa darah yang tinggi dapat meningkatkan risiko keguguran, malformasi, kematian intrauterin, preeklamsia, dan eklamsia. Glukosa dalam darah yang tinggi dapat juga menyebabkan bayi lahir makrosomia, bayi berat lahir rendah, sehingga berisiko selama persalinannya. Setelah kelahirannya, bayi tersebut bisa jadi memiliki masalah pernapasan dan penyakit kuning. Dan keduanya berisiko untuk terkena diabetes melitus tipe 2 (*International Diabetes Federation, 2017*)

DMG menghasilkan perubahan plasenta sekunder untuk berubah dalam lingkungan ibu dan janin. Untuk mengkompensasi darah hiperglikemia dari ibu, sel islet mengalami hipertrofi dan hiperplasia sel beta pankreas janin dengan pelepasan insulin dalam jumlah berlebihan di tubuh janin. Hal ini menghasilkan keadaan hiperinsulinemik pada janin dengan banyak regulasi ekspresi gen, mediator inflamasi dan leptin pada jaringan plasenta. Seluruh proses ini mungkin menghasilkan pertumbuhan berlebihan dan peningkatan berat plasenta. Peningkatan volume plasenta mengkompensasi kebutuhan pertumbuhan bayi sampai batas tertentu dan setelah itu dapat terjadi keadaan hipoksia yang dapat merugikan janin maupun ibu bahkan dapat menyebabkan kematian intrauterus (*Arshad et.al., 2014*).

2.2.1 Patofisiologi Diabetes Melitus Gestasional

Gangguan pada insulin dapat menyebabkan kadar glukosa dalam darah meningkat (hiperglikemia). Disfungsi insulin dapat menyebabkan gangguan regulasi pengambilan dan penyimpanan glukosa oleh sel sehingga terjadi defisiensi glukosa darah intraseluler. Kondisi ini akan segera direspon oleh sel α pankreas dengan menyekresikan hormon glukagon yang akan meningkatkan glikogenolisis dan glukoneogenesis, untuk menyediakan glukosa untuk sel. Tetapi jika terjadi disfungsi insulin maka dapat menyebabkan glukosa tidak dapat dimetabolisme oleh sel sehingga KGD ekstraseluler semakin meningkat (*Guyton et.al., 2006*)

Diabetes melitus gestasional merupakan hasil dari disfungsi sel β pankreas yang diakibatkan oleh resistensi insulin kronis selama kehamilan, kebanyakan gangguan ini terjadi sebelum kehamilan dan bisa progresif (*Plows et al., 2018*).

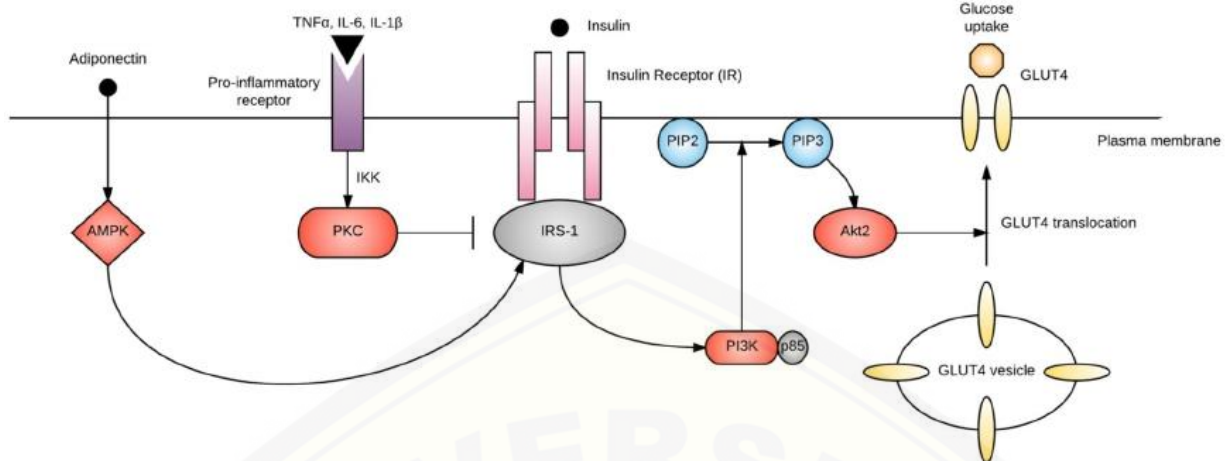
a. Disfungsi Sel β pankreas

Sel β pankreas memiliki fungsi utama sebagai penyimpan dan pensекреksi insulin sebagai respon terhadap glukosa yang berlebih. Sel β pankreas dikatakan mengalami disfungsi ketika sel tersebut kehilangan kemampuan untuk merespon konsentrasi glukosa dalam darah atau tidak dapat

mensekresikan insulin yang cukup sebagai respon terhadap konsentrasi glukosa dalam darah. Mekanisme yang mendasari disfungsi sel β pankreas dapat bervariasi dan kompleks.

b. Resistensi insulin

Resistensi insulin terjadi ketika sel-sel tidak lagi dapat merespon insulin. Resistensi insulin biasanya merupakan kegagalan pensinyalan insulin, sehingga translokasi membran plasma yang tidak adekuat dari transporter glukosa 4 (GLUT4) yang merupakan transporer primer yang bertanggung jawab untuk membawa glukosa ke dalam sel untuk digunakan sebagai energi. Tingkat penyerapan glukosa yang dirangsang oleh insulin berkurang sebesar 54% pada DMG bila dibandingkan dengan kehamilan normal. Berkurangnya tirosin atau peningkatan fosforilasi serin/ treonin dari reseptor insulin menghambat sinyal insulin. Pensinyalan insulin terjadi ketika terjadi ikatan insulin dengan reseptor insulin (IR) yang mengaktifasi IRS-1. Adiponectin mempromosikan aktivasi IRS-1 melalui AMP- *activated protein kinase* (AMPK), pada keadaan diabetes terdapat pro-inflammatory cytokines activate protein kinase C (PKC) melalui IKK, yang akan menghambat IRS-1. Sehingga IRS-1 tidak dapat mengaktifasikan Phosphatidylinositol-3-kinase (P13K), yang akan memfosforilasi phosphatidylinositol-4, 5- bisphosphate (PIP2) menjadi phosphatidylinositol 3,4,5- phosphate (PIP3). Dimana PIP3 mengaktifasi Akt2, yang akan mempromosikan translokasi GLUT4 dan pengambilan glukosa ke dalam sel (Gambar 2.1). meningkatnya produksi sitokin pro inflamasi diakibatkan oleh karena frekuensi interaksi antara glukosa dan molekul penyusun sel (protein, lemak) meningkat sehingga terjadi peningkatan akumulasi produk modifikasi yang disebut dengan *advanced glycation end* (AGE), akumulasi AGE dalam mikro-vaskular dan mikro-vaskular memicu gangguan fungsi neutrofil dan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi (Syafriadi *et al.*, 2016).



Gambar 2.1 Pensinyalan Insulin (Plows *et al.*, 2018)

Diabetes mellitus gestasional berhubungan dengan stress Retikulum Endoplasma (RE) Plasenta yang memiliki hubungan dengan transportasi nutrisi. Stres RE biasanya menghasilkan fosforilasi dari faktor inisiasi translasi 2 *Eukaryotic initiation factor 2 α* (eIF2 α) yang merupakan target untuk sejumlah serin kinase yang memfosforilasi serin, yang mengarah pada penghambatan translasi protein global dan pensinyalan *mammalian target of rapamycin* (mTOR) yang berfungsi sebagai protein kinase serin/treonin yang mengatur pertumbuhan sel, proliferasi sel, motilitas sel, kelangsungan hidup sel, sintesis protein, autofag dan transkripsi, serta berfungsi sebagai protein kinase tirosin yang mendorong aktivasi reseptor insulin dan reseptor *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1), yang nantinya dapat menghambat transportasi nutrisi. Dengan demikian, stres RE pada plasenta berkontribusi terhadap perubahan transportasi nutrisi (Kochen, *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2016; Castrejon, 2017).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Alkaff (2018) Keadaan hiperglikemia yang dialami oleh induk tikus bunting dapat menyebabkan peningkatan kadar GH dan penurunan IGF-1 dan GLUT1 dalam darah, hal ini disebabkan GH tidak mendapatkan sinyal biologis karena hepar tidak dapat mensekresi insulin. Sehingga GH tidak dapat mensekresikan IGF1 kedalam darah. Menurunnya GLUT1 dan IGF-1 memiliki peran penting dalam menjaga keberlangsungan sel, sintesis protein, proliferasi sel, dan mencegah kematian sel. IGF-1 juga memiliki peran untuk menekan stress oksidatif. Menurunnya kadar GLUT1 dan IGF-1 dalam sistem sirkulasi dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan dan perkembangan. Gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein akibat hiperglikemia, peningkatan stres oksidatif, dan penurunan

kadar IGF-1 pada induk dan janin tikus akan mengakibatkan gangguan sintesa protein, proliferasi, dan diferensiasi pada sel-sel pembentuk gigi.

2.3 Pertumbuhan dan Perkembangan Gigi

Awal tahap perkembangan gigi mulai terjadi antara minggu keenam dan ketujuh pada kehamilan, semua gigi geligi primer mulai lengkap ketika menginjak usia enam bulan kehamilan (Wangidjaja, 2014 ; Gartner *et al.*, 2014).

Perkembangan dan pertumbuhan gigi terdiri dari beberapa fase, yaitu :

1. Fase Inisiasi

Tanda pertama terjadinya perkembangan gigi (odontogenesis) terjadinya penebalan oral epitel yang disebut dental lamina dengan bentuk seperti tapal kuda yang diselubungi oleh ektomesenkim lengkung mandibula dan maksila yang berasal dari krista neural. Kemudian dental lamina akan terpisahkan dari selubungnya (ektomesenkim) oleh lamina basal. Dental lamina terus bermitosis sehingga bagian inferior terus menebal, sehingga terbentuk 10 kuncup gigi yang akan berkembang menjadi 10 gigi desidui pada masing-masing lengkung rahang. Kemudian sel ektomesenkim berkumpul pada bagian *inferior bud stage* dan membentuk calon dental papila. Perkembangan ini serupa tetapi tidak terjadi secara bersamaan, sehingga saat erupsi gigi bermunculan secara bergantian (Gambar 2.2).

2. Fase Proliferasi

Bagian kuncup gigi terus berproliferasi sehingga menimbulkan bentukan seperti topi (*Cap stage*) yang memiliki 3 lapisan pada bagian kuncupnya, yaitu *Outer Enamel Epithelium* (OEE) lapisan yang berada pada bagian cembung epitel selapis kubus dan epitel columnar selapis pada bagian cekung yang disebut *Inner Enamel Epithelium* (IEE), keduanya bertemu pada servikal loop dan menyelimuti lapisan ketiga yang terletak dibagian dalam disebut dengan *stellata retikulum*. Ketiga lapisan ini akan membentuk organ email yang letaknya terpisahkan ektomesenkim oleh lamina basal. Ektomesenkim akan menempati bagian yang berbentuk topi yang nantinya disebut dengan dental papila.

Dental papila dan organ email bersama-sama membentuk benih gigi (*tooth germ*). Dental papila akan membentuk pulpa dan dentin gigi. Sel ektomesenkim yang menyelimuti benih gigi membentuk selubung yang mengandung pembuluh darah dan disebut dengan *dental sac*, yang akan membentuk sementum, ligamen

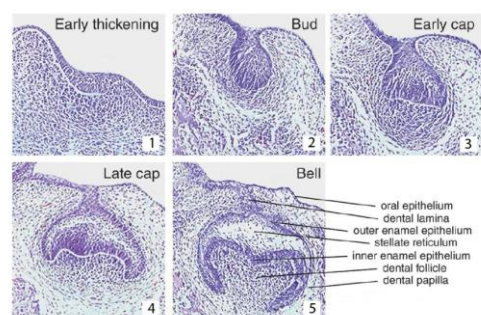
periodontal, jaringan ikat ginggiva, dan tulang alveolar. Epitel email akan berdeferensiasi membentuk preameloblas dan kemudian menjadi ameloblas yang membentuk email. Tonjolan yang dekat dengan dental lamina akan tumbuh ke dalam ektomesenkim dan disebut dengan *lamina succesional* (lamina pengganti). Kemudian sel ini akan berproliferasi membentuk bakal gigi permanen (Gambar 2.2).

3. Fase histodiferensiasi

Pada fase ini mulai terbentuk lapisan sel diantara *stellate retikulum* dan IEE yang disebut dengan *startum intermedium*, fase ini yang dinamakan dengan *early bell stage* dimulai pada saat proliferasi sel yang terus menerus terjadi sehingga organ email membesar dan terdapat penumpukan cairan didalam organ email. Kemudian Pada saat pembuluh darah dekat dengan *startum intermedium* menyebabkan *startum intermedium* menginduksi epitel selapis pada IEE sehingga berdeferensiasi menjadi preameloblas yang kemudian menjadi sel yang dapat memproduksi email yang disebut dengan ameloblas. Akibat dari histodeferensiasi IEE, sel paling perifer pada dental papila yang berkontak dengan lamina basal, ikut berdeferensiasi menjadi preodontoblas yang kemudian menjadi sel penghasil dentin, yang disebut odontoblas. Lalu segera menghasilkan dentin kedalam lamina basal, ameloblas mulai membuat matriks email. Dentin dan email terletak bersisian dan perbatasannya disebut dentinoenamel junction (DEJ). (Gambar 2.2)

4. Fase Morfodiferensiasi

Bentuk gigi dan ukuran gigi akan dibentuk pada fase ini, seperti organ email dapat berubah bentuk menjadi gigi Insisivus, Caninus, ataupun Molar. Perubahan bentuk ini telah diatur oleh enamel knot yang terletak dekat OEE. Sel ektomesenkim pada dental papila diduga sebagai penginduksi enamel knot sehingga mempengaruhi morfologi gigi. Tonjolan yang dekat dengan dental lamina akan tumbuh ke dalam ektomesenkim dan disebut dengan lamina succesional (lamina pengganti). Kemudian sel ini akan berproliferasi membentuk bakal gigi permanen (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Gambaran histologi perkembangan gigi (1-2) Tahap Inisiasi (3-4) Tahap Poliferasi (5) Tahap Histodeferensiasi, Tahap Morfodiferensiasi (Lemmers, 2017)

5. Fase Aposisi

Pembentukan dentin terus berlanjut, selama pembentukan dentin, odontoblas terus menjauh dari DEJ. Odontoblas mature memanjang untuk membentuk predentin yang kemudian termineralisasi membentuk dentin. Preameloblas akan berdeferensiasi menjadi ameloblas yang bergerak menjauhi DEJ dan membentuk enamel, enamel ini akan termineralisasi sebagian dan akan termineralisasi sempurna setelah erupsi. Kemudian sel ektomesenkim bermigrasi lalu menempel pada dentin yang baru terbentuk dan berdeferensiasi menjadi sementoblas. Sementoblas akan menghasilkan matriks sementum yang kemudian mengalami klasifikasi menjadi sementum.

6. Fase Klasifikasi

Fase klasifikasi terjadi ketika ada pengendapan garam-garam kalsium anorganik selama pengendapan matriks, lalu endapan ini bertambah banyak dan menjadi pekat. Apabila klasifikasi terganggu maka butir kalsium didalam dentin tidak akan menyatu, hal ini yang dikenal dengan sebutan dentin interglobular. Klasifikasi email dan dentin sangat sensitif terhadap perubahan metabolik yang kecil pada anak-anak (Gambar 2.3). Klasifikasi email dipengaruhi oleh zat organik, anorganik dan juga air. Molekul organik yang turut menyusum email yaitu enamelin, amelogenin, ameloblastin, tuftelin, amelonin, dentin sialoprotein, dan berbagai enzim seperti (Kallikrein 4) KLK-4 dan (matriks metalloproteinase 20) MMP20 (Nasution, 2016). Selama tahap maturasi ameloblas secara aktif mensekresi kallikrein-related peptidase-4 (KLK4) yang diaktifkan oleh MMP 20 dan thyrosicin. KLK 4 berfungsi untuk menghilangkan inhibitory protein yang diperlukan untuk penyempurnaan email. Hal tersebut menyebabkan matriks tumbuh menjadi tebal, dan menyebabkan lingkungannya sesuai untuk kristalisasi. Kallikrein berperan penting untuk proses resorpsi air dan protein. Tanpa kallikrein, protein email akan tertahan di dalam matriks, yang menyebabkan prisma email kekurangan ikatan dan gagal untuk tumbuh sehingga email mudah fraktur dan cepat terjadi abrasi (Indahyani, 2013).

7. Fase Erupsi

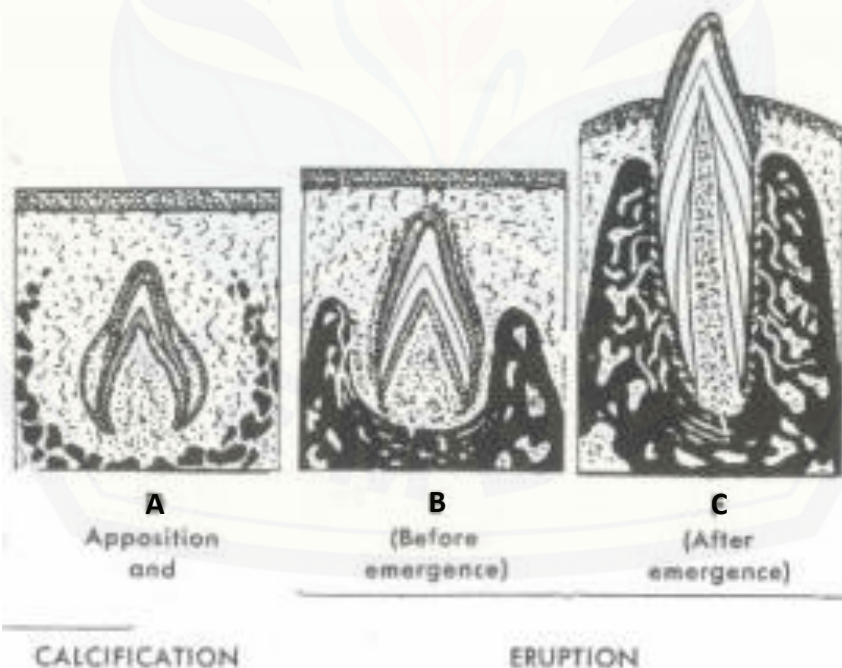
Erupsi merupakan proses yang terus-menerus dimulai segera setelah mahkota terbentuk kemudian diikuti dengan pembentukan akar gigi yang terbentuk dan diatur oleh epitelial akar gigi dari Hertwig. Pemanjangan akar gigi disebabkan karena pemanjangan dari servikal loop yang terus kebawah, sedangkan mahkota

bergerak menuju rongga mulut. Kejadian tersebut terjadi secara bersamaan, tetapi bukan akar gigi yang mendorong keatas, melainkan mahkota yang tertarik oleh adanya fibroblas khusus yang disebut miofibroblas yang terdapat pada dental sac (Gambar 2.3).

Beberapa hal yang berperan dalam erupsi gigi adalah,

- a. *Space* yang terdapat pada jalur erupsi, folikel gigi menghancurkan tulang alveolar di atasnya sehingga menciptakan ruang yang diperlukan dalam jalur erupsi.
- b. Ungkitan atau tekanan dari bawah,
- c. dan adaptasi dari membrane periodontal.

Jadi, etiologi proses erupsi gigi adalah adanya tekanan invasi yang dipicu pada bagian apical gigi sehingga menghasilkan erupsi yang memerlukan adaptasi terus menerus dari membran periodontal dan gerakan yang aktif dari folikel mahkota dapat menghancurkan jaringan tulang di atasnya. Ketiga struktur ini saling terkait, tekanan secara apical mengubah membrane periodontal dan pada saat yang sama memicu folikel mahkota untuk meresorpsi jaringan sekitarnya (Kjaer, 2014).



Gambar 2.3 Pertumbuhan dan perkembangan gigi (A). Fase Aposisi dan kalsifikasi, (B) dan (C). Fase Erupsi, (Gartner,2014)

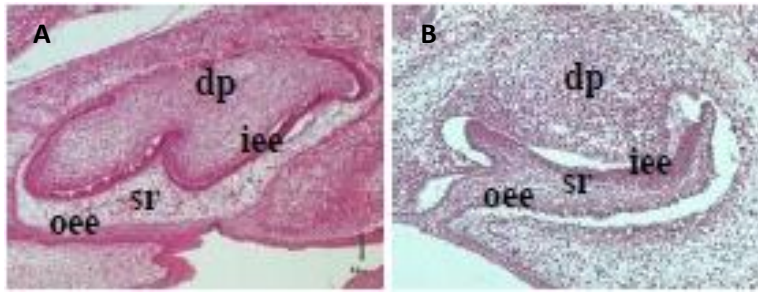
2.4 Gangguan Pertumbuhan dan Perkembangan Gigi

Pertumbuhan dan perkembangan gigi dapat terjadi pada berbagai fase pre erupsi maupun fase erupsi, pada fase Inisiasi, bila terjadi gangguan maka akan mengakibatkan jumlah gigi yang kurang dari normal (anodontia), atau jumlah gigi yang lebih dari normal (hiperdontia atau gigi supernumerari). Dapat terjadi gangguan kelainan dalam jumlah gigi misalnya anodontia dan hiperdontia jika fase proliferasi terjadi gangguan. Kelainan dalam struktur gigi, misalnya pada dentinogenesis imperfekta dan amelogenesis imperfekta dapat terjadi jika terjadi gangguan pada fase histodiferensiasi. Pada fase morfodiferensiasi yaitu fase pembentukan morfologi gigi jika hal ini tidak terjadi secara sempurna maka akan menimbulkan kelainan bentuk pada gigi, ukuran gigi, misalnya peg shape, gigi Hutchinson, Mulberry Molar, makrodontia, dan mikrodontia. Kelainan/ perubahan struktur jaringan keras gigi dapat terjadi jika pada fase aposisi terjadi gangguan seperti kekurangan nutrisi ataupun mineral. Pada Fase Klasifikasi, bila terjadi kelainan maka akan terjadi hipoklasifikasi. Dan gangguan yang terjadi pada fase erupsi biasanya lebih umum terjadi yaitu adanya keperlambatan pertumbuhan atau adanya gigi impaksi hal ini dapat dikarenakan gangguan sistemik, kekurangan nutrisi atau kelainan endokrin (Wangidjaja, 2014)

2.4.1 Efek Diabetes Mellitus pada Gigi

Janin yang dikandung oleh ibu pengidap DMG juga beresiko untuk kekurangan nutrisi. Janin yang kekurangan nutrisi akan beradaptasi dengan merubah metabolisme tubuh sehingga mempengaruhi struktur dan fungsi tubuh secara permanen, termasuk pembentukan gigi, perkembangan gigi, termasuk perubahan komposisi enamel dan dentin, dan mineralisasi gigi. Oleh karena itu, bayi yang dilahirkan oleh ibu pengidap diabetes mellitus dapat mengalami hypoplasia enamel, keterlambatan erupsi gigi, dan penurunan panjang tulang alveolar (Dewi, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian oleh alkaff (2018), didapatkan hasil bahwa terjadi gangguan tumbuh kembang pada anak tikus yang induknya menderita hiperglikemia, hal ini ditandai dengan gambaran histologi kelompok kontrol yang telah mencapai fase *bell stage* sedangkan pada kelompok perlakuan anak tikus dengan induk diabetik terjadi ketertinggalan fase, dan nampak bahwa pada gambaran sampel perlakuan masih berada pada fase *cap* (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Gambaran benih gigi M1 anak tikus yang mengalami perbedaan fase pertumbuhan pada hari yang sama, A.gambaran histologi gigi M1 tikus sehat, B. Gambaran histologi gigi M1 anak induk tikus diabetik. dp (dental papila), oee (*outer enamel epithelium*), iee (*inner enamel epithelium*), sr (*stellate reticulum*) (Alkaff, 2018)

2.5 Metformin

Hingga saat ini obat antidiabetik yang boleh dipergunakan oleh FOOD and Drug Administration (FDA) adalah metformin sedangkan obat anti diabetik lain masih dalam perdebatan. Telah diteliti secara farmakologis metformin merupakan sala satu obat anti diabetik yang aman digunakan daripada obat anti diabetik lainnya, metformin dapat menghasilkan kontrol glukosa darah yang intensif serta dapat meningkatkan sensitivitas pada insulin perifer dan hepatic penderita DM. metformin telah direkomendasikan oleh *American Diabetes Association (ADA)* dan *American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology (AACE)* sebagai pengobatan DM, obat ini dijadikan sebagai obat antidiabetes lini pertama apabila glukosa darah dengan intervensi gaya hidup tidak terkontrol (Riwu *et al.*, 2015 ; Diani dan Pulungan , 2010). Dalam jurnal (Diani dan Pulungan, 2010), pada akhir penelitian Jones, KL dkk. didapatkan bahwa subjek yang memakai metformin mengalami penurunan kadar gula darah puasa dan HbA1c secara signifikan. Sayangnya metformin sebagai obat antidiabetes lini pertama, menimbulkan efek samping yang merugikan seperti, gangguan gastrointestinal yaitu mual, muntah, dan perut kembung (Riwu *et al.*, 2015). Metformin dapat mengurangi absorbs glukosa melalui sistem transport glukosa (GLUT) sehingga dapat menghambat proses glukoneogenesis, metformin juga bekerja dengan cara menurunkan kadar gula darah melalui sel target insulin yang ada di hati, otot, dan lemak dengan meningkatkan sensitivitas sel tersebut terhadap insulin (Diani dan Pulungan, 2010),

2.6 Ekstrak Jintan Hitam

Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) merupakan salah satu tanaman obat dari Famili Ranunculaceae yang tumbuh endemik di beberapa tempat di Timur Tengah dan negara-negara di Mediterania Selatan (Gambar 2.5). Tanaman jintan hitam memiliki rasa yang pahit. Didalam jintan hitam terdapat kandungan *thymoquinone*. *Thymoquinone* merupakan bahan aktif kimiawi yang banyak terkandung dalam minyak esensialnya. Antidiabetik dari *Thymoquinone* mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan produksi insulin dan meregenerasi struktur sel-sel β pankreas sehingga dapat mereduksi stres oksidatif melalui mekanisme penurunan gluconeogenesis pada hepatic (Kanter, *et al.* 2009; El-Ameen, *et al.*, 2015 ;Syafriadi, *et al.*, 2016).



Gambar 2.5 Biji Jintan Hitam (Safithri, 2017)

Jintan hitam telah dijadikan obat herbal sejak tahun 2000-3000 sebelum Masehi dan banyak tercatat dalam literatur kuno seperti Ibnu Sina pada masa (980-1037) Masehi, dan Al-Biruni pada masa (973-1048) M. Abu Hurairah pernah mendengar Rasulullah Muhammad SAW. Bersabda: “ Pada habbatussauda ada obat bagi segala macam penyakit kecuali Al-Sam, yaitu maut”.

Taksonomi tanaman jintan hitam adalah sebagai berikut :

- Kingdom* : *Plantae*
- Divisi* : *Magnoliophyta*
- Kelas* : *Magnoliopsida*
- Ordo* : *Ranunculales*
- Famili* : *Ranunculaceae*
- Genus* : *Nigella*
- Spesies* : *Nigella Sativa*

Jintan hitam merupakan tanaman semak dengan ketinggian ± 30 cm. Tumbuhan jintan hitam banyak tumbuh dari daerah Levant di Mediterania Timur Samudra Indonesia sebagai gulma semusim dengan keanekaragaman yang cukup kecil.

Budidayanya dapat dilakukan dengan biji (Safithri, 2017). Tanaman jintan hitam mengandung beberapa unsur kimia, dari hasil ekstrak hexane jintan hitam mengandung total 32 senyawa dan 9- eicosyne (63,04%) yang merupakan unsur kimia terbesar yang terdapat pada biji tanaman *Nigella sativa*. Unsur kimia lainnya seperti asam linoleic (13,48%) diikuti dengan asam palmitic (9,68%), p-cymene (2,54%), dan *thymoquinone* (1,68%). *Thymoquinone* merupakan bioaktif yang sangat penting dari minyak astiri *Nigella sativa* dan dilaporkan bahwa *thymoquinone* memiliki beberapa efek farmakologi seperti antioksidan, antihistamin, aktivasi kemoterapi dan anti inflamasi (Dinagaran *et al.*, 2016).

Pemberian *thymoquinone* dapat memicu terjadinya regenerasi pada sel beta pankreas, konsumsi *thymoquinone* pada waktu yang lama dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah karena dapat meregenerasi sel beta pankreas sehingga dapat memproduksi insulin (Syafriadi *et al.*, 2016).

2.7 Tikus Putih

2.7.1 Tikus Galur Wistar

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, berjenis kelamin betina dan sedang dalam masa bunting. Tikus Wistar (albino) dikembangkan pertama kali di Wistar Institute (Philadelphia, PA) pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTARAT digunakan untuk penelitian biologi dan medis (Wistar Institute, 2014). Tikus galur Wistar saat merupakan hewan populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium. Tikus Wistar memiliki kepala yang cukup lebar dan memiliki panjang ekor yang selalu kurang dari panjang tubuhnya (Aalexandru, 2011). Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Gambar 2.6) (Departemen Kesehatan, 2011).



Gambar 2.6 Tikus Galur Wistar (Guvva,2017)

2.7.2 Tumbuh Kembang Gigi Anak Tikus

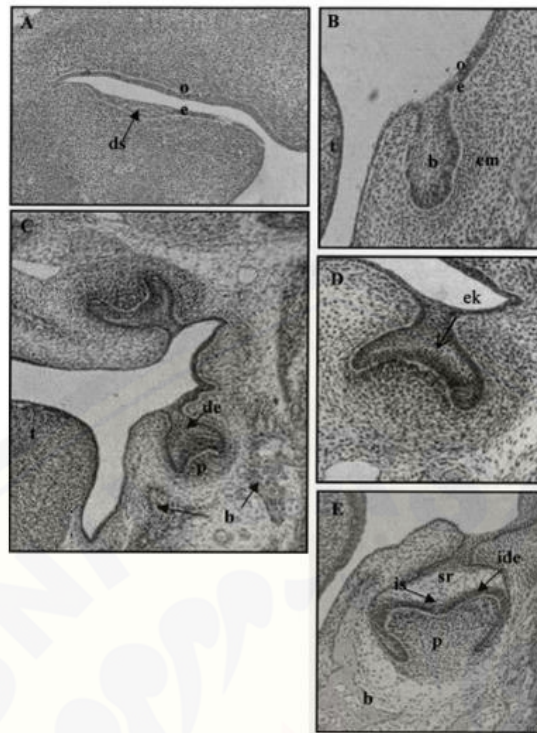
Tikus memiliki 16 gigi yang terdiri dari 2 gigi insisivus pada rahang atas dan rahang bawah, dan 3 gigi molar masing-masing pada rahang atas dan rahang bawah. Pertumbuhan dan perkembangan gigi tikus memiliki kesamaan dengan perkembangan gigi manusia. yaitu melalui interaksi berkelanjutan antara dental epitelium dan neural crest. Pembentukan gigi tikus dimulai dengan fase insiasi, *bud stage*, *cap stage*, dan *bell satge* (Gambar 2.7 dan 2.8) (Pagella *et al.*, 2015). Gigi molar yang terletak pada bagian mandibular akan tumbuh lebih awal daripada molar dibagian maksila, tumbuh kembang gigi tikus mencit dan tikus (Rat) memiliki perbedaan seperti yang tertera pada Tabel 2.1 dan Tabel 2.2

Tabel 2.1 Data Fase Pembentukan Gigi anak tikus (Rat) Molar 1 Maksila (Gate *et al.*, 2004; Alqahtani,2010)

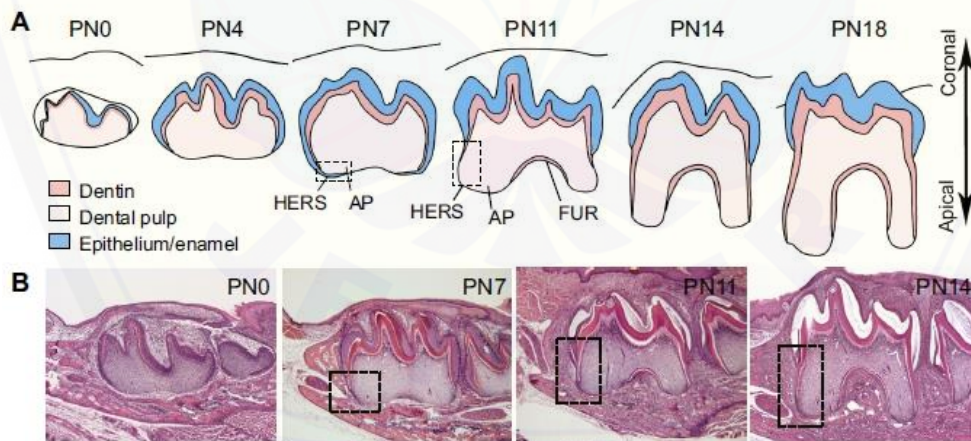
Fase Pembentukan	Hari perkembangan
Preodontin dan dentin mulai terbentuk	H + 1 – H+2
Maturasi enamel mulai terjadi, mulai terbentuk HERS	H+7 – H+8
Maturasi enamel hamper selesai, pembentukan dentin akar sedang berlangsung	H+13 - H+14
Pertumbuhan akar berlangsung dan gigi telah erupsi dengan posisi cusp gigi sejajar dengan ginggiva	H+19

