

---

## PROFIL OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS TULANG ALVEOLAR PADA MODEL TIKUS DIABETES TAHAP AWAL DENGAN APLIKASIGAYA ORTODONTI YANG BERBEDA

Nuzulul Hikmah

Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Email : nuzulul.drg@gmail.com

### ABSTRAK

*Orthodontic tooth movement is obtained through alveolar bone remodeling. Alveolar bone remodeling includes resorption process that played by osteoclasts and bone formed process that played by osteoblasts. Diabetes affects on orthodontic tooth movement. The magnitude of orthodontic force that applied in the early stages of diabetic conditions, would be a consideration of the alveolar bone remodeling process. The purpose of this study was to determine osteoblast and osteoclast profile in early stage of rat diabetic models with different orthodontic force application. 24 Wistar rats were divided into three groups of controls and three groups of early stage of diabetic treatment with different orthodontic force application (10, 20, and 30 gramforce/grf). The results showed an increased of osteoclast numbers in early stage of diabetes and will be increased along with the increased of orthodontic force. The results also showed a decreased of osteoblast number in early stage of diabetes, but it would be increased along with the increased of orthodontic force.*

*Keywords: Osteoblast, osteoclast, diabetes, orthodontic force.*

### PENDAHULUAN

Perawatan ortodonti merupakan perawatan di bidang kedokteran gigi yang bertujuan untuk memperbaiki maloklusi pada gigi geligi. Pergerakan gigi pada perawatan ortodonti diperoleh melalui *remodeling* tulang alveolar dan jaringan periodontal sebagai respon terhadap adanya gaya mekanis (gaya ortodonti).

Aplikasi gaya ortodonti pada gigi geligi menyebabkan resorpsi tulang alveolar pada daerah tekanan di ligamen periodontal, sedangkan daerah tarikan pada ligamen periodontal mengalami pembentukan tulang (Roberts-Harry dan Sandy, 2004).

Tulang secara konstan mengalami proses *remodeling* yang merupakan proses kompleks yang meliputi resorpsi dan pembentukan tulang. *Remodeling* tulang membutuhkan koordinasi dari tiga tipe sel yaitu osteosit, osteoblas dan osteoklas. Dengan pemberian gaya mekanis, osteosit berperan sebagai mekanosensor untuk mendeteksi perubahan aliran *bone fluid* dalam *bone canaliculi*, serta merespon-nya melalui sinyal transmisi menuju osteoblas sebagai *syncytial process*. Selanjutnya osteoblas menstimulasi diferensiasi osteoklas dan meresorpsi tulang (Wongdee dan Charoenphandhu, 2011).

Resorpsi dan pembentukan tulang alveolar selama pergerakan gigi secara ortodonti bergantung pada besar, arah dan lamanya pemberian gaya mekanis. Pemberian gaya mekanis yang berlebihan akan menekan jaringan periodontal, sehingga terjadi trombosis, kematian sel dan hyalinisasi (Meikle, 2006). Perubahan status metabolik dapat mengganggu *remodeling* tulang, yang dapat menyebabkan perbedaan tingkat pergerakan gigi (Verna *et al.*, 2000). Oleh karena itu, diabetes dapat mempengaruhi pergerakan gigi secara ortodonti (Reichert *et al.*, 2009). Diabetes mempengaruhi *bone turnover*, menyebabkan penurunan densitas mineral tulang, osteopenia, osteoporosis, keparahan penyakit periodontal (Rakel *et al.*, 2008 dan Lappin *et al.*, 2009).

Beberapa penelitian telah menjelaskan mekanisme perubahan *remodeling* tulang pada diabetes, salah satunya adalah penurunan pembentukan tulang sebagai hasil dari penurunan aktivitas osteoblas atau peningkatan apoptosis dari sel osteoblas (He *et al.*, 2004). Faktor lain yang berkontribusi adalah peningkatan aktivitas resorpsi tulang (Liu *et al.*, 2006). Diabetes/Hiperglikemia menginduksi *polyol pathway*, produksi *advanced glycation end products* (AGEs),

*reactive oxygen species* (ROS) serta aktivasi *protein kinase C* (PKC), yang berpengaruh langsung maupun tidak langsung terhadap *remodeling* jaringan periodontal dan *bone loss* (Graves *et al.*, 2007).

