



**PEMBERIAN *NATRIUM FLUORIDE* (NaF) PADA GIGI YANG DIBERI
KEKUATAN MEKANIK ORTODONTI TERHADAP
EKSPRESI OSTEONEKTIN**

SKRIPSI

Oleh

Anjelia Gelli Bagiada

151610101118

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**PEMBERIAN *NATRIUM FLUORIDE* (NaF) PADA GIGI YANG DIBERI
KEKUATAN MEKANIK ORTODONTI TERHADAP
EKSPRESI OSTEONEKTIN**

SKRIPSI

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

Oleh

Anjelia Gelli Bagiada

151610101118

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

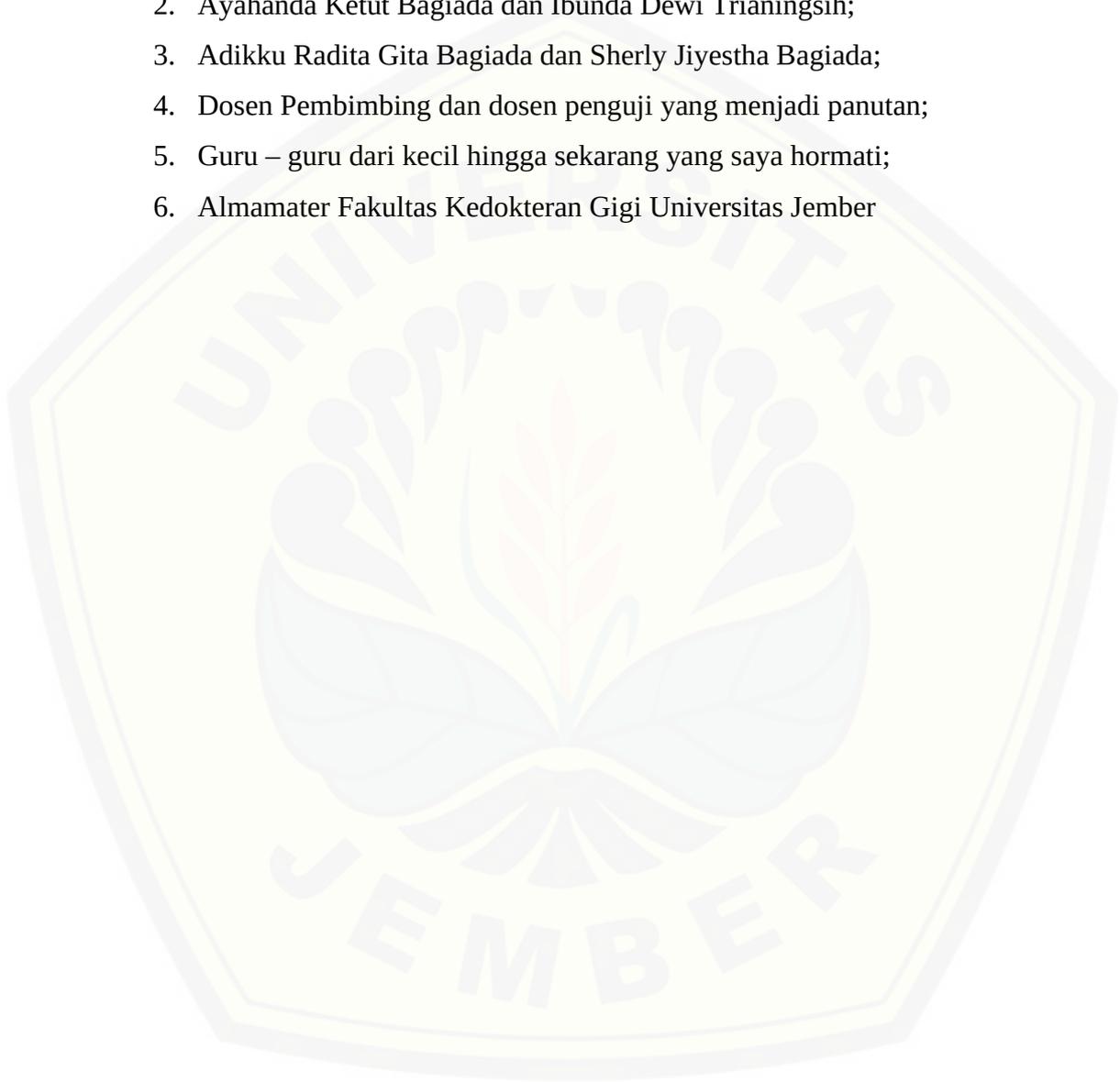
UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas berkah dan kemudahan yang tiada habisnya;
2. Ayahanda Ketut Bagiada dan Ibunda Dewi Trianingsih;
3. Adikku Radita Gita Bagiada dan Sherly Jiyestha Bagiada;
4. Dosen Pembimbing dan dosen penguji yang menjadi panutan;
5. Guru – guru dari kecil hingga sekarang yang saya hormati;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



MOTTO

"Kebanggaan kita yang terbesar adalah bukan tidak pernah gagal, tetapi bangkit kembali setiap kali kita jatuh."

(Confusius)

"Lakukan yang terbaik, sehingga aku tak akan menyalahkan diriku sendiri atas segalanya."

(Magdalena Neuner)

"Waktumu terbatas. Jangan menyia-nyiakannya dengan menjalani hidup orang lain."

(Steve Jobs)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Anjelia Gelli Bagiada

NIM : 151610101118

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis yang berjudul “Pemberian *Natrium Fluoride* (Naf) Pada Gigi Yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin” adalah benar – benar karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang harus di junjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Maret 2019

Yang menyatakan

Anjelia Gelli Bagiada

NIM 151610101118

SKRIPSI

**PEMBERIAN *NATRIUM FLUORIDE* (NaF) PADA GIGI YANG DIBERI
KEKUATAN MEKANIK ORTODONTI TERHADAP EKSPRESI
OSTEONEKTIN**

Oleh

Anjelia Gelli Bagiada

151610101118

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pemberian *Natrium Fluoride* (Naf) Pada Gigi Yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

Dr. drg. Ari Tri Wanodyo H, M.Kes

drg. Berlian P, M.DSc.,Sp. KGA

NIP. 197308182001122001

NIP. 198402032015042001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed

Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes

NIP. 197207151998021001

NIP. 196510131994032001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Pemberian *Natrium Fluoride* (NaF) Pada Gigi Yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin. Anjelia Gelli Bagiada. 151610101118; 53 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Maloklusi merupakan keadaan ketidakaturan gigi geligi dalam lengkung rahang. Maloklusi juga dapat menyebabkan gangguan pada fungsi penguyahan, fungsi bicara, mengganggu estetis wajah, bahkan dapat memicu terjadinya penyakit. Ketidakaturan susunan gigi geligi atau maloklusi dapat diperbaiki dengan perawatan ortodonti. Perawatan ortodonti sendiri merupakan prosedur jangka panjang yang bertujuan untuk mendapatkan oklusi yang baik tanpa adanya rotasi gigi maupun diastema. Meskipun perawatan ortodonti telah selesai, namun gigi geligi masih dalam posisi belum stabil sehingga tekanan dari jaringan lunak di sekitarnya yang terus menerus dapat menghasilkan kecenderungan terjadinya *relaps*. Oleh karena itu, setelah perawatan ortodonti selesai, hasil perawatan perlu dipertahankan agar tidak kembali ke posisi semula dengan memakai piranti retensi. Namun pasca penggunaan retainer juga dapat mengembalikan gigi ke posisi semula atau *relaps*. Selain itu *relaps* juga dapat dicegah dengan pemberian *Natrium Fluoride* (NaF), Mekanisme NaF dalam mencegah terjadinya *relaps* yaitu dengan meningkatkan osteoprogenitor dari sel osteoblas sehingga memicu proliferasi osteoblas dan meningkatkan kemampuan mineralisasi pada osteoblas. Selain itu senyawa ini juga dapat meningkatkan pembentukan nodul pada trabekular tulang sehingga mempercepat maturasi tulang dan meningkatkan stabilitas jaringan disekitar gigi sehingga mencegah relaps. Proses maturasi tulang ini salah satunya dipengaruhi oleh protein osteonektin. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji ekspresi osteonektin pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian NaF pada sulkus gingiva tikus wistar jantan.

Sampel penelitian adalah 20 ekor tikus wistar jantan dengan berat 150-200 gram yang secara acak dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok pertama (A) merupakan kelompok kontrol yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil*

spring tanpa pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 7 hari. Kelompok B merupakan kelompok kontrol yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* tanpa pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 14 hari. Kelompok C merupakan kelompok perlakuan yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* dengan pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 7 hari. Kelompok D merupakan kelompok perlakuan yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* dengan pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 14 hari. Kelompok A dan C akan didekaputasi pada hari ke 7 dan kelompok B dan D didekaputasi pada hari ke 14 untuk mendapatkan sampel jaringan. Kemudian dilakukan pemotongan dan pewarnaan jaringan dengan imunohistokimia, setelah itu dilakukan penghitungan sel osteoblas yang terekspresi osteonektin menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Hasil penghitungan sel osteoblas didapatkan jumlah sel osteoblas yang terekspresi osteonektin tertinggi pada kelompok D ($13,02 \pm 0,28636$) dan terendah pada kelompok A ($7,72 \pm 0,20494$). Data yang didapat kemudian dianalisis dengan uji parametric One Way Anova menunjukkan perbedaan antar kelompok, selanjutnya dilakukan uji LSD. Hasil uji LSD menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok A dan C selaku kelompok kontrol serta B dan D selaku kelompok perlakuan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa *Sodium Fluoride* (*NaF*) 11,34 ppm yang diaplikasikan pada sulkus gingival tikus putih wistar jantan secara topikal dan diberi kekuatan mekanik ortodonti sebesar 10 gr/cm² dapat meningkatkan ekspresi osteonektin pada sel osteoblas di daerah tarikan dan jumlah sel osteoblas meningkat pada hari ke 14 dibandingkan dengan jumlah sel pada hari ke 7.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkah dan anugerahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul . Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas berkatNya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. Dr. drg. Ari Tri Wanodyo H, M.Kes, selaku Dosen Penguji Ketua yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Berlian P, M.DSc.,Sp. KGA, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. drg. Happy Harmono, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
8. Kedua orang tua tercinta, ibunda Dewi Trianingsih, AMD dan ayahanda dr. Ketut Bagiada yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, perhatian, dan kasih sayang yang tanpa batas selama ini;

9. Adik tercinta Radita Gita Bagiada dan Sherly Jiyestha Bagiada yang selalu mendoakan kelancaran skripsi saya;
10. Teman dalam segala hal M. Maulana Akbari yