



**EFEK KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS  
PADA TULANG ALVEOLAR DAERAH TARIKAN  
GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*) JANTAN  
YANG DI INDUKSI GAYA MEKANIS  
ORTODONTI**

**SKRIPSI**

Oleh

**Tatit Fitri Pusparani**

**NIM 111610101033**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**EFEK KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS  
PADA TULANG ALVEOLAR DAERAH TARIKAN  
GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*) JANTAN  
YANG DI INDUKSI GAYA MEKANIS  
ORTODONTI**

**SKRIPSI**

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

Oleh

Tatit Fitri Pusparani

NIM 111610101033

**BAGIAN HISTOLOGI DAN ORTODONSIA  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Orang tuaku tercinta, ibunda Mudjiati dan ayahanda Joko Udiyono.
2. Kakak-kakakku Tika Yulia Estuningtyas Widyastuti dan Rachmad Priyandoko, dan adikku Aira Rakanisa Aulia
3. Pahlawan tanpa tanda jasa yang telah mendidikku di TK Dharma Wanita RSJP Lawang, SDN 03 Lawang, SMPN 01 Singosari, dan SMAN 01 Lawang.
4. Almamaterku tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka  
mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri  
(terjemahan surat Ar-Ra'd ayat 11)<sup>\*)</sup>

Sesungguhnya Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan  
kesanggupannya  
(terjemahan Surat Al-Baqarah ayat 286)<sup>\*)</sup>

*I have to finish what I've been started.*<sup>\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*.  
Bandung: PT. Syaamil Cipta Media

<sup>\*\*)</sup> Susanto, Alitt. 2012. *Skripshit*. Jakarta :Bukuné.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tatit Fitri Pusparani

NIM : 111610101033

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “**Efek Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Tulang Alveolar Daerah Tarikan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti**” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember,

Yang menyatakan,

Tatit Fitri Pusparani

NIM 111610101033

**SKRIPSI**

**EFEK KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS PADA  
TULANG ALVEOLAR DAERAH TARIKAN  
GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*) JANTAN  
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS**

**ORTODONTI**

Oleh

**Tatit Fitri Pusparani**

**NIM 111610101033**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Yenny Yustisia, M.Biotech

**PENGESAHAN**

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

hari, tanggal : Kamis, 3 Maret 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

**Prof. drg. Dwi Prijatmoko, S.H., Ph.D**  
NIP 195808041983031003

**drg. Izzata Barid., M.Kes**  
NIP 196805171997022001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

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

**drg. Yenny Yustisia, M.Biotech**  
NIP 197903252005012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

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

## RINGKASAN

**Efek Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Tulang Alveolar Daerah Tarikan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti;** Tatit Fitri Pusparani, 111610101033; 2016; 65 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pergerakan gigi pada perawatan ortodonti memiliki prinsip bahwa induksi gaya mekanis yang diberikan pada kurun waktu tertentu pada gigi akan menimbulkan perubahan pada jaringan periodontal di sekeliling gigi yang akan digerakkan. Pada perawatan ortodonti ini, gaya mekanis didapatkan dari pengaplikasian alat ortodonti cekat maupun lepasan. Gaya mekanis yang diaplikasikan haruslah adekuat, yang berarti induksi gaya ini tidak boleh kurang bahkan berlebih. Gaya mekanis yang adekuat diperlukan untuk menginduksi pergerakan gigi melalui proses remodeling tulang, yang merupakan suatu proses kompleks dalam metabolisme tulang. Pada remodeling tulang terdapat dua proses penting yaitu proses resorpsi oleh sel osteoklas pada daerah tekanan dan proses aposisi oleh sel osteoblas pada daerah tarikan. Proses remodeling tulang ini dinyatakan berhasil apabila proses resorpsi dan aposisi pada tulang berjalan seimbang. Sel osteoblas merupakan sel yang berperan penting dalam proses remodeling tulang ini. Jumlah sel osteoblas pada tulang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah konsumsi kafein, yang diduga mampu mempengaruhi metabolisme tulang, khususnya sel osteoblas.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek kafein terhadap jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti. Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilaksanakan pada bulan Januari-April 2015. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, serta Laboratorium Histologi



Patologi Anatomi Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya. Populasi penelitian adalah hewan coba marmut dengan nama latin *Cavia cobaya* sebanyak 6 ekor dalam setiap kelompok. Kelompok terdiri atas 4 kelompok perlakuan dengan pemasangan karet separator ortodonti selama 2 dan 3 minggu, serta kelompok karet ortodonti dan kafein selama 2 dan 3 minggu. Setelah proses perlakuan selesai, hewan coba dikorbankan dengan menggunakan ketamin dosis letal kemudian dipotong pada bagian insisivus rahang atas dan dilakukan pemrosesan jaringan histologi.

Hasil penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa jumlah sel osteoblas menurun pada pemakaian karet separator ortodonti 3 minggu dan semakin menurun setelah penambahan kafein. Jumlah sel osteoblas terendah terdapat pada kelompok perlakuan karet separator dan kafein 3 minggu. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat ditarik kesimpulan bahwa kafein dapat menurunkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut yang diinduksi gaya mekanis ortodonti. Jumlah sel osteoblas menurun seiring dengan lamanya waktu pemakaian alat ortodonti dan kafein.

## PRAKATA

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

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

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember beserta jajarannya;
2. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan drg. Yenny Yustisia, M.Biotech., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak meluangkan waktu dan pikirannya guna memberikan bimbingan selama penyusunan skripsi ini;
3. Prof. drg. Dwi Prijatmoko, Ph.D., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota. Terima kasih telah memberikan ilmu yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini;
4. Drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes dan drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG selaku dosen pembimbing akademik yang memberikan nasihat dan motivasi;
5. Ibunda Mudjiati dan ayahanda Joko Udiyono. Berjuta kata terimakasih tidak dapat menggantikan semua yang telah kalian berikan. Terimakasih telah menjadi pendengar, motivator dan pembimbing yang setia selama ini;
6. Kakakku Tika Yulia, Rachmad Priyandoko dan adikku Aira Rakanisa Aulia yang bersedia mendengar keluh-kesahku dan tiada hentinya untuk menghibur dan memberikan semangat dikala suntuk melanda;

7. Siska, mbak Mala, mbak Vina, mbak Aul, mbak Mustika, mbak Icha, Jeje, Wulan, Medina, Aulia yang telah menjadi keluarga satu atap diranah rantau ini, terima kasih atas segala cerita, canda tawa, motivasi, pelajaran, dan kebersamaan yang telah kalian berikan.
8. Rhanifda Amvitasari yang telah menjadi partner kerjadalam suka maupun duka dalam penelitian ini, serta teman-teman pejuang hitologi Annisa Dian, Ayoek, Vira, Ndaru, dan Malun terimakasih sudah membantu dan berbagi dalam penelitian ini.
9. Sahabat-sahabatku Dian Permana, Rahmad Purnomo, Ginanjar Hardika, Artha Shabillah Shakti, Hendji Septian Haris Chandra yang sudah meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk mendengarkan keluh-kesahku. Terimakasih atas nasehat dan pelajaran yang telah kalian berikan.
10. Keluarga besar Paduan Suara Mahasiswa Universitas Jember pak Lilik, Mas Didung, om Deni, mbak Ifa, mbak Ing, Chintami, Miu, Aji, Adi, Anggita, Jery, Fitroni, dan rekan PSTF lainnya, yang sudah memberi keceriaan, motivasi dan doa untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
11. Pejuang DIC yang memberikan dukungan dan saling mengingatkan satu sama lain Asyiah, Erfin, Redo, Dewi, Sheila, Riza, Deo, Intan, Lita, Tiara, Khamda, Inneke, perjuangan ini belum berakhir kawan.
12. Seluruh teman FKG 2011 yang telah mewarnai hari-hari perkuliahan;
13. Teknisi Lab Fisiologi FKG Universitas Jember mas Agus, teknisi Lab Histologi FKG Universitas Jember mbak Wahyu, Teknisi Lab Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Jember Pak Darma dan teknisi Lab HPA rs. Dr. Sutomo Surabaya mbak Tyas. Terima kasih atas bantuannya selama proses penelitian berlangsung;
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

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

Penulis



DAFTAR ISI

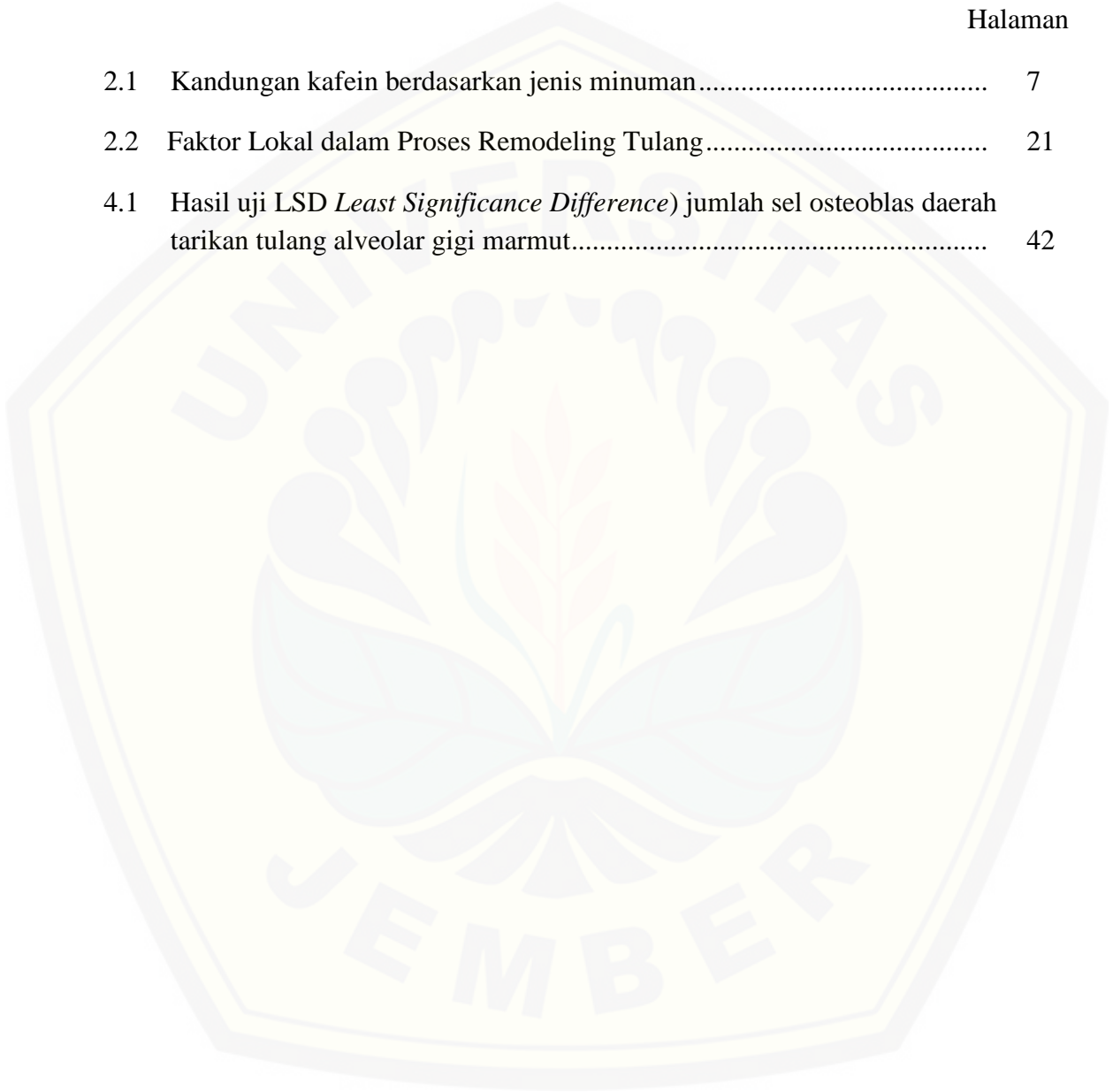
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Kafein .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Definisi Kafein.....	6
2.1.2 Kandungan kafein pada minuman .....	5
2.1.3 Efek Kafein .....	7
<b>2.2 Sel Osteoblas.....</b>	<b>10</b>
2.2.1 Osteoblas dan Pembentukan Tulang .....	11

2.2.2 Osteoblas dan Remodeling Tulang .....	11
<b>2.3 Tulang Alveolar.....</b>	<b>12</b>
2.3.1 Tulang Alveolar pada Manusia .....	12
2.3.2 Tulang Alveolar pada Marmut ( <i>Cavia cobaya</i> ) .....	13
<b>2.4 Pergerakan Gigi secara Ortodonti .....</b>	<b>15</b>
2.4.1 Teori Pergerakan Gigi .....	15
2.4.2 Pergerakan Gigi Ortodonti .....	16
2.4.3 Durasi Kekuatan Ortodonti .....	18
<b>2.5 Proses Remodeling Tulang.....</b>	<b>19</b>
2.5.1 Fase Remodeling Tulang .....	22
<b>2.6 Hipotesis.....</b>	<b>24</b>
<b>2.7 Kerangka Konsep.....</b>	<b>25</b>
<b>BAB 3. METEDOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4 Sampel Penelitian.....</b>	<b>26</b>
3.4.1 Kriteria Sampel Penelitian .....	26
3.4.2 Besar Sampel Penelitian .....	27
<b>3.5 Identifikasi Variabel Penelitian .....</b>	<b>28</b>
3.5.1 Variabel Bebas .....	28
3.5.2 Variabel Terikat .....	28
3.5.3 Variabel Terkendali .....	28
<b>3.6 Definisi Operasional.....</b>	<b>28</b>
3.6.1 Kafein.....	28
3.6.2 Jumlah Sel Osteoblas .....	29
3.6.3 Induksi Gaya Mekanis .....	29
<b>3.7 Bahan dan Alat Penelitian.....</b>	<b>29</b>