Perawatan ortodonti pada kondisi diabetestahap awal diduga berpengaruh terhadap proses *remodeling* tulang alveolar. Aplikasi besarnya gaya ortodonti menjadi pertimbangan pada kondisi diabetes tahap awal, sehingga diharapkan tidak terjadi kerusakan tulang alveolar lebih lanjut serta terjadi pergerakan gigi secara optimal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui profil osteoklas dan osteoblas tulang alveolar pada model tikus diabetes tahap awal dengan aplikasi gaya ortodonti yang berbeda.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Hewan Coba dan Sampel**

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah, (a) kondisi fisik tikus putih sehat dan tidak mengalami kelainan, (b) jenis kelamin jantan, (c) usia 4 bulan, (d) Berat badan 250-300 gram. Kriteria eksklusi, (a) tikus mengalami cacat atau kelainan, (b) tikus yang mati selama penelitian, (c) pada pemeriksaan kadar gula darah hari ke 3 belum menunjukkan tanda hiperglikemia.

Besar sampel dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 ekor tikus (4 ekor tikus untuk setiap kelompok). Rancangan penelitian terdiridari, K1 (kontrol negatif, normal, tidak memakai alat ortodonti), K2 (kontrol positif diabetes awal, tidak memakai alat ortodonti), K3 (kontrol positif, normal, memakai alat ortodonti 30 grf), K4 (kondisi diabetes awal, memakai alat ortodonti gaya 10 grf), K5 (kondisi diabetes awal, memakai alat ortodonti gaya 20 grf), K6 (kondisi diabetes awal, memakai alat ortodonti gaya 30 grf). Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

### **Induksi *Stratified Dose Streptozotocin* (SD-STZ) pada Hewan Coba**

Setelah di aklimatisasi selama satu minggu, hewan coba ditimbang berat badannya, kemudian disuntikkan

*Streptozotocin* (Nacalai tesque inc. Kyoto Japan, code 32238-91) dengan dosis bertingkat secara *intraperitoneum*. Induksi dimulai dengan dosis 40 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, 30 mg/kgBB, 25 mg/kgBB dan 20 mg/KgBB selama 5 hari berturut-turut. Hewan coba diinkubasi selama 7 hari, dan diobservasi kadar glukosa darahnya yang diambil dari vena ekor tikus. Tikus dengan diabetes ditandai dengan Kadar Glukosa Darah (KGD)  $\geq$  300 mg/dl (Nurdiana *et al.*, 1998).

### **Desain, Pengukuran Gaya dan Pemasangan Alat Ortodonti**

Desain alat ortodonti yang aplikasikan pada hewan coba berupa kawat *stainless steel* 0,012 U (ClassOne Orthodontics, USA) dengan koil diameter 2 mm, dan panjang lengan kawat 10 mm. Ujung lengan kawat di pasang pada *matrix band* (Meba, Germany) berbentuk cincin dengan panjang 2 mm (Maulana *et al.*, 2014). Besar gaya mekanis yang dibebankan sebesar 10, 20, dan 30 grf. Pengukuran gaya mekanis pada alat ortodonti menggunakan desain pemodelan dengan *tool ANSYS ver.14 struktural*, yang selanjutnya dikonfirmasi menggunakan alat pengukur tekanan (*The Richmond Orthodontics Stress and Tension Gauge*, Ormco, USA), yang diletakkan pada papan model ukur.

Hewan coba dianestesi menggunakan *Ketamine HCl* (Anasject) dengan dosis 10 mg/KgBB secara *intraperitoneum*. Gigi insisif rahang atas di sebelah mesial dibentuk menggunakan *metal strip* (Biodinamica, Brasil) sampai kedua gigi insisif rahang atas membentuk kesejajaran. Alat ortodonti dipasang pada gigi insisif rahang atas secara tegak lurus dengan sumbu gigi. Stabilisasi alat ortodonti menggunakan semen glass ionomer tipe IX (Fuji IX GC, Japan). Lama pemasangan alat ortodonti adalah 7 hari (Gambar 1).



**Gambar 1.** Pemasangan Alat Ortodonti. Alat ortodonti dipasang pada gigi insisif rahang atas secara tegak lurus dengan sumbu gigi, serta sumbu alat ortodonti yang berimpit sejajar dengan garis median gigi.

**Prosedur Histologis**

Hewan coba dieutanasia menggunakan anestesi eter, alat ortodonti dilepas dan dilakukan pemotongan rahang atas pada regio kedua gigi insisif dengan menggunakan bur. Sampel di fiksasi menggunakan formalin 10% selama 24 jam, dekalsifikasi menggunakan EDTA 14% selama 30 hari, dilakukan dehidrasi, *clearing*, *embedding* parafin,sertapemotongan menggunakan mikrotom arah longitudinal dengan ketebalan 5 mikronuntuk prosedur pengecatan *Hematoxylin Eosin* (HE).

Dilakukan prosedur pewarnaan menggunakan HE untuk mengetahui gambaran histologis sel osteoblas dan osteoklas. Penghitungan sel osteoblas dan osteoklas dilakukan menggunakan mikroskop (*Olympus*

*BX-51*) perbesaran 400X pada 4 potongan jaringan di 5 lapang pandang terpilih.

**Analisis Statistik**

Data hasil perhitungan meliputi rata-rata jumlah osteoblas serta rata-rata jumlah osteoklas tulang alveolar pada daerah tekanan dan tarikan di ligamen periodontal. Analisis statistikmeliputi Uji ANOVA dan Uji *t*menggunakan SPSS 20.0.

