

ABSTRAK/EKSEKUTIF SUMMARY
Penelitian Disertasi Doktor (PDD)



Judul :

**PEMBERIAN ASUPAN IKAN TERI (*stolephorus sp*)
TERHADAP PROSES OSTEOGENESIS MELALUI EKSPRESI
OSTEOPROTEGERIN DAN KOLAGEN TIPE I PADA
DAERAH TARIKAN PERGERAKAN GIGI ORTODONTI**

Peneliti :
drg. Tecky Indriana, M.Kes
NIDN. 0026116801

UNIVERSITAS JEMBER
Nopember 2016

ABSTRAK

Latar Belakang dan tujuan : Perawatan ortodonti adalah salah satu jenis perawatan yang dilakukan dikedokteran gigi untuk memperbaiki maloklusi, tetapi terdapat masalah yang sering terjadi pada perawatan ortodonti yaitu terjadi *relaps* (kembalinya gigi pada posisi semula). Prevalensi terjadinya relaps masih sangat tinggi, dari hasil suatu penelitian retrospektive menunjukkan 50% relaps setelah dua tahun post-retensi. Relaps terjadi tampaknya karena kepadatan tulang pada daerah tarikan belum optimal, oleh karena itu diperlukan suatu bahan organik maupun anorganik untuk memicu proses osteogenesis. Salah satu alternatif untuk memicu proses osteogenesis adalah mengkonsumsi ikan teri (*Stolephorus sp*), karena ikan teri kalsium dan protein tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah menjelaskan mekanisme kerja asupan ikan teri (*Stolephorus sp*) terhadap proses osteogenesis melalui ekspresi OPG serta Kolagen Tipe I pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti.

Materi dan metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain '*randomized post test only control group design*'. Penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan umur \pm 2 bulan dengan berat badan 250 ± 50 g. Tikus dibagi dalam 6 kelompok (3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan). Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus (N=30 ekor), dosis ikan teri yang diberikan 0,0168 g/hari/gBB tikus melalui sondase lambung. Pemeriksaan proses osteogenesis dilakukan dengan menghitung jumlah sel osteoblas yang mengekspresikan OPG dan kolagen tipe I dengan teknik imunohistokimia serta menghitung luas ukuran jaringan atau matrik tulang yang terbentuk (*woven bone*) pada daerah tarikan melalui metode HE. Analisis data menggunakan Anova, dilanjutkan dengan uji beda Tukey HSD.

Hasil : Rerata ekspresi kolagen tipe I pada kelompok K dan P terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 sedangkan pada hari ke 21 terjadi peningkatan yang tidak signifikan ($p > 0.05$).

Rerata ekspresi osteoprotegerin pada kelompok K terjadi peningkatan tidak signifikan ($p > 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7, tetapi terjadi peningkatan yang signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 21 dibandingkan hari ke 14. Kelompok P, terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7, tetapi tidak terjadi peningkatan signifikan ($p > 0.05$) pada hari ke 21 dibandingkan hari ke 14.

Rerata luas daerah *woven bone* pada kelompok K terjadi peningkatan tidak signifikan ($p > 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 tetapi terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan hari ke 21. Kelompok P, terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 tetapi tidak terjadi peningkatan signifikan ($p > 0.05$) pada hari 21 dibandingkan hari ke 14.

Kesimpulan : pemberian ikan teri (*stolephorus sp*) dapat meningkatkan proses osteogenesis melalui peningkatan ekspresi osteoprotegerin dan kolagen tipe I pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti.

Kata Kunci : Ikan Teri, Osteogenesis, Woven bone, Osteoprotegerin, kolagen tipe I,

EKSEKUTIF SUMMARY

Latar Belakang

Perawatan ortodonti adalah salah satu jenis perawatan yang dilakukan dikedokteran gigi, bertujuan untuk menghilangkan maloklusi yang ada. (profit,2000). Untuk mendapatkan posisi stabil setelah gigi digerakkan dalam lengkung yang benar, dibutuhkan suatu alat retensi yang bertujuan untuk mempertahankan hasil perawatan supaya gigi tidak relaps. Sampai saat ini tidak ada durasi yang dapat dibuat sebagai patokan untuk fase retensi . Hasil penelitian renkema *et al* (2009), menunjukkan bahwa dengan pemakaian alat retensi selama dua tahun masih terjadi relaps.

Pada dasarnya retensi mencegah terjadinya *relaps* atau dengan kata lain mencegah gigi kembali ke posisi awal maloklusi. Menurut Moyers (1988) retensi adalah mempertahankan gigi yang baru digerakkan pada posisinya cukup lama untuk dapat menstabilisasi koreksinya. (Profit,2007). Retensi gigi pada posisi ideal fungsional dan estetikanya selama perawatan ortodonti merupakan tantangan paling besar bagi ahli ortodonti. Apabila relaps tidak diatasi, maka gigi yang sudah berada didalam lengkungnya akan kembali ke posisi awal atau bisa terjadi suatu maloklusi baru. Sehingga dikatakan bahwa relaps adalah *long-term problem and long- term follow-up* bagi dokter gigi dan pasien (Simon *et al.*, 2005).Melihat keadaan tersebut, peneliti berupaya untuk mencegah supaya relaps tidak terjadi.

Selama ini untuk menangani relaps adalah dengan memberikan piranti retensi yang disebut retainer dalam durasi waktu tertentu, menurut Shawesh *et. al* (2010) saat ini masih diperlukan waktu sekitar 6- 12 bulan. Suatu penelitian retrospektive yang dilakukan pada lebih 1000 orang, diberikan Hawley Retainer selama satu tahun, masih terjadi relaps berdasarkan PAR score, menunjukkan 67% relaps setelah lima tahun post-retensi, 50% relaps terjadi setelah dua tahun post-retensi dan 28% relaps terjadi setelah dua sampai 5 tahun post-retensi (Alyamie., 1999).

Perawatan ortodonti selalu menggunakan kekuatan mekanis untuk menggerakkan gigi. Kekuatan ortodonti mengakibatkan perubahan dan fungsi tulang alveolar sekaligus selnya, perubahan tersebut meliputi proses remodeling yaitu pembentukan tulang pada sisi tarikan dan resopsi tulang pada sisi tekanan, sehingga gigi akan bergerak pada posisi baru. (Cronau,2006). Relaps terjadi, tampaknya karena kepadatan tulang pada daerah tarikan belum optimal, oleh karena itu diperlukan suatu bahan untuk memadatkan daerah tarikan. Pemadatan pada daerah tarikan dipicu oleh proses osteogenesis. Proses osteogenesis akan berjalan dengan baik apabila ada suatu bahan organik yang dihasilkan oleh host

(penderita) misalnya kolagen, juga berasal dari asupan luar terutama bahan anorganik yaitu kalsium dan fosfat.

Salah satu alternatif untuk memenuhi kebutuhan kalsium tulang adalah dengan mengkonsumsi ikan teri, dikarenakan Ikan teri (*Stolephorus sp*) merupakan sumber kalsium lebih tinggi daripada susu. Kandungan 100gram ikan teri mengandung 77 kkal energi yaitu protein 33,4 g, lemak 3 g, kalsium 1200 mg, fosfor 150mg, zat besi 3,6 mg, vit A 21 OSI, vit B1 0,15 mg (saanin,1984). Ikan teri(*Stolephorus sp*) mempunyai kandungan mineral, protein dan vitamin, diduga dapat merangsang terjadinya deposisi tulang baru pada daerah tarikan akibat perawatan ortodonti. Kandungan protein ikan teri (*stolephorus sp*) diduga dapat meningkatkan beberapa growth factor yaitu VEGF, memicu sel endotel sehingga terbentuk pembuluh darah baru atau angiogenesis, FGF dapat meningkatkan proliferasi fibroblas sehingga menghasilkan kolagen dan juga TGF- β yang berperan terhadap peningkatan aktivitas osteoblas dan menghambat aktivitas osteoklas. Sedangkan kalsium ikan teri akan bersama sama dengan alkalin fosfatase yang dihasilkan sel osteoblas akan diendapkan dalam kolagen sehingga terjadi mineralisasi dengan terbentuknya osteoklasin. Peningkatan aktivitas osteoblas oleh TGF- β dan peningkatan sitokin anti inflamatori IL-10 akan menyebabkan peningkatan jumlah OPG akan menghalangi ikatan RANKL – RANK ,sehingga akan terjadi proses osteogenesis.

Tujuan Penelitian

Menjelaskan mekanisme kerja asupan ikan teri (*Stolephorus sp*) terhadap proses osteogenesis pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian true-eksperimental, dengan menggunakan hewan coba tikus putih wistar jantan (*Rattus norvegicus L*) Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* (Zainuddin, 2000)

Sampel penelitian menggunakan tikus putih wistar (*Rattus norvegicus L*) dengan kriteria inklusi berjenis kelamin jantan yang umurnya berkisar ± 2 bulan dengan berat badan sekitar 250 ± 50 g , dinyatakan sehat dengan kondisi rongga mulut dan periodontal sehat dinyatakan oleh dokter hewan

Besar sampel atau unit eksperimen pada penelitian ini menggunakan pendekatan rumus besar sampel dari Lemeshow (1997) :

$$n = \frac{2 (Z_1 - \alpha/2 + Z_1 - \beta)^2 \sigma^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Berdasarkan hasil perhitungan rumus tersebut, didapatkan jumlah replikasi atau besar sampel tiap kelompok sebesar 4,95 atau dibulatkan menjadi 5 ekor.

Variabel Penelitian

Variabel Bebas

Pemberian asupan ikan teri (*Stolephorus sp*)

Variabel Tergantung

Woven bone (Deposisi tulang baru)

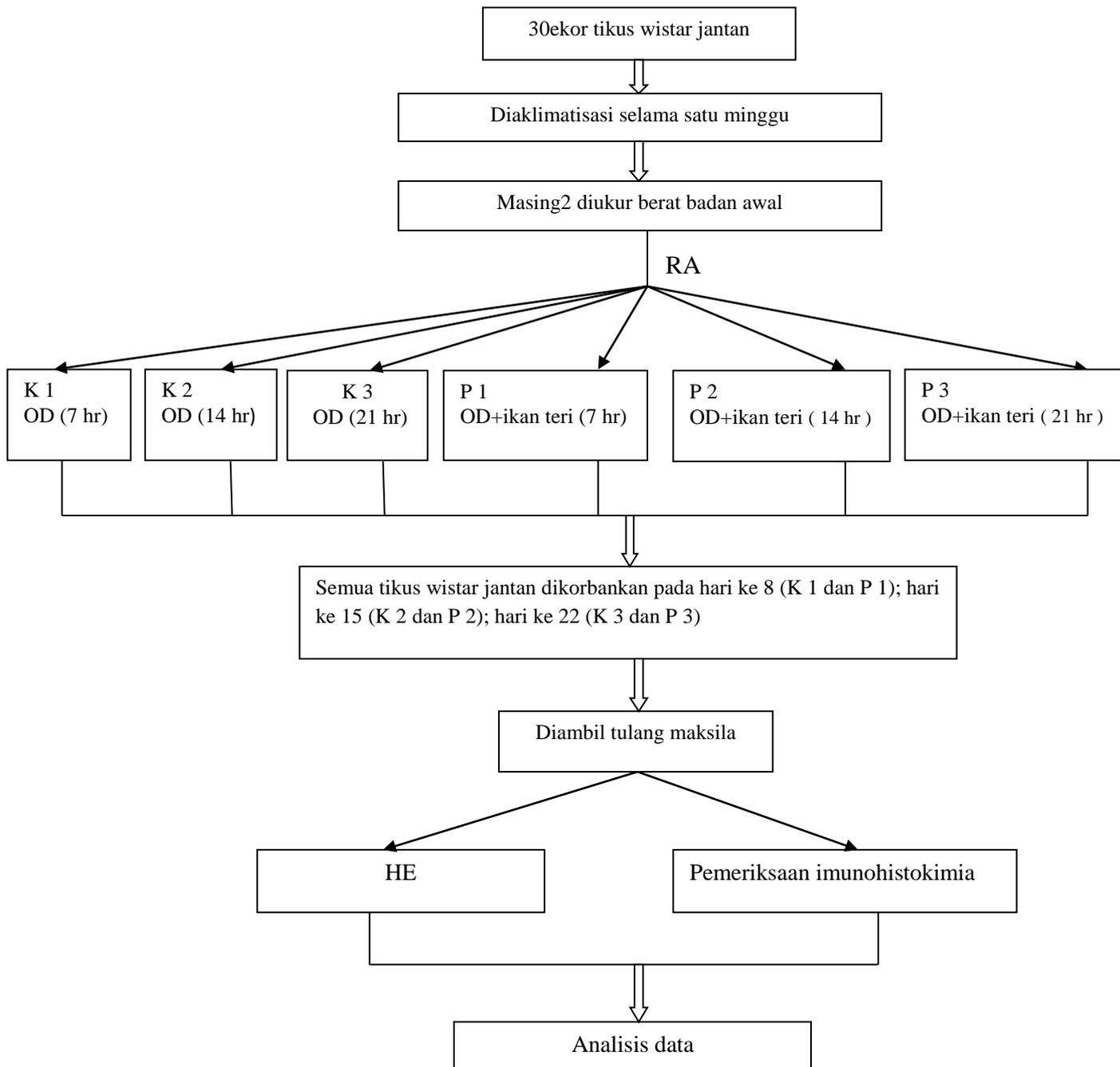
Variabel Antara

1. Ekspresi kolagen tipe I
2. Ekspresi OPG

Definisi Operasional Variabel

1. Tekanan mekanik ortodonti adalah besar kekuatan tekanan yang diberikan pada gigi molar tikus wistar jantan untuk menggerakkan molar ke mesial dengan close coil spring (NiTi) sebesar 10g/cm^2
2. Pemberian makanan tambahan bubuk ikan teri sebesar $0,0168\text{ g/hari/gBB}$ tikus melalui sondase lambung
3. Kolagen tipe I adalah menghitung jumlah sel osteoblas yang memberikan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal antikolagen tipe I melalui metode imunohistokimia dengan pembesaran $400\times$ sebanyak 10 lapangan pandang
4. OPG adalah menghitung jumlah sel osteoblas yang memberikan reaksi positif terhadap antibodi monoklonal antiOPG melalui metode imunohistokimia dengan pembesaran $400\times$ sebanyak 10 lapangan pandang
5. Woven bone (Deposisi tulang baru) adalah menghitung luas ukuran jaringan tulang muda yang terbentuk pada daerah tarikan melalui metode HE.

ALUR PENELITIAN



Keterangan :

OD= Alat ortodonti sebagai stresor mekanis

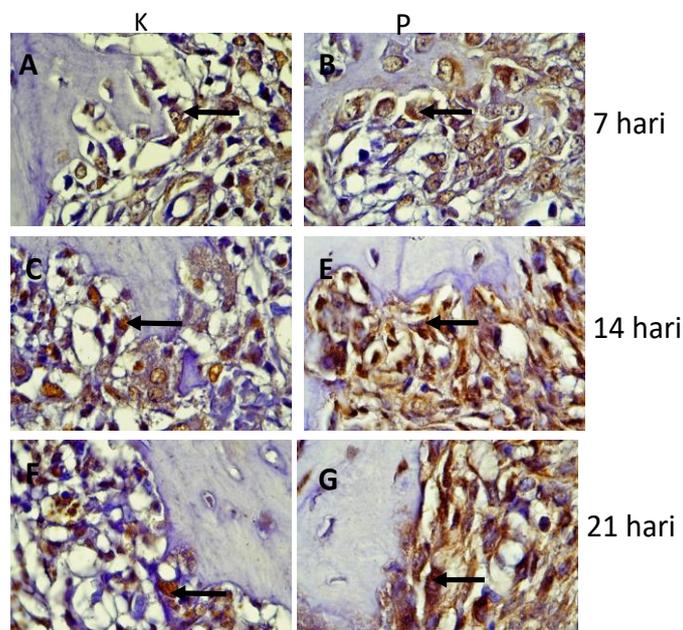
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* untuk menentukan apakah data berdistribusi normal. Analisa homogenitas masing-masing kelompok sampel kemudian dilakukan uji *Levene*. Selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan Anova yang dilanjutkan dengan Tukey HSD

HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi kolagen tipe I pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti tikus wistar

Pemeriksaan ekspresi kolagen tipe I dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia , seperti terlihat pada gambar 1



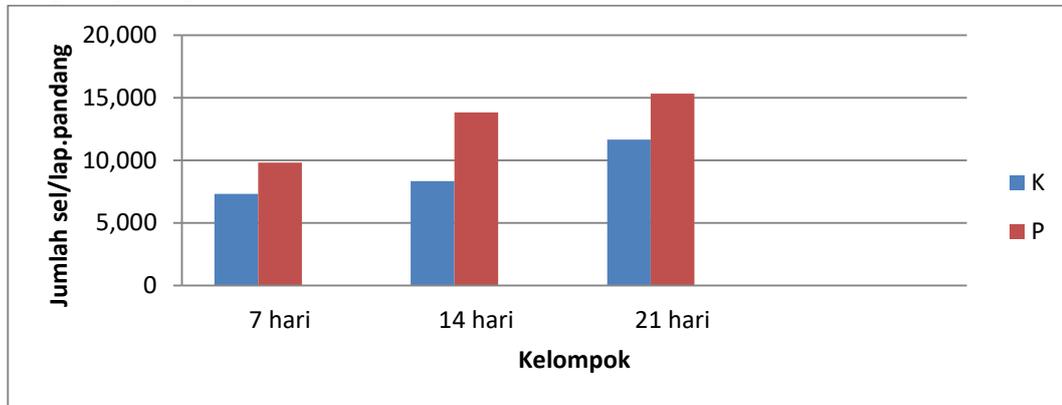
Gambar 5.1 Hasil pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan ekspresi kolagen tipe I pada sel osteoblas jaringan periodontal (berwarna kecoklatan) di masing masing kelompok (pembesaran 400x)

Tabel 1 Nilai rerata dan simpang baku ekspresi kolagen tipe I dan hasil uji beda antar kelompok penelitian pada hari ke 7, 14 dan 21

Ekspresi kolagen tipe I (jml sel/Lap.Pandang)					
kelompok	n	7 hari	14 hari	21 hari	p
K	5	7.333±1.211 ^{a.a}	8.333±1.211 ^{a.a}	11.666±2.943 ^{a.b}	0.005*
P	5	9.833±0.752 ^{b.a}	13.833±1.632 ^{b.b}	15.333±1.211 ^{b.b}	0.000*
p		0.001*	0.000*	0.005*	

Keterangan : * terdapat perbedaan antar kelompok (manova)
abc Superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok

Rerata ekspresi kolagen tipe I pada hari ke 7, 14 dan 21 pada tiap kelompok tampak pada grafik dibawah ini

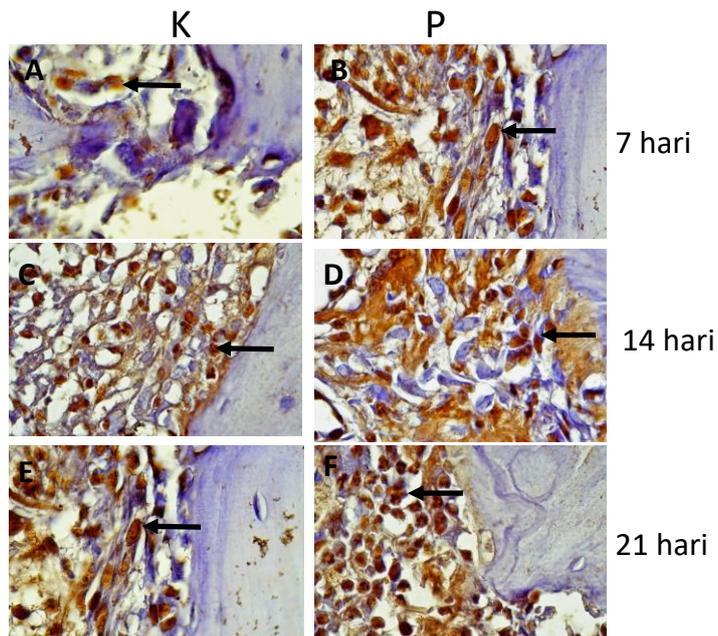


Gambar 2 Perbandingan rerata ekspresi Kolagen tipe I pada kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke 7, 14, 21

Hasil penelitian hari ke 7,14,21 rerata ekspresi kolagen tipe I kelompok P lebih tinggi signifikan ($p < 0.05$) daripada kelompok K, Sedangkan ekspresi kolagen tipe I berdasarkan kelompok penelitian, pada kelompok K tidak terjadi peningkatan signifikan ($p > 0.05$) ekspresi kolagen tipe I pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 tetapi terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 21 dibandingkan hari ke 14. Pada kelompok P terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) ekspresi kolagen tipe I pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 sedangkan pada hari ke 21 terjadi peningkatan yang tidak signifikan ($p > 0.05$) daripada hari ke 14. Hal ini membuktikan bahwa ikan teri (*stolephorus sp*) dapat meningkatkan ekspresi kolagen tipe I pada hari ke 14.

Hasil pemeriksaan imunohistokimia ekspresi OPG pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti tikus wistar

Pemeriksaan ekspresi OPG dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia , seperti terlihat pada gambar 3



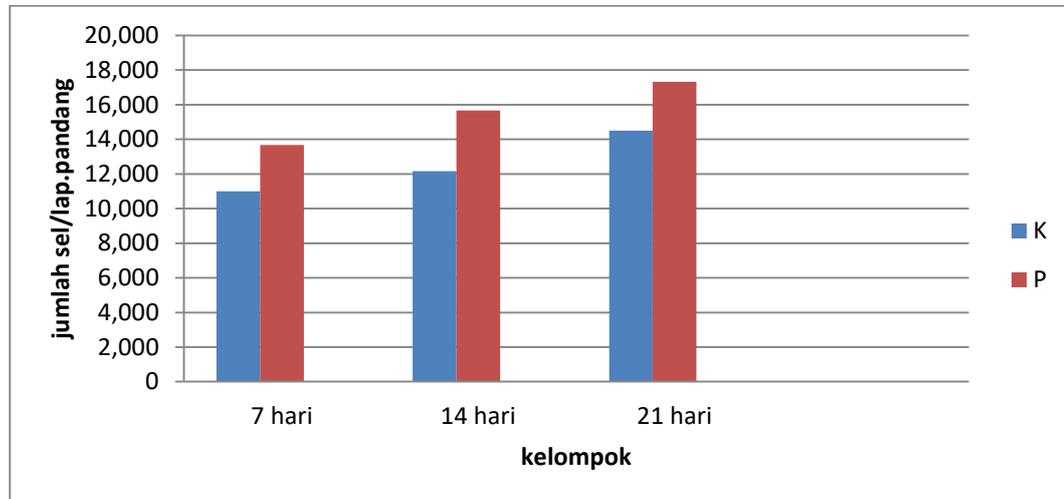
Gambar 3 Hasil pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan ekspresi OPG pada osteoblas jaringan periodontal (berwarna kecoklatan) di masing masing kelompok (pembesaran 400x

Tabel 5.2 Nilai rerata dan simpang baku ekspresi OPG dan hasil uji beda antar kelompok penelitian pada hari ke 7, 14 dan 21

Ekspresi OPG (jml sel/Lap.Pandang)					
kel	n	7 hari	14 hari	21 hari	p
K	5	11.000±2.000 ^{a.a}	12.166±1.329 ^{a.a}	14.500±4.277 ^{a.b}	0.000*
P	5	13.666±2.875 ^{b.a}	15.666±1.363 ^{b.b}	17.333±1.505 ^{b.b}	0.000*
p		0.001*	0.009*	0.000*	

Keterangan : * terdapat perbedaan antar kelompok
 abc Superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok

Rerata ekspresi OPG pada hari ke 7, 14 dan 21 pada tiap kelompok tampak pada grafik dibawah ini

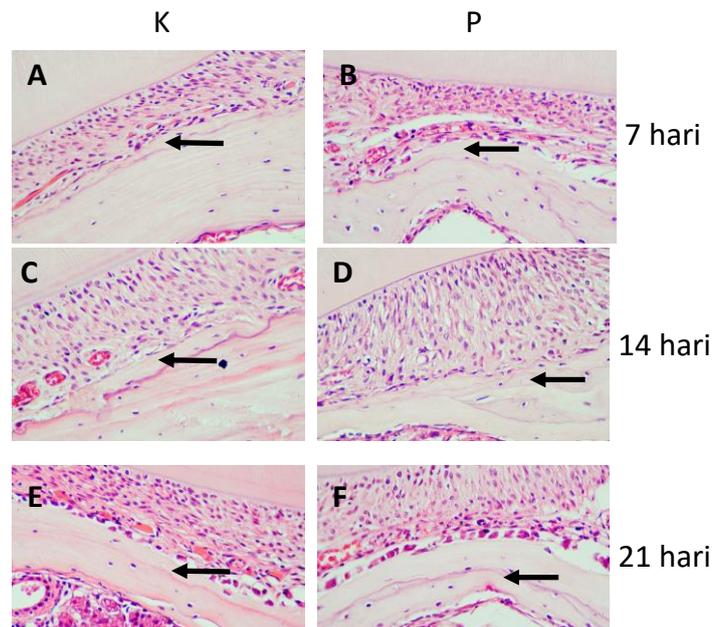


Gambar 4 Perbandingan rerata ekspresi OPG pada kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke 7,14,21

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hari ke 7 ,14,21 rerata ekspresi OPG pada kelompok P lebih tinggi signifikan ($p < 0.05$) daripada kelompok K, Sedangkan ekspresi OPG berdasarkan kelompok penelitian, pada kelompok K tidak terjadi peningkatan signifikan ($p > 0.05$) ekspresi OPG pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 tetapi terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 21 dibandingkan hari ke 14. Pada kelompok P terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) ekspresi OPG pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 sedangkan pada hari ke 21 terjadi peningkatan yang tidak signifikan ($p > 0.05$) daripada hari ke 14. Hal ini membuktikan bahwa ikan teri (*stolephorus sp*) dapat meningkatkan ekspresi OPG pada hari ke 14.