3.7.1 Bahan Penelitian .....	29
3.7.2 Alat Penelitian.....	30
<b>3.8 Konversi Perhitungan Dosis.....</b>	<b>31</b>
<b>3.9 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>31</b>
3.9.1 Perijinan <i>Ethical Clearance</i> .....	31
3.9.2 Persiapan Hewan Coba .....	32
3.9.3 Pembagian Kelompok Perlakuan .....	32
3.9.4 Perlakuan Hewan Coba.....	32
3.9.5 Tahap Pembuatan Sediaan .....	33
3.9.6 Tahap Penghitungan Jumlas Sel Osteoblas.....	36
<b>3.10 Analisis Data.....</b>	<b>37</b>
<b>3.11 Alur Penelitian .....</b>	<b>38</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>43</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>47</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan kafein berdasarkan jenis minuman.....	7
2.2 Faktor Lokal dalam Proses Remodeling Tulang.....	21
4.1 Hasil uji LSD ( <i>Least Significance Difference</i> ) jumlah sel osteoblas daerah tarikan tulang alveolar gigi marmut.....	42





**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur Kimia Kafein 1,3,7 – <i>trimethylxanthine</i> .....	4
2.2 Jaringan Histologi Sel Osteoblas .....	11
2.3 Gambaran Histologis Gigi Marmut .....	14
2.4 Fase Remodeling Tulang .....	23
4.1 Diagram batang rata-rata jumlah sel osteoblas pada daerah tarikan tulang alveolar gigi marmut pada tiap kelompok.....	39
4.2 Gambar histologi gigi marmut jantan dengan perbesaran 100x .....	40
4.3 Gambar histologi sel osteoblas pada daerah tarikan dengan waktu perlakuan 2 minggu dan 3 minggu, perbesaran 400x .....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penghitungan Jumlah Sel Osteoblas .....	52
B. Uji normalitas <i>Kolmogorov-smirniiov</i> .....	53
C. Uji <i>Levene</i> .....	54
D. Uji <i>One-way Anova</i> .....	55
E. Uji LSD ( <i>Least Significance Difference</i> ) .....	56
F. Ethical Clearance .....	57
G. Foto Alat dan Bahan Penelitian .....	58
H. Foto Hasil Penelitian .....	62

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1.Latar Belakang

Pergerakan gigi pada perawatan ortodonti memiliki prinsip bahwa induksi gaya mekanis yang diberikan pada kurun waktu tertentu pada gigi akan menimbulkan perubahan pada jaringan periodontal di sekeliling gigi yang akan digerakkan (Putri dkk., 2013). Pada perawatan ortodonti ini, gaya mekanis didapatkan dari pengaplikasian alat ortodonti cekat maupun lepasan. Gaya mekanis yang diaplikasikan haruslah adekuat, yang berarti induksi gaya ini tidak boleh kurang bahkan berlebih. Gaya mekanis yang adekuat diperlukan untuk menginduksi pergerakan gigi melalui proses remodeling tulang, yang merupakan suatu proses kompleks dalam metabolisme tulang. Adanya induksi gaya mekanis pada gigi akan menyebabkan timbulnya dua daerah pada jaringan pendukung gigi, yaitu daerah tekanan dan tarikan (Sartika dkk., 2013). Pada remodeling tulang, terdapat dua proses penting pada dua daerah tersebut, yaitu proses resorpsi oleh sel osteoklas yang terjadi pada daerah tekanan dan proses aposisi oleh sel osteoblas pada daerah tarikan. Proses remodeling tulang ini dinyatakan berhasil apabila proses resorpsi dan aposisi pada tulang berjalan seimbang (Kini dan Nandeesh, 2012).

Induksi gaya mekanis ortodonti akan menimbulkan reaksi jaringan dan sel (Sartika dkk., 2013). Gaya mekanis yang dihasilkan oleh alat ortodonti akan mengakibatkan peningkatan produksi prostaglandin karena adanya aktivasi dari COX-2 (*Cyclooxygenase*). Enzim COX-2 ini merupakan enzim yang dapat meregulasi perbaikan tulang (Fracon dkk., 2008). Produksi prostaglandin khususnya prostaglandin E2 (PGE-2) dapat menstimulasi diferensiasi *Mesenchymal Stem Cells* (MSC) menjadi sel osteoblas melalui aktivasi *transcription factor* Cbfa-1 dan osterix (Zhang dkk., 2002). Proses diferensiasi awal sel osteoblas dapat ditandai dengan adanya peningkatan ALP (alkalin phosphatase) (Tsuang dkk., 2006).

Peningkatan produksi prostaglandin oleh karena adanya induksi gaya mekanis juga dapat memicu teraktifasinya dan meningkatnya cAMP (*Cyclic Adenosil Monophosphat*) yang akan memicu proses proliferasi sel osteoblas untuk melakukan tugasnya dalam proses perbaikan tulang (Ruth, 2004). Sel osteoblas, kemudian akan mengeluarkan mediator-mediator lainnya, seperti RANKL (*Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B Ligand*) dan M-CSF (*Macrophage-Colony Stimulating Factor*) yang dapat mempengaruhi diferensiasi awal sel osteoklas (Liu dkk., 2011). Di lain pihak osteoblas juga memproduksi OPG (*osteoprotegerin*) dan mengekspresikan VDR (*vitamin D receptor*) (Neve dkk., 2010).

Kafein merupakan substansi farmakologi aktif yang sering digunakan dan secara alami terkandung dalam tumbuhan kopi, coklat dan teh, serta dapat ditemukan pada minuman berkarbonasi, dan suplemen penambah energi (Mitchell dkk., 2013). Kafein ini memiliki struktur kimia 1,3,7-*trimethylxanthine* (Heckman dkk., 2010). Pengaruh kafein dalam metabolisme tulang masih menjadi perdebatan pada saat ini. Liu dkk., (2011) menyatakan bahwa kafein dapat mempengaruhi metabolisme tulang, namun hal ini juga dipengaruhi dosis kafein yang dikonsumsi.

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Liu dkk., (2011) secara *in vitro*, pemberian kafein dosis 0.005-0.1 mM selama 24 jam dapat memicu peningkatan diferensiasi sel osteoklas melalui peningkatan RANKL, namun tidak mempengaruhi viabilitas dan diferensiasi sel osteoblas. Pada penelitian yang dilakukan secara *in vivo* pada tikus Wistar jantan dengan konsumsi kafein sebanyak 22 mg/hari dan 44 mg/hari selama 20 minggu, terjadi penurunan BMD (*Bone Mineral Density*) karena adanya peningkatan osteoklastogenesis. Lacerda dkk., (2010) menyatakan bahwa kafein yang diberikan selama 6 minggu pada tikus dengan dosis setara dengan 240 mL/hari pada manusia, dapat menurunkan BMD dan menghambat proses perbaikan tulang. Zhou dkk., (2010) juga melaporkan bahwa kafein dapat menurunkan kemampuan diferensiasi MSC (*Mesenchymal Stem Cells*) menjadi sel osteoblas melalui penurunan *Cbfa-1*. Kafein juga mampu menurunkan ALP (*alkalin*

phosphatase) dan ekspresi VDR (*vitamin D receptor*) pada permukaan sel osteoblas (Rapuri dkk., 2007).

Uraian di atas menyatakan bahwa, sel osteoblas berperan penting dalam proses remodeling tulang, terutama dalam proses aposisi tulang pada daerah tarikan, serta terdapat perbedaan waktu yang digunakan pada penelitian sebelumnya mengenai pengaruh kafein terhadap metabolisme tulang. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui efek kafein dan pengaruh perbedaan jangka waktu pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti

### **1.2.Rumusan Masalah**

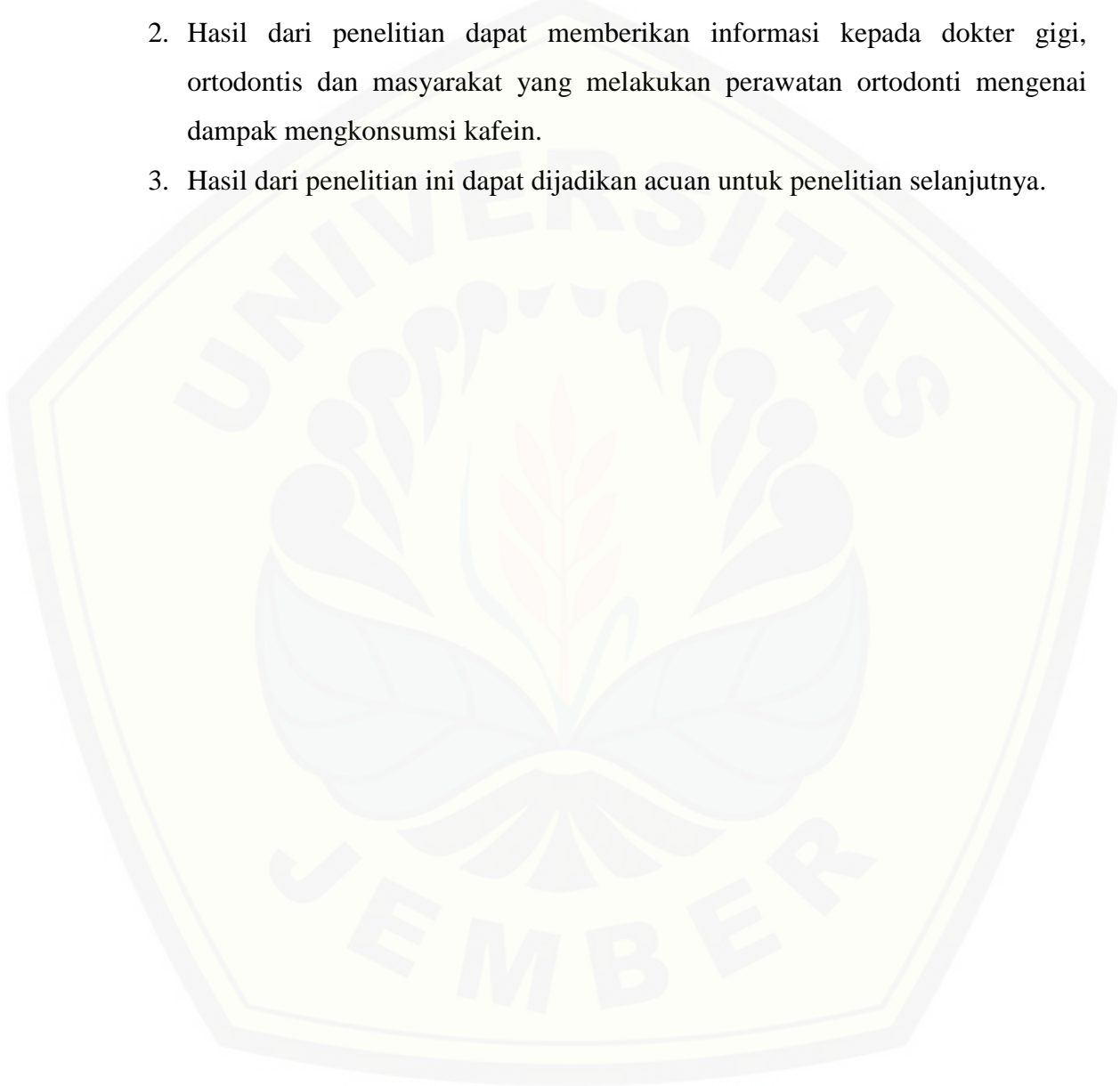
1. Apakah kafein dapat menurunkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti?
2. Apakah terdapat pengaruh jangka waktu pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti?

### **1.3.Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui efek kafein terhadap jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.
2. Untuk mengetahui pengaruh jangka waktu pemberian kafein terhadap jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

1. Hasil dari penelitian dapat memberikan informasi dampak positif dan negatif kafein pada proses pergerakan gigi secara ortodonti
2. Hasil dari penelitian dapat memberikan informasi kepada dokter gigi, ortodontis dan masyarakat yang melakukan perawatan ortodonti mengenai dampak mengkonsumsi kafein.
3. Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.

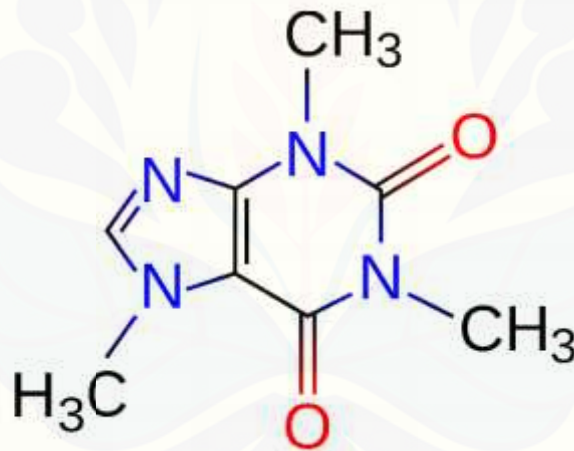


## BAB 2. TINJAUAN PUTAKA

### 2.1 Kafein

#### 2.1.1 Definisi Kafein

Kafein merupakan keluarga dari golongan metilxantin yang banyak terkandung pada beberapa makanan, minuman, obat-obatan dan suplemen (Rapuri dkk., 2006). Kafein secara alami terdapat pada tumbuhan kopi, teh dan coklat, dapat juga ditemukan pada minuman berkarbonasi dan suplemen penambah energi (Mitchell dkk., 2014). Muchtadi (2010), menyatakan bahwa kafein dapat larut dalam air dan memiliki aroma wangi namun memberikan cita rasa yang pahit.