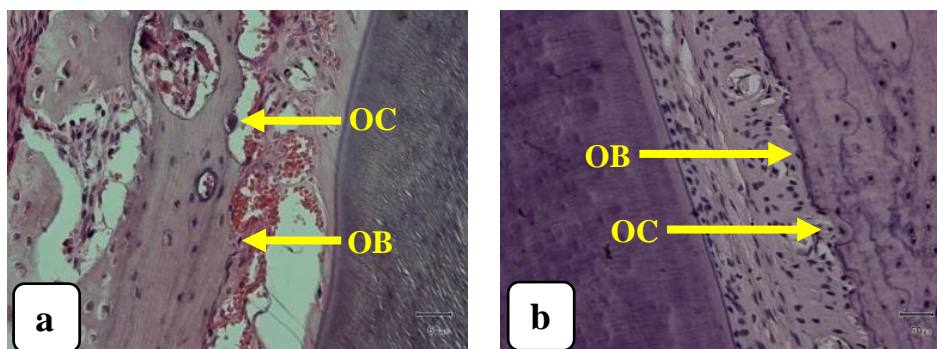
**HASIL**

**Osteoblas**

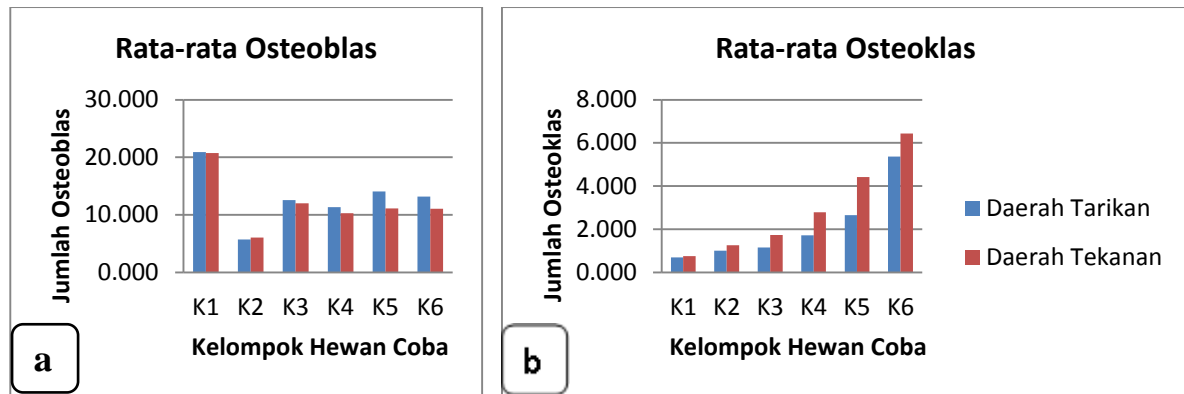
Sel osteoblas tulang alveolar dapat diamati pada daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal (Gambar 2). Rata-rata jumlah osteoblas di daerah tarikan lebih banyak dibandingkan daerah tekanan (Gambar 3a). Hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok K3-K4-K5 ( $p=0.00$ ), di daerah tekanan dan tarikan. Hasil uji *t* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada kelompok K1-K2 ( $p=0.00$ ), di daerah tekanan dan dan tarikan.

**Osteoklas**

Sel osteoklas dapat diamati pada daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal (Gambar 2). Rata-rata jumlah osteoklas pada daerah tekanan lebih banyak dibandingkan pada daerah tarikan (Gambar 3b). Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok K3-K4-K5 serta K4-K5-K6 ( $p=0.00$ ). Hasil uji *t* menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna antarkelompok K1- K2, pada daerah tekanan dan tarikan.



**Gambar 2.** Gambaran Histologis Sel Osteoblas (OB) dan Osteoklas (OC) Tulang Alveolar di Daerah Tekanan (a) serta Tarikan (b) Ligamen Periodontal.



**Gambar 3.** Diagram Rata-rata Jumlah Osteoblas (a) dan Osteoklas (b) Tulang Alveolar pada Daerah Tekanan dan Tarikan Ligamen Periodontal. Garis merah menunjukkan daerah tekanan, garis biru menunjukkan daerah tarikan. K1 (kontrol negatif, normal, tidak memakai alat ortodonti), K2 (kontrol positif diabetes awal, tidak memakai alat ortodonti), K3 (kontrol positif, normal, memakai alat ortodonti 30 grf), K4 (kondisi diabetes awal, memakai alat ortodonti gaya 10 grf), K5 (kondisi diabetes awal, memakai alat ortodonti gaya 20 grf), K6 (kondisi diabetes awal, memakai alat ortodonti gaya 30 grf).

**PEMBAHASAN**

Sel osteoblas dan osteoklas merupakan komponen utama yang berperan pada proses *remodeling* tulang alveolar. Osteoblas berperan sebagai pembentukan tulang baru, sedangkan osteoklas berperan pada proses resorpsi tulang (Hill, 1998). Aplikasi gaya ortodonti akan menghasilkan pergerakan gigi, yang akan menyebabkan resorpsi tulang alveolar pada daerah tekanan di ligamen periodontal, sedangkan daerah tarikan pada ligamen periodontal mengalami pembentukan tulang alveolar (Roberts-Harry dan Sandy, 2004).

Rata-rata jumlah osteoblas pada daerah tarikan lebih banyak dibandingkan daerah tekanan, sedangkan rata-rata jumlah osteoklas terlihat lebih banyak di daerah tekanan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa osteoblas banyak terdapat pada daerah tarikan yang merupakan daerah pembentukan tulang baru, sedangkan osteoklas banyak terdapat pada daerah tekanan yang merupakan daerah resorpsi tulang alveolar.

Hasil analisis rata-rata jumlah osteoblas menunjukkan bahwa pada kondisi diabetes dan semakin besar gaya yang diberikan, akan menyebabkan penurunan jumlah osteoblasnya. Sel osteoblas pada diabetes mengalami apoptosis oleh karena aktivitas AGEs dan ROS. Aktivitas apoptosis pada diabetes berlangsung sangat cepat, bahkan dalam hitungan jam yang disebabkan oleh aktivasi efektor *caspase* (Graves *et al.*,

2007). Tingginya tingkat apoptosis pada diabetes disebabkan oleh mediator inflamasi seperti TNF  $\alpha$  dan AGEs. ROS juga merupakan penyebab utama dari apoptosis pada diabetes (Hock *et al.*, 2001 dan Alikhani *et al.*, 2005). Peningkatan apoptosis *bone lining cells* dapat menurunkan tingkat pembentukan tulang baru (Weinstein *et al.*, 1998 dan Hock *et al.*, 2001).

Hasil analisis rata-rata jumlah osteoklas menunjukkan bahwa kondisi diabetes terjadi aktivitas resorpsi tulang yang lebih tinggi, dan akan meningkat aktivitas resorpsinya ketika diaplikasikan gaya ortodonti sebesar 30 grf. Hasil penelitian ini sesuai dengan dengan penelitian terdahulu, dimana terjadi peningkatan profil osteoklas setelah aplikasi gaya ortodonti pada tikus diabetes pada hari ketujuh dibandingkan dengan tikus normal (Liu *et al.*, 2006). Tikus diabetes menunjukkan tingginya derajat inflamasi dan respon inflamasinya akan berlanjut ketika diaplikasikan gaya mekanis sehingga dapat menginduksi keparahan penyakit periodontal (Liu *et al.*, 2006). Hal ini mengakibatkan pembentukan dan aktivitas osteoklas yang lebih lanjut serta hilangnya perlekatan antara tulang dan gigi yang akan menyebabkan peningkatan produksi matriks metalloproteinase, dan gangguan pembentukan tulang baru (Ryan *et al.*, 1999 dan Liu *et al.*, 2006).

Kondisi diabetes berkaitan dengan peningkatan ekspresi beberapa sitokin yang

berperan pada proses *osteoclastogenesis*. Pada kondisi diabetes yang disertai periodontitis kronis terjadi peningkatan mediator mediator inflamasi seperti peningkatan ekspresi TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, RANKL dan OPG (Taylor *et al.*, 2013). TNF $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dapat menyebabkan osteoblas mengekspresikan protein RANKL, yang selanjutnya akan menstimulasi prekursor osteoklas untuk berdiferensiasi dan secara langsung mengakibatkan kerusakan tulang alveolar (Cohen, 2008). RANKL juga bertanggung jawab terhadap produksi ROS yang meliputi pembentukan radikal bebas, ion oksigen dan peroksidase, yang merupakan penyebab utama proses *osteoclastogenesis* (Kim *et al.*, 2010 dan Jules *et al.*, 2012).

Kesimpulan penelitian ini adalah terjadi peningkatan jumlah osteoklas pada kondisi diabetes tahap awal dan akan meningkat seiring peningkatan gaya ortodonti, baik pada daerah tekanan maupun tarikan. Profil osteoblas menunjukkan terjadinya penurunan pada kondisi diabetes tahap awal, namun meningkat kembali seiring peningkatan gaya ortodonti pada kondisi diabetes awal.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Roberts-Harry D, dan Sandy J., 2004. Orthodontics Part 11: Orthodontic Tooth Movement. *British Dental Journal* 196 (7): 391-394
- Wongdee K, dan Charoenphandhu N., 2011. Osteoporosis in Diabetes Mellitus: Possible Cellular and Molecular Mechanisms. *World Journal of Diabetes* 2(3): 41-48.
- Meikle MC., 2006. The Tissue, Cellular, and Molecular Regulation of Orthodontic Tooth Movement: 100 Years after Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics* 28: 221-240.
- Verna C, Dalstra M, dan Melsen B., 2000. The Rate and the Type of Orthodontic Tooth Movement is Influenced by Bone Turnover in a Rat Model. *European Journal of Orthodontics* 22: 343-352.
- Reichert C, Deschner J, dan Jaeger A., 2009. Influence of Diabetes Mellitus on the Development and Treatment of Malocclusions – a Case Report with Literature Review. *Journal of Orofacial Orthopedics* 70: 160-175.
- Rakel A, Sheehy O, Rahme E, dan Leloir J., 2008. Osteoporosis among Patients with Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes & Metabolism Journal* 34: 193-205.
- Lappin DF, Eapen B, Robertson D, Young J, dan Hodge PJ., 2009. Markers of Bone Destruction and Formation and Periodontitis in Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Periodontology* 36: 634-641.
- He H, Liu R, Desta T, Leone C, Gerstenfeld L, dan Graves D., 2004. Diabetes Causes Decreased Osteoclastogenesis, Reduced Bone Formation, and Enhanced Apoptosis of Osteoblastic Cells in Bacteria Stimulated Bone Loss. *Endocrinology* 145: 447-452.
- Liu R, Bal HS, Desta T, Krothapalli N, Alyassi M, Luan Q, dan Graves DT., 2006. Diabetes Enhances Periodontal Bone Loss through Enhanced Resorption and Diminished Bone Formation. *Journal of Dental Research* 85: 510-514.
- Graves DT, Liu R dan Oates TW. 2007. Diabetes-Enhanced Inflammation and Apoptosis – Impact on Periodontal Pathosis. *Periodontology* 200045: 128-137.
- Nurdiana, Permatasari N, Setyawati dan Ali M., 1998. Efek Streptozotocin Sebagai Bahan Diabetogenik pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw* 14(2): 66-73.
- Maulana M, Hikmah N, Shita ADP, Permatasari N, dan Widyarti S., 2014. The Effect of Different Orthodontic Force on MMP 9 Expression in a Rat Diabetic Model. *The Journal of Tropical Life Science* 4(2): 89-95.
- Hill PA., 1998. Bone Remodelling. *British Journal of Orthodontics* 25: 101-107.
- Hock JM, Krishnan V, Onyia JE, Bidwell JP, Milas J, dan Stanislaus D., 2001. Osteoblast apoptosis and bone turnover. *Journal of Bone and Mineral Research* 16: 975-984.
- Alikhani M, Alikhani Z, dan Graves D., 2005. FOXO1 Functions as A Master Switch that Regulates Gene Expression Necessary for TNF-Induced Fibroblast Apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry* 280: 12096-12102.
- Weinstein R, Jilka R, Parfitt A, dan Manolagas S., 1998. Inhibition of

- osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects of bone. *The Journal of Clinical Investigation* 102:274–282.
- Ryan ME, Ramamurthy NS, Sorsa T, dan Golub LM., 1999. MMP-mediated events in diabetes. *Annals of The New York Academy of Sciences* 878:311–334.
- Taylor JJ, Preshaw PM, dan Lalla E., 2013. A Review of The Evidence for Pathogenic Mechanisms that May Link Periodontitis and Diabetes. *Journal of Periodontology*84(4 Suppl):S113-S134.
- Cohen DL.,2008. Inflammation and Bone Loss in Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*79(8 Suppl):1569-1576.
- Kim MS, Yang YM, Son A, Tian YS, Lee SI, Kang SW, Muallem S, dan Shin DM., 2010. RANKL-Mediated Reactive Oxygen Species Pathway that Induces Long Lasting Ca<sup>2+</sup> Oscillations Essential for Osteoclastogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*285: 6913-6921.
- Jules J, Zhang P, Ashley JW, Wei S, Shi Z, Liu J, Michalek SM, dan Feng X., 2012. Molecular Basis of Requirement of Receptor Activator of Nuclear Factor K $\beta$  Signaling for Interleukin 1-Mediated Osteoclastogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*287: 15728-15738.