Tabel 2.2 Data Fase Pembentukan Gigi anak tikus mencit Molar 1 Mandibula (Gaete *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2017)

Fase Pembentukan	Hari perkembangan
Proliferasi dental sheet	12 Iu
Bud stage	13 Iu -14 Iu
Cap stage	15 Iu – 16 Iu
Early bell stage	17 Iu
Dentinogenesis	18 Iu
Predentin dan dentin terbentuk	H + 1 – H+2
Late bell stage (predentin, dentin, dan enamel telah terbentuk)	\geq H+3
Mulai terbentuk HERS	H+7
Mulai terbentuk bifurkasi	H+11
Bifurkasi dan akar terus berkembang	H+14
Pertumbuhan akar berlangsung dan gigi telah erupsi dengan posisi cusp gigi sejajar dengan ginggiva	H+18

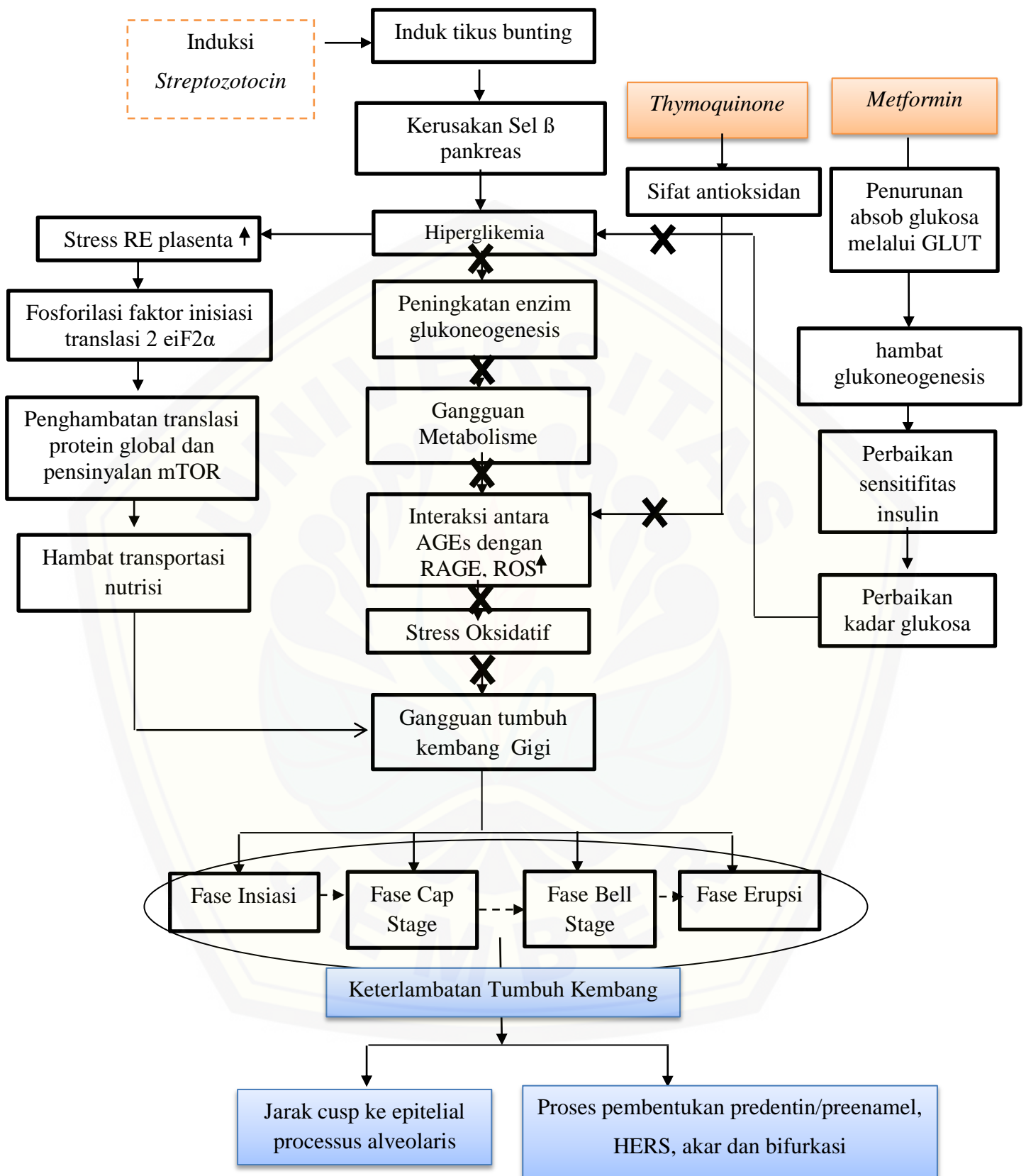


Gambar 2.7 A. Fase Inisiasi 12 hari Iu perbesaran 100 kali, B. Bud stage 14 hari Iu perbesaran 100x, C.fase cap 15 hari Iu stage 40 kali, D.cap stage dengan adanya pembentukan enamel knot perbesaran 100 kali, E. Bell stage 17 hari Iu perbesaran 100 kali (Gaete *et al.*,



Gambar 2.8 A. Ilustrasi pertumbuhan gigi erupsi postnatal, B. Gambaran histologi pertumbuhan fase erupsi gigi molar 1 mandibular postnatal (Li *et al.*, 2017)

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.9 Kerangka Konsep

- = Variabel terikat/ yang diamati
- = Variabel Bebas / terapi yang diberikan
- X ← = Mencegah proses
- ← = Menyebabkan efek

2.9 Penjelasan Kerangka Konseptual

Induk tikus bunting yang diinduksi dengan *Streptozotocin* (STZ) dapat mengalami kerusakan sel β pankreas sehingga dapat menyebabkan produksi insulin berkurang yang berakibat pada peningkatan kadar gula dalam darah (hiperglikemia), penderita hiperglikemia akan kekurangan glukosa didalam sel sehingga terjadi peningkatan dari enzim gluconeogenesis yang dapat menyebabkan abnormalitas metabolisme tubuh, dimana akan mengakibatkan peningkatan *Advance Glycation End Product* (AGEs) jika berinteraksi dengan *Receptor for Advanced Glycation End Product* (RAGE) akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga akan timbul suatu kondisi yang disebut dengan stress oksidatif, kondisi tersebut akan menyebabkan kerusakan sel, jaringan atau organ serta mengganggu penyisalan dari tumbuh kembang gigi. Induk tikus bunting yang menderita hiperglikemia dikaitkan dengan peningkatan stress retikulum endoplasma (RE) plasenta. Tekanan RE biasanya menghasilkan fosforilasi dari faktor inisiasi translasi 2 ($eIF2\alpha$) yang mengarah pada penghambatan translasi protein global dan pensinyalan *Mammalian target of Rapamycin* (mTOR), yang dapat menghambat transportasi nutrisi. Nutrisi ini sangat penting dalam tumbuh kembang gigi pada janin, jika kekurangan nutrisi maka tumbuh kembang gigi menjadi terhambat. Gangguan tumbuh kembang gigi dapat terjadi pada fase inisiasi, fase cap stage, fase bell stage, dan fase erupsi. Jika perkembangan gigi terhambat maka dapat menyebabkan keterlambatan erupsi gigi anak postnatal.

Thymoquinone dan metformin akan digunakan sebagai terapi hiperglikemia pada induk tikus bunting. *Thymoquinone* merupakan obat herbal antihiperglikemi yang bekerja dengan sifat antioksidanya dengan cara melindungi sel β pankreas dari adanya stress oksidatif, dan melindungi benih gigi dari stress oksidatif akibat hiperglikemia. Sedangkan metformin merupakan obat antihiperglikemia oral yang umum digunakan sebagai obat diabetes bagi masyarakat. Metformin dapat mengurangi absorbs glukosa melalui sistem transport glukosa (GLUT) sehingga dapat menghambat proses glukoneogenesis dan perbaikan sensitifitas insulin. Adanya mekanisme kerja dari kedua obat tersebut dapat menyebabkan perbaikan kadar glukosa darah yang dapat mengatasi hiperglikemia. Jika hiperglikemia dapat diatasi maka akan terjadi perbaikan gangguan metabolisme dan kekurangan nutrisi, sehingga gangguan pada pertumbuhan dan perkembangan tidak akan terjadi.

2.10 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat keterlambatan tumbuh kembang benih gigi anak tikus yang induknya menderita hiperglikemi dan tidak diterapi, jika dibandingkan dengan anak tikus yang dilahirkan oleh induk normal, anak yang dilahirkan dari induk hiperglikemi yang diterapi metformin, dan anak yang dilahirkan dari induk hiperglikemi yang diterapi *Thymoquinone* pada hari ke-1, 7, dan 14.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris secara *in vivo* dengan rancangan *the post test only control group design* yaitu penelitian dengan mengambil data hanya setelah dilakukan perlakuan kemudian data dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (Notoatmojo, 2010). Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan tentang Evaluasi perkembangan benih gigi anak tikus postnatal yang dilahirkan dari induk hiperglikemia.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2019- Desember 2019

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk uji praktik hewan coba dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pemrosesan jaringan, pengecatan, serta pengamatan.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian menggunakan hewan coba anak tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus L.*), yang berasal dari induk tikus model hiperglikemia yang bunting berjenis kelamin betina.

3.3.2 Sampel Penelitian

Kelompok penelitian terdiri dari empat kelompok, yaitu kelompok normal (A), kelompok kontrol negatif (B), kelompok kontrol positif (C), dan kelompok perlakuan (D). Kemudian dibagi lagi menjadi 3 sub kelompok berdasarkan hari pengamatan, yaitu H+1, H+7, dan H+14 postnatal pada masing-masing kelompok. Sampel penelitian diambil secara *simple random sampling*. Jumlah sampel penelitian minimum didapat dari perhitungan rumus oleh Federer

$$= [(t-1)(n-1)] \geq 15 \text{ (Ridwan,2013)}$$

Keterangan :

n : besar sampel tiap kelompok

t : Jumlah kelompok (12 kelompok)

Perhitungan

$$[(12-1)(n-1)] \geq 15$$

$$11(n-1) \geq 15$$

$$11n-11 \geq 15$$

$$11n \geq 26$$

$$n \geq 2,36 \text{ dibulatkan menjadi } 3$$

Untuk mengantisipasi adanya tikus yang *drop out* selama penelitian, maka diperlukan tikus cadangan dengan rumus koreksi besar sampel (Sastoasmoro dan Ismael, 2011) sebagai berikut :

$$N = n/(1-f)$$

Keterangan :

N : Jumlah sampel penelitian

n : Besar sampel yang dihitung

f : perkiraan proporsi *drop out*, kira-kira 10%

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 3/(1-01)$$

$$N = 3,33 \text{ dibulatkan menjadi } 4$$

Berdasarkan perhitungan rumus, masing-masing subkelompok terdiri dari 3 kelompok, dengan koreksi sampel sebanyak 4 ekor tikus setiap subkelompok, sehingga jumlah keseluruhan subyek penelitian sebanyak 48 ekor anak tikus. Pengelompokan subyek penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Pengelompokan Subyek

Kelompok	Sub – Kelompok	Keterangan	Jumah Subyek (ekor)
A	H+1	Anak tikus dari induk normal, dieuthanasia pada hari ke-1 postnatal	4
	H+7	Anak tikus dari induk normal, dieuthanasia pada hari ke-7 postnatal	4
	H+14	Anak tikus dari induk normal, dieuthanasia pada hari ke-14 posnatal	4
B	H+1	Anak tikus dari induk hiperglikemia, dieuthanasia pada hari ke-1 postnatal	4
	H+7	Anak tikus dari induk hiperglikemia, dieuthanasia pada hari ke- 7 postnatal	4
	H+14	Anak tikus dari induk hiperglikemia, dieuthanasia pada hari ke-14 postnatal	4
C	H+1	Anak tikus induk hiperglikemia diterapi Metformin, dieuthanasia pada hari ke-1 postnatal	4
	H+7	Anak tikus induk hiperglikemia diterapi Metformin, dieuthanasia pada hari ke-7 postnatal	4
	H+14	Anak tikus induk hiperglikemia diterapi Metformin, dieuthanasia pada hari ke-14 postnatal	4
D	H+1	Anak tikus induk hiperglikemia diterapi <i>Thymoquinone</i> , dieuthanasia pada hari ke-1 postnatal	4
	H+7	Anak tikus induk hiperglikemia diterapi <i>Thymoquinone</i> , dieuthanasia pada hari ke-7 postnatal	4
	H+14	Anak tikus induk hiperglikemia diterapi <i>Thymoquinone</i> , dieuthanasia pada hari ke-14 postnatal	4

3.3.3 Kriteria Sampel Penelitian

a. Kriteria Model Induk Tikus Bunting

- Induk tikus bunting dari jenis *Rattus norvegicus L.*, strain Wistar, berjenis kelamin betina, dengan usia kehamilan kira-kira 10 hari, hiperglikemia ($KGD \geq 120$ mg/dl) sehingga menyerupai wanita dengan diabetes mellitus gestasional, berat badan 170-300 gram, perilaku normal, kondisi fisik baik yang ditandai dengan gerakan aktif dari tikus, dan apabila ekor tikus diangkat maka tikus tidak berputar 360°
- Induk tikus bunting dari jenis *Rattus norvegicus L.*, berjenis kelamin betina, dengan usia kehamilan kira-kira 10 hari, non hiperglikemia ($KGD < 120$ mg/dl), berat badan 170-300 gram, perilaku normal, kondisi fisik baik yang ditandai dengan gerakan aktif dari tikus, dan apabila ekor tikus diangkat maka tikus tidak berputar 360°

b. Kriteria Anak Tikus

- Anak tikus dari induk tikus bunting sehat
- Anak tikus dari induk tikus bunting yang mengalami hiperglikemia
- Anak tikus dari induk tikus bunting hiperglikemia yang induknya diterapi metformin satu hari postdiabetik sampai 14 hari postnatal
- Anak tikus dari induk tikus bunting hiperglikemia yang induknya diterapi *thymoquinone* satu hari postdiabetik sampai 14 hari postnatal

c. Kriteria *Drop Out*

Kriteria *Drop Out* pada penelitian ini adalah tikus yang mati sebelum hari pengambilan yang ditentukan

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah

a. Nilai kadar glukosa darah induk tikus.

Nilai kadar glukosa darah induk tikus normal jika < 120 mg/dL dan dinyatakan hiperglikemia jika ≥ 120 mg/dL

b. Pemberian *Thymoquinone*

Thymoquinone yang digunakan yaitu 80 mg/kg BB secara intragastrik 1x1/ hari (Pagi) dimulai dari positif hiperglikemia sampai 14 hari postnatal (Pratama, 2016).

c. Pemberian Metformin

Metformin yang digunakan yaitu 100 mg/Kb BB secara intragastrik 2x1/hari (Pagi-Sore) dimulai dari positif hiperglikemia sampai 14 hari postnatal (Riwu *et al.*, 2015).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah:

a. Perkembangan benih gigi anak tikus postnatal

Perkembangan benih gigi diamati melalui (proses pembentukan predentin/preenamel, proses pembentukan HERS (*Hertwig's Epithelial Root Sheet*), dan pembentukan akar serta bifurkasi)

b. Pertumbuhan benih gigi anak tikus postnatal

Erupsi gigi anak tikus postnatal yang diukur dengan cara menghitung (rerata jarak cusp benih gigi molar 1 rahang atas kanan anak tikus ke epitelial proses alveolaris).

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah :

a. Kriteria induk tikus

Induk tikus yang digunakan merupakan tikus Wistar betina jenis *Rattus norvegicus L.*, kondisi bunting, induk normal dengan KGD <120mg/dL dan induk dengan hiperglikemia KGD \geq 120 mg/dL

b. Pemeliharaan tikus

Masa adaptasi selama 24 jam dan pemberian pakan standar yaitu dari produk Turbo 521 yang kandungan utamanya protein, minuman untuk hewan coba, kebersihan kandang, dan pemantauan kesehatan tikus.

c. Teknik induksi diabetes dan pengukuran nilai KGD

Induksi diabetes menggunakan *Streptozotocin* (STZ) dengan *single dose*, besar dosis yang digunakan 40 mg/kgBB secara intraperitoneal dan dilarutkan dalam 50 mg/ml larutan *buffer* asam sitrat 0,1 M dengan pH 4,5 (Dewi, 2014; Alkaff,2018)

d. Regio pengambilan sampel jaringan

Rahang atas (*Maxilla*) kanan untuk melihat benih gigi molar pertama M1.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Tikus Hiperglikemia

Tikus Hiperglikemia adalah induk tikus bunting yang diinduksi dengan *Streptozotocin* (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis 40mg/Kg BB, yang mampu meningkatkan kadar gula darah signifikan. Induk tikus bunting dinyatakan hiperglikemia jika memiliki kadar glukosa darah puasa lebih dari 120mg/dL.

3.5.2 Tikus Bunting

Tikus bunting adalah induk tikus betina yang mengandung anak tikus dengan perkiraan 10 hari masa bunting, ditandai dengan perut yang membesar, pembesaran pada kelenjar mammae, serta ada pembesaran didaerah rahim saat dilakukan palpasi.

3.5.3 Induksi *Thymoquinone*

Thymoquinone diberikan pada induk tikus bunting hiperglikemia, pemberian diberikan dengan dosis sebanyak 80mg/Kg BB, yang dilarutkan dalam 1,5 ml minyak zaitun sebanyak 1x1 hari diberikan pada pagi hari, secara intragastrik, mulai dinyatakan positif hiperglikemi hingga hari ke-14 postnatal (Farah, *et al.*, 2005; Pratama, 2016; Abdullah *et al.*, 2017).

3.5.4 Induksi Metformin

Induk tikus bunting hiperglikemia yang diterapi dengan metformin 500mg dengan dosis 100mg/Kg BB secara intragastrik 2x1/ hari (Pagi-sore).

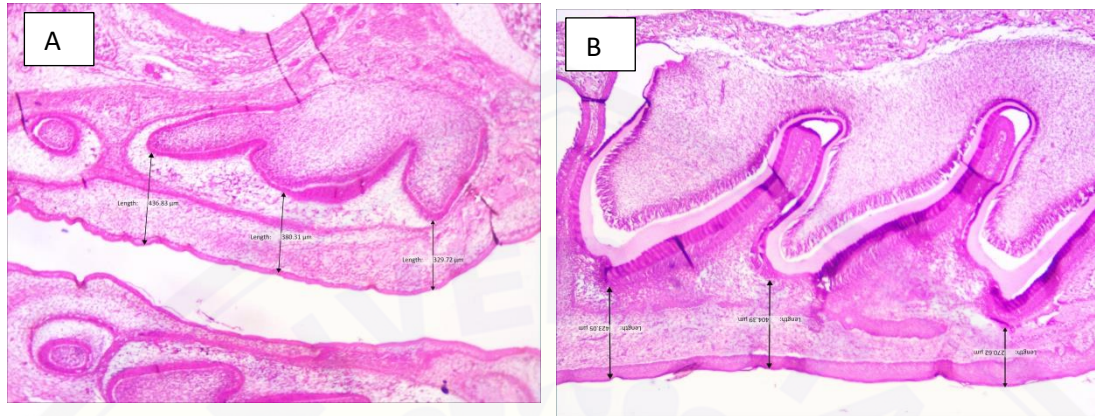
3.5.5 Fase Perkembangan Benih Gigi M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan gambaran HPA dengan pewarnaan HE dan menggunakan perbesaran 40x (satu lapang pandang). Terdapat 3 fase dalam pertumbuhan dan perkembangan gigi anak tikus. Fase Inisiasi (*Bud Stage*) terlihat proliferasi jaringan ektodermal dan jaringan mesenkimal, Fase Proliferasi (*Cap Stage*) kondensasi jaringan mesenkimal yang mengelilingi organ enamel mulai mendesak bagian bawah organ enamel sehingga mengakibatkan organ enamel berbentuk cekung seperti topi, Fase morfodiferensiasi dan histodiferensiasi (*Bell Stage*) proliferasi sel-sel organ enamel masih tetap berlanjut disertai desakan kondensasi jaringan mesenkimal yang terus meningkat dan meluas pada daerah cekung pada organ enamel sehingga organ enamel akan memiliki struktur seperti bel.

3.5.6 Fase Pertumbuhan Benih Gigi M1 Rahang Atas kanan Anak Tikus

Pertumbuhan benih gigi terjadi pada saat fase erupsi, yang merupakan suatu proses fisiologis berupa pergerakan gigi ke arah epithelial processes alveolaris hingga menembus gingiva sampai akhirnya mencapai dataran oklusal dan pembentukan akar

gigi ke arah apeks. Diamati dengan menggunakan gambaran histologi gigi M1 rahang atas kanan menggunakan pewarnaan HE (*Hemaxtosislin Eosin*) dengan perbesaran 40x , kemudian diukur jarak antara cusp (permukaan *oral enamel epithelium*) ke epithelial processus alveolaris gigi M1 menggunakan optiLab 3.0 *Image Raster* (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Gambaran histologis fase pertumbuhan benih gigi molar anak tikus, Postnatal (PN) hari ke-1 dan ke-7. Pengukuran jarak cusp molar satu ke epithelial processus alveolaris. A) gambaran histologis molar satu rahang atas kanan anak tikus postnatal hari ke-1. B) gambaran histologis molar satu rahang atas kanan anak tikus postnatal hari ke-14

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

1. Masker dan Handscoon
2. Kandang tikus (Citra Plastics, Indonesia)
3. Tempat makan dan minum
4. Timbangan berat badan tikus (Camry EK 3650, China)
5. Timbangan digital (Pioneer, Ohaus Corp., USA)
6. Glukometer *easy touch* (GCU, Indonesia)
7. *Test strip glucose* (GCU, Indonesia)
8. *Disposable syringe* 1 ml (Onemed, Indonesia)
9. Toples plastic
10. Kuas, kertas saring, label identitas
11. Pot jaringan
12. Mesin *processing* jaringan
13. *Tissue cassette*
14. *Block mould*
15. *Disposable microtome blade*

16. *Microtome* dan *microtome holder*
 17. *Waterbath*
 18. *Deck glass*
 19. *Object glass*
 20. Wadah baskom
 21. *Staining jar*
 22. Mikroskop cahaya (Olympus CX21, Japan)
 23. Kamera mikroskop optilab (Olympus CX41RF, Olympus DP 20, Japan)
 24. Pinset Kedokteran Gigi
 25. Slide Warmer
 26. Sonde lambung
- 3.6.2 Bahan Penelitian
1. Pakan standar hewan coba (Turbo 521, Indonesia) dan air minum
 2. *Streptozotocin* (Bloworld, USA)
 3. *Thymoquinone* 99% (Sigma Aldrich, USA)
 4. Minyak zaitun (Bertolli, Italia)
 5. Metformin 500 mg (Hexapharm, Indonesia)
 6. Larutan *buffer* asam sitrat 0,1 M dengan pH 4,5 (FMIPA Biologi UNEJ, Indonesia)
 7. Larutan *buffer* formalin 10% (Makmur Jaya, Indonesia)
 8. Larutan NaCl
 9. Povidone-iodine (Indonesia)
 10. Akuades steril (Onelab waterone, Indonesia)
 11. Ethanol 70%, 80%, 90%, 99,9 %
 12. Parrafin (Merck KgaA, Germany)
 13. Bahan *embedding* (McCormick-Scientific, USA)
 14. Eter (Merck KgaA, Germany)
 15. Haematosiklin powder (Gamma Scientific Biolab, Indonesia)
 16. Eosin (CV. Gamma Scientific Biolab)
 17. Alkohol 70%,80%,90%,96% (Novapharin, Indonesia)
 18. Entellan (Merck KgaA, Germany)
 19. Asam Formiat 10%
 20. Buffer Formalin

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 *Ethical Clearance*

Sebelum melakukan penelitian, dilakukan pengurusan *Ethical Clearance* yang harus telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember (Lampiran A).

3.7.2 Persiapan Hewan Coba

Persiapan enam belas tikus bunting yang akan dilakukan percobaan, dilakukan adaptasi terlebih dahulu dan dikontrol kesehatannya selama 24 jam, selama waktu tersebut tumbuh kembang tikus diamati. Makanan dan minuman tikus harus dikontrol agar tidak kekurangan, kandang tikus selalu dibersihkan dan diganti. Hal ini dimaksudkan agar didapatkan kondisi tikus yang sama dan dikelompokkan sesuai kriteria.

3.7.3 Pengelompokan Sampel Penelitian

- a) Kelompok A (normal), adalah kelompok 4 ekor induk tikus normal dengan kadar glukosa darah <120 mg/dL dan tidak diberi terapi apapun selama masa bunting hingga melahirkan.
- b) Kelompok B (kontrol negatif), adalah 4 ekor induk tikus bunting hiperglikemia dengan kadar glukosa darah ≥ 120 mg/dL yang tidak diberi terapi selama masa bunting hingga melahirkan.
- c) Kelompok C (kontrol positif), adalah 4 ekor induk tikus bunting hiperglikemia dengan kadar glukosa darah ≥ 120 mg/dL, kemudian diberi terapi dengan metformin 500 mg dengan dosis 100mg/Kg BB secara intragastrik 2x1/hari (pagi, sore). Pemberian dilakukan dari hari ke-1 postdiabetik hingga hari ke-14 postnatal.
- d) Kelompok D (perlakuan), adalah 4 ekor induk tikus bunting hiperglikemia dengan kadar glukosa darah ≥ 120 mg/dL, kemudian diberi terapi dengan (*Thymoquinone*) 80 mg/kg BB secara intragastrik 1x1/hari (pagi). Pemberian dilakukan dari hari ke-1 postdiabetik hingga hari ke-14 postnatal. Masing-masing kelompok diamati pada postnatal H+1, H+7, dan H+14.

3.7.4 Pembuatan Larutan *Streptozotocin* (STZ)

Larutan STZ dibuat dengan cara melarutkan 40 mg/kg BB STZ kedalam 50 mg/ml larutan buffer asam sitrat 0,1 M dengan pH 4,5. Larutan harus dipersiapkan kurang dari 5 menit sebelum diinjeksikan karena sifatnya yang tidak stabil (Yao *et al.*, 2014)

3.7.5 Induksi *Streptozotocin* (STZ)

1. Berat badan awal tikus ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan dosis STZ yang akan diberikan.
2. Tikus dipuasakan selama 8 jam dan tetap diberi minum sebelum dilakukan induksi STZ. Perlakuan ini digunakan untuk menyamakan kondisi pola makan pada setiap tikus.
3. Kadar glukosa darah awal diukur terlebih dahulu menggunakan glukometer. Dilakukan perlukaan pada ekor tikus dengan *scalpel* kemudian sampel darah diambil dari vena ekor. Setelah darah keluar, *test strip* ditempelkan di ujung ekor tikus.
4. Larutan STZ diinjeksi secara intraperitoneal pada tikus, dengan dosis 40 mg/Kg BB tikus
5. 30 menit setelah induksi, tikus diberikan larutan glukosa 10% untuk mengatasi syok hipoglikemik akibat induksi STZ (Yao *et al.*, 2014)
6. Pada hari ke-1 paska injeksi STZ, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah
7. Tikus dengan nilai KGD ≥ 120 mg/dL dikategorikan sebagai tikus hiperglikemia.

3.7.6 Induksi Metformin

Metformin 500 mg diberikan kepada induk tikus sebagai kelompok kontrol positif, secara intragastrik dengan dosis 100mg/Kg BB 2x1/hari, diberikan sejak hari ke-1 postdiabetik hingga postnatal hari ke-14

3.7.7 Induksi *Thymoquinone*

Thymoquinone diberikan kepada induk tikus sebagai kelompok perlakuan, secara intragastrik dengan dosis 80mg/Kg BB 1x1/hari, diberikan sejak hari ke-1 postdiabetik hingga postnatal hari ke-14. *Thymoquinone* dibuat dengan melarutkan ekstrak *thymoquinone* ke dalam 1,5 ml minyak zaitun.

3.7.8 *Euthanasia* Hewan Coba

Anak tikus dianastesi dengan metode overdosis inhalasi eter. Anak tikus dimasukkan kedalam toples yang didalamnya terdapat kapas yang diberi larutan eter kemudian toples ditutup rapat hingga tikus mati.

3.7.9 Pembuatan Preparat Jaringan

Tahap pembuatan preparat jaringan menurut Syafriadi *et.al*, (2008) adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel sediaan

Rahang anak tikus yang telah dilakukan pemotongan selanjutnya jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% selama minimal 12-18 jam untuk mencegah terjadinya autolisis, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Setelah difiksasi jaringan dicuci menggunakan air mengalir

2. Dekalsifikasi

Dekalsifikasi dilakukan dengan tujuan melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan asam formiat 10% selama 7 hari.

3. Pemrosesan jaringan

- a. Dehidrasi

Dehidrasi adalah penarikan air dari dalam jaringan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi. Dehidrasi dimulai dengan alkohol 70% selama 15 menit, 80% selama 1 jam, 95% selama 2 jam, dan 100% selama 3 jam.

- b. Clearing

Clearing adalah proses penjernihan jaringan dengan menggunakan bahan *xylol* sebanyak 3 kali pada 3 tabung yang berbeda dengan ketentuan waktu 1 jam pada tabung pertama dan 2 jam pada tabung kedua dan ketiga.

- c. Impegnasi

Impegnasi adalah proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56-60° C. Jaringan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan kedalam bahan *embedding* yaitu paraffin 56-60°C selama 2x3 jam.

- d. *Embedding*

Embedding adalah proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu paraffin. *Moul base* (cetakan) dari bahan *stainless steel* diolesi dengan gliserin agar blok paraffin yang mengeras mudah dilepas. Cetakan diisi dengan paraffin cair kurang lebih ¼ cetakan. Kemudian jaringan *tissuecassette* dimasukkan tanpa merubah letak *cuttingsurface* dengan sedikit tekanan. Paraffin cair kemudian dituangkan ke dalam cetakan sampai seluruh jaringan terendam paraffin. Paraffin dibiarkan

membeku dan selanjutnya blok paraffin dilepas dari cetakan dan disimpan dalam lemari pendingin sebelum dilakukan pemotongan

e. Penyayatan

Penyayatan blok parafin dengan menggunakan mikrotom sliding.

Tahapan penyayatan jaringan adalah:

1. Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya pisau mikrotom terlebih dahulu dibersihkan dengan kasa yang dibasahi dengan *xylol* dengan arah tegak lurus.
2. Mengatur ketebalan sayatan mikrotom 6 mikron
3. Mengambil sayatan yang telah dipotong dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air sambil membuka lembar sayatan yang terlipat hingga sayatan mekar.
4. Mengambil sayatan yang sudah mekar dengan *object glass* kemudian diletakkan diatas permukaan air *waterbath* dengan temperature 56-58°C kemudian dikeringkan dengan suhu 30-35°C minimal selama 12 jam.

f. Pengecatan jaringan dengan teknik *Haematoxilin and Eosin* (HE)

Pengecatan preparat jaringan dilakukan dengan tahapan :

1. Deparafinisasi menggunakan larutan *xylol*, preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2-3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam wadah yang berbeda selama 2-3 menit.
2. Rehidrasi dengan larutan alkohol 100% dan 95% selama 3 menit
3. Preparat dibilas menggunakan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat untuk menghilangkan kelebihan alkohol
4. Preparat diwarnai dengan *haematoxilin Mayer's* selama 15 menit
5. Bilas kembali dengan air mengalir selama 20 menit
6. Preparat direndam dengan larutan *eosin* selama 15 detik sampai 2 menit.
7. Rehidrasi menggunakan alcohol dengan konsentrasi meningkat 95% dan 100% masing-masing 2-3 menit sebanyak 2 kali dalam wadah yang berbeda.
8. Preparat dimasukkan ke dalam larutan *xylol* tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda.

9. *Mounting* menggunakan cairan *Entellan* lalu ditutup dengan *deck glass*

3.8 Prosedur Pengukuran Berat Badan Tikus

Sampel anak tikus yang telah dikelompokkan, diukur berat badannya dengan bantuan timbangan digital Ohaus. Hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel.

3.9 Prosedur Pengamatan Fase Perkembangan Benih Gigi M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal H+1, H+7, dan H+14

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x (1 lapang pandang keseluruhan benih gigi molar 1 rahang atas) disajikan dalam bentuk gambar. Dilakukan pula pengamatan terbentuknya predentin/preenamel, terbentuknya HERS, dan prose pembentukan akar serta bifurkasi.

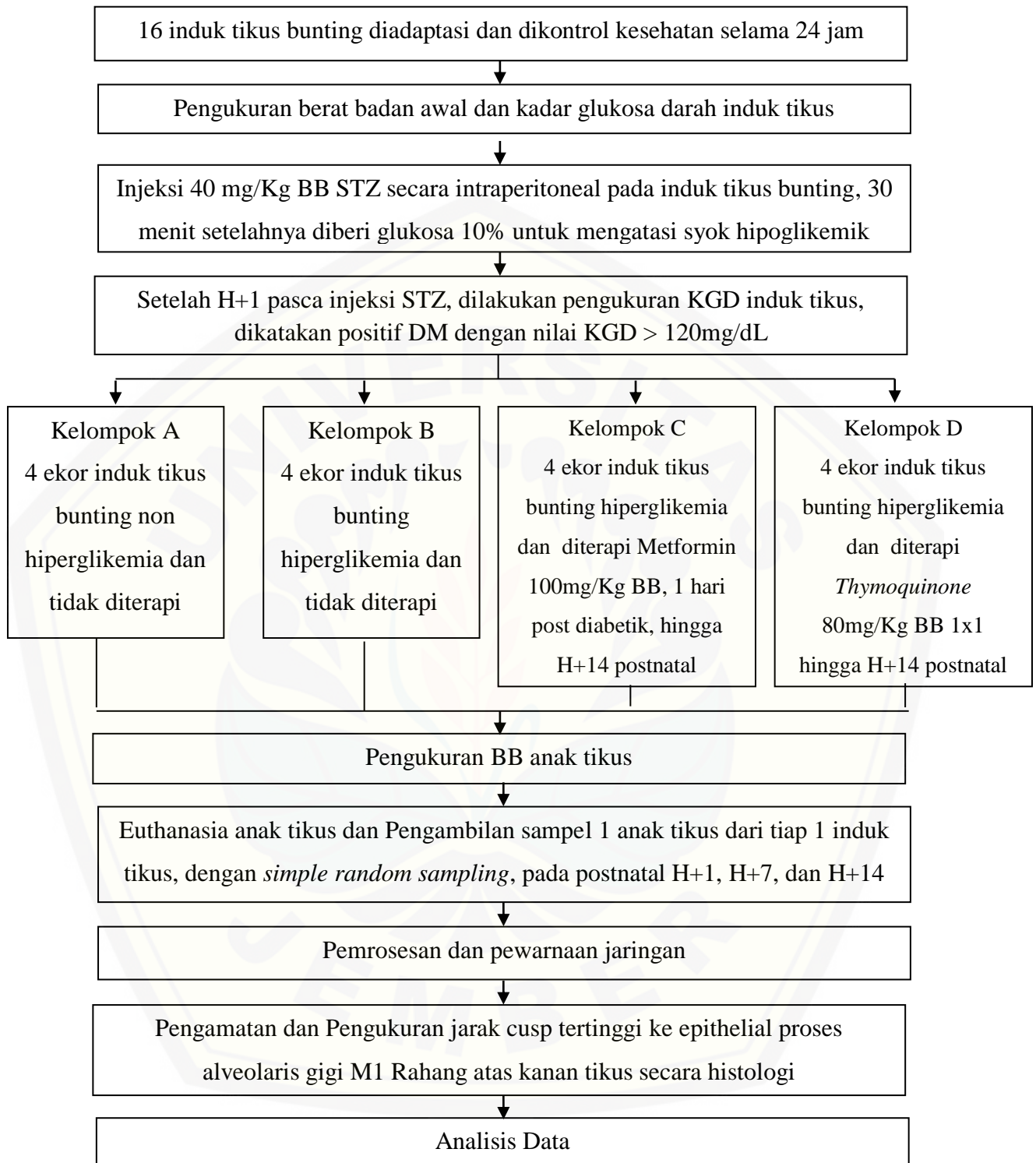
3.10 Prosedur Pengamatan Perhitungan Jarak Erupsi Cusp Benih Gigi ke Epithelial Processus Alveolaris M1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal H+1, H+7, dan H+14

Pengukuran jarak erupsi cusp benih gigi anak tikus dan pertumbuhan akar dilakukan dengan bantuan aplikasi Image raster optiLab. Pengukuran dilakukan dengan menentukan jarak cusp benih gigi M1 rahang atas kanan ke epithelial processus alveolaris M1 anak tikus, hal ini dilakukan pada hari ke-1, hari ke-7, dan hari ke-14 postnatal.

3.11 Analisis Data

Penelitian ini menghasilkan data kuantitatif skala data nominal berupa pengukuran kadar gula darah induk tikus, berat badan anak tikus, pengukuran jarak cusp gigi ke epithelial processus alveolaris M1 rahang atas kanan dan data kualitatif berupa fase pertumbuhan benih gigi molar 1 rahang atas kanan, proses terbentuknya predentin/preenamel, proses terbentuknya HERS, dan proses terbentuknya akar serta bifurkasi. Dilakukan uji normalitas data menggunakan *Saphiro Wilk*. serta dilakukan uji Homogenitas *Levene*, jika ($p \geq 0,05$) maka data berdistribusi normal dan homogen, jika ($p < 0,05$) maka data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen. Didapatkan data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dapat dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$) dan dengan uji beda *Mann Whitney*.

3.12 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terdapat keterlambatan fase perkembangan benih gigi anak tikus postnatal pada kelompok hiperglikemia yang tidak diterapi, tetapi terjadi perbaikan fase tumbuh kembang pada kelompok hiperglikemia yang diterapi dengan metformin dan kelompok hiperglikemia yang diterapi dengan *Thymoquinone* pada hari ke-1, 7, dan 14.
2. Terdapat keterlambatan erupsi dengan ditandai jarak antara Cusp ke Epithelial prosesus alveolaris lebih besar pada kelompok hiperglikemia yang tidak diterapi. Pada kelompok hiperglikemia yang diterapi dengan Metformin dan *Thymoquinone* keterlambatan erupsi dapat diperbaiki.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis dapat memberikan saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan peninjauan lebih lanjut tentang pemodelan tikus diabetes mellitus gestasional.
2. Perlu dilakukan metode pewarnaan jaringan dengan menggunakan *Mallory Tricrom* untuk mengetahui pembentukan preenamel/predentin, HERS, pembentukan akar dan bifurkasi dan pewarnaan *Immunohistochemistry* untuk mengetahui perbedaan protein yang terkandung dalam matriks benih gigi anak tikus postnatal yang induknya mengalami hiperglikemia.
3. Perlu dilakukan penanaman (*embedding*) jaringan yang sejajar dengan permukaan rahang, sehingga tidak menyulitkan pada saat pemotongan, hal ini berguna untuk mengidentifikasi terbentuknya HERS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdushsofi, M.F., R. Elvina, dan Y. Hersunaryati.2016.Evaluasi Ketepatan Penggunaan Obat Ibu Hamil di Departemen Obstetri dan Ginekologi Rumah Sakit "X". *Jurnal Farmasains*. 2(1) : 21-29.
- AbuKhader, M.2012.Thymoquinone: a Promising Antidiabetic Agent. Department of Clinical Pharmacy and Therapeutics. *Int J Diabetes Dev Ctries*.32(2):65-68
- Aghadavod, E., S. Khodadadi, A. Baradaran, P. Nasri, M. Bahmani, dan M. Kopaei.2016.Role of Oxidative Stress and Inflammatory Factors in Diabetic Kidney Disease. *Irian Journal of Kidney Disease*.10(6) : 337-343.
- Alexandru, I.2011.Experimental Use of Animal in Research SPA. *Balneo-Research Journal*. 2(1) : 65-69.
- Al-Farabi, M.J. 2013. Antibodi Terhadap Advanced Glycation End Product, Cara Mutakhir Pencegahan Komplikasi Diabetes Melitus. *CDK-210*. 40(1).
- Alkaff, M. N. 2018. Pengaruh Hiperglikemia pada Induk Tikus Bunting Diabetik Terhadap Ekspresi IGF-1 pada Tumbuh Kembang Benih Gigi Postnatal Anak Tikus. *Skripsi*. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Almasdy, D., D.Sari, Suharti, D.Darwin, N.Kuriniasih.2015.Evaluasi Penggunaan Obat Antidiabetik pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe-2 di Suatu Rumah Sakit pemerintah Kota Padang-Sumatera Barat.*Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2(1) : 104-110.
- Alqahtani, S.J., M.Hector, dan Liversidge.2010.Brief Communication: The London Atlas of Human Tooth Development and Eruption. *American Journal of Physical Anthropology*. doi: 10.1002/ajpa.21258.
- Al-Sa'adi J.A.A., M. Hashim, dan T.Wijdan. 2014. Antihyperglycemic Effects of Thymoquinone in Diabetic Rats. *Bas. J. Vet. Res*. 13(2): 180192.
- American Diabetes Association.2014.Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 37(1) : 581-590.

- Arshad,R.,N.Karim, dan J.Ara.2014.Effect of Insulin on Pacental, Fetal, and Maternal Outcomes in Gestational Diabetes Mellitus. *Pakistan Journal of Medical Sciences* 30(2) : 240-244.
- Baynest, H. W.2015.Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus.*Journal of Diabetes and metabolism* 6:541.
- Castrejon, MC., dan T. Powell.2017.Placental Nutrient Transport in Gestational Diabetic Pregnancies.*Frontiers in Endocrinology*. 8 : 306
- Correa, V.B., L. Massa, dan V. Chavez.2007.Effect of Alendronate on Tooth Eruption and Molar Tooth Formation in Young Growing Rats. *Cell and Tissue research* 330:475-485.
- Damasceno,D.C., A. Netto, I. Iessi, F. Gallego, S. Corvino, B. Dallaqua, Y. Sinzato, A.Bueno,I.Calderon, M.Rudge.2014.Streptozotocin Induced Diabetes Model : Pathophysiological Mechanisms and fetal Outcomes. *Biomed Research Int* 1-11
- Daniel, W. 2005. Biostatic a Foundation for Analysis in The Health Science 6th Edition. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.2011.Pedoman Pengendalian Tikus. <http://www.depkes.go.id/downloads/Pengendalian%20Tikus.html>. [Diakses pada Agustus 2018).
- Dewi, N. 2014.Lebar Benih Gigi Anak Tikus yang Dilahirkan oleh Induk Tikus Pengidap Diabetes Mellitus Gestasional. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. 2(1): 46-50.
- Diani, A dan A. Pulungan.2010. Tata Laksana Metformin Diabetes Mellitus Tipe 2 pada Anak Dibandingkan dengan Obat Anti Diabetes Oral yang Lain. *Sari Pediatri*. 11(6):395-399
- Dinakaran, S., S. Sridhar, dan P. Eganathan.2016.Chemical Composition and Antioxidant Activities of Black Seed Oil (Nigella Sativa L.).*International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.7(11) : 4473-4479.

- Dolatkhak, N., M. Hajifaraji, S. Shakouri. 2018. Nutrition Therapy in Managing pregnant Women With Gestational Diabetes Mellitus : A Literature review. *Journal of Family and reproductive Health*. 12(2): 57-72
- El-Ameen, N.M.H., M. Taha, S Abdelwahab, A. Khalid, F. Elfatih, M Kamel, dan B Shelkh. 2015. Anti-diabetic Properties of Thymoquinone is Unassociated with Glycogen Phosphorylase Inhibition. *Pharmacognocoy Journal*. 7(6): 406-410.
- Fararh, K.M., Y. Shimizu, T. Shiina, H. Nikami, M. Ghanem, dan T. Takewaki. 2005. Thymoquinone Reduces Hepatic Glucose Production in Diabetic Hamsters. *Research in Veterinary Sciences*. 79(2005): 219-22
- Fatimah, N.R. 2015. Diabetes Mellitus Tipe-2. *Jurnal of Majority Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*. 4(5) : 93-101
- Firdaus, Rimbawan, S.A. Marliyati, dan K. Roosita. 2016. Model Tikus Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin-sukrosa untuk Pendekatan Penelitian Diabetes Mellitus Gestasional. *Jurnal MKMI*. 12(1): 29-34.
- Gaete, M., N. Lobos, dan M.A.T. Quintana. 2004. Mouse Tooth Development Time Sequence Determination for The ICR/Jcl Strain. *Journal of Oral Science*. 46 (3): 135-141.
- Gartner, LP., dan J.L. Hiatt. 2014. Buku Ajar Berwarna Histologi Ed.3. Singapore: Elsevier.
- Ghapanchim J., K. Kamali, Z. Siavash, H. Ebrahimi, S. Pourshahidi, dan Z. Ranjbar. 2015. The Relationship Between Gestational Diabetes, Enamel Hypoplasia and DMFT in Children: A Clinical Study in Southern Iran. *British Journal of Medicine and Medical Research*. 10(9): 1-6
- Guvva, S., M. Patil, D.S. Mehta. 2017. Rat as Laboratory Animal Model in Periodontology. *International Journal Oral Health* 7(2) : 68-75.
- Guyton A.C. dan J. E. Hall. 2006. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Penerjemah: Irawati, Ramadani D, Indriyani F. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harahap, F.H., 2014. Efek Pemberian Ekstrak Nigella Sativa Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kolesterol pada Tikus Diabetes Mellitus yang Diinduksi

dengan Streptozotocin. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta

International Diabetes Federation. 2017. Diabetes Atlas Eight Edition. Available form : www.idf.org/diabetesatlas (diakses Agustus 2018)

International Diabetes Federation. 2015. Diabetes Atlas Seventh Edition. Available form : www.idf.org/diabetesatlas (diakses Agustus 2018)

Kanter, M., M. Akpolat, dan C. Aktas. 2009. Protective Effect of The Volatile Oil of *Nigella sativa* seeds on β -cell Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: A Light and Electron Microscopic Study. *Journal Molecular Histology* 10(40): 379-385.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (InfoDATIN) 2018. Jakarta Selatan.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2016. Pusat Data dan Kesehatan Republik Indonesia 2017. Jakarta Selatan.

Kerner dan Bruckle. 2014. Definition, Classification, and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *German Diabetes Association Clinical Practice Guideline* 122 : 231-239.

Kiss, A.C.I., P.H.O. Lima, Y.K. Sinzato, M. Takaku, M.A. Takeno, M.V. Rudge, D.C. Damasceno. 2009. Animal Models for Clinical and Gestational Diabetes : Maternal and fetal Outcomes. *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 1(21):1-7

Kjaer, I. 2014. Mechanism of Human Tooth Eruption: Review Article Including A New Theory for Future Studies on The Eruption Process. 14(13): 1-14

Kochen, L.T., S. Paglin, G. Keshet, Y. Lerenthal, C. Nakar, A. Toren, J. Yahalom, R. Pfeffer, dan Y. Lawrence. 2013. Eukaryotic Initiation 2 α – a Downstream Effector of mammalian Target of Rapamycin- Modulates DNA Repair and Cancer Response to Treatment. *PLoS ONE*. 8(10) :1-16

Indahyani, D.E. 2013. Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) menurunkan Apoptosis Osteoblast pada Tulang Alveolar Tikus Wistar. *Dental Jurnal* 46(4): 185-190

- Laurino,L.F.,F.J.M.Viroel, E.Caetano,S. Sprim, T. B. Picker, R.M.R. Castro,E.A.Vasconcelos, A.F. Jozala, ,A. Hataka, D. Grotto, M. Gerenutti.2019.Lentinus Edodes Exposure Before and After Fetud Implantation: Materno fetal Development in Rats with Gestational Diabetes Mellitus.*Nutrients*. 11(11) :2720
- Lemmers, S.A.M..2017.Stress, Life History and Dental Development: A Histological Study of Mandrills (Mandrillus Sphinx).*Thesis*.Durham University Department Anthropology.
- Li, J.,C. Parada,dan Y. Chai.2017.Cellular and Molecular Mechanisms of Tooth Root Development. *Review The Company of Biologists*. 144: 374-384
- Lungova,V., R.J.Radlanski,A.S.Tucker, H. Renz,I Misek, dan E. Matalova.2011. Tooth Bone Morphogenesis During Postnatal Stages of Mouse First Molar Development.*Journal of Anatomy*. 218(6):699-716
- Malin S.K., dan S.R. Kashyap. 2014. Effects Of Metformin On Weight Loss: Potential Mechanisms. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*.21(5):323–9.
- Nasution, A. I.2016.Jaringan Keras Gigi- Aspek Mikrostruktur dan Aplikasi Riset. Banda Aceh:Syiah Kuala Lumpur University.
- Nasution,YF., N.I. Lipoeto, Yulizawati.2019.Hubungan Kadar Insulin-Like Groeth Factor 1 Serum Materbal dengan Berat Badan dan Panjang Badan Bayi Baru Lahir pada Ibu Hamil KEK. *Majalah Kedokteran Andalas*. 42(35) :19-29
- Ngala, R.A., L.A. Fondjo, P. Gmagna, F. Naku Ghartey, dan M.A. Awe.2017. Placental Peptides Metabolism and Maternal Factors as predictors of Risk of Gestational Diabetes in Pregnant Women. A Case-Control Study.*PLOS ONE*.12(7):e0181613
- Notoatmodjo, 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta
- Okur, M.E., I.D. Karantas, dan P.I. Siafaka.2017. Diabetes Mellitus: A Review on Pathophysiology, Current Status of Oral Medications and Future Perspectives. *Acta Pharm. Scl*. 55(1).