Gambar 2.1 Struktur Kimia Kafein 1,3,7 – *trimethylxanthine*  
(Sumber : Heckman dkk., 2010)

Kafein dalam bentuk murni muncul sebagai bedak kristal putih yang pahit dan tidak berbau. Rumus kimianya adalah  $C_8H_{10}N_4O_2$  dan memiliki nama kimia 1,3,7-trimethylxanthine. Nama IUPAC untuk kafein adalah *1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione, 3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione*. Beberapa sifat fisik kafein (Mumin dkk., 2006):

Berat molekul : 194.19 g/mol

Densitas	: 1.23 g/cm <sup>3</sup> , solid
Titik leleh	: 227–228 °C (anhydrous) 234–235 °C (monohydrate)
Titik didih	: 178 °C subl.
Kelarutan dalam air	: 2.17 g/100 ml (25 °C) 18.0 g/100 ml (80 °C) 67.0 g/100 ml (100 °C)
Keasaman	: -0,13 – 1,22 pKa
Momen dipole	: 3.64 D

### 2.1.2 Kandungan Kafein pada Minuman

Kafein merupakan seyawa yang terpenting dalam biji kopi. Jenis kopi yang banyak beredar di Indonesia adalah kopi Robusta dan kopi Arabica. Rahardian (2009), mengatakan bahwa kandungan kafein dalam biji kopi Robusta lebih banyak dibandingkan pada kopi Arabika. Pada kopi Robusta terdapat 2% kandungan kafein. Muchtadi (2010), menyatakan bahwa kafein dapat larut dalam air dan memiliki aroma wangi namun memberikan cita rasa yang pahit.

Kafein tidak hanya terdapat pada kopi namun juga pada tumbuhan teh, coklat, minuman berkarbonasi, dan minuman berenergi. Survei responden yang telah dilakukan Diane C. Mitchell dkk (2013) didapatkan data konsumsi kafein dalam miligram kafein per ons cairan dari 7 hari konsumsi minuman yang mengandung kafein.



Tabel 2.1 Kandungan kafein berdasarkan jenis minuman

No.	Jenis minuman	Kandungan kafein (mg)
1.	Kopi	
	• Kopi berkafein	11.9
	• Kopi dengan tambahan rasa ( <i>latte, mocha, cappuccino, Americano</i> )	7.9 – 15.8
	• Kopi <i>espresso</i>	46.7 – 62.8
	• Kopi dalam kaleng	4.1 – 20.0
	• Kopi bebas kafein	0.25
2.	Minuman berkarbonasi	3.0
3.	Teh	
	• Teh hitam	5.9
	• Teh hijau	3.1
	• Teh putih	1.9
	• Teh bubuk instant	1.4 – 5.9
	• Teh berkemasan dalam botol	2.0
4.	Minuman berenergi	10.0
5.	Coklat	0.2 - 20

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

### 2.1.3 Efek Konsumsi Kafein

Dewasa ini, konsumsi kafein masyarakat semakin meningkat. Hal ini dipicu maraknya produksi minuman berenergi, minuman berkarbonasi dan aneka olahan tumbuhan kopi, teh dan coklat dalam berbagai macam kemasan, rasa dan bentuk

(Mitchell dkk., 2014). Namun, dampak dari mengkonsumsi kafein hingga saat ini masih diperdebatkan. Kafein memiliki efek positif dan negatif di dalam tubuh manusia (Ific Review, 2008).

#### 2.1.3.1 Dampak Postif Konsumsi Kafein

Ific (*International Food Information Council*) pada tahun 2008 mengkaji beberapa dampak positif mengkonsumsi kafein seperti mengurangi resiko penyakit diabetes melitus tipe 2. Hal ini dibuktikan dengan adanya penelitian yang telah dilakukan oleh Keijzers dkk (2002) bahwa kafein dapat meningkatkan metabolisme glukosa. Konsumsi kopi sekurang-kurangnya 6 cup per hari dapat menurunkan 54% resiko diabetes melitus tipe 2 daripada orang yang tidak mengkonsumsi kopi sama sekali.

Kafein juga bermanfaat menurunkan resiko kanker hati, cirrhosis (inflamasi kronis pada hati), meingkatkan daya tahan otot pada atlet dengan mengkonsumsi enam hingga delapan cup per hari (Bruce dkk., 2000). Kafein memiliki efek relaksasi otot polos, merangsang susunan saraf pusat, otot jantung dan meningkatkan diuresis. Pada pembuluh darah, kafein menyebabkan dilatasi pembuluh darah termasuk pembuluh darah koroner dan pulmonal (Farmakologi UI, 1995).

#### 2.1.3.2 Efek Kafein terhadap Metabolisme Tulang

Pengaruh kafein pada metabolisme tulang masih menjadi perdebatan saat ini. Heaney (2002) menyatakan bahwa mengkonsumsi kafein tidak menimbulkan efek negatif pada tulang, namun hal ini harus diikuti dengan konsumsi kalsium setiap harinya. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Liu dkk (2011) baik secara in vitro maupun in vivo di dapatkan hasil bahwa kafein mampu mereduksi *Bone Mineral Density* (BMD) karena adanya peningkatan osteoklastogenesis. Pada penelitian secara in vitro dengan kafein dosis 0.005-0.01 mM selama 24 jam didapatkan, bahwa kafein tidak memiliki efek pada viabilitas sel dan diferensiasi sel osteoblas, namun

secara signifikan mampu meningkatkan diferensiasi sel osteoklas dan proses resorpsi tulang. Kafein dengan dosis rendah dapat memicu peningkatan ekspresi RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand*) dan menurunkan produksi OPG (osteoprotegerin) pada sel osteoblas melalui peningkatan COX-2 (*Cyclooxygenase*) maupun peningkatan PGE-2 (Prostaglandin E2). Secara in vivo yang dilakukan pada tikus Wistar jantan dengan konsumsi kafein sebanyak 22 mg/hari dan 44 mg/hari selama 20 minggu, menunjukkan adanya penurunan BMD. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan RANKL yang dapat memicu peningkatan osteoklastogenesis yang kemudian memicu resorpsi tulang. Lacerda dkk., (2010) menyatakan bahwa kafein yang diberikan selama 6 minggu pada tikus dengan dosis setara dengan 240 mL/hari pada manusia, dapat menurunkan BMD dan menghambat proses perbaikan tulang.

Rapuri, dkk (2006) menyatakan bahwa konsumsi kafein berlebih dapat menurunkan *Bone Mineral Density* (BMD) melalui penurunan ekspresi VDR (*Vitamin D Receptor*) dan ALP (alkalin phosphatase). Sel osteoblas mengekspresikan VDR agar dapat berikatan dengan  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  yang kemudian memodulasi proliferasi sel dan menstimulasi diferensiasi sel osteoblas.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  merupakan salah satu pengatur utama untuk regulasi homeostasis kalsium dalam tubuh dan meregulasi sel osteoblas dalam perbaikan tulang dan sel osteoklas dalam meresorpsi tulang.

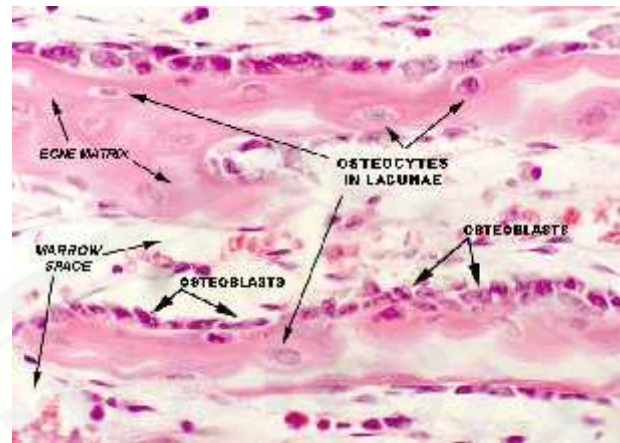
Pada sel osteoblas, kafein dapat mempengaruhi metabolisme sel osteoblas. Kafein juga mampu menurunkan *transcription factor* Cbfa1/Runx2 yang berperan dalam stimulasi diferensiasi MSC (*Mesenchymal Stem Cells*) menjadi sel osteoblas (Zhou dkk., 2010). Tsuang dkk (2006) menyatakan bahwa kafein dapat menurunkan viabilitas sel osteoblas secara signifikan pada hari ketujuh perlakuan. Hal ini ditandai dengan penurunan reaksi terhadap ALP (*alkaline phosphatase*) dan pewarnaan *von-Kossa*. Dimana adanya ekspresi Alkalin phosphatase merupakan enzim yang dapat memproduksi matriks mineral dan menandai adanya diferensiasi sel osteoblas,

sedangkan pewarnaan von-Kossa mewakili penandaan akhir dari diferensiasi sel osteoblas.

## 2.2 Sel Osteoblas

Sel osteoblas adalah sel yang berasal dari *mesenchymal stem cells* (MSC) dari sumsum tulang belakang dan berperan dalam pembentukan tulang (Kini dan Nandeesh, 2012). Pada tulang normal, osteoblas menyelimuti permukaan tulang dimana lapisan tersebut berbentuk kuboid, datar dan saling berdekatan. Hal ini menyebabkan sel osteoblas sering disebut *bone lining cells* (Hand dan Frank, 2015). Gambaran sel osteoblas secara histologist dapat dilihat pada gambar 2.2.

Osteoblas kaya akan alkaline phosphatase (ALP), dimana ALP ini diperlukan dalam proses mineralisasi melalui pelepasan phosphate inorganik, selain itu juga berfungsi sebagai marker penyebaran aktivitas sel tulang (Tsuang dkk., 2006). Beberapa sel osteoblas akan bergabung dalam matrik dan berdiferensiasi menjadi osteosit, dimana osteosit berfungsi memediasi remodeling tulang secara adaptif melalui peresponan terhadap deformasi secara mekanik (Niinomi dkk., 2015). Sel osteoblas mengekspresikan reseptor terhadap beberapa hormon seperti hormon paratiroid, estrogen, glukokortikoid dan 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D (Neve dkk., 2010). Sel osteoblas juga mempunyai respon terhadap faktor pertumbuhan dan sitokin (Kini dan Nandeesh, 2012).



Gambar 2.2 Jaringan histologi sel osteoblas (Arnett, 2011)

### 2.2.1 Osteoblas dan Pembentukan Tulang

Osteoblas merupakan sel yang berperan penting dalam proses pembentukan tulang. Selama proses pembentukan tulang, sel osteoblas yang matang akan mensintesis dan mensekresikan kolagen tipe I, dimana kolagen tipe I ini merupakan bagian terbesar dari bahan organik ekstraseluler pada matrix tulang. Selain itu, osteoblas juga mensekresikan berbagai macam non-kolagen protein seperti osteokalsin, osteopontin, dan sialoprotein, yang memiliki berbagai macam fungsi, termasuk meregulasi perbaikan tulang, mengontrol deposisi mineral pada tulang dan meregulasi aktivitas sel tulang. Ekspresi osteopontin (OPN) dan sialoprotein pada sel osteoblas akan meningkat oleh adanya pengaruh tekanan mekanis. Osteopontin juga mampu mempengaruhi homeostasis tulang. (Neve dkk., 2010).

### 2.2.2 Osteoblas dan Remodeling Tulang

Osteoblas merupakan sel yang berperan penting dalam proses remodeling tulang ini. Proses remodeling tulang ini dipengaruhi oleh faktor lokal dan sistemik, termasuk *bone micro-damage*, level kalsium dalam darah, hormon, sitokin, dan faktor pertumbuhan. Proses ini terjadi karena adanya koordinasi antara sel osteoklas dan osteoblas. Sel osteoklas berperan dalam proses resorpsi tulang. Aksi dari sel osteoklas

ini berhubungan dengan interaksi antara sel osteoklas dan protein matriks tulang (osteopontin dan sialoprotein) yang disekresikan oleh sel osteoblas. Setelah proses resorpsi tulang selesai, sel osteoklas akan mengalami apoptosis dan sel osteoblas akan melakukan proliferasi dan diferensiasi menjadi sel osteoblas matang. Kemudian sel osteoblas akan mendiami lacuna dan mensintesis mineralisasi matriks tulang untuk membentuk tulang baru (Neve dkk., 2010).

## 2.3 Tulang Alveolar

### 2.3.1 Tulang Alveolar pada Manusia

Tulang alveolar merupakan bagian dari tulang mandibula dan maksila sebagai dasar struktur pendukung gigi. Tulang alveolar berasal dari sel-sel folikel gigi dan tulang membranous yang terbentuk langsung di jaringan ikat (J. Sodek dan McKee, 2000). Tulang alveolar ini terdiri dari 3 lapisan, lapisan pertama adalah pelapis luar kortikal yang terdiri dari lapisan luar (lamella) yang di dukung oleh osteon (*Harversian system*) yang mendasari fungsi tulang kortikal. Lapisan kedua merupakan tulang spongiosa yang disebut juga dengan tulang *cancellous*, dimana tulang ini memiliki luas permukaan yang lebih lebar yang dapat digunakan untuk aktivitas metabolik seperti pertukaran ion kalsium pada tulang, namun tidak lebih padat daripada tulang kortikal. Tulang spongiosa juga memiliki banyak trabekular yang merupakan penyusun utama secara anatomis dan fungsional *cancellous*. Lapisan terakhir merupakan lapisan tulang alveolar yang melapisi soket gigi disebut juga *bundle bone* karena di dalamnya terdapat Sharpey's fiber yang merupakan bagian dari ligament periodontal (Niinomi dkk., 2014).

Tulang alveolar terdiri dari komponen seluler dan ekstraseluler yang terdiri dari matriks kolagen dan non-kolagen. Komponen seluler terdiri dari osteoblas, osteosit, dan osteoklas. Osteoblas merupakan sel berbentuk kuboid sebagai sel pembentuk tulang pada permukaan tulang. Osteosit adalah sel osteoblas yang telah tertanam dalam matriks tulang yang menempati lacuna. Osteoklas merupakan sel

multinukleus yang bertanggung jawab dalam meresabsi tulang. Diferensiasi osteoklas diatur oleh molekul membrane-bound yang diekspresikan oleh osteoblas dan sel stroma. Komposisi dari matriks ekstraseluler dari tulang alveolar sama dengan komponen pada tulang lainnya (Niinomi dkk., 2014).

Matriks tulang terdiri dari dua per tiga komponen anorganik dan sepertiga komponen organik. Komponen anorganik tulang adalah kristal karbon hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Komponen organik utama pada jaringan tulang adalah kolagen (>80-90%). Pembentukan tulang dan remodeling tulang merupakan mekanisme yang mengatur pertumbuhan dan perkembangan jaringan tulang (Niinomi dkk., 2014).

### 2.3.2 Tulang Alveolar pada Marmut (*Cavia cobaya*)

Marmut (*Cavia cobaya*) merupakan mamalia yang sering digunakan dalam penelitian dan tidak sedikit pula yang memeliharanya. Toksonomi dari marmut ini adalah,

*Kingdom* : *Animalia*

*Phylum* : *Chordata*

*Class* : *Mamamalia*

*Subclass* : *Theira*

*Order* : *Rodentia*

*Suborder* : *Hystricomorpha*

*Family* : *Caviidae*

*Subfamily* : *Caviinae*

*Genus* : *Cavia*

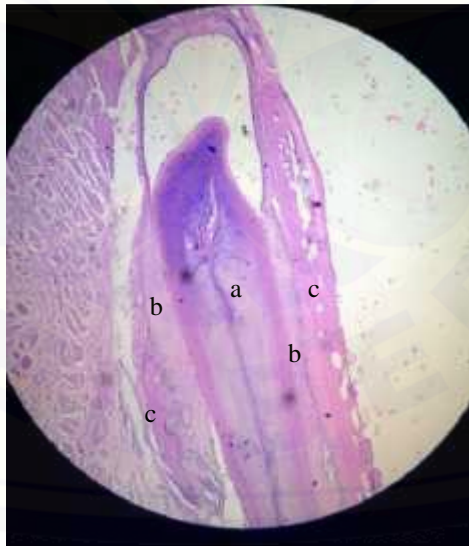
*Type species* : *Cavia cobaya* (Suckow dkk., 2012).

Toksonomi diatas menyebutkan bahwa marmut termasuk dalam golongan *rodentia* (pengerat). Istilah rodent berasal dari kata latin *rodere* yang berarti menggerogoti. Alasan utama marmut termasuk dalam hewan pengerat karena hewan ini memiliki dua gigi insisivus dengan bentuk seperti alat pemahat, memiliki lapisan

enamel yang keras dan lapisan dentin yang lembut. Gigi insisivus hewan pengerat akan terus terbentuk.

Marmut memiliki sepasang gigi insisivus, 2 premolar, dan 6 molar pada masing-masing rahang. Hewan ini tidak memiliki gigi caninus sehingga menimbulkan diastema antara gigi insisivus dan gigi premolar. Susunan gigi yang seperti itu mampu digunakan untuk menggerogoti rumput hingga biji-bijian (Kay dan Hoekstra, 2008).

Secara histologi gigi marmut memiliki lapisan ligament periodontal, tulang alveolar, dan tulang kortikal seperti gambar 2.3. Gambaran histologi ini di dapatkan dari hasil percobaan yang telah dilakukan pada hewan marmut gigi insisivus maxilla sebelah kiri. Percobaan ini bertujuan untuk melihat tulang alveolar. Pada gambar tersebut nampak tulang alveolar pada sisi mesial dan distal, dengan panjang yang berbeda, yaitu pada sisi mesial lebih panjang daripada sisi distal. Hal ini kemungkinan karena terdapat diastema pada sisi distal gigi insisivus ini.



Gambar 2.3 Gambaran Histologi Gigi Marmut secara melintang, nampak gigi marmut (a), ligament periodontal (b), dan tulang alveolar (c)



## 2.4 Pergerakan Gigi secara Ortodonsi

### 2.4.1 Teori Pergerakan Gigi

Pergerakan gigi secara ortodonti terbagi menjadi dua teori yaitu piezoelektrik dan teori tekanan-tarikan. Kedua teori ini berbeda, pada teori piezoelektrik menitik beratkan pada sinyal listrik yang dihasilkan oleh perubahan tulang alveolar untuk mengontrol gerakan pada perubahan metabolisme tulang. Sedangkan pada teori tekanan dan tarikan mempengaruhi aliran darah, yang mengakibatkan produksi senyawa kimia yang menghubungkan gerakan gigi pada produksi seluler (Adilah dkk., 2010).

#### a. Teori Piezoelektrik

Piezoelektrik merupakan sinyal elektrik yang merangsang pergerakan gigi. Apabila suatu gaya dikenakan pada tulang dapat menyebabkan pelengkungan (*bending*) tulang, maka sinyal piezoelektrik ini akan terlihat (Proffit William, 2007). Sinyal ini dapat terjadi karena adanya migrasi elektron-elektron dalam kristal dari mineral tulang ketika kristal ini berubah akibat adanya tekanan (Adilah dkk., 2010).

Tekanan yang diberikan gigi, terjadi distorsi pada matriks tulang yang akan menimbulkan polaritas negatif dan positif pada permukaan tulang. Tekanan akan menghasilkan aliran negatif yang akan mengaktifkan sel osteoklas. Pada daerah tarikan akan menimbulkan aliran positif yang kemudian direspon oleh sel osteoblas. Deposisi dan resorpsi tulang akan menghasilkan suatu perubahan (*remodeling*) tulang untuk mengantisipasi gaya mekanis yang akan dibebankan pada gigi (Adilah dkk., 2010).

#### b. Teori Tekanan dan Tarikan

Teori ini dapat menerangkan hal-hal yang berhubungan dengan pergerakan gigi. Teori ini juga dapat mempengaruhi aliran darah dan keadaan kimia dalam

darah. Pada saat ligament periodontal mendapatkan tekanan yang terjadi adalah aliran darah akan berkurang sehingga menyebabkan level oksigen dalam darah akan ikut berkurang, sedangkan pada daerah tarikan aliran darah akan bertambah atau tetap dan level oksigen dalam darah akan bertambah. Proporsi relatif metabolit yang lain juga akan berubah yang akan mengakibatkan adanya perubahan seluler yang kemudian diikuti oleh perpindahan atau pergerakan gigi (Proffit William, 2007).

Perubahan kimia dalam darah dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung dengan menstimulasi agen aktif yang lain sehingga terjadi diferensiasi dan aktifitas seluler. Pergerakan gigi dapat dibagi dalam tiga tahap yaitu, perubahan aliran darah akibat tekanan pada ligament periodontal, pembentukan dan pelepasan senyawa kimia, dan aktivitas sel osteoklas dan osteoblas (Adilah dkk., 2010).

#### 2.4.2 Pergerakan Gigi Ortodonti

Prinsip pemakaian alat ortodonti adalah pembebanan gaya mekanis yang diberikan pada kurun waktu tertentu pada gigi dan menimbulkan perubahan pada jaringan periodontal sekelilingnya. Pergerakan gigi yang diinginkan melalui proses remodeling tulang. Induksi gaya mekanis ini menyebabkan terbentuknya daerah tekanan dan tarikan pada jaringan pendukung gigi. Pada daerah tekanan akan terjadi proses resorpsi tulang oleh karena adanya peningkatan sel osteoklas, dan pada daerah tarikan akan terjadi proses aposisi atau pembentukan tulang kembali oleh adanya peningkatan jumlah sel osteoblas. Pergerakan gigi akan tercapai apabila terjadi proses resorpsi tulang alveolar sebagai respon terhadap gaya mekanis ortodonti harus diikuti proses aposisi tulang alveolar untuk mempertahankan mekanisme perlekatan (Sartika dkk., 2013).

Induksi gaya mekanis ini haruslah adekuat, diharapkan dengan adanya gaya mekanik yang adekuat ini diharapkan tercetusnya *second messenger* yang berfungsi

untuk menstimulasi diferensiasi seluler (Ruth, 2010). Pembebanan yang berlebih akan mengakibatkan tidak seimbangnya proses resorpsi tulang alveolar, sehingga pada daerah tekanan keadaan lebih progresif daripada daerah aposisi. Hal ini akan mengakibatkan terjadinya kerusakan jaringan sekitar gigi dan gigi mengalami kegoyangan. Apabila tekanan yang diaplikasikan terlalu kecil maka tidak akan terjadi aposisi dan resorpsi atau dengan kata lain gigi tidak akan bergerak (Fercec J dkk., 2012).

Induksi mekanis pada tulang menghasilkan kerjasama antara sel osteoblas dan osteoklas yang disebut dengan proses *coupling* (Kini dan Nandeesh, 2012). Respon awal yang dihasilkan oleh gaya mekanis ditanggapi oleh sel osteoblas, dapat memicu dan meingkatkan proses resorpsi tulang oleh sel osteoklas secara tidak langsung (Fracon, 2008). Proses remodeling tulang dinyatakan berhasil apabila proses resorpsi dan aposisi berjalan seimbang (U. Kini dan Nandeesh, 2012).

Tekanan lokal dan stress yang dihasilkan dari aplikasi piranti ortodonti akan menimbulkan reaksi jaringan dan sel. Gaya mekanis dari alat ortodonti ini akan mengakibatkan peningkatan produksi prostaglandin karena adanya aktivasi dari enzim COX-2 (*Cyclooxygenase-2*). Di dalam tulang terdapat dua enzim *Cyclooxygenase* yaitu *Cyclooxygenase-1* (COX-1) yang terdapat pada tulang normal dan *Cyclooxygenase-2* (COX-2) yang berekspresi ketika adanya perbaikan tulang dan kondisi patologi tulang yang tidak normal. Enzim COX-2 ini mampu menstimulasi perbaikan tulang dengan meningkatkan diferensiasi sel osteoblas melalui produksi prostaglandin (Fracon dkk., 2008).

Peningkatan produksi prostaglandin, khususnya prostaglandin E2 (PGE-2) dapat menstimulasi perbaikan atau pembentukan tulang. Hal ini dikarenakan PGE-2 mampu mengekspresikan *transcription factor* Cbfa-1 dan osterix. Cbfa-1 berperan dalam diferensiasi MSC menjadi pre-osteoblas, sedangkan osterix berperan dalam diferensiasi pre-osteoblas menjadi sel osteoblas (Zhang dkk., 2002). Selanjutnya, sel osteoblas akan mengeluarkan mediator-mediator lainnya untuk melakukan fungsinya,

yaitu membentuk tulang baru dan memicu diferensiasi sel osteoklas. Osteoblas melepaskan mediator kimiawi M-CSF (*Macrophage-colony Stimulating Factor*) yang mampu memicu diferensiasi awal sel osteoklas. Mediator lainnya yang dilepaskan osteoblas adalah RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand*) yang apabila berikatan dengan RANK (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B*) pada prekursor osteoklas, maka terjadi diferensiasi pre-osteoklas menjadi osteoklas. Interaksi antara RANK dan RANKL dapat dihambat oleh Osteoprotegerin (OPG) yang juga dihasilkan oleh sel osteoblas. OPG ini menjadi inhibitor dalam pembentukan osteoklas (Fracon dkk., 2008).

Setelah proses resorpsi berjalan, sebagai respon terhadap sistem homeostasis tulang, maka di daerah tarikan terdapat peningkatan proliferasi sel fibroblas, osteoblas, dan sel perkusor cementoblas. Pada daerah ini juga terdapat hambatan degradasi matriks dengan cara menghambat *Matrix metalloproteinase-1* (MMP-1) yang berfungsi dalam proses degenerasi matriks ekstraseluler pada ligament periodontal. Dengan dihambatnya pembentukan MMP-1 ini maka proses resorpsi ikut terhambat dan terjadi deposisi tulang. Pada daerah tarikan juga ditemukan beberapa sel inhibitor resorpsi tulang dan sel stimulator pembentukan tulang (Ruth, 2010).

#### 2.4.3 Durasi Kekuatan Ortodonti

Induksi gaya mekanis pada pergerakan gigi secara ortodonti haruslah adekuat, yang berarti tidak kurang ataupun tidak berlebih. Induksi gaya mekanis yang berlebih akan mengakibatkan proses resorpsi yang progresif, sehingga dapat menyebabkan kegoyangan gigi. Induksi gaya mekanis yang diaplikasikan pada gigi terlalu kecil maka pergerakan gigi tidak akan terjadi (Fercec J dkk., 2012). Berdasarkan kekuatan yang dibutuhkan dalam pergerakan gigi, kekuatan pada induksi mekanis ortodonti terbagi menjadi tiga, yaitu :

1. Kekuatan berkesinambungan (*continuous force*)

Kekuatan yang hampir sama ketika pertama kali dipasang, hingga bertahan sampai waktu yang lama. Kekuatan yang berkesinambungan pada alat ortodonti cekat, dapat menggerakkan gigi lebih banyak daripada alat ortodonti lepasan.

2. Kekuatan yang terputus-putus (*interrupted force*)

Kekuatan ini akan menurun sampai nol setelah beberapa waktu pemakaian alat ortodonti.

3. Kekuatan *intermitten*

Kekuatan akan turun menjadi nol secara tiba-tiba saat pasien melepaskan alat ortodontinya. Biasanya terjadi pada alat ortodonti dari *headgear* dan *elastic* pada alat ortodonti cekat. Contoh dari kekuatan *intermitten* adalah saat kita mengunyah, menelan dan berbicara (Rahardjo, 2009).

## 2.5 Proses Remodeling Tulang

Remodeling tulang merupakan siklus pembentukan tulang baru yang terjadi secara terus menerus, secara normal proses ini terjadi dengan adanya resorpsi tulang dan ossifikasi tulang. Secara normal, proses ini terjadi dengan mengganti sel tulang yang sudah tua dengan sintesis protein dan mineralisasi yang selanjutnya membentuk tulang baru. Proses remodeling tulang ini mengontrol pembentukan tulang kembali selama pertumbuhan, dan akan terjadi apabila terdapat kerusakan tulang seperti pada proses pergerakan gigi secara ortodonti yang melibatkan tekanan mekanis untuk merusak jaringan tulang alveolar dan menggantikannya dengan yang baru. Proses remodeling ini sangat penting untuk memelihara kekuatan tulang dan homeostasis mineral. Tulang merupakan organ metabolik aktif yang akan mengalami perbaikan struktural secara terus menerus sepanjang hidup. Hal ini diperlukan untuk menjaga integritas struktural dari tulang dan melakukan fungsi metabolisme tulang sebagai gudang dari kandungan kalsium dan fosfor (Kini dan Nandeesh, 2012).

