



DIFFERENCES IN OSTEOLAST COUNT AND ITS EFFECT ON ORTHODONTIC MOVEMENT OF DIABETIC MODELS' TEETH AFTER ORAL ADMINISTRATION OF OLIVE OIL

PERBEDAAN HITUNG JUMLAH OSTEOLAS DAN PENGARUHNYA PADA PERGERAKAN ORTODONTIK GIGI MODEL DIABETES SETELAH PEMBERIAN MINYAK ZAITUN SECARA PERORAL

Salwa Az-Zahra¹, Fani Tuti Handayani^{2*}, Ryana Budi Purnama³, Setiadi W. Logamarta⁴

Department of Dentistry, Faculty of Medicine, Universitas Jenderal Soedirman, Indonesia

ABSTRACT

Background: In patients with uncontrolled diabetes, an increase in Advanced glycation end products (AGEs) inhibits osteoblast differentiation so that the number of osteoblasts decreases and interferes with bone formation in orthodontic movement. Giving natural ingredients such as olive oil is proven to increase the number of osteoblasts. **Purpose:** To determine differences in the number of osteoblasts and their effect on the orthodontic movement of diabetic teeth after oral administration of olive oil. **Method:** 25 male guinea pigs divided into four groups: diabetic guinea pigs treated with olive oil at a dose of 0.7; 1.05; 1.4 ml/day, distilled water, and healthy guinea pigs were given aquadest. Alveolar bone tissue samples were taken on the 15th day after orthodontic application, and then the number of osteoblasts was calculated histologically. **Result:** In the diabetic model group treated with olive oil doses of 0.7; 1.05; 1.4 ml/day, distilled water, and healthy guinea pigs given aquades were 2.900 ± 0.678 ; 4.320 ± 0.497 ; 5.920 ± 0.460 ; 0.200 ± 0.200 ; 1.320 ± 0.415 . The study showed that the olive oil treatment group had more osteoblasts than the untreated group. Analysis one way ANOVA showed a very significant difference between the treatment group and the untreated group ($p \leq 0.01$), while the LSD test showed a significant difference between groups. The highest number of osteoblasts was found at a dose of 1.4 ml/day. **Conclusion:** There was an increase in osteoblasts in the orthodontic movement of diabetic teeth after oral administration of olive oil.

ABSTRAK

Latar belakang: Pada penderita diabetes tidak terkontrol, peningkatan Advanced glycation end products (AGEs) menghambat diferensiasi osteoblas sehingga jumlah osteoblas menurun dan mengganggu pembentukan tulang pada pergerakan ortodonti. Pemberian bahan alami seperti minyak zaitun terbukti dapat meningkatkan jumlah osteoblas. **Tujuan:** Untuk mengetahui perbedaan jumlah hitung osteoblas dan pengaruhnya pada pergerakan ortodonti gigi model diabetes setelah pemberian minyak zaitun secara peroral. **Metode:** Penelitian ini menggunakan 25 marmot jantan dibagi menjadi 4 kelompok: marmot diabetes dengan perlakuan minyak zaitun dosis 0,7; 1,05; 1,4 ml/hari, aquades, dan marmot sehat diberi aquades. Sampel jaringan tulang alveolar diambil pada hari ke-15 setelah pemberian gaya ortodonti, kemudian dihitung jumlah osteoblas secara histologis. **Hasil:** Pada kelompok model diabetes dengan perlakuan minyak zaitun dosis 0,7; 1,05; 1,4 ml/hari, aquades, dan marmot sehat pemberian aquades adalah 2.900 ± 0.678 ; 4.320 ± 0.497 ; 5.920 ± 0.460 ; 0.200 ± 0.200 ; 1.320 ± 0.415 . Penelitian menunjukkan kelompok perlakuan dengan minyak zaitun memiliki jumlah osteoblas lebih banyak dibanding kelompok tanpa perlakuan. Analisis one way ANOVA menunjukkan perbedaan sangat signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok tanpa perlakuan ($p \leq 0,01$) sedangkan uji LSD memperlihatkan perbedaan signifikan antar kelompok. Jumlah osteoblas terbanyak terdapat pada dosis 1,4 ml/hari. **Kesimpulan:** Terdapat peningkatan jumlah hitung osteoblas pada pergerakan ortodonti gigi model diabetes setelah pemberian minyak zaitun secara peroral.

Research Report
Penelitian

ARTICLE INFO

Received 04 February 2022
Revised 06 February 2022
Accepted 30 September 2022
Online 01 November 2022

Correspondence:
Fani Tuti Handayani

E-mail:
fanitutihandayani@gmail.com

Keywords:
Count the number of osteoblasts, Diabetes, Olive oil, Orthodontic tooth movement

Kata kunci:
Hitung jumlah osteoblas, Diabetes, Minyak zaitun, Pergerakan gigi ortodontik



PENDAHULUAN

Perawatan ortodonti dalam bidang kedokteran gigi bertujuan untuk mengoreksi *maloklusi* dan berkaitan erat dengan pergerakan gigi geligi dalam prosesnya. Pergerakan gigi dalam perawatan ortodonti membutuhkan tekanan yang disebut tekanan ortodonti dan dihasilkan oleh pemakaian piranti ortodonti cekat maupun lepasan pada periode waktu yang lama. Pada saat gigi digerakkan menggunakan piranti ortodonti, jaringan *periodontal* dan jaringan *gingival* yang mengelilingi gigi akan merenggang, serta elemen jaringan yang pertama berubah waktu gigi bergerak adalah *ligament periodontal* beserta sel-sel di dalamnya seperti osteoblas, osteoklas dan sementoblas, serat pendukung, kapiler, dan persarafan. Setelah itu, tulang alveolar dan *sementum* akan mengalami perubahan sehingga gigi bergerak ke posisi yang baru. Aposisi akan terjadi pada sisi yang mengalami tarikan, sedangkan resorpsi tulang akan terjadi pada sisi tekanan (Wijaya et al., 2015).

Tulang alveolar adalah bagian dari tulang rahang yang mengelilingi permukaan gigi pada *maksila* dan *mandibula* yang tumbuh secara dinamis di dalam rongga mulut, mengalami perombakan, serta regenerasi secara konstan (Budirahardjo, 2015). *Remodeling* tulang adalah aktivitas seluler pada tulang alveolar yang melibatkan proses resorpsi dan proses aposisi. Proses resorpsi tulang alveolar pada daerah tekanan terjadi karena adanya osteoklas, sedangkan pada daerah tarikan terjadi pembentukan tulang alveolar oleh osteoblas. Osteoblas memiliki peran penting dalam *remodeling* tulang yang dimulai 40 - 48 jam setelah gaya ortodonti diaplikasikan. Proses pembentukan tulang alveolar pada daerah tarikan diawali dengan munculnya *bone surface lining cells* dan *preosteoblas* setelah proses resorpsi tulang selesai. *Bone surface lining cells* akan membesar dan mulai memproduksi matriks tulang yaitu osteoid, sedangkan *preosteoblas* akan berproliferasi dan migrasi ke arah permukaan tulang alveolar melalui serabut *sharpey's* secara simultan. Proses ini dilanjutkan dengan fibroblas pada daerah tarikan memulai multifikasi dan *remodeling* matriks di sekitarnya. Permukaan tulang akan tertutupi sel lapisan tulang selama periode istirahat yang berkepanjangan saat fase sebelumnya selesai sampai siklus *remodeling* tulang yang baru dimulai (Amin and Permatasari, 2016; Herniyati, 2016; Brahmanta and Raharjo, 2018).

Osteoblas adalah sel yang berperan penting dalam proses pembentukan tulang. Osteoblas berasal dari sel osteoprogenitor jaringan *mesenkimal* sumsum tulang. Diferensiasi osteoblas terjadi akibat produksi *bone sialoprotein*, *osteocalcin*, dan *extracellular matrix proteins* spesifik untuk tulang yang dipengaruhi oleh *parathyroid hormone* (PTH) (Handayani and Brahmanta, 2018). Osteoblas terstimulasi untuk meningkatkan *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand* (RANKL) dan *osteoprotegerin* (OPG) akibat dari sel sitokin proinflamasi yang terbentuk pada proses inflamasi.

Osteoblas menghasilkan protein OPG yang akan berikatan dengan RANKL untuk menghambat aktivasi osteoklas (Fatimatuzzahro et al., 2020). Proses *remodeling* tulang tidak hanya diakibatkan oleh faktor-faktor tersebut saja, namun juga diakibatkan dari beberapa faktor lain seperti faktor hormon (*polypeptides*, *parathyroid hormones*, *calcitonin*, *insulin growth hormones*, *teroid 1,25, dihydroxy vitamin D3*, *glucocorticoids*, *sec steroids*, *thyroid hormones*), *growth factors* (*insulin-like growth factors I dan II*, *transforming growth factor β* , *gibroblast growth factor*, *platelet derived growth factor*, *connective tissue growth factor*), sitokin, *colony-stimulating factors*, *prostaglandin*, *leukotrien*, dan *nitric oxide* (Dhenain et al., 2019; Eliades, 2019).

Remodeling tulang dapat berjalan tidak optimal pada keadaan tertentu, salah satunya pada penderita diabetes. Penderita diabetes yang menjalani perawatan ortodonti akan mengalami gangguan pada proses pergerakan gigi. Proses *remodeling* tulang yang mengakomodir pergerakan gigi akan mengalami gangguan pada penderita diabetes. Tulang alveolar pada penderita diabetes yang mengalami resorpsi di daerah tekanan tidak diimbangi pembentukan tulang di daerah tarikan (Epsilawati, 2018). Diabetes mempengaruhi status metabolik tubuh penderita dan menyebabkan penurunan densitas mineral tulang alveolar, sehingga piranti ortodonti yang digunakan pada pasien diabetes akan menghasilkan perbedaan tingkat pergerakan gigi. Diabetes terkadang tidak disadari oleh penderitanya sehingga diabetes yang diderita pasien menjadi tidak terkontrol. Perawatan ortodonti yang dilakukan pada penderita diabetes akan mempunyai *prognosis* yang buruk karena proses *remodeling* tulang yang terganggu (Shita, 2017).

Adapun faktor-faktor yang sudah diidentifikasi bertanggung jawab atas risiko peningkatan patah tulang pada pasien diabetes adalah adanya perubahan sirkulasi glukosa dan/atau adanya non-oksidatif *Advanced glycation end product* (AGEs). AGEs pada lingkungan mikro dengan adanya sitokin inflamasi mempengaruhi osteoklastogenesis dan disfungsi osteoblas (Daher et al., 2017). Diabetes tidak terkontrol menginduksi *polyol pathway*, produksi AGEs, *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan aktivasi protein kinase C (pkC) yang berpengaruh langsung maupun tidak langsung terhadap *remodeling* jaringan *periodontal* dan *bone loss*. AGEs berpengaruh langsung dalam menghambat diferensiasi osteoblas yang ditandai dengan penurunan ekspresi alkali fosfat serta kolagen I dan menginduksi apoptosis osteoblas sehingga menurunkan jumlah osteoblas dan mengganggu pembentukan tulang. ROS juga berpengaruh secara langsung dengan cara menginduksi ekspresi RANKL sehingga meningkatkan induksi pembentukan osteoklas. Penghambatan diferensiasi sel osteoblas dalam proses *remodeling* tulang dapat menyebabkan penghambatan pergerakan gigi ortodonti. Penurunan jumlah osteoblas pada pergerakan gigi ortodonti akan menyebabkan masalah ketidakseimbangan resorpsi dan aposisi tulang alveolar (Shita, 2017; Hikmah, 2015; Goulart et al., 2017)

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa osteoblas pada *remodeling* tulang dapat meningkat setelah pemberian bahan alam. Bahan alam yang terbukti dapat meningkatkan jumlah osteoblas pada pergerakan gigi ortodonti adalah minyak zaitun (*Olea europaea L.*) di Mediterania (Al-Hamdany et al., 2017). Minyak zaitun adalah bahan alam yang kaya akan antioksidan dan vitamin E yang sering dikonsumsi oleh masyarakat karena mudah ditemukan. Minyak zaitun mengandung asam lemak tak jenuh yang bermanfaat sebagai terapi nutrisi bagi penderita diabetes.

Minyak zaitun terbukti bekerja menggantikan *estrogen* untuk mencegah tulang keropos. Kandungan antioksidan pada minyak zaitun bekerja membantu menetralkan radikal bebas akibat adanya ROS yang diinduksi oleh diabetes tidak terkontrol. Vitamin E bekerja bersama kandungan antioksidan dalam minyak zaitun untuk menetralkan radikal bebas (Munarsih and Imanda, 2018; Suparwitri and Noviasari, 2019; Brahmanta and Raharjo, 2018). *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), *interleukin-1*(IL-1), dan IL-6 adalah sitokin pro-inflamasi yang meningkat pada saat keadaan diabetes tipe I yang bekerja menekan pematangan osteoblas serta mendorong kematian osteoblas (Costantini and Conte, 2019). Minyak zaitun mengandung *fenolik* seperti *farulic acid* yang bekerja memicu penurunan produksi TNF- α sehingga menghambat aktivitas osteoklas, luteolin yang bekerja sebagai penyangkal ROS seperti antioksidan, serta *caffeic acid* dan *coumaric acid* yang bekerja mengurangi stres oksidatif pada osteoblas sehingga dapat meningkatkan jumlah osteoblas karena peningkatan osteoblastogenesis (Herniyati et al., 2016; Prasetya, 2017; Anggreni, 2020; Daher et al., 2017).

Penelitian Al-Hamdany et al. (2017) menunjukkan bahwa peningkatan jumlah osteoblas dan penurunan jumlah osteoklas ditemukan pada kelompok kelinci dengan pergerakan ortodonti yang diberikan minyak zaitun. Suparwitri and Noviasari (2019) membuktikan bahwa pemberian minyak zaitun setelah 14 hari dapat meningkatkan TGF β -1 yang merupakan mediator *growth factor* berperan dalam proses *remodeling* tulang. Gigi marmot memiliki lapisan *ligament periodontal* tulang alveolar dan tulang kortikal yang secara histologis pada tulang alveolar marmot (*Cavia cobaya*) dapat terlihat adanya osteoblas, osteoklas, osteosid, dan lain-lain (Clemons and Seeman, 2018).

Penurunan jumlah osteoblas pada kondisi diabetes tidak terkontrol membuat proses *remodeling* tulang terganggu. Proses *remodeling* tulang mengalami ketidakseimbangan proses resorpsi dan aposisi dikarenakan adanya penurunan jumlah osteoblas daerah tarikan dan peningkatan osteoklas daerah tekanan. Kandungan *fenolik* pada minyak zaitun yang terbukti dapat meningkatkan jumlah osteoblas pada pergerakan gigi ortodonti diharapkan mampu meningkatkan jumlah osteoblas pada penderita diabetes tidak terkontrol dan membentuk tulang alveolar baru pada daerah tarikan (Al-Hamdany et al., 2017; Suparwitri and Noviasari, 2019).

Manusia mengonsumsi minyak zaitun sebanyak 30 - 50 ml/hari. Dosis minyak zaitun pada marmot bisa dikonversi mengikuti tabel konversi Laurence dan Bacharach dengan angka konversi 0,031. Perhitungan konversi dosis minyak zaitun dari manusia ke marmot didapatkan 0,7ml/hari. Penelitian Suparwitri and Noviasari (2019) membuktikan bahwa pemberian minyak zaitun setelah 14 hari dapat meningkatkan TGF β -1 yang merupakan mediator *growth factor* yang berperan dalam proses *remodeling* tulang dan bahwa dosis 0,7 ml/hari dapat meningkatkan *growth factor* β 1 yakni tanda awal dari pembentukan osteoblas.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh pemberian minyak zaitun dosis 0,7; 1,05; dan 1,4 ml/hari terhadap jumlah osteoblas di daerah tarikan pada pergerakan gigi ortodonti model hewan coba diabetes, serta melihat apakah peningkatan dosis akan diikuti dengan peningkatan jumlah osteoblas sehingga pergerakan ortodonti pada model diabetes lebih optimal.

MATERIAL DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dengan metode eksperimen laboratoris dengan rancangan penelitian *post test-only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2021 hingga September 2021. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman untuk pemeliharaan dan perlakuan marmot, di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada untuk pembuatan sediaan histologi, dan di Laboratorium Riset dan Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman untuk pengamatan histologi jumlah osteoblas dengan pewarnaan HE.

Sampel pada penelitian ini adalah 25 ekor marmot jantan berusia 3 - 4 bulan, mempunyai berat badan sebesar 300 - 500 gram, dan marmot dalam keadaan sehat. Jumlah sampel dari tiap kelompok dihitung menggunakan rumus *Daniel* dan didapatkan 5 ekor marmot tiap kelompok. Kelompok marmot terdiri dari 5 kelompok yaitu kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberikan perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian minyak zaitun 0,7 ml/hari, kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian minyak zaitun 1,05 ml/hari, kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberikan perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian minyak zaitun 1,4 ml/hari, kelompok kontrol (K1) yang diberikan perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian aquades, dan kelompok kontrol (K2) dengan marmot sehat dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian aquades. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik yang diperoleh dari KEPK FK Unsoed pada tanggal 19 Agustus 2021 dengan nomor referensi 153/KEPK/VIII/2021.

Marmot diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi makan berupa pakan dalam wadah kecil pada pagi, siang, malam hari dan minum. Hewan coba yang sudah diaklimatisasi selama satu minggu ditimbang berat badannya, hewan coba kemudian dipuasakan semalam kemudian disuntikkan STZ dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal setelah diencerkan dalam *citrate buffer* 0,05 mol/L dengan pH 4,5. Marmot diberikan larutan glukosa 10% setelah pemberian STZ selama 24 jam berikutnya. 14 hari setelah injeksi STZ darah diambil dan dilakukan pengecekan kadar glukosa darah. Hasil glukosa darah marmot yang diinduksi harus mencapai ≥ 200 mg/dL sehingga dapat dikatakan bahwa marmot telah mengalami diabetes tidak terkontrol

Marmot dianestesi umum menggunakan injeksi intramuskular ketamin (50 mg/kgBB) sebelum dipasang separator. Pemasangan separator dilakukan dengan bantuan separator plier pada gigi *insisiv* kiri rahang atas marmot untuk induksi pergerakan gigi ortodonti selama 14 hari. Kelompok perlakuan diberikan minyak zaitun siap pakai yang mempunyai komposisi minyak zaitun ekstrak *virgin* merk *Bertolli*[®] dengan dosis 0,7; 1,05; dan 1,4 ml/hari secara peroral, sedangkan kelompok kontrol negatif dan sehat diberikan larutan aquades secara oral. Minyak zaitun diberikan satu kali sehari pada pukul 10 pagi selama 14 hari. Marmot dikembalikan ke kandang masing-masing dan dibiarkan pulih setelah diberikan minyak zaitun dan larutan aquades.

Separator pada semua kelompok dilepaskan dari rongga mulut pada hari ke-15. Marmot selanjutnya dikorbakan secara manusiawi menggunakan anestesi eter dan dilakukan pematangan tulang rahang atas pada regio *insisiv* kiri secara longitudinal menggunakan scalpel. Sampel jaringan diambil dengan ukuran sekitar

1 cm³ di daerah servikal *mesial* gigi *insisiv* kiri yang paling dekat dengan akar gigi dan dilakukan pembuatan sampel preparat histologi. Sisa hewan coba yang tidak digunakan akan dikubur sesuai dengan prosedur.

Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya binokuler LEICA dm 750 (ICC50 E), kemudian diamati osteoblas. Pengamatan osteoblas dilakukan 2 kali dengan pembagian empat lapang pandang pada masing masing preparat dan dilakukan oleh pengamat profesional sehingga bisa dilakukan *test-retest reliability*. Osteoblas mempunyai bentuk kuboid hingga silindris yang berdiameter 20 - 30 μ m dan berwarna keunguan terletak pada permukaan matriks tulang dan letaknya bersebelahan. Kalibrasi dilakukan sebelum perhitungan osteoblas untuk mengidentifikasi osteoblas dengan mengukur diameter osteoblas. Osteoblas yang terlihat pada 5 lapang pandang yang berbeda kemudian dihitung dan dijumlahkan. Data hasil perhitungan osteoblas dianalisis menggunakan *software* SPSS.

HASIL

Penelitian ini dilakukan pada 5 kelompok perlakuan dengan 5 preparat tiap kelompoknya. Pengamatan dilakukan pada sel-sel osteoblas daerah tarikan tulang alveolar pada daerah tarikan gigi insisivus menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 1000x pada 5 lapang pandang (Gambar 1). Osteoblas tergambar mempunyai bentuk kuboid hingga silindris yang dan berwarna keunguan terletak pada permukaan matriks tulang dan letaknya bersebelahan. Data hasil perhitungan jumlah osteoblas dilakukan pada preparat histologi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi jumlah perhitungan osteoblas

No	Kode Kelompok	Kelompok Sampel	Jumlah Osteoblas \pm SD
1	P1	Kelompok perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian minyak zaitun 0,7 ml/hari	2,900 \pm 0,678
2	P2	Kelompok perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian minyak zaitun 1,05 ml/hari	4,320 \pm 0,497
3	P3	Kelompok perlakuan diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian minyak zaitun 1,4 ml/hari	5,920 \pm 0,460
4	K1	Kelompok kontrol diabetes dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian aquades	0,200 \pm 0,200
5	K2	Kelompok kontrol sehat dan aplikasi gaya mekanik dengan pemberian aquades	1,320 \pm 0,415

Sumber: Data primer terolah (2021)



Gambar 1. Gambaran histologi osteoblas pada tulang alveolar marmot perbesaran 1000x. Anak panah kuning menunjukkan osteoblas. (Data primer, 2021)

Data yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan uji validitas dan reabilitas pengamat dengan *Cohen's Kappa*. Hasil uji validitas data pengamatan pertama dan kedua pada perhitungan jumlah osteoblas pada daerah tarikan alveolar marmot jantan yang diinduksi gaya mekanik ortodonti berdasarkan nilai *Kappa* sebesar 0,873 yang berarti kesepakatan kuat.

Selanjutnya dilakukan uji normalitas dengan *saphiro-wilk test* karena sampel kurang dari 50. Hasil uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal yang dibuktikan nilai *p-value*>0,05 pada setiap kelompok. Data hasil perhitungan jumlah osteoblas selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan *levene test*. Hasil uji homogenitas menyatakan data diperoleh homogen dengan nilai *p-value*>0,05 yaitu 0,364.

Data yang terdistribusi secara normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji statistik parametrik menggunakan uji *one way ANOVA*. Uji ini dilakukan untuk membandingkan rerata antar kelompok. Hasil uji *one way ANOVA* dapat dilihat melalui Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji *one way ANOVA* jumlah osteoblas

No	Kelompok	Jumlah sampel	Rerata	Standar deviasi	Sig. (p)
1	P1	5	2,900	0,678	0,000
2	P2	5	4,320	0,497	
3	P3	5	5,920	0,460	
4	K1	5	0,200	0,200	
5	K2	5	1,320	0,415	

Keterangan: *terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).
Sumber: Data Primer yang diolah, 2021.

Hasil uji *one way ANOVA* diperoleh nilai signifikan $p\text{-value}=0,000$ ($p\text{-value} < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari pemberian minyak zaitun terhadap jumlah osteoblas pada daerah tarikan tulang alveolar marmot jantan yang diinduksi gaya mekanik ortodonti.

Data jumlah perhitungan osteoblas selanjutnya dilakukan uji *post-hoc* menggunakan *Least Significant Difference (LSD)* untuk membandingkan perbedaan antar kelompok. Berdasarkan data pada Tabel 3, hasil uji *Post-Hoc LSD* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p\text{-value} \leq 0,05$) antara tiap kelompok dalam penelitian.

Tabel 3. Hasil uji *post-hoc LSD* jumlah osteoblas

Kelompok	K1	K2	P1	P2	P3
K1		0,018*	0,005*	0,000*	0,000*
K2			0,034*	0,000*	0,000*
P1				0,042*	0,001*
P2					0,008*
P3					

Keterangan: *terdapat perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$).
Sumber: Data primer yang diolah, 2021

PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan dengan perlakuan hewan coba, yaitu marmot sehat dan diabetes. Kondisi marmot diabetes didapatkan dari induksi STZ dengan dosis 150 mg/kgBB. Marmot kondisi diabetes diinjeksi intraperitoneal dengan STZ untuk merusak sel beta pankreasnya. Paparan STZ menyebabkan marmot mengalami diabetes tidak terkontrol yang menginduksi peningkatan AGEs dan ROS. Peningkatan AGEs dan ROS menghambat diferensiasi osteoblas sehingga mengganggu pembentukan tulang (Dwarakanath.V et al., 2015). Salah satu strategi untuk menurunkan kondisi diabetes melitus dapat dilakukan dengan mencegah pembentukan radikal bebas akibat adanya AGEs dan ROS. Bahan aktif yang dimiliki minyak zaitun dapat membantu menetralkan radikal bebas (Herniyati, 2016; Prasetya, 2017; Anggreni, 2020).

Hasil perhitungan jumlah osteoblas pada penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan masing-masing kelompok perlakuan (Tabel 1). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah osteoblas mengalami peningkatan ketika marmot diberi minyak zaitun. Nilai rerata jumlah osteoblas tertinggi terdapat pada kelompok P3 yaitu kelompok dengan pemberian minyak zaitun 1,4 ml/hari, sedangkan nilai rerata jumlah osteoblas terendah terdapat pada kelompok kontrol yaitu kelompok dengan induksi diabetes tanpa pemberian minyak zaitun. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan diabetes menurunkan osteoblas sesuai dengan penelitian Hikmah (2015) dan membuktikan bahwa marmot dalam penelitian ini benar-benar mengalami diabetes. Hal ini berkebalikan dengan kelompok P3 yang membuktikan bahwa minyak zaitun berpengaruh terhadap peningkatan osteoblas pada kondisi diabetes terbukti dengan hasil uji *post-hoc LSD* pada Tabel 3 yang menunjukkan hasil signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok P3.

Perhitungan jumlah osteoblas ini menunjukkan bahwa nilai rerata jumlah osteoblas pada kelompok kontrol sehat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diinduksi diabetes. Kelompok kontrol menggambarkan keberadaan osteoblas pada hari ke-14 pasca pergerakan mekanik ortodonti pada marmot diabetes tidak terkontrol tanpa pemberian terapi dan menunjukkan rerata jumlah osteoblas yang paling rendah dibandingkan kelompok lainnya. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Hikmah (2015) bahwa rerata osteoblas pada daerah tarikan pergerakan gigi ortodonti pada hewan coba diabetes lebih rendah dibandingkan dengan hewan coba sehat secara signifikan lebih dari 50%. Shita (2017) menyebutkan bahwa kondisi *hiperglikemia* pada diabetes menyebabkan sel osteoblas mengalami apoptosis karena adanya aktivitas AGEs dan ROS. AGEs berpengaruh langsung menghambat diferensiasi osteoblas yang ditandai dengan penurunan ekspresi alkali fosfat serta kolagen I dan menginduksi apoptosis

osteoblas sehingga dapat menurunkan jumlah osteoblas dan mengganggu pembentukan tulang. Hal ini membuktikan bahwa marmot pada penelitian ini benar benar mengalami diabetes tidak terkontrol dan pengaruh diabetes dapat menurunkan jumlah osteoblas (Shita, 2017; Hikmah, 2015 ; Goulart *et al.*, 2017).

Hasil uji *post-hoc* LSD pada Tabel 3 menunjukkan adanya perbedaan jumlah osteoblas yang signifikan antar kelompok P1, P2, dan P3. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan dosis minyak zaitun berpengaruh pada peningkatan jumlah osteoblas. Peningkatan jumlah osteoblas menunjukkan adanya peningkatan diferensiasi osteoblas daerah tarikan karena kemunculan osteoblas pada daerah tarikan. Hal tersebut dapat memperkuat pembuktian penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Suparwitri and Noviasari (2019) yang menyatakan bahwa dosis 0,7 ml/hari dapat meningkatkan *growth factor* $\beta 1$ yang merupakan tanda awal dari pembentukan osteoblas. Perbedaan antar kelompok perlakuan dapat dilihat pada hasil uji *post-hoc* LSD yang menunjukkan adanya perbedaan jumlah osteoblas yang signifikan antara kelompok perlakuan P1 dengan P2 dan adanya perbedaan signifikan antara P2 dan P3. Hal ini membuktikan bahwa setiap penambahan dosis sampai dosis 1,4 ml/hari masih memiliki efek meningkatkan jumlah osteoblas pada pergerakan gigi ortodonti.

Peningkatan osteoblas pada penelitian ini berjalan linier dengan penambahan dosis minyak zaitun pada pemberian gaya mekanik ortodonti yang sama perlu menjadi perhatian. Peningkatan jumlah osteoblas yang besar pada fase perawatan aktif ortodonti dapat menurunkan efisiensi perawatan dan mengganggu proses *remodeling*. Peningkatan jumlah osteoblas dalam perawatan aktif ortodonti menurut penelitian Saputri *et al.* (2021) sekitar 1,3 kali lipat. Peningkatan osteoblas yang terlalu besar pada perawatan aktif ortodonti berpotensi menyebabkan gangguan pergerakan gigi. Penumpukan osteoblas berlebih dapat mengganggu keberhasilan *remodeling*. Peningkatan osteoblas dapat menguntungkan ketika perawatan ortodonti berada pada fase pasif maupun retentif. Potensi minyak zaitun dalam meningkatkan osteoblas dapat menjadi referensi klinis untuk membantu peningkatan kepadatan tulang sehingga relaps dapat dicegah.

Hasil uji *post-hoc* LSD pada Tabel 3 menunjukkan adanya perbedaan jumlah osteoblas yang signifikan hingga 3 kali lipat antara kelompok kontrol sehat dengan kelompok P1, P2, dan P3 pada hari ke-14. Peningkatan osteoblas tersebut membuktikan bahwa minyak zaitun berpotensi mencegah terjadinya *relaps* karena peningkatan osteoblas menyebabkan peningkatan kepadatan tulang. Penelitian yang dilakukan oleh Saputri *et al.* (2021) membuktikan bahwa pada hari ke-14 terjadi *initial phase*. Gigi akan berpindah sekitar 24 sampai 48 jam setelah aplikasi kekuatan gigi lalu

terjadi peningkatan jumlah osteoblas yang signifikan pada hari ke-14, namun tidak mengalami peningkatan lagi pada hari ke-22. *Initial phase* yang terjadi sampai hari ke-14 ini memasuki *lag phase* pada hari ke-22 yang ditandai dengan sedikit perubahan atau tidak adanya perubahan jumlah osteoblas.

Peningkatan osteoblas yang signifikan pada kondisi diabetes dihari ke-14 dapat terjadi akibat perubahan metabolisme tubuh marmot sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah. Minyak zaitun pada penelitian sebelumnya disebutkan dapat menurunkan kadar glukosa darah hingga 13,89% pada hewan coba dengan dosis minyak zaitun 0,7 ml/hari selama 7 hari pemberian perlakuan. Minyak zaitun bermanfaat sebagai terapi nutrisi yang dikaitkan dengan peningkatan sensitivitas insulin pada jaringan yang dituju, peningkatan sekresi insulin, dan memperbaiki sel-sel beta pankreas. Fungsi kerja minyak zaitun tersebut memungkinkan kondisi diabetes yang semakin membaik pada hari ke-14. Kondisi diabetes yang semakin membaik akan menyebabkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah ini mengembalikan kondisi metabolisme normal sehingga dapat meningkatkan jumlah osteoblas secara signifikan seiring pertambahan dosis. Hal ini sejalan hasil penelitian yang memperlihatkan jumlah osteoblas pada hari ke-14 pada kelompok perlakuan pemberian minyak zaitun 0,7; 1,05; dan 1,4 ml/hari lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol dengan diabetes dan kelompok kontrol sehat (Santoso and Suryanto, 2017). Penurunan kadar glukosa darah pada pemberian minyak zaitun mengakibatkan peningkatan osteoblas yang tinggi, hal tersebut perlu menjadi perhatian sehingga diperlukan kebijaksanaan klinis dalam pemakaian minyak zaitun agar fungsi dari minyak zaitun dapat memberikan keuntungan pada bidang ortodonti.

Peningkatan jumlah osteoblas yang signifikan setiap penambahan minyak zaitun antara kelompok sehat dan kelompok perlakuan yang terlihat pada hasil *Post-Hoc* LSD (Tabel 3) perlu mendapatkan perhatian karena peningkatan jumlah osteoblas yang tinggi. Proses *remodeling* pada perawatan aktif ortodonti berjalan kontinu. Aplikasi gaya pada hari pertama diawali dengan penambahan osteoklas yang dilanjutkan osteoblas pada hari ke-14 dalam jumlah yang optimal akan menghasilkan pergerakan gigi yang baik. Jumlah optimal yang disarankan adalah 1,3 menurut penelitian Saputri *et al.* (2021), sedangkan pada penelitian ini peningkatan osteoblas menunjukkan peningkatan osteoblas yang berlebihan hingga peningkatan 3 kali lipat. Salah satu faktor osteoblas dapat terus meningkat adalah tidak adanya gaya, sehingga proses *remodeling* dianggap selesai dan tulang mengalami pemadatan. Penelitian ini menggunakan separator sebagai gaya mekanis. Kekuatan separator relatif kecil dan

terbatas, sehingga kemungkinan hilangnya gaya turut berpengaruh dalam meningkatnya osteoblas. Hal ini berbeda dengan penelitian lain yang menggunakan *coil* sebagai gaya mekanis yang memiliki gaya yang cukup kontinyu sampai hari ke-14, sehingga masih terjadi pergerakan aktif.

KESIMPULAN

Pengaruh pemberian minyak zaitun dosis 0,7; 1,05; dan 1,4 ml/hari terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada daerah tarikan tulang alveolar marmot jantan model diabetes yang diinduksi gaya mekanik ortodonti menunjukkan peningkatan yang signifikan. Pemberian minyak zaitun dengan dosis 1,4 ml/ hari menunjukkan pengaruh yang paling tinggi dalam meningkatkan jumlah osteoblas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan dan bantuan dari pihak Jurusan Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Tim Laboran Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, dan orang tua penulis sehingga penelitian ini bisa terlaksana dengan lancar. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Hamdany, A.K., Al-Khatib, A.R., Al-Sadi, H.I., 2017. Influence of Olive Oil On Alveolar Bone Response during Orthodontic Retention Period: Rabbit Model Study. *Acta Odontol. Scand.* Vol. 75(6), Pp. 413-422.
- Amin, M.N., Permatasari, N., 2016. Aspek Biologis Pergerakan Gigi secara Ortodonsi. *STOMATOGNATIC - J. Kedokt. Gigi* Vol. 13(1), Pp. 22-27.
- Anggreni, D.P., 2020. Efektivitas Ekstrak Alga Hijau (*Ulva lactuca*) terhadap Penyembuhan Luka. Universitas Hasanuddin.
- Brahmanta, M.F.W.A., Raharjo, P., 2018. Perbedaan Jumlah Osteosit antara Daerah Tekanan dan Tarikan pada Proses Pergerakan Gigi Akibat Pemberian Terapi Oksigen Hiperbarik. *Dent. J. Maj. Kedokt. Gigi* Vol. 12(1), Pp. 34-43.
- Budirahardjo, R., 2015. Sisik Ikan sebagai Bahan yang Berpotensi Mempercepat Proses Penyembuhan Jaringan Lunak Rongga Mulut, Regenerasi Dentin Tulang Alveolar. *STOMATOGNATIC - J. Kedokt. Gigi* Vol. 7(2), Pp. 136-140.

- Clemons, D.J., Seeman, J.L., 2018. *The Laboratory Guinea Pig*, 2nd ed. Taylor & Francis.
- Costantini, S., Conte, C., 2019. Bone Health in Diabetes and Prediabetes. *World J. Diabetes* Vol. 10(8), Pp. 421-445.
- Daher, C.P.S.A.G., Vianna, B., Carvalho, F. de, 2017. The Impact of Type 2 Diabetes on Bone Metabolism. *Diabetol. Metab. Syndr.* Vol. 9(85), Pp. 1-7.
- Dhenain, T., Cote, F., Coman, T., 2019. Serotonin and Orthodontic Tooth Movement. *Biochimie* Vol. 161, Pp. 73-79.
- Dwarakanath.V, B.J.G., Swamy, Chikka, C.K., 2015. Streptozotocin-A Diabetogenic Agent in Animal Models. *Int. J. Pharm. Pharm. Res.* Vol. 3(1), Pp. 253-269.
- Eliades, T., 2019. *The Ortho-Perio Patient; Clinical Evidence & Therapeutic Guidelines*, 1 st. ed. Quintessence Pub Co, Batavia.
- Epsilawati, L., 2018. Assessments of The Mandibular Cortical Bone Quality on Patient With Diabetes Mellitus Tipe II. *J. Pengabd. Kpd. Masy.* Vol. 2(2), Pp 118-123.
- Fatimatuzzahro, N., Ermawati, T., Prasetya, R.C., 2020. Efek Pemberian Gel Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Jumlah Osteoblas dan Osteoklas pada Tulang Alveolar Tikus Periodontitis. *Padjadjaran J. Dent. Res. Students* Vol. 4(2), Pp. 128-133.
- Goulart, M.F.G.M. da G.V., Giannasi, L.C., Hiraoka, C.M., Melo, G. de F.S., Sousa, A.G.V. de, Nóbrega, C.J.P., Zangaro, R.A., Salgado, M.A.C., 2017. Effects of The Gaalas Diode Laser (780 Nm) on The Periodontal Tissues During Orthodontic Tooth Movement in Diabetes Rats: Histomorphological and Immunohistochemical Analysis. *Lasers Med. Sci.* Vol. 32(7), Pp. 1479-1487.
- Handayani, B., Brahmanta, A., 2018. Jumlah Osteoblas [ada Daerah Tarikan dengan Pemberian Ekstrak Propolis sebagai Pencegahan Relaps Orthodonti. *Dent. J. Maj. Kedokt. Gigi* Vol. 12 (1), Pp. 28-33.
- Herniyati, H., 2016. Analisis Vegf pada Pergerakan Gigi Ortodonti Setelah Pemberian Seduhan Kopi Robusta (*Coffea canephora*). *J. Teknosains* Vol. 5(2), Pp. 90-96.
- Herniyati, H., Narmada, I.B., Soetjipto, S., 2016. Effect of Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Brewing on Levels of Rank and Tgf-B in Orthodontic Tooth Movement. *Dent. J. Maj. Kedokt. Gigi* Vol. 49(3), Pp. 143-147.
- Hikmah, N., 2015. Profil Osteoblas dan Osteoklas Tulang Alveolar pada Model Tikus Diabetes Tahap Awal dengan Aplikasi Gaya Ortodonti yang Berbeda. *El-Hidayah J. Biol.* Vol. 5 (2), Pp 97-102.

- Munarsih, E., Imanda, Y.L., 2018. Uji Perbedaan Kadar Gula Darah Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan Sebelum dan Sesudah Pemberian Minyak Zaitun Ekstra Virgin. *J. Ilm. Bakti Farm.* Vol. 3(2), Pp. 19-22.
- Prasetya, C.A., 2017. Efek Konsumsi Kopi terhadap Pembentukan Lesi Aterosklerosis Koroner pada Model Tikus Periodontitis. Universitas Jember.
- Santoso, S.D., Suryanto, I., 2017. Komparasi Efek Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Minyak Zaitun (*Olea eiropea*) terhadap Penurunan Glukosa Darah pada Mencit (*Mus Musculus*) Strain Balb/C. *J. Sain Heal.* Vol. 1(1), Pp. 36-42.
- Saputri, R.N., Herniyati, H., Prijatmoko, D., 2021. Efek Induksi Gaya Mekanis Ortodonti terhadap Perubahan Jumlah Sel Osteoblas Tulang Alveolar Gigi Tikus pada Daerah Tarikan. *E-Journal Pustaka Kesehat.* Vol. 9(2), Pp. 66-70.
- Shita, A.D.P., 2017. Diabetes dan Pergerakan Gigi Secara Ortodonsi. Universitas Jember.
- Suparwitri, S., Noviasari, P., 2019. Effect of Olive Oil Administration on The Level of Transforming Growth Factor B1 during Orthodontic Tooth Movement in Old and Young Guinea Pigs. *F1000Research* Vol. 29(8), Pp. 1-15.
- Wijaya, S., Prameswari, N., T, M.L., 2015. Pengaruh Pemberian Gel Teripang Emas terhadap Jumlah Osteoklas di Daerah Tekanan pada Remodeling Tulang Pergerakan Gigi Ortodonti. *J. Dent. Kedokt. Gigi* Vol. 9(2), Pp 171–179.