- Pagella, P., E. Netto, M. Lamghari, dan T.A. Mitsiadis. 2015. Investigation of Orofacial Stem Cell Niches and Their Innervation Through Microfluidic Devices. *European Cells and Materials*. 29: 213-223.
- Pearl, L.G., dan H.B. Jeffrey. 2017. The Pathophysiology of Hyperglycemia in Older Adults: Clinical Considerations. *Journal Care Diabetes* 40:444-452.
- Plows, J.F., J.L. Stanley, P.N. Baker, C.M. Reynolds, and M.H. Vickers. 2018. The Pathophysiology of Gestational Diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*. 19, 3342; doi:10.3390/ijms19113342
- Prasanth, T. dan T.R. Saraswathi. 2012. Histopathological and Radiographic Evaluation of Rat Molar teeth After Traumatic Injury-a Pilot Study. *Journal of Oral Maxillofacial Pathology*. 16(3): 313-317
- Pratama, S. M. 2016. Efek Ekstrak Thymoquinone Jintan Hitam Terhadap Proses Pembentukan Tulang Soket Gigi Pasca Ekstraksi pada Tikus yang Diinduksi Diabetes. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Purnamasari, D., S. Waspadji, J.M.F. Adam, A. Rudjianto, D. Tahapary. 2013. Indonesian Clinical Practice Guidelines for Diabetes in Pregnancy. *Journal of Asean Federation Endocrine Societies*. 20(1) : 9-13
- Ridwan, E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc* 63:112-6
- Riwu, M., A. Subarnas, dan K. Lestari. 2015. Korelasi Faktor Usia, Cara Minum, dan Dosis Obat Metformin terhadap Risiko Efek Samping pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia* 4(3) : 151-161
- Safithri, F. 2017. Potensi Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) dalam Regenerasi Pankreas Secara endogen pada Diabetes Mellitus Tipe-2. Fakultas Kedokteran Universitas Muahammadiyah Malang 13(2) :76-87
- Sharma, V. Dan P.L. Sharma. 2013. Role of Different Molecular Pathways in the Development of Diabetes-Induced Nephropathy. *Journal of Diabetes and Metabolism S9: 004*. doi: [10.4172/2155-6156.S9-004](https://doi.org/10.4172/2155-6156.S9-004)
- Srinivasan, S., G. Ambler, L. A. Baur, S. P. Garnett, M. Tepsa, F. Yap, G. M. Ward, dan C.T. Cowell. 2006. Randomized, Controlled Trial of Metformin for Obesity

and Insulin Resistance in Children and Adolescents: Improvement in Body Composition and Fasting Insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 91(6): 2074-2080

Syafriadi, M., S. M. Pratama, P. R. Yusuf, F. Az-Zahrah. 2016. The Effectivity of Thymoquinone Extract of Black Seeds to Blood Glucose Level and Post Extraction Healing in Diabetic-Indured Rats. *The ABC's of Dentistry : Knowledge and Skill* . 14-15 Oktober 2016. Proceedings Book FORKINAS VI FKG UNEJ: 201-215.

Syafriadi, M., Subiyantoro, S., Setyorini, D., dan Joelijanto, R. 2008. *Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. (Tidak dipublikasikan). Petunjuk Praktikum. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Tjandrawinata, R..2016. *Patogenesis Diabetes Tipe 2: Resistensi Insulin dan Defisiensi Insulin*. *Review Paper Molecular Pharmacologist*. Dexa Media Group

Touger-Decker, R., C. Mobley, J.B. Epstein. 2014. *Pregnancy, Child Nutrition, and Oral Health Capt 2*. Springer Science+ Business Media New York XXVI: 19-37.

Wangidjaja, I. 2014. *Anatomi Gigi Edisi 2*. Jakarta : EGC

Waris, L. M. 2015. *Kencing Manis (Diabetes Mellitus) di Sulawesi Selatan*. Jakarta:Yayasan Pustaka Obor Indonesia.

Wistar Institute. 2014. *Our History*. Philadelphia: The Wistar Institute <http://www.Wistar.org> .[Diakses Agustus 2018].

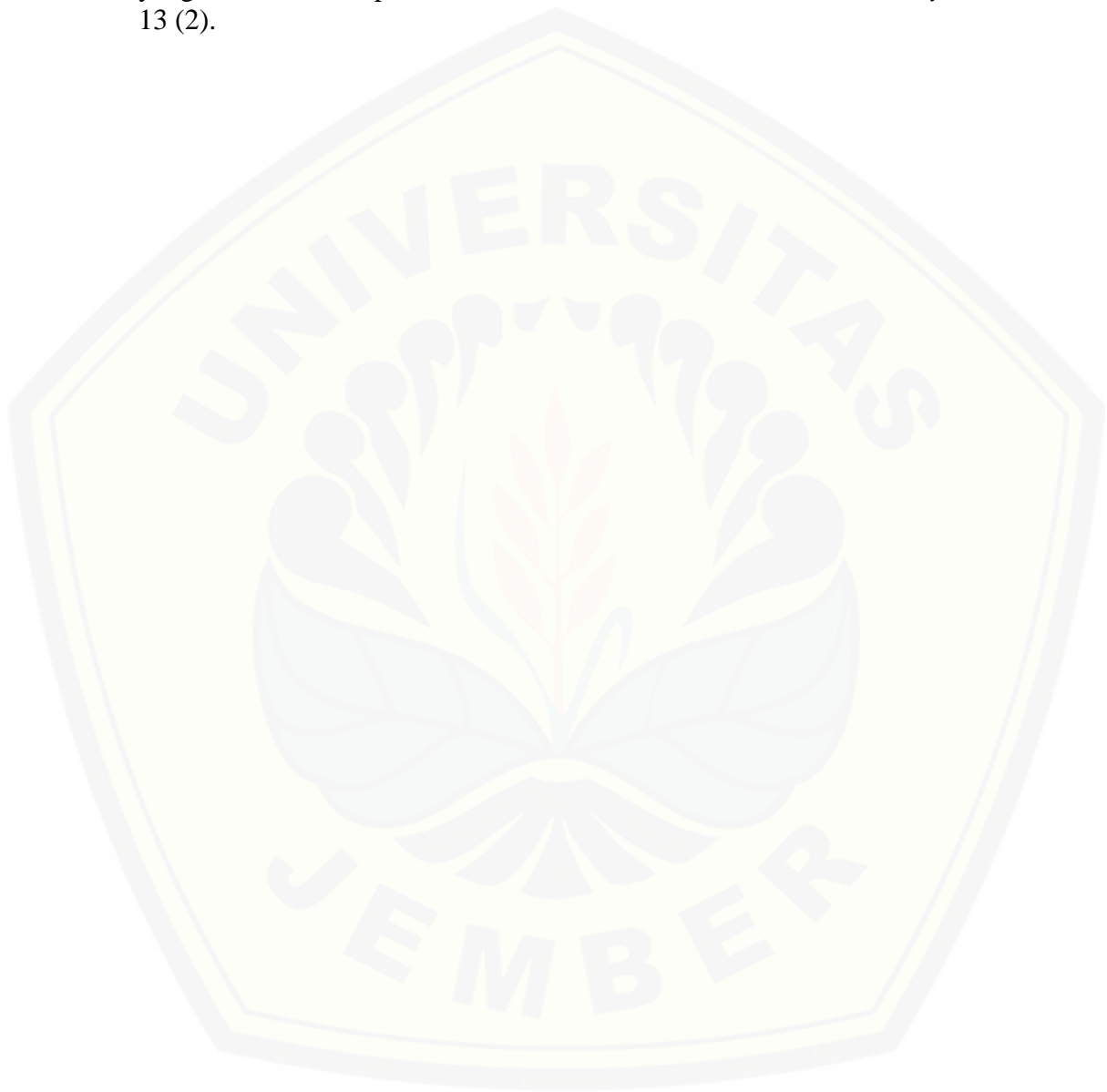
Yao, X.L., J. Wang, W.F. Zhang, X.L. Wang, dan H.R. Liu. 2014. Cardiac Ischemia in Type 2 Diabetes Mellitus Rats Induced by High Sucrose and High Fat diet and STZ Treated. *Chinese Journal of Applied Physiology*. 30(2):137-140

Yenita.2017. Uji Efektivitas Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Diabetes Mellitus yang Diberi Aloksan. *Jurnal Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara*. 2(2): 101-115.

Yin, Y., H. Hua, M. Li, S. Liu, Q. Kong, T. Shao, J. Wang, Y. Luo, Q. Wang, T. Luo, dan Y. Jiang. 2016. mTORC2 Promotes Type 1 Insulin-Like Growth Factor Receptor and Insulin Receptor Activation Through The Tyrosin Kinase Activity of mTOR. *Cell Research*. 26(2):46-45

Zakiah,F., D. Prijatmoko, dan M. Novita.2017.Pengaruh Status Gizi terhadap Erupsi Gigi Molar Pertama Permanen Siswa Kelas 1 SDN di Kecamatan Wilayah Kota Administrasi Jember.*e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 5(3) :469-474

Zulkarnain. 2013. Perubahan Kadar Glukosa darah Puasa Pada Tikus Sprague dawley yang Diinduksi Streptozotocin Dosis Rendah. *Jurnal Kedokteran Syah Kuala*. 13 (2).



LAMPIRAN

A. Surat Keterangan Persetujuan Etik (*Ethical Clearance*)

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
 (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH
 FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)

ETHIC COMMITTEE APPROVAL

No.586/UN25.8/KEPK/DL/2019

Title of research protocol : "Evaluation of Rats Tooth Eruption Phase from Hyperglycemia Rat Mother and Thymoquinone Treated"

Document Approved : Research Protocol

Principal investigator : Salsabila Qotrunnada

Member of research : -

Responsible Physician : Salsabila Qotrunnada

Date of approval : September- November 2019

Place of research : Laboratorium Biomedik FKG UNEJ Bagian Fisiologi dan Patologi Anatomi

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.

Jember, October 14th 2019

Dean of Faculty of Dentistry
 Universitas Jember

(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)

Chairperson of Research Ethics Committee
 Faculty of Dentistry Universitas Jember

(drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)

B. Surat Ijin Penelitian**B.1 Ijin Penelitian Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik FKG UNEJ**

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember (0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 0870 /UN25.8.TL/2019
Perihal : Ijin Penelitian

03 JUL 2019

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- | | | |
|----|------------------------|--|
| 1 | Nama | : Salsabila Qotrunnada |
| 2 | NIM | : 161610101031 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2018/2019 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perumahan Kebon Agung Indah XI/7, Lingk. Gebang Waru, Kaliwates, Kabupaten Jember, Jawa Timur |
| 6 | Judul Penelitian | : Evaluasi Fase Erupsi Gigi Anak Tikus yang Dilahirkan dari Induk Hiperglikemia dan Diterapi <i>Thymoquinone</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmakologi Ruang Hewan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yg di pinjam | : - |
| 9 | Waktu | : Juli 2019 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk mengevaluasi fase erupsi gigi anak tikus yang dilahirkan dari induk normal, induk dengan hiperglikemia, induk hiperglikemia yang diterapi metformin, dan induk hiperglikemia yang diterapi <i>thymoquinone</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Prof. drg. H. Mei Syafriadi., MDSc., PhD., Sp.PMM (K).
: 2. drg. Leni Rokhma Dewi., Sp. PM. |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

B.2 Ijin Penelitian Laboratorium Patologi Anatomi Bagian Biomedik FKG

UNEJ



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Jl. Kalimantan No. 37 Jember (0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 2690/UN25.8.TL/2019
Perihal : Ijin Penelitian

03 JUL 2019

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Salsabila Qotrunnada |
| 2 | NIM | : 161610101031 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2018/2019 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perumahan Kebon Agung Indah XI/7, Lingk. Gebang Waru, Kaliwates, Kabupaten Jember, Jawa Timur |
| 6 | Judul Penelitian | : Evaluasi Fase Erupsi Gigi Anak Tikus yang Dilahirkan dari Induk Hiperglikemia dan Diterapi <i>Thymoquinone</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : Juli 2019 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk mengevaluasi fase erupsi gigi anak tikus yang dilahirkan dari induk normal, induk dengan hiperglikemia, induk hiperglikemia yang diterapi metformin, dan induk hiperglikemia yang diterapi <i>thymoquinone</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Prof. drg. H. Mei Syafriadi., MDSc., PhD., Sp.PMM (K).
2. drg. Leni Rokhma Dewi., Sp. PM. |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

C. Perhitungan Dosis

C.1 Perhitungan Dosis *Streptozotocin*

Banyaknya Dosis : Bubuk STZ 40mg/kgBB tikus

Banyaknya pelarut : 50 mg/ml larutan *buffer* asam sitrat 0,1M dengan pH 4,5

Penelitian ini menggunakan hewan coba dengan berat badan 170 -250 gram

Dosis yang diberikan :

Berat STZ

Perhitungan = (Dosis x Berat Badan) : Konsentrasi

$$= \frac{40 \text{ mg/kg} \times 0,17 \text{ kg}}{1000 \text{ gram}} : 50 \text{ mg/ml}$$

$$= 0,13 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan larutan STZ yang digunakan untuk tikus dengan berat badan 170 gram adalah sebesar 0,13 ml

C.2 Perhitungan dosis metformin

Dosis : 100mg/kgBB

Pelarut : Aquades

Dosis yang diberikan :

Berat bubuk Metformin yang telah dihancurkan dengan *mortal pastel*

$$X = \frac{100 \text{ mg} \times 170 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} = 17 \text{ mg}$$

Dari hasil perhitungan tersebut untuk tikus dengan berat badan 170 gram larutan metformin dibuat dengan mencampur 17 mg bubuk Metformin dengan 1,5 ml larutan aquades.

C.3 Perhitungan Dosis *Thymoquinone*

Dosis : 80 mg/kg BB

Pelarut : Minyak zaitun

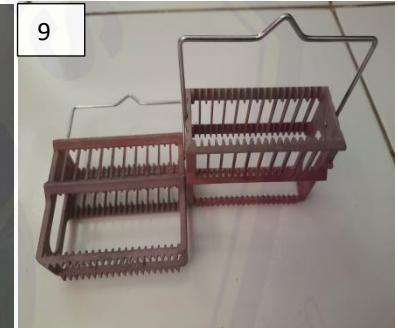
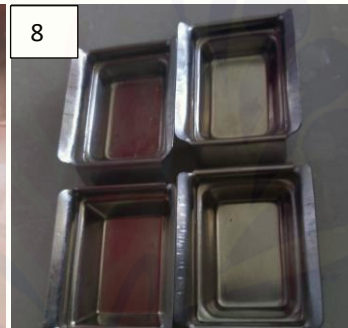
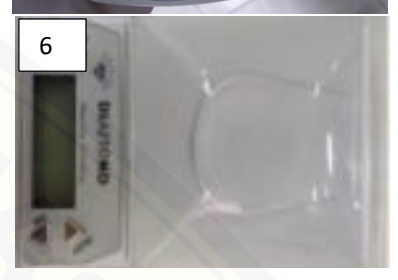
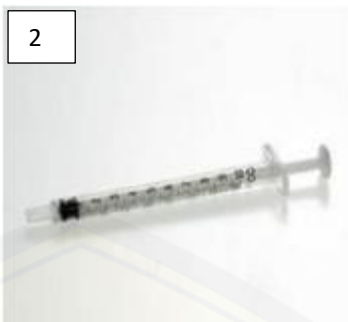
Dosis yang diberikan :

$$X = \frac{80 \text{ mg/kg} \times 170 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} = 13,6 \text{ mg}$$

Dari hasil perhitungan tersebut untuk tikus dengan berat badan 170 gram, larutan *Thyoquinone* dibuat dengan cara mencampur 12 mg *Thymoquinone* dengan 1 ml laurat minyak zaitun.

D. Alat dan Bahan Penelitian

D.1 Alat Penelitian

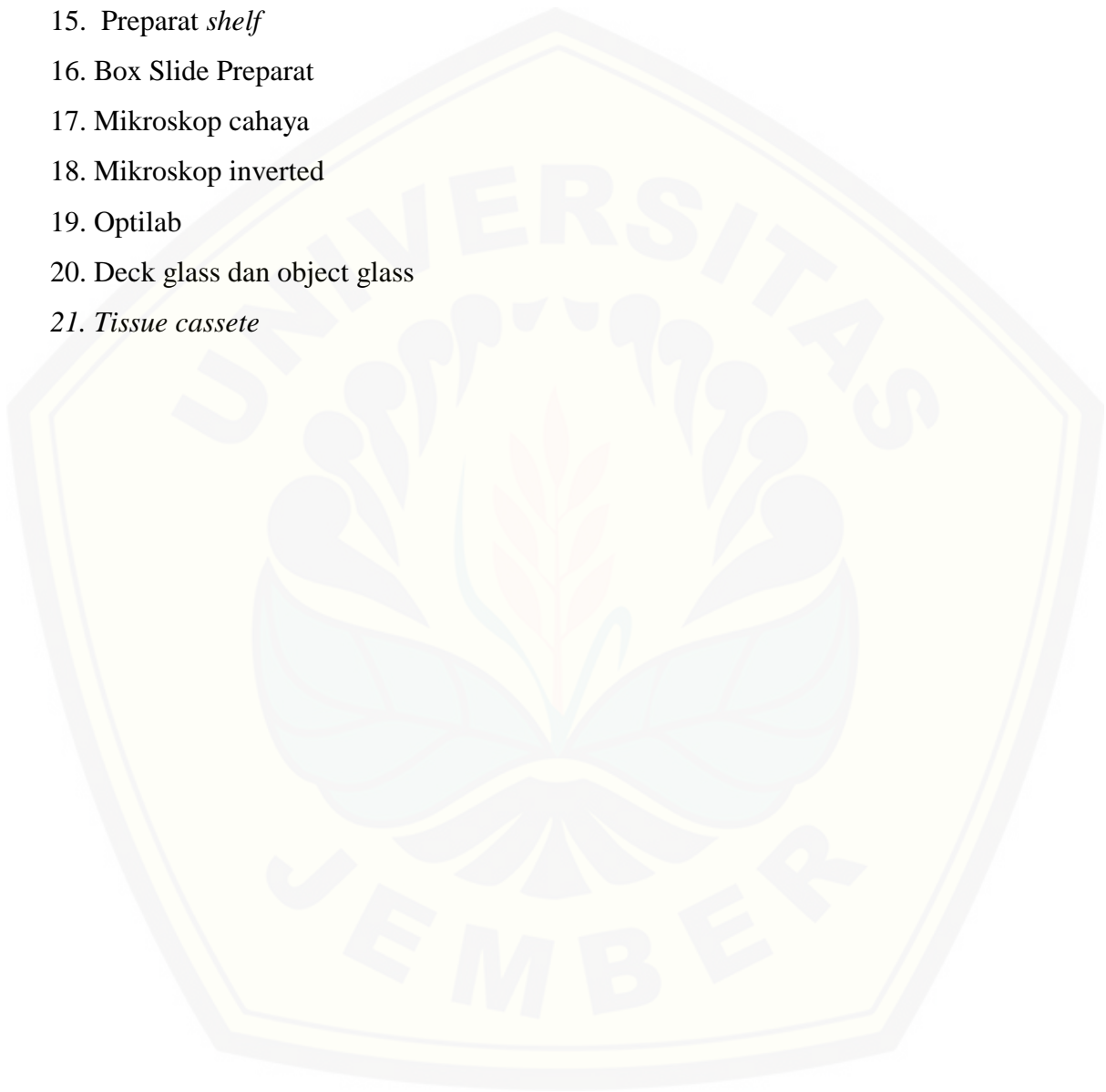




Keterangan :

1. Kandang, tempat makan, dan tempat minum tikus
2. *Disposable Syringe* 1cc
3. Glukometer dan glucometer strip
4. Alat sondase dan alat dekapitulasi
5. Timbangan
6. Timbangan Ohaus
7. Pot Jaringan
8. *Mould Base*

9. *Slide Tray*
10. Mesin *automatic processing tissue*
11. Microtom
12. Waterbath
13. *Slide Warmer*
14. Tempat pewarnaan Jaringan
15. Preparat *shelf*
16. Box Slide Preparat
17. Mikroskop cahaya
18. Mikroskop inverted
19. Optilab
20. Deck glass dan object glass
21. *Tissue cassette*



D.2 Bahan Penelitian





Keterangan :

- | | |
|--|---------------|
| 1. Streptozotocin | 10. Entelan |
| 2. Larutan <i>buffer</i> asam sitrat 0,1M pH 4,5 | 11. Eter |
| 3. Minyak Zaitun | 12. Metformin |
| 4. <i>Thymoquinone</i> | 13. Xylol |
| 5. <i>Buffer</i> formalin 10% | 14. Paraffin |
| 6. Alkohol 95% | |
| 7. <i>Hematoxillin</i> | |
| 8. <i>Ethanol</i> | |
| 9. <i>Formic acid</i> 10% | |

E. Prosedur Penelitian

<p>Persiapan dan adaptasi hewan coba</p>	<p>Pengukuran KGD hewan coba</p>
	
<p>Injeksi <i>streptozotocin</i> secara intraperitoneal</p>	<p>Perlakuan hewan coba dengan sondase</p>
	
<p>Pengukuran berat badan anak tikus</p>	<p>Euthanasia hewan coba</p>
	

Pemrosesan dan pemotongan jaringan



Pewarnaan jaringan menggunakan HE
(*Hematoxilin Eosin*)



Pengamatan menggunakan mikroskop
cahaya dan optilab 3.0



F. Perhitungan Kadar Glukosa Darah Induk Tikus Sebelum dan Sesudah Injeksi *Streptozotocin* (STZ)

Kelompok	Sampel	Pre Injeksi	Post Injeksi	H+1	H+7	H+14
		STZ	STZ			
A(Normal)	A1	95	-	69	84	84
	A2	83	-	107	66	66
	A3	94	-	103	51	51
	A4	105	-	94	66	66
	rata-rata	94.25		93.25	66.75	66.75
B (Kontrol Negatif)	B1	105	377	246	111	139
	B2	82	461	333	135	82
	B3	72	319	201	157	145
	B4	108	489	350	600	313
	rata-rata	91.75	411.50	282.50	250.75	169.75
C (Kontrol Positif)	C1	68	181	108	158	157
	C2	79	130	146	139	135
	C3	62	123	340	600	155
	rata-rata	69.67	144.67	198.00	299.00	149.00
D (<i>Thymoquinone</i>)	D1	89	127	162	161	99
	D2	72	141	107	137	99
	D3	107	432	567	125	101
	rata-rata	89.33	233.33	278.67	141.00	97.50

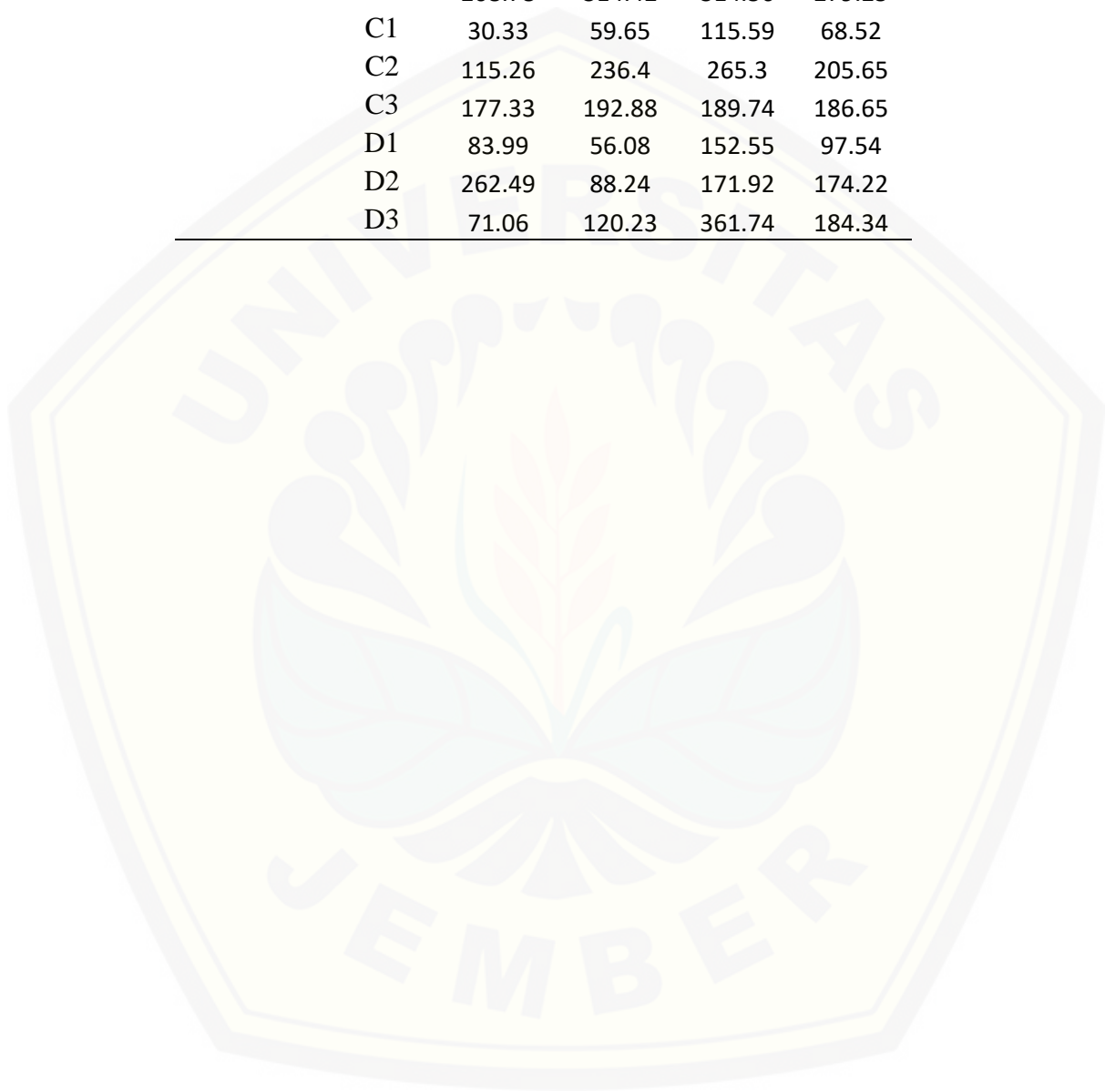
G. Perhitungan Berat Badan Anak Tikus

Kelompok	Sampel	Berat Badan Anak		
		H+1	H+7	H+14
A(Normal)	A1	7	10	24
	A2	7	14	16
	A3	6	7	14
	A4	6	10	18
	rata-rata	6.50	10.25	18.00
B (Kontrol Negatif)	B1	5	10	23
	B2	5	7	19
	B3	5	10	19
	B4	4	6	11
	rata-rata	4.75	8.25	18.00
C (Kontrol Positif)	C1	7	8	14
	C2	5	10	15
	C3	7	8	16
	rata-rata	6.33	8.67	15.00
D (<i>Thymoquinone</i>)	D1	7	9	18
	D2	5	12	18
	D3	6	7	18
	rata-rata	6.00	9.33	18.00

H. Perhitungan Pengukuran Jarak Cusp Gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan ke Epithelial Processus Alveolaris

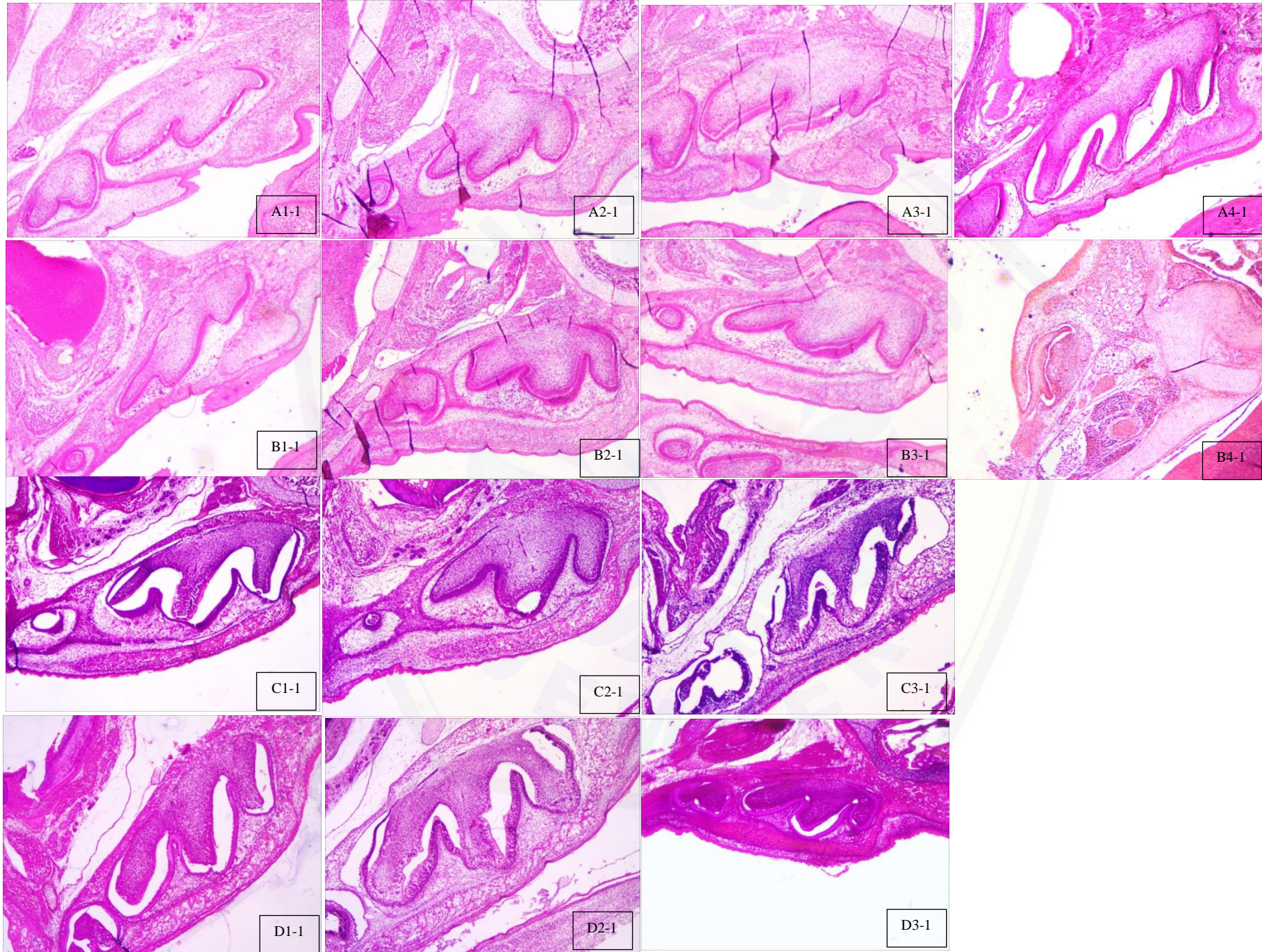
Kelompok	Sampel	JARAK MAHKOTA-EPITHELIAL PROCESSUS ALVEOLARIS			
		MESIAL	TENGAH	DISTAL	RERATA
H+1	A1	565.15	156.62	416.53	379.43
	A2	392.54	199.69	394.36	328.86
	A3	606.69	236.4	426.33	423.14
	A4	381.02	198.44	202.23	260.56
	B1	527.83	132.45	173.8	278.03
	B2	401.57	407.78	491.63	433.66
	B3	329.72	380.31	436.83	382.29
	B4	250.70	280.78	261.37	264.28
	C1	176.97	214.58	473.88	288.48
	C2	314.38	271.59	538.39	374.79
	C3	402.08	199.43	320.93	307.48
	D1	292.87	203.84	300.89	265.87
	D2	252.21	212.01	367.62	277.28
	D3	255.54	196.36	330.44	260.78
	H+7	A1	478.77	307.61	482.9
A2		270.62	404.39	423.05	366.02
A3		214.99	297.87	289.04	267.30
A4		243.05	186.12	262.86	230.68
B1		247.84	291.39	332.63	290.62
B2		535.25	357.72	289.28	394.08
B3		421.59	277.47	446.14	381.73
B4		338.51	605.57	621.27	521.78
C1		711.19	548.25	433.81	564.42
C2		204.93	246.16	228.66	226.58
C3		238.29	397.47	304.68	313.48
D1		490.81	458.12	532.36	493.76
D2		267.26	253.54	294.47	271.76
D3		280.02	256	267.8	267.94

	A1	351	241.64	245.75	279.46
	A2	56.77	90.61	237.17	128.18
	A3	62.21	108.87	283	151.36
	A4	261.75	182	240.45	228.07
	B1	199.25	265.57	394.01	286.28
	B2	219.85	91.62	332.21	214.56
H+14	B3	185.36	216.85	368.27	256.83
	B4	208.78	314.42	314.56	279.25
	C1	30.33	59.65	115.59	68.52
	C2	115.26	236.4	265.3	205.65
	C3	177.33	192.88	189.74	186.65
	D1	83.99	56.08	152.55	97.54
	D2	262.49	88.24	171.92	174.22
	D3	71.06	120.23	361.74	184.34

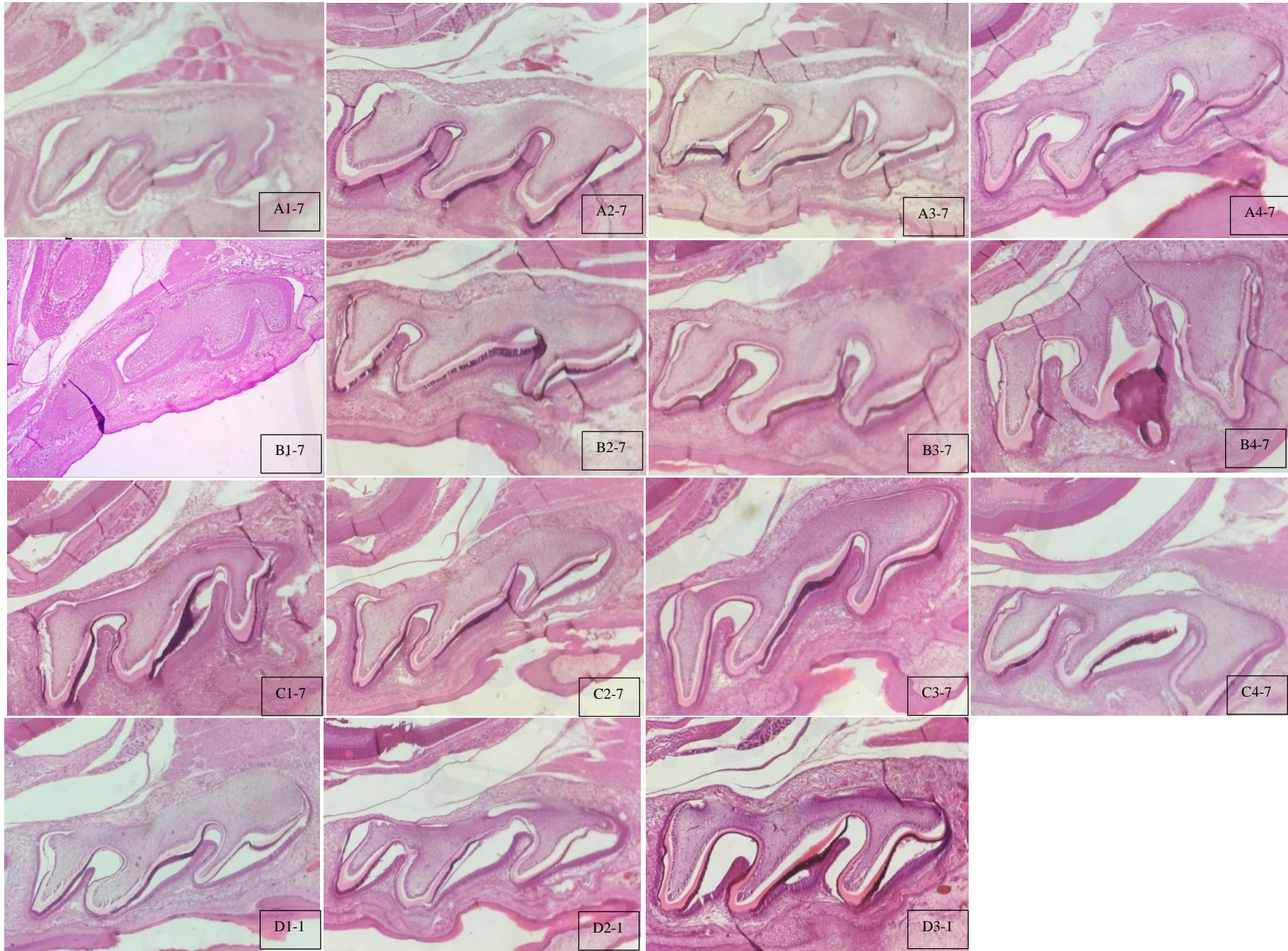


I. Gambaran Histologis Benih gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus

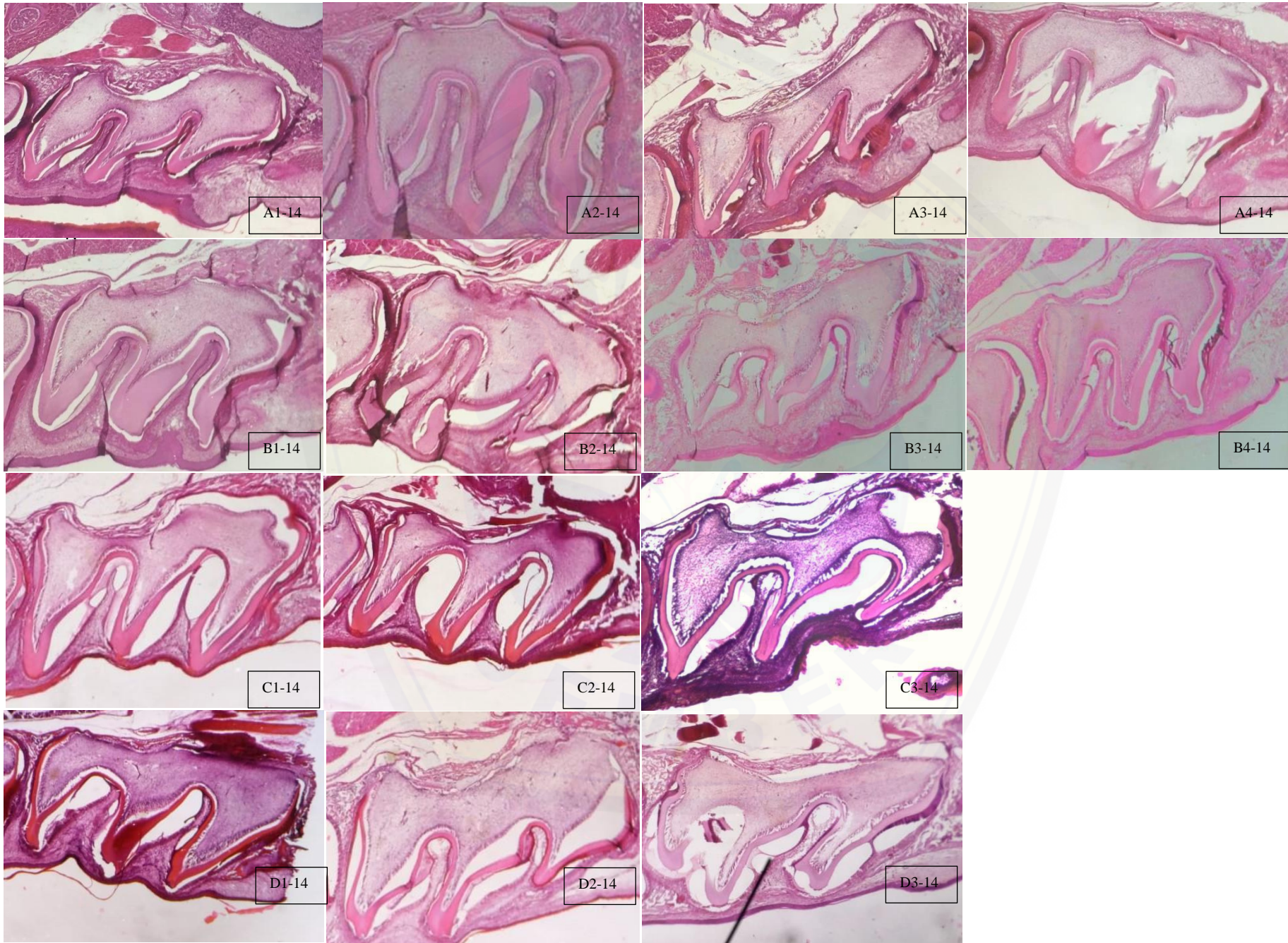
I.1 Benih Gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal Hari Ke-1



I.2 Benih Gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal Hari Ke-7



I.3 Benih Gigi Molar 1 Rahang Atas Kanan Anak Tikus Postnatal Hari Ke-14



J. Analisis Data

J.1 Hasil Analisis Data Perhitungan Kadar Gula Darah Induk Tikus dan Berat Badan

Anak Tikus Postnatal

J.1.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji *Shapiro Wilk*

KELOMPOK		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KGD Induk	Kelompok A	.268	4	.	.874	4	.312
Tikus H+1	Kelompok B	.262	4	.	.906	4	.460
	Kelompok C	.329	3	.	.869	3	.293
	Kelompok D	.345	3	.	.838	3	.209
KGD Induk	Kelompok A	.272	4	.	.941	4	.659
Tikus H+7	Kelompok B	.406	4	.	.705	4	.013
	Kelompok C	.372	3	.	.781	3	.070
	Kelompok D	.253	3	.	.964	3	.637
KGD Induk	Kelompok A	.272	4	.	.941	4	.659
Tikus H+14	Kelompok B	.348	4	.	.857	4	.250
	Kelompok C	.356	3	.	.818	3	.157
	Kelompok D	.385	3	.	.750	3	.000
Berat Badan	Kelompok A	.307	4	.	.729	4	.024
Anak Hari	Kelompok B	.441	4	.	.630	4	.001
Ke-1	Kelompok C	.385	3	.	.750	3	.000
	Kelompok D	.175	3	.	1.000	3	1.000
Berat Badan	Kelompok A	.285	4	.	.935	4	.625
Anak Hari	Kelompok B	.302	4	.	.827	4	.161
Ke-7	Kelompok C	.385	3	.	.750	3	.000
	Kelompok D	.219	3	.	.987	3	.780
Berat Badan	Kelompok A	.250	4	.	.927	4	.577
Anak Hari	Kelompok B	.329	4	.	.895	4	.406
Ke-14	Kelompok C	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Kelompok D	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

J.1.2 Hasil Uji Homogenitas dengan *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KGD Induk Hari Ke - 1	9.345	3	10	.003
KGD Induk Hari Ke - 7	4.985	3	10	.023
KGD Induk Hari Ke - 14	4.393	3	11	.029
Berat Badan Anak Hari Ke-1	1.455	3	10	.285
Berat Badan Anak Hari Ke-7	.455	3	10	.738
Berat Badan Anak Hari Ke-14	1.778	3	10	.215

J.1.3 Hasil Uji Non Parametri dengan Uji *Kruskal Wallis*

Test Statistics^{a,b}						
	KGD Induk H+1	KGD Induk H+7	KGD Induk H+14	Berat Badan Anak H+1	Berat Badan Anak H+7	Berat Badan Anak H+14
Kruskall Wallis H	8.288	8.723	8.915	6.837	1.335	2.979
df	3	3	3	3	3	3
Asymp,Sig.	.040	.033	.030	.077	.721	.395

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KELOMPOK

J.1.4 Hasil Uji Beda Non Parametri dengan Uji *Mann Whitney*a. Hasil Uji Statistik *Mann Whitney* Kadar Gula Darah Induk Tikus

Kelompok/Hari	A			B			C			D		
	1	7	14	1	7	14	1	7	14	1	7	14
A	1	-	-	.021	-	-	.034	-	-	.050	-	-
	7	-	-	-	.020	-	-	.032	-	-	.032	-
	14	-	-	-	-	.042	-	-	.020	-	-	.060
B	1	.021	-	-	-	-	.289	-	-	.480	-	-
	7	-	.020	-	-	-	-	.372	-	-	1.000	-
	14	-	-	.042	-	-	-	-	1.000	-	-	.355
C	1	.034	-	-	.289	-	-	-	-	.827	-	-
	7	-	.032	-	-	.372	-	-	-	-	.275	-
	14	-	-	.020	-	-	1.000	-	-	-	-	-
D	1	.050	-	-	.480	-	-	.827	-	-	-	-
	7	-	.032	-	-	1.000	-	-	.275	-	-	-
	14	-	-	.060	-	-	.355	-	-	.240	-	-

A: Kelompok Kontrol; B: Kelompok Kontrol Negatif; C: Kelompok Kontrol Positif; D: Kelompok Perlakuan

b. Hasil Uji Statistika *Mann Whitney* Berat Badan Anak Tikus

Kelompok/ Hari	A			B			C			D		
	1	7	14	1	7	14	1	7	14	1	7	14
A	1	-	-	.017	-	-	1.000	-	-	.445	-	-
	7	-	-	-	.278	-	-	.459	-	-	.589	-
	14	-	-	-	-	.772	-	-	.280	-	-	.714
B	1	.017	-	-	-	-	.076	-	-	.079	-	-
	7	-	.278	-	-	-	-	.711	-	-	.589	-
	14	-	-	.772	-	-	-	-	.285	-	-	.280
C	1	1.000	-	-	.076	-	-	-	-	.637	-	-
	7	-	.459	-	-	.711	-	-	-	-	.825	-
	14	-	-	.280	-	-	.285	-	-	-	-	.046
D	1	.445	-	-	.079	-	-	.637	-	-	-	-
	7	-	.589	-	-	.589	-	-	.825	-	-	-
	14	-	-	.714	-	-	.280	-	-	.046	-	-

A: Kelompok Kontrol; B: Kelompok Kontrol Negatif; C: Kelompok Kontrol Positif; D: Kelompok Perlakuan

J.2 Hasil Analisis Data Perhitungan Rata-Rata Jarak Cusp Gigi Ke Epithelial
Processus Alveolaris

J.2.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji *Shapiro Wilk*

KELOMPOK		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
RERATA Jarak Cusp H+1	Kelompok A	.174	4	.	.986	4	.934
	Kelompok B	.274	4	.	.889	3	.376
	Kelompok C	.305	3	.	.905	3	.403
	Kelompok D	.265	3	.	.953	3	.584
RERATA Jarak Cusp H+7	Kelompok A	.231	4	.	.941	4	.660
	Kelompok B	.262	4	.	.955	4	.745
	Kelompok C	.289	3	.	.927	3	.478
	Kelompok D	.380	3	.	.763	3	.028
RERATA Jarak Cusp H+14	Kelompok A	.243	4	.	.934	4	.620
	Kelompok B	.232	4	.	.897	4	.417
	Kelompok C	.338	3	.	.852	3	.245
	Kelompok D	.347	3	.	.836	3	.204

a. Lilliefors Significance Correction

J.2.2 Hasil Uji Homogenitas dengan Uji *Levene*

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Rata-Rata Jarak Cusp Hari Ke-1	4.552	3	10	.029
Rata-Rata Jarak Cusp Hari Ke-7	1.135	3	10	.381
Rata-Rata Jarak Cusp Hari Ke-14	2.250	3	10	.145

J.2.3 Hasil Uji Non Parametri dengan Uji *Kruskal Wallis*

Test Statistics^{a,b}			
	Rata-Rata Jarak Cusp Hari Ke-1	Rata-Rata Jarak Cusp Hari Ke-7	Rata-Rata Jarak Cusp Hari Ke-14
Kruskall Wallis H	3.224	1.476	6.181
df	3	3	3
Asymp,Sig.	.358	.688	.103

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KELOMPOK

J.2.4 Hasil Uji Beda dengan *Mann Whitney* Jarak Cusp Benih Gigi Anak Tikus ke Epithelial Processus Alveolaris

Kelompok/Hari	A			B			C			D			
	1	7	14	1	7	14	1	7	14	1	7	14	
A	1	-	-	-	.773	-	-	.480	-	-	.289	-	-
	7	-	-	-	-	.248	-	1.000	-	-	.480	-	-
	14	-	-	-	-	-	.248	-	-	.480	-	-	.480
B	1	.773	-	-	-	-	1.000	-	-	.157	-	-	-
	7	-	.248	-	-	-	-	.724	-	-	.289	-	-
	14	-	-	.248	-	-	-	-	-	.034	-	-	.034
C	1	.480	-	-	1.000	-	-	-	-	.827	-	-	-
	7	-	1.000	-	-	.724	-	-	-	-	.593	-	-
	14	-	-	.480	-	-	.034	-	-	-	-	-	.513
D	1	.289	-	-	.157	-	-	.827	-	-	-	-	-
	7	-	.480	-	-	.289	-	-	.593	-	-	-	-
	14	-	-	.480	-	-	.034	-	-	.513	-	-	-