Siklus normal remodeling tulang melibatkan adanya proses resorpsi tulang dan pembentukan tulang yang bekerja secara terkoordinasi. Adanya koordinasi antar sel osteoblas dan osteoklas dalam proses remodeling ini mengakibatkan jaringan tulang akan tumbuh secara dinamis sehingga memungkinkan terjadinya proses pemeliharaan tulang, perbaikan jaringan yang rusak dan adanya homeostasis dari metabolisme kalsium dan fosfor. Siklus remodeling tulang ini melibatkan serangkaian langkah kompleks yang berurutan (proses coupling tulang) antara pembentukan tulang dan resorpsi tulang. Pada gaya mekanis yang diaplikasikan pada tulang akan menunjukkan adanya proses *turnover* tulang trabekular untuk memetabolisme mineral tulang (U.Kini dan Nandeesh, 2012).

Proses remodeling tulang ini terjadi karena adanya kerjasama antara mediator-mediator. Dalam proses remodeling ini mediator yang terlibat antara lain sel osteoklas, osteoblas, RANK, dan OPG (osteoprotegerin). Dimana osteoklas merupakan satu-satunya sel yang mampu menyerap tulang yang berasal dari penyatuan sel-sel progenitor homopoietik atau darah yang termasuk turunan makrofag mononuklearis-monosit di sumsum tulang. Sedangkan sel osteoblas dirangsang untuk memperbaharui tulang dengan meningkatkan massa tulang melalui peningkatan sekresi osteosit dan menghambat osteoklas untuk meresorpsi tulang. Peningkatan osteosit ini dirangsang oleh sekresi hormon pertumbuhan oleh hipofisis, hormon tiroid, hormon esterogen dan hormon androgen (Kini dan Nandeesh, 2012).

Hubungan osteoklas dan osteoblas dalam remodeling tulang dikendalikan oleh sejumlah faktor kimia baik secara sistemik maupun lokal. Secara sistemik terdapat beberapa hal yang dapat mempengaruhi proses remodeling tulang seperti faktor genetik, aliran darah, nutrisi, serta faktor hormonal. Faktor hormonal ini meliputi hormon kalsitonin dan esterogen untuk menurunkan resorpsi tulang, hormon paratiroid, hormon tiroid, glukokortikoid untuk meningkatkan regulasi dalam meresorpsi tulang. Dalam proses pembentukan tulang dapat meningkat dengan adanya hormon pertumbuhan, vitamin D, androgen, progesteron dan insulin,

sedangkan glukokortikoid selain dapat merangsang peningkatan resorpsi tulang yang juga dapat menurunkan proses pembentukan tulang baru (Kini dan Nandeesh, 2012).

Faktor lokal yang mengatur proses remodeling tulang ini ada sitokin dan faktor pertumbuhan. Dimana sitokin merupakan polipeptida yang disintesis dalam sel limfosit dan monosit. Sitokin ini berperan penting dalam beberapa fungsi seluler, seperti respon imunologi, peradangan, dan hematopoiesis. Faktor pertumbuhan merupakan polipeptida yang dihasilkan oleh sel tulang itu sendiri atau di jaringan ekstraoseus yang bertindak sebagai modulator dari fungsi seluler, diferensiasi, proliferasi dalam pertumbuhan. Berikut merupakan tabel faktor lokal yang mempengaruhi proses remodeling tulang,

Tabel 2.2 faktor lokal dalam proses remodeling tulang (U. Kini dan Nandeesh, 2012)

	<b>Menstimulasi pembentukan tulang</b>	<b>Menstimulasi resorpsi tulang</b>	<b>Menghambat resorpsi tulang</b>
<b>Faktor pertumbuhan</b>	BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7, IGF-I, IGF-II, TGF- $\beta$ , FGF dan PDLGF	TNF, EGF, PDLGF, FGF, M-CSF dan GM-CSF	
<b>Sitokin</b>	IL-4, IL-3, IFN $\gamma$ dan OPG	IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, PGE2, PGE1, PGG2, PG12, dan PGH2	IFN $\gamma$ , IL-4

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa faktor pertumbuhan dan sitokin terbagi menjadi 3 kelompok yaitu, menstimulasi pembentukan tulang oleh sel osteoblas, menstimulasi resorpsi tulang oleh sel osteoklas dan penghambat resorpsi tulang (U.Kini dan Nandeesh, 2012).

### 2.5.1 Fase remodeling tulang (U.Kini dan Nandeesh, 2012)

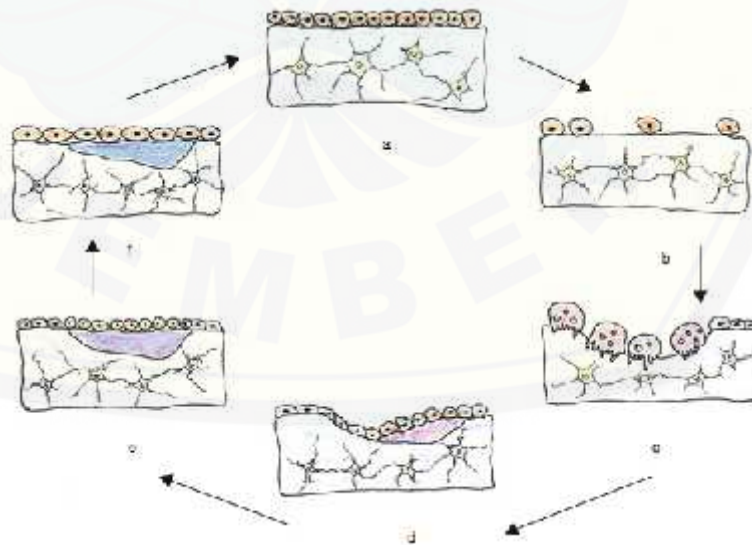
Proses remodeling tulang terjadi pada tulang yang membutuhkan adanya perbaikan tulang. Proses terbagi menjadi 6 tahap, yaitu :

1. Fase diam, merupakan keadaan atau fase saat tulang dalam istirahat, dimana sel-sel tulang belum mengalami aktivasi untuk proses remodeling.
2. Fase aktivasi, merupakan langkah awal sebelum terjadinya resorpsi tulang. Pada fase ini terjadi pencabutan sel osteoblas dewasa yang terdapat pada permukaan tulang, melalui kolagenase. Pada awal fase ini melibatkan perekrutan dan aktivasi mononuklear monosit makrofag precursor osteoklas, sehingga terjadi interaksi antara perkursor osteoklas dan osteoblas. Hal ini menyebabkan diferensiasi, migrasi dan fusi osteoklas. Sel ini kemudian menempel pada permukaan tulang termineralisasi dan memulai resorpsi tulang yang dapat menurunkan komponen matriks pada tulang termasuk kolagen.
3. Fase resorpsi. Pada fase ini sel osteoklas mulai merusak matriks mineral tulang dan osteoid. Proses ini terjadi oleh makrofag dan terdapat respon pelepasan faktor pertumbuhan yang terdapat pada tulang, seperti TGF- $\beta$ , *platelet-derived growth factor* (PDGF), IGF I dan II. Resorpsi osteoklastik menghasilkan rongga tidak teratur pada permukaan tulang trabekular, yang disebut *Howship's lacunae*, atau *Haversian canal* dalam tulang kortikal. Proses resorpsi yang dimediasi sel osteoklas ini hanya membutuhkan waktu 2-4 minggu.
4. Fase *reversal*. Pada fase ini terjadi transisi dari resorpsi tulang ke perbaikan atau pembentukan tulang. Pada akhir proses resorpsi terdapat rongga resorpsi yang mengandung berbagai sel mononuklear termasuk monosit, osteosit dan preosteoblas untuk memulai pembentukan tulang baru. Terdapat sinyal *coupling* yang menghubungkan berakhirnya resorpsi tulang dan dimulainya pembentukan tulang. Belum diketahui sinyal *coupling* yang menghubungkan



proses ini, namun TGF- $\beta$ , IGF I dan II, BMP (*bone morphogenetic proteis*), PDGF atau factor pertumbuhan fibroblast disinyalir sebagai sinyal *coupling*.

5. Fase formasi atau pembentukan. Setelah osteoklas telah diserap rongga pada tulang, sel osteoklas melepaskan diri dari permukaan tulang dan digantikan oleh sel osteoblas yang pada gilirannya memulai pembentukan tulang. Sel preosteoblas mensintesis zat perekatan dimana jaringan baru melekat dan tulang mengekspresikan BMP yang bertanggung jawab untuk diferensiasi sel tersebut. Beberapa hari kemudian, sel osteoblas mensintesis matriks osteoid yang mengisi rongga resorpsi (*Haversian canal*). Osteoblas yang tersisa terus mensintesis tulang hingga sel tersebut berhenti dan transformasi untuk diam melapisi permukaan tulang yang baru dibentuk dan terhubung dengan osteosit dalam matriks tulang dalam jaringan canaliculi.
6. Fase mineralisasi. Proses ini dimulai 30 hari setelah pengendapan osteoid, dan berakhir pada hari ke-90 di trabekular dan hari ke-130 dalam tulang kortikal. Ketika siklus selesai, jumlah tulang yang terbentuk harus sama dengan jumlah tulang yang diresorpsi (U. Kini dan Nandeesh, 2012).

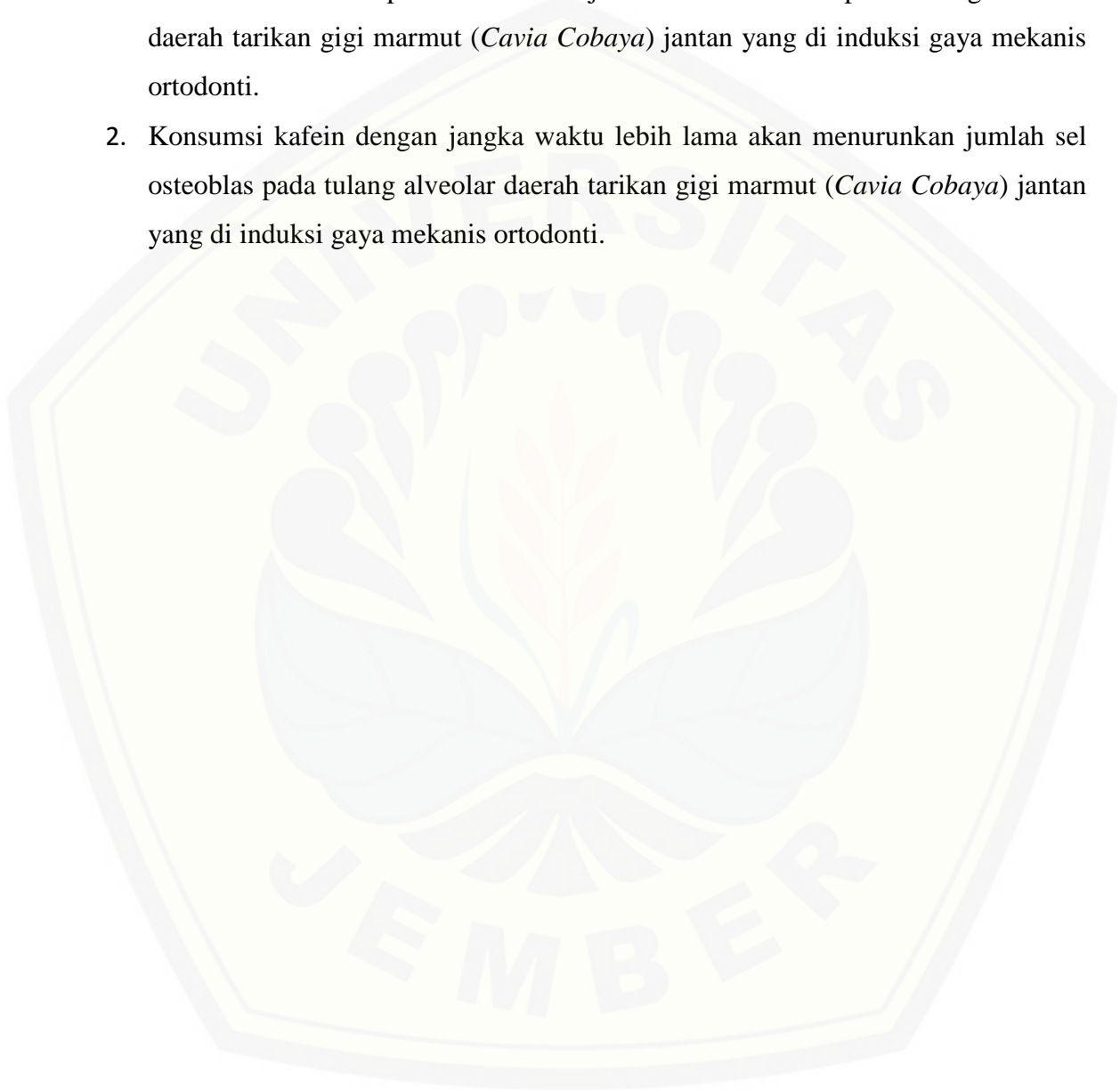


Gambar 2.4 Fase remodeling tulang (U. Kini dan Nandeesh, 2012)

## 2.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Konsumsi kafein dapat menurunkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia Cobaya*) jantan yang di induksi gaya mekanis ortodonti.
2. Konsumsi kafein dengan jangka waktu lebih lama akan menurunkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia Cobaya*) jantan yang di induksi gaya mekanis ortodonti.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian jenis ini merupakan suatu penelitian yang bertujuan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memanipulasi atau mengintervensi variabel dalam satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat, kemudian membandingkannya dengan kelompok kontrol yang tidak dilakukan perlakuan atau dimanipulasi (Notoatmodjo, 2002).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu rancangan penelitian yang memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen yang kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2002).

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2015 – April 2015 di laboratorium Biomedik bagian Fisiologi, Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan laboratorium Histologi Patologi Anatomi Rumah Sakit dr. Soetomo Surabaya.

### 3.4 Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah marmut dengan kriteria sampel, sebagai berikut :

- a. Jenis kelamin jantan
- b. Kondisi fisik sehat.
- c. Berat badan 300-400 gram
- d. Umur marmut 2-3 bulan (Putri dkk., 2013)

### 3.4.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Adapun besar sampel di dapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005) :

$$n = \frac{z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : jumlah sampel minimum

$\sigma$  : standart deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan d =

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

maka didapatkan hasil :

$$n = \frac{z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}, \text{ diasumsikan } d = \dots, \text{ maka } n = z^2$$

$$n = z^2$$

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

$$n = 3,84$$

$$n = 4$$

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

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

Keterangan :

N : besar sampel setelah dikoreksi

n : Jumlah sampel minimum

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

maka di dapatkan hasil :

$$N = \frac{4}{(1-0.3)} = \frac{4}{0.7}$$

$$N = 5,714 = 6$$

Berdasarkan rumus di atas, sampel yang digunakan sebanyak 6 ekor pada masing-masing kelompok. Sehingga, jumlah sampel yang digunakan sebanyak 24 ekor yang terbagi dalam 4 kelompok perlakuan.

### **3.5 Identifikasi Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kafein produksi dari *Merck Millipore Corporation*.

#### **3.5.2 Variabel terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel osteoblas.

#### **3.5.3 Variabel terkontrol**

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah :

- a. Jenis makanan marmut jatan
- b. Kriteria hewan coba
- c. Alat separator ortodonsi dan cara pemasangannya
- d. Prosedur penelitian
- e. Waktu penelitian

### **3.6 Definisi Operasional**

#### **3.6.1 Kafein**

Kafein adalah senyawa yang merupakan keluarga dari golongan metilxantin dan merupakan substansi psikoaktif yang sering di konsumsi. Senyawa ini memiliki rumus kimia *1,3,7-trimethylxathine*. Kafein yang digunakan dalam penelitian ini produksi *Merck Millipore Corporation*.

### 3.6.2 Jumlah Sel Osteoblas

Jumlah sel osteoblas merupakan banyaknya sel osteoblas yang berada pada tulang alveolar yang memiliki ciri-ciri mononukleus, berbentuk kuboid, datar dan saling berdekatan. Sel ini terdapat pada permukaan tulang alveolar regio anterior gigi insisivus maxila pada daerah tarikan gigi marmut yang diinduksi gaya mekanis ortodonsi. Penghitungan jumlah sel osteoblas ini dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Penghitungan ini menggunakan 3 lapangan pandang, yaitu pada daerah sepertiga servikal, sepertiga tengah dan sepertiga apikal oleh tiga pengamat.

### 3.6.3 Induksi Gaya Mekanis

Induksi gaya mekanis adalah pemberian suatu gaya mekanis pada gigi dan jaringan pendukungnya yang diperoleh dari pemasangan karet separator ortodonsi dengan merk “*American Orthodontic*”. Kekuatan yang dihasilkan oleh separator ini sebesar 0,0284 kN (Putri dkk., 2013).

## 3.7 Bahan dan Alat Penelitian

### 3.7.1 Bahan Penelitian

- a. Hewan coba yaitu marmut jantan
- b. Kafein
- c. ketamin
- d. Aquades Steril
- e. Formalin 10%
- f. EDTA 10%
- g. Alkohol 70%, 80%, 90%, 100%
- h. Xylol
- i. Gliserin
- j. Meyer Egg Albumin
- k. Embedding Paraffin (Paraplast Plus)

l. Haematoksin Eosin

m. Entellan

n. Spiritus

o. Label

p. Kertas saring

q. Minuman dan makanan standart untuk tikus

r. Kasa gulung

### 3.7.2 Alat Penelitian

a. kandang peliharaan hewan coba

b. tempat makan dan tempat minum hewan coba

c. Karet separator merk American Ortho

d. Separator applier merk Medesy

e. Neraca

f. Syringe

g. Sonde

h. Gelas Ukur

i. Erlenmeyer

j. Beaker Glass

k. Scalpel

l. Gunting Bedah

m. Pinset

n. Botol Untuk Dekalsifikasi

o. Besi Bentuk L Untuk Cetak Blok Paraffin

p. Mikrotom

q. Blok Holder Mikrotom

r. Waterbath

s. Hot Plate

t. Oven

- u. Kuas Kecil
- v. Mikroskop Cahaya
- w. Obyek Glass
- x. Deck Glass
- y. Sarung Tangan
- z. Masker

### 3.8 Konversi Perhitungan Dosis

Satu cup kopi terdapat 10gr kopi dalam 150 ml air didapatkan kafein sebanyak 262,1 mg. Perhitungan ini didapatkan dari isolasi kafein pada seduhan kopi robusta di laboratorium fakultas Farmasi Universitas Jember.

Nilai konstanta konversi dosis dari manusia (70 kg) ke marmut (400 gr) adalah 0,031

Dosis pada marmut = jumlah konsumsi kafein pada manusia x 0,031

$$= 262,1 \text{ mg} \times 0,031$$

$$= 8,1251 \text{ mg}/400 \text{ gr BB}$$

Jika BB marmut 300 gr, maka :

$$\text{Dosis pada marmut} = \frac{300 \text{ gr}}{400 \text{ gr}} \times 8,1251 \text{ mg}$$

$$= 6,09 \text{ mg/hari}$$

Jadi kafein yang diberikan pada hewan coba sebanyak 6,09 mg yang kemudian di larutkan dalam 3 ml aquades steril.

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Perijinan *Ethical Clearance*

Pengurusan keterangan kalaikan Etik Penelitian kepada Unit Etika dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.



### 3.9.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dilakukan eklitimasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan untuk melakukan adaptasi dengan tempat tinggal, makanan dan minuman.

### 3.9.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

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

Kelompok K-1 (6 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator selama 2 minggu.

Kelompok K-2 (6 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator selama 3 minggu.

Kelompok P-1 (6 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator dan kafein selama 2 minggu dengan satu kali dosis pemberian kafein dalam satu hari.

Kelompok P-2 (6 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan karet separator dan kafein selama 3 minggu dengan satu kali dosis pemberian kafein dalam satu hari.

### 3.9.4 Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba ditimbang berat badan dan pada gigi insisivus kiri rahang atas dipasangkan karet separator dengan bantuan alat *separator applier*. Hewan coba pada kelompok K-1 dan K-2 diberikan aquades steril dengan cara sondase sebanyak 3ml setiap harinya. Pada kelompok P-1 dan P-2, hewan coba disondase larutan kafein sebanyak 3ml setiap harinya.

Hewan coba kelompok K-1 dan P-1 dikorbankan pada hari ke-14 dan kelompok K-2 dan P-2 dikorbankan pada hari ke-21. Eutasia dilakukan dengan menggunakan ketamin, untuk mempercepat kematian marmut. Pemotongan jaringan dilakukan pada tulang rahang atas regio anterior secara longitudinal. Pemotongan jaringan ini dilakukan di atas papan gabus dan menggunakan scalpel. Jaringan yang

diambil adalah rahang atas regio anterior, gigi insisivus sentral kiri. Ukuran jaringan yang diambil sekitar  $1 \text{ cm}^3$ , jika potongan jaringan terlalu besar, dapat mengakibatkan jaringan yang terletak didalamnya tidak terfiksasi secara sempurna sehingga dapat membusuk (Muntiha, 2001).

### 3.9.5 Tahap Pembuatan Sediaan

#### 3.9.5.1 Tahap Pemrosesan Jaringan

##### a. Fiksasi

Jaringan yang telah diambil dimasukkan ke dalam larutan fiksasi buffer formalin 10% selama minimal 24jam. Hal ini bertujuan untuk mengawetkan jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis), melindungi struktur fisik sel, dan untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri (Sudiana, 1993).

##### b. Dekalsifikasi

Setelah jaringan direndam dalam larutan formalin 10%, selanjutnya dilakukan proses dekalsifikasi dengan tujuan untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, dan memudahkan proses pemotongan. Dekalsifikasi hanya bisa dilakukan apabila jaringan difiksasi dengan sempurna. Setelah proses dekalsifikasi selesai, jaringan dibersihkan pada air mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan larutan dekalsifikasi yang tersisa. Dekalsifikasi menggunakan larutan *Ethylenediamine Tetraacetic Acid* (EDTA) 10%. Proses ini dilakukan hingga jaringan lunak dan mudah dipotong. Untuk mengetahui tingkat kelunakannya dapat dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan jarum pentul yang ditusukkan pada jaringan tersebut. Proses ini dinyatakan selesai apabila rahang mudah ditembus menggunakan jarum pentul. Rendaman larutan EDTA 10% diganti setiap 4 hari sekali (Kiernan dalam *Histological and Histochemical Methods*, 1981).

##### c. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi (bertingkat). Tahapan dehidrasi yang dilakukan adalah:

- 1) Alkohol 70% selama 15 menit
- 2) Alkohol 80% selama 1 jam
- 3) Alkohol 95% selama 2 jam
- 4) Alkohol 95% selama 1 jam
- 5) Alkohol absolute (100%) dalam 3 wadah berbeda, pada masing-masing wadah jaringan dimasukkan selama 1 jam (Sudiana, 1993)

d. *Clearing*

*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan xylol.

Tahapan *clearing* yang dilakukan adalah:

- 1) Xylol selama 1 jam
- 2) Xylol selama 2 jam
- 3) Xylol selama 2 jam (Sudiana, 1993)

e. Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan embedding ke dalam jaringan. Caranya yaitu jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel. Kemudian di masukkan ke dalam bahan embedding yaitu parafin dengan titik didih 56 -60 C selama 2 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Sudiana, 1993)

f. *Embedding*

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

g. Pemotongan

Sebelum dilakukan pemotongan jaringan dengan mikrotom, sebelumnya dilakukan beberapa persiapan, yaitu mengolesi *obyek glass* dengan *meyer egg albumin*, dan selanjutnya menempelkan blok parafin pada *block holder* mikrotom

dengan bantuan pemanasan. Setelah itu, dilakukan proses pemotongan jaringan dengan tahap sebagai berikut : pisau mikrotom dibersihkan terlebih dahulu dengan kertas saring yang telah di basahi dengan menggunakan xylol dan mengatur ketebalan sayatan mikrotom sebesar 4-6 $\mu$ m. Pemotongan jaringan ini dilakukan dengan arah mesio-distal pada jaringan yang telah diletakkan pada holder mikrotom. Potongan jaringan yang diperlukan adalah terdapat bentukan gigi dan tulang alveolar utuh pada bagian tarikan dan regangan. Potongan jaringan yang telah memenuhi kriteria, diambil dengan menggunakan kuas dan diletakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur 56°-58°C hingga sayatan jaringan mekar. Sayatan yang telah mekar diambil dengan obyek glass yang telah di olesi dengan *meyer egg albumin*, kemudian dikeringkan di atas hot plate, dan dimasukkan dalam oven dengan suhu sekitar 30°-35°C minimal selama 12 jam.

#### 3.9.5.2 Tahap Pengecatan Haematoksilin Eosin (HE)

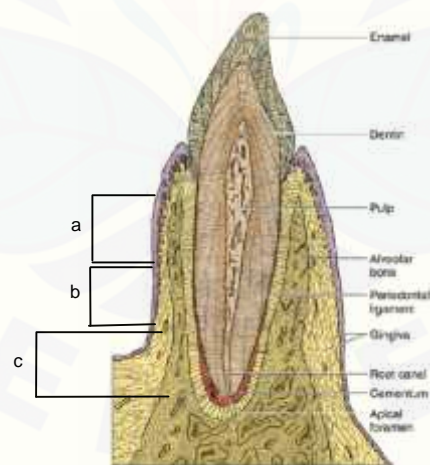
Pengecatan HE dilakukan untuk melihat jumlah sel osteoblas. Teknik pengecatan HE yang dilakukan adalah sesuai standart rutin Laboratorium Histologi Kedokteran Gigi Universitas Jember. Metode pengecatan HE secara progresif menurut Sudiana (1993) dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- 1) Memasukkan preparat jaringan kedalam 3 wadah berisi xylol, masing-masing wadah selama 3 menit. Fungsi xylol adalah untuk deparafinisasi, yaitu menghilangkan parafin yang terdapat pada jaringan.
- 2) Alkohol absolut sebanyak 2 wadah, masing-masing wadah selama 3 menit.
- 3) Alkohol 95% sebanyak 2 wadah, masing-masing wadah selama 3 menit.
- 4) Air selama 10 menit.
- 5) Hematoxilin Mayer's selama 2 menit
- 6) Air selama 20 menit
- 7) Eosin selama 5 menit bertujuan untuk memberi warna merah pada sitoplasma sel.
- 8) Alkohol 95% sebanyak 2 wadah, masing-masing wadah selama 3 menit.

- 9) Alkohol absolut sebanyak 2 wadah, masing-masing wadah selama 3 menit.
- 10) Xylol sebanyak 3 wadah, masing-masing wadah selama 3 menit
- 11) Dilakukan mounting menggunakan cairan Entellan lalu di tutup dengan *deck glass* serta diberi label pada tiap-tiap preparat jaringan dan di biarkan mengering. Hal ini bertujuan untuk mengawetkan jaringan yang elah diwarnai.

### 3.9.6 Tahap Penghitungan Jumlah Sel Osteoblas.

Pengamatan sediaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler Leica dengan perbesaran 100 kali untuk menentukan daerah penghitungan, kemudian untuk melakukan penghitungan sel osteoblas dilakukan pembesaran 400 kali. Setiap preparat masing-masing diamati 1 sediaan yang jaringannya bagus, yaitu terlihat jaringan gigi dan tulang alveolar pada daerah tarikan. Pengamatan dilakukan pada 3 lapang pandang, yaitu pada daerah sepertiga servikal, sepertiga tengah dan sepertiga apikal, oleh tiga pengamat.



Gambar 3.1 penghitungan sel osteoblas (a) pada  $\frac{1}{3}$  servikal, (b) pada  $\frac{1}{3}$  tengah dan (c) pada  $\frac{1}{3}$  apikal tulang alveolar

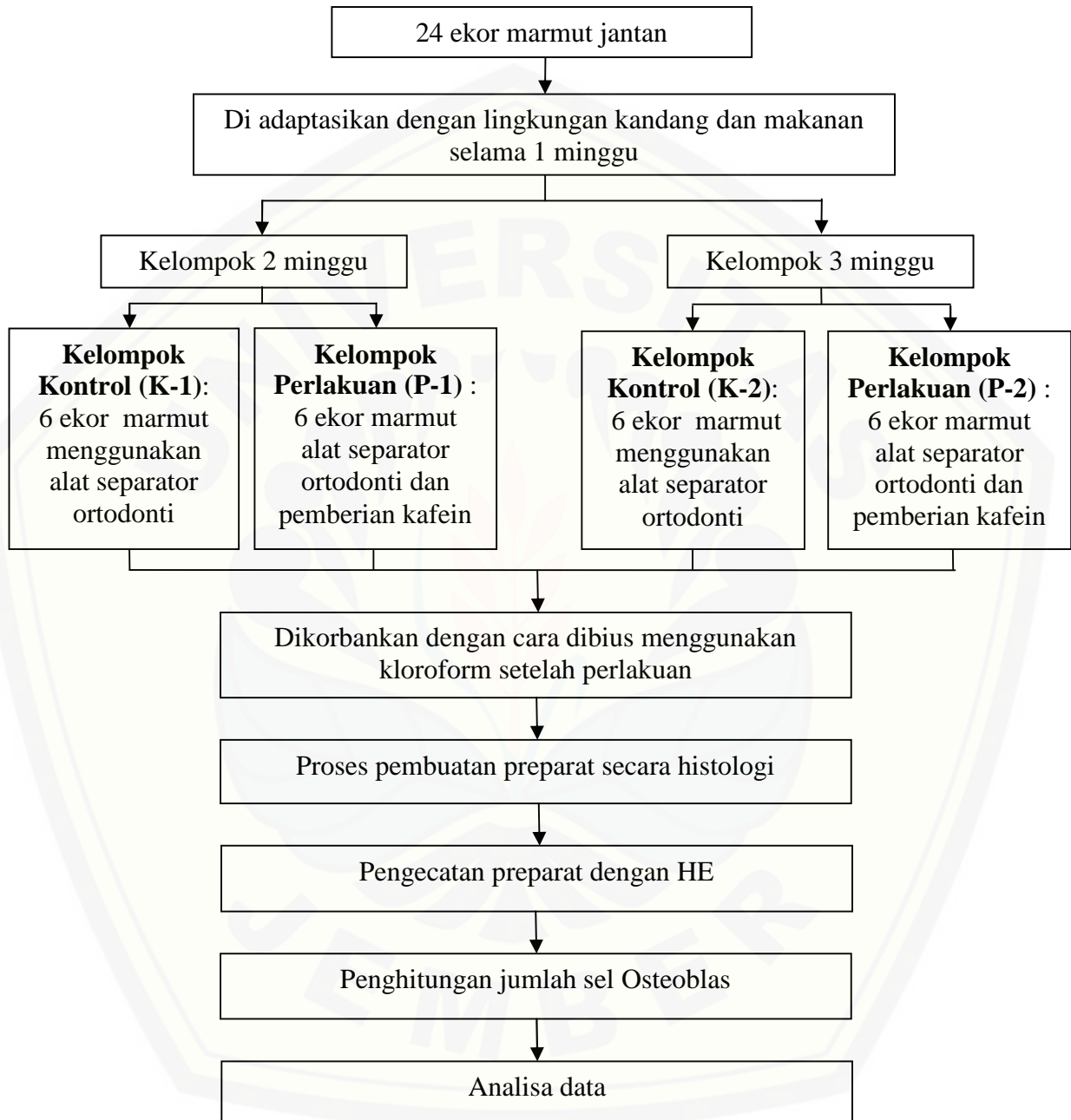
Setiap sediaan terdapat 3 hasil perhitungan sel osteoblas, yang kemudian dijumlahkan dan dibagi 3 untuk mendapatkan rata-rata jumlah sel osteoblas dalam satu sediaan. Rata-rata jumlah sel osteoblas satu pengamat kemudian dijumlahkan dengan rata-rata

sel osteoblas pengamat 2 dan pengamat 3, yang kemudian dibagi tiga dan mendapatkan rata-rata akhir sel osteoblas.

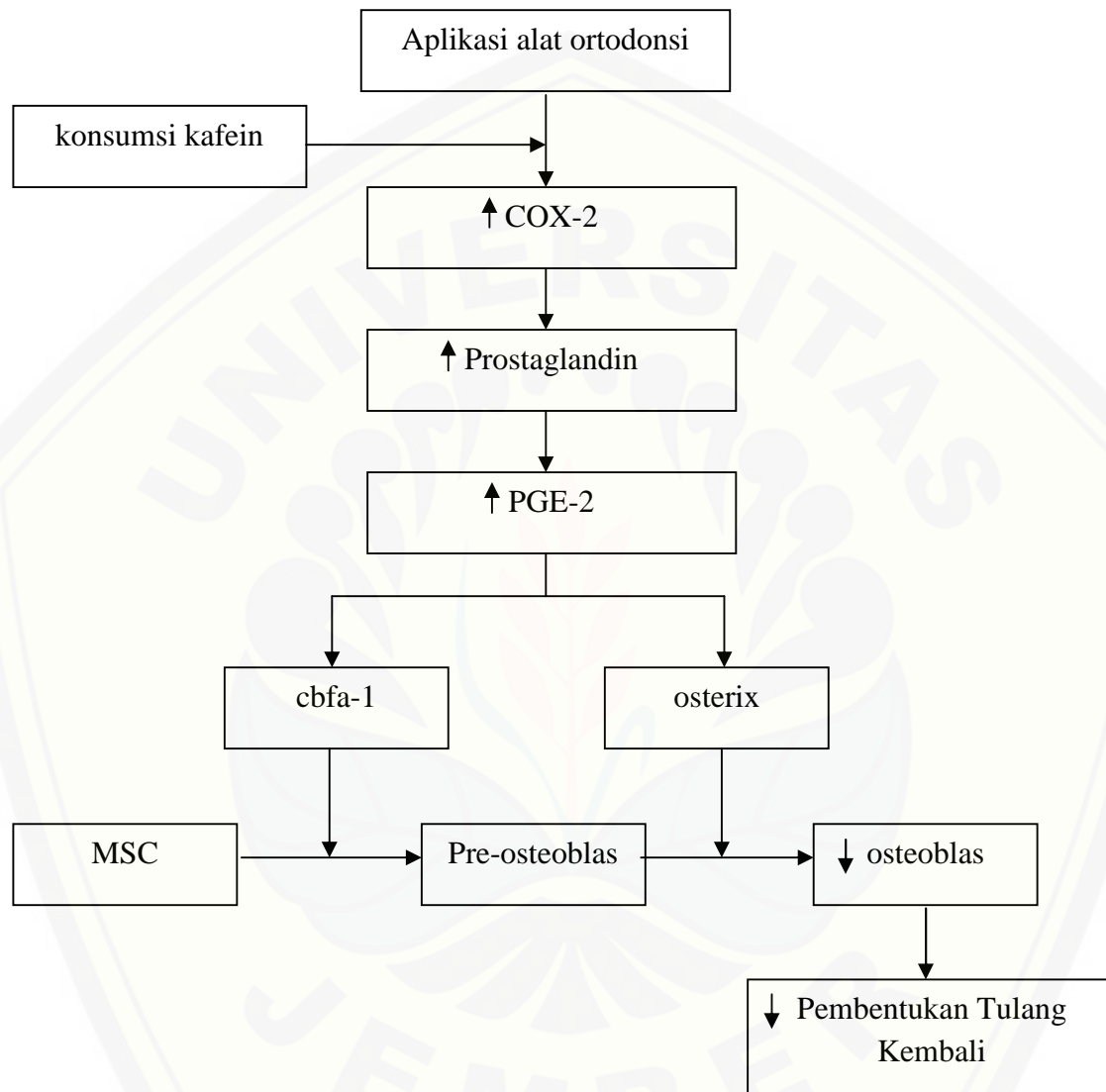
### 3.10 Analisis Data

Data hasil penelitian ini akan ditampilkan dalam bentuk tabel yang berisi besarnya rata-rata dan standart deviasinya serta foto-foto. Data hasil penelitian ini akan diuji normalitasnya menggunakan uji *Kolmogrov-Smirnov* dan diuji homogenitasnya dengan uji *Levene* untuk mengetahui keseragaman data penelitian. Kemudian dianalisis menggunakan uji parametrik, *One Way Anova* yaitu uji parametrik lebih dari 2 sampel bebas untuk menganalisa rata-rata jumlah sel osteoblas. Selanjutnya, jika bermakna dilanjutkan dengan uji beda lanjut (*post hoc test*) yaitu *least significance difference* (LSD) untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan dari antar kelompok perlakuan.

### 3.11 Alur Penelitian



## 2.7 Kerangka Konsep





## BAB 5. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut :

- a. Kafein menurunkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar daerah tarikan gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.
- b. Jumlah sel osteoblas pada daerah tarikan menurun seiring dengan lamanya waktu pemakaian alat ortodonti dan pemberian kafein.

### 5.2 Saran

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

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis kafein yang lebih bervariasi, untuk mengetahui potensi kafein dalam mempengaruhi proses remodeling tulang pada perawatan ortodonti
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu penelitian yang lebih lama agar proses remodeling tulang dapat terlihat secara jelas.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adilah., Ruth, Mieke S.M.A., Hamid, T. 2010. Proses Fisiologis Pergerakan Gigi Ortodonti. *Ortho Dent J.* 1(1) :8-13.
- Bruce, C.R., Anderson, M.E., Fraser, S.F., Stepto, N.K., Klein, R., Hopkins, W.G., Hawley, J.A. 2000. Enhancement of 2000-m Rowing Performance after Caffeine Ingestion. *Med Sci Sport Exerc.* 32(11)
- Daniel W. 2005. *Biostatistica Foundation for Analysis in The Health Science 6<sup>th</sup> edition.* Canada : John Wiley and Sons. Inc.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1995. *Farmakologi dan Terapi.* Jakarta
- Fercec, J., Glisic, B., Scepan, I., Maravic, E., dkk. 2012. Determination of Stress and Forces on the Orthodontic System by Using Numerical Stimulation of the Finite Elements Method. *Acta Phisica Polanica A.* 122(4) : 659-665
- Fracon, Ricardo N., Teofilo, Juliana M., Satin, Rafaela B., Lamano, Teresa. 2008. Prostaglandind and Bone: Potential Risk and Benefits Related to the Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Clinical Dentistry. *J of Oral Sci.* 50 (3) : 247-252
- Goyal, Sandeep dan Goyal Sonia. 2012. Pattern of Dental Malocclusion in Orthodontic Patiens in Rwanda: A Retrospective Hospital Based Study. *Rwanda Med J.* Vol. 69:4.
- Hand, Arthur R dan Frank, Marion E. 2015. *Fundamentals of Oral Histology and Physiology.* New Jersey : Wiley.
- Heaney, R.P. 2002. Effects of Caffeine on Bone and the Calcium Economy. *Food and Chem Toxic.* 40 : 1263-1270
- Heckman, Melanie A., Weil, Jorge., de Mejia, Elvira Gonzalez. 2010. Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) in Foods : A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. *J of Food Sci.* 75 (3) : R77-R87
- Internatioal Food Information Council Foudation. 2008. *IFIC Review.* Washington, DC.

- Kay, Emily H., and Hoekstra, Hopi E. 2008. Rodents. *Current Bio.* 18 (10) : R406-R410
- Keijzers, G.B., De Galan, B.E., Tack, C.J., Smits, P. 2002. Caffeine can Decrease Insulin Sensitivity in Humans. *Diabetes Care.*
- Kiernan, J.A. 1981. *Histological and Histochemical Methods Theory and Practice Departement of Anatomy.* Canada: Pergamon Press
- Kini, Usha dan B.N. Nandeesh. *Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism.*, dalam *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging.* Verlag Berlin Heidelberg : Springer. 29-57.
- Kumar, Col Prasanna., Londhe, Brig S.M., Kotwal, Col Atul., Mitra, Col Rajat. 2013. Prevalence of Malocclusion and Orthodontic Treatment Need in Schoolchildren – An Epidemiological Study. *Med J Armed Forces India.* 69 : 369-374.
- Lacerda, Suzie Aparecida., Matuoka, Renata Inahara., Macedo, Rander Moreira., dkk. 2010. Bone Quality Associated with Daily Intake of Coffee: A Biochemical, Radiographic and Histometric Study. *Braz Dent J.* 21(3): 199-204
- Liu, Shing Hwa., Chen, Chinliang., dkk. 2011. Caffeine Enhances Osteoclast Differentiation from Bone Marrow Hematopoietic Cells and Reduces Bone Mineral Density in Growing Rats. *J Ortho Research.*
- Mitchell, Diane C., Knight, Carol A., Hockeberry, Jon., Teplansky, Robyn., Hartman, Terryl J. 2014. Beverage Caffeine Intakes in the U.S. *Food and Chem Toxic.* 63 : 136-142
- Muchtadi, Tien R., Sugiyono., Ayustaningworo, Fitriyono. 2010. *Ilmu Pengetahuan Bahan dan Pangan.* Bogor : Alfabeta
- Mumin, Md. Abdul., Akhter, Kazi Farida., Abedin, Md. Zainal., Hossain, Md. Zakir. 2006. Determination and Characterization of Caffeine in Tea, Coffe and Soft Drinks by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE-HPLC). *Malaysian J of Chem.* 8 (1) : 045-051.
- Muntiha, Mohammad. 2001. *Teknik Pembuatan Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE).* Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Neve, Anna., Corrado, Addolorata., Cantatore, Fransesco Paolo. 2010. Osteoblast Physiology in Normal and Pathological Conditions. *Springer.*

- Niinomi, Mitsuo., Narushima, Takayuki., Nakai., Masaaki. 2015. *Advances in Metallic Biomaterials-Tissue, Materials and Biological Reaction*. Berlin : Springer.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. (Edisi Revisi). Jakarta: PT. Rineka Pustaka.
- Proffit William. 2007. *Contemporary Orthodontics Ed 4*. Missouri : Mosby Elsevier.
- Putri, Annisa., Narmada, Ida Bagus., Hamid, Thalca. 2013. Efek Pemberian Ekstrak Aloe Vera terhadap Jumlah Osteoblas Tulang Alveolar *Cavia cobaya* pada Pergerakan Gigi Ortodonti. *Ortho Dent J*. 4(1): 21-26
- Rapuri, Prema B., Gallagher, J.C., Nawaz, Zafar. 2006. Caffeine Decrease Vitamin D Receptor Protein Expression and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> Stimulated Alkaline Phosphatase Activity in Human Osteoblast Cells. *J of Steroid Biochem & Mol Bio*. 103: 368-371.
- Ruth, Mieke Sylvia M.A., 2004. Pergerakan Biomekanik Gigi dalam Perawatan Ortodonsia. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J)*. 37 (1) : 12-14.
- Sartika, Notaricia., Narmada, Ida Bagus., Sjamsudin, Jusuf. 2013. Efek Ekstrak Propolis terhadap Jumlah Osteoblas Tulang Alveolar *Cavia cobaya* pada Pergerakan Gigi Ortodonti. *Ortho Dent J*. 4(1) : 5-9.
- Sodek, Jaro and McKee, Marc D. 2000. Molecular and Celullar Biology of Alveolar Bone. *Perio J*. 24(1): 99-126.
- Suckow, Mark A., Stevens, Karla A., Wilson, Ronald P. 2012. *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and other Rodents*. Boston : Elsevier Academic Press.
- Sudiana, I.K. 1993. *Teknik Praktis untuk Jaringan Sel*. Bali: CV Dharma Sandi.
- Tsuang, Yang Hwei., Sun, Jui Sheng., Chen, Li Ting, dkk. 2006. Direct Effect of Caffeine on Osteoblastic Cells Metabolism: the Possible Casual Effect of Caffein on the Formation of Osteoporosis. *J of Ortho Sugery and Researc*. I: 7
- Yi, Jianru., Zhang, Liang., Yan, Boxi., dkk. 2012. Drinking Coffee May Help Accelerate Orthodontic Tooth Movement. *Dent Hyphotheses*. 3 : 72-75
- Zhang, Xinping., Schwarz, Edward M., Young, Donald A., Puzas, J. Edward., Roiser, Randy N., O'Keefe, Regis J. 2002. Cyclooxygenase-2 Regulates

Mesenchymal Cell Differentiation into the Osteoblast Lineage and is Critically Involved in Bone Repair. *The J of Clin Investigation*. 109 (11).

Zhou Y, Guan XX, Zhu ZL, Guo J, Huang YC, Hou WW, Yu HY. 2010. Caffeine Inhibits the Viability and Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stroma Cells. *British J of Pharmacology*. 1542-1552.



**LAMPIRAN**

**Lampiran A. Penghitungan Jumlah Sel Osteoblas**

kelompok	pengamat 1	pengamat 2	pengamat 3	rata-rata
k1.1	23.67	24.00	22.67	23.45
k1.2	22.00	22.67	22.00	22.22
k1.3	23.33	23.00	23.67	23.33
k1.4	20.33	20.67	20.33	20.44
jumlah	89.33	90.34	88.67	89.45
rata-rata	22.33	22.59	22.17	22.36
k2.1	20.67	20.00	21.00	20.56
k2.2	21.00	22.33	21.33	21.55
k2.3	24.67	24.00	24.33	24.33
k2.4	25.00	25.33	25.00	25.11
jumlah	91.34	91.66	91.66	91.55
rata-rata	22.84	22.92	22.92	22.89
p1.1	11.00	12.33	11.67	11.67
p1.2	20.67	20.00	20.33	20.33
p1.3	23.33	22.67	23.00	23.00
p1.4	27.33	26.00	25.67	26.33
jumlah	82.33	81.00	80.67	81.33
rata-rata	20.58	20.25	20.17	20.33
p2.1	11.33	12.00	11.00	11.44
p2.2	18.67	18.33	17.33	18.11
p2.3	14.00	14.67	13.33	14.00
p2.4	14.00	13.67	14.00	13.89
jumlah	58.00	58.67	55.66	57.44
rata-rata	14.50	14.67	13.92	14.36

**Lampiran B. Uji normalitas *Kolmogorov-smirnov*****Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kelompok K-1	4	22.3600	1.39463	20.44	23.45
Kelompok K-2	4	22.8875	2.17765	20.56	25.11
Kelompok P-1	4	20.3325	6.27494	11.67	26.33
Kelompok P-2	4	14.3600	2.76522	11.44	18.11

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Kelompok K-1	Kelompok K-2	Kelompok P-1	Kelompok P-2
N		4	4	4	4
Normal Parameters <sup>a, b</sup>	Mean	22.3600	22.8875	20.3325	14.3600
	Std. Deviation	1.39463	2.17765	6.27494	2.76522
Most Extreme Differences	Absolute	.257	.246	.250	.302
	Positive	.217	.230	.170	.302
	Negative	-.257	-.246	-.250	-.183
Kolmogorov-Smirnov Z		.513	.492	.500	.604
Asymp. Sig. (2-tailed)		.955	.969	.964	.860

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Lampiran C. Uji Levene****Test of Homogeneity of Variances**

jumlah sel osteoblas daerah tarikan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.809	3	12	.199



**Lampiran D. Uji *One-way Anova*****ANOVA**

jumlah sel osteoblas daerah tarikan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	183.306	3	61.102	4.551	.024
Within Groups	161.125	12	13.427		
Total	344.431	15			

**Lampiran E. Uji LSD (*Least Significance Difference*)****Multiple Comparisons**

jumlah sel osteoblas daerah tarikan

LSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok K-1	Kelompok K-2	-.52750	2.59105	.842	-6.1729	5.1179
	Kelompok P-1	2.02750	2.59105	.449	-3.6179	7.6729
	Kelompok P-2	8.00000*	2.59105	.009	2.3546	13.6454
Kelompok K-2	Kelompok K-1	.52750	2.59105	.842	-5.1179	6.1729
	Kelompok P-1	2.55500	2.59105	.344	-3.0904	8.2004
	Kelompok P-2	8.52750*	2.59105	.006	2.8821	14.1729
Kelompok P-1	Kelompok K-1	-2.02750	2.59105	.449	-7.6729	3.6179
	Kelompok K-2	-2.55500	2.59105	.344	-8.2004	3.0904
	Kelompok P-2	5.97250*	2.59105	.040	.3271	11.6179
Kelompok P-2	Kelompok K-1	-8.00000*	2.59105	.009	-13.6454	-2.3546
	Kelompok K-2	-8.52750*	2.59105	.006	-14.1729	-2.8821
	Kelompok P-1	-5.97250*	2.59105	.040	-11.6179	-.3271

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

## Lampiran F. Ethical Clearance

	<b>UNIT ETIKA DAN ADVOKASI</b> <b>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA</b> Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta Telp. (0274) 902671
---	--

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

No. 00502/KKEP/FGK-UGM/EC/2015

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

Judul : EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS PADA TULANG ALVEOLAR GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*) JANTAN YANG DI INDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI

Peneliti Utama : Tatit Fitri Pusparni

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

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Waktu Penelitian : Januari 2015 – Selesai

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

Yogyakarta, 18 Januari 2015

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan	Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM
 drg. Diatri Nani Indri, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.	 drg. Suryono, S.H, Ph.D

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



Hewan coba marmut (*Cavia cobaya*) jantan



Pemasangan karet separator pada gigi insisivus kiri maxilla marmut (*Cavia cobaya*)



Timbangan digital



kafein



Akuades steril



*Slide warmer*



rak obyekt glass



Obyek glass



Mikroskop



pengecatan Hematoksilin Eosin



Keterangan :

- |                  |  |
|------------------|--|
| 1. Spatula semen | 5. Pinset                              |
| 2. Sonde bengkok | 6. Karet separator merk American Ortho |
| 3. Eskavator     |  |
| 4. Gunting       |  |

**Lampiran H. Foto Hasil Penelitian**

Gambar sel osteoblas kelompok K-1

a. Perbesaran 100x



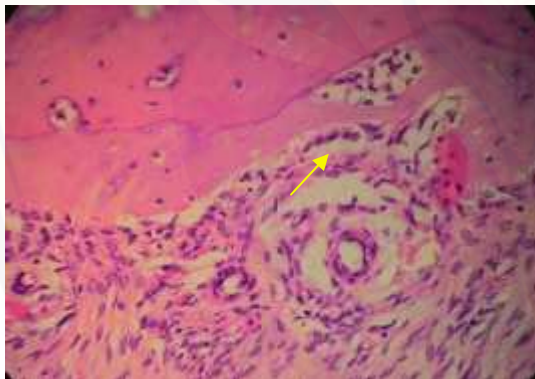
Keterangan :

a : Daerah tekanan

b : Daerah tarikan

→ : sel osteoblas

b. Perbesaran 400x

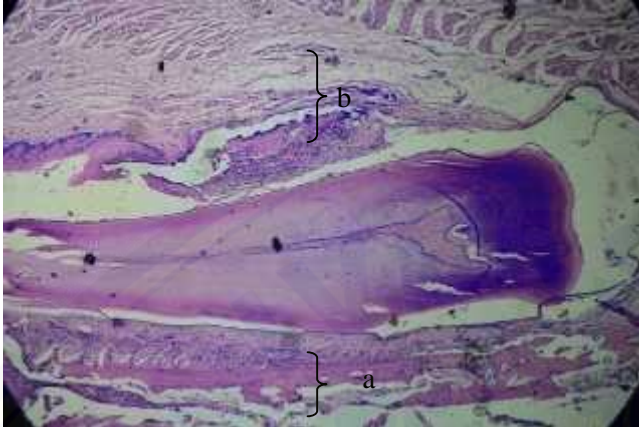


Daerah tarikan



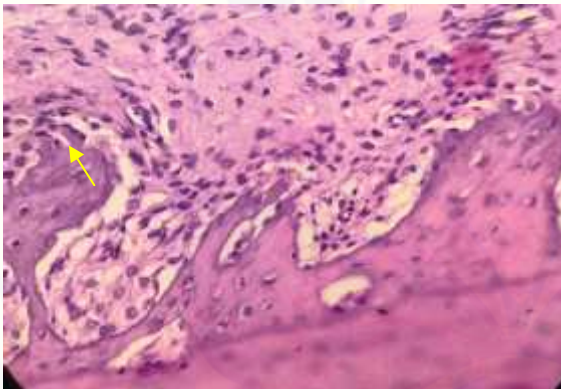
Gambar sel osteoblas kelompok K-2

a. Pembesaran 100x



Keterangan :  
a : Daerah tekanan  
b : Daerah tarikan  
→ : sel osteoblas

b. Pembesaran 400x



Daerah tarikan

Gambar sel osteoblas kelompok P-1

a. Pembesaran 100x



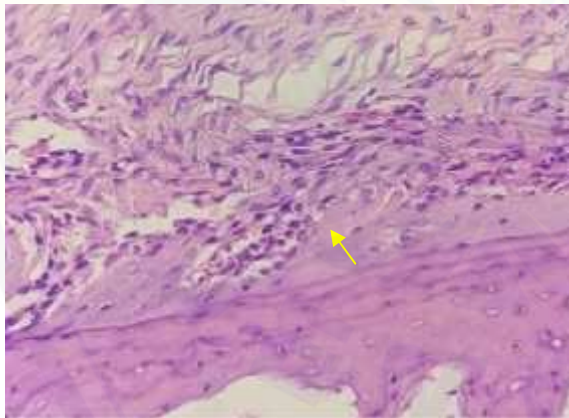
Keterangan :

a : Daerah tekanan

b : Daerah tarikan

→ : sel osteoblas

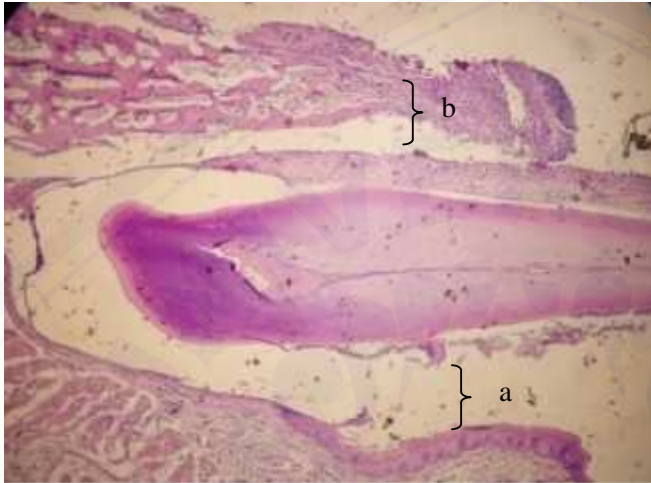
b. Perbesaran 400x



Daerah tarikan

Gambar sel osteoblas kelompok P-2

a. Perbesaran 100x



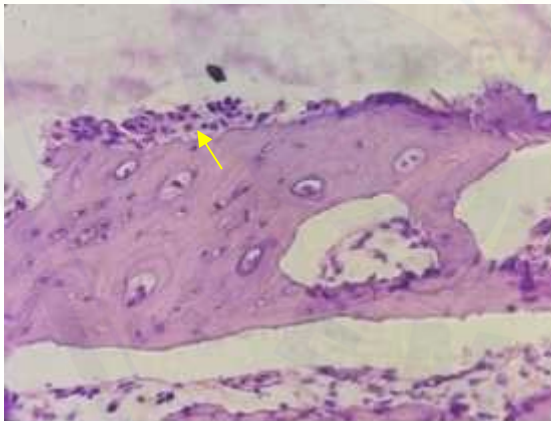
Keterangan :

a : Daerah tekanan

b : Daerah tarikan

→ : sel osteoblas

b. Perbesaran 400x



Daerah tarikan