Hasil pemeriksaan HE luas daerah jaringan tulang muda(woven bone) pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti tikus wistar

Pemeriksaan luas daerah *Woven bone* dilakukan dengan menggunakan metode HE , seperti terlihat pada gambar 5



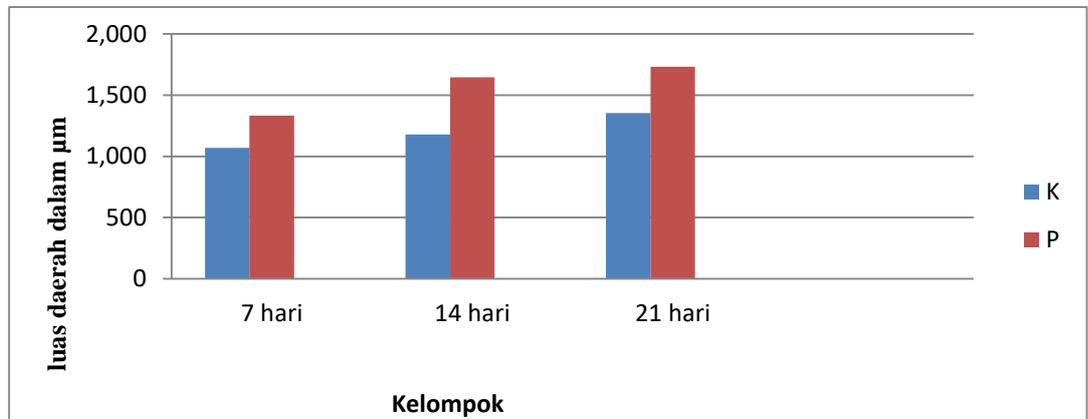
Gambar .5 Hasil pemeriksaan HE menunjukkan luas area *woven bone* di masing masing kelompok (pembesaran 200x)

Tabel .3 Nilai rerata dan simpang baku luas daerah *woven bone* dan hasil uji beda antar kelompok penelitian pada hari ke 7, 14 dan 21

Luas daerah <i>woven bone</i> (μm)					
kel	n	7 hari	14 hari	21 hari	p
K	5	1.068 \pm 0.085 ^{a.a}	1.178 \pm 0.053 ^{a.a}	1.355 \pm 0.102 ^{a.b}	0.000*
P	5	1.332 \pm 0.085 ^{b.a}	1.646 \pm 0.182 ^{b.b}	1.733 \pm 0.169 ^{b.b}	0.001*
p		0.003*	0.000*	0.000*	

Keterangan : * terdapat perbedaan antar kelompok
^{abc} Superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok

Rerata luas daerah *woven bone* pada hari ke 7, 14 dan 21 pada tiap kelompok tampak pada grafik dibawah ini



Gambar 5.6 Perbandingan rerata luas daerah *Woven bone* pada kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke 7,14,21

Hasil penelitian pada hari ke 7 ,14 dan 21, rerata luas daerah *woven bone* kelompok P lebih tinggi signifikan ($p < 0.05$) daripada kelompok K, Sedangkan berdasarkan kelompok penelitian menggambarkan luas daerah *woven bone* pada kelompok pada kelompok K terjadi peningkatan tidak signifikan ($p > 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 tetapi terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan hari ke 21 . Kelompok P, terjadi peningkatan signifikan ($p < 0.05$) pada hari ke 14 dibandingkan hari ke 7 tetapi tidak terjadi peningkatan signifikan ($p > 0.05$) pada hari 21 dibandingkan hari ke 14

KESIMPULAN

Pemberian ikan teri (*stolephorus sp*) meningkatkan proses osteogenesis melalui peningkatan ekspresi osteoprotegerin dan kolagen tipe I di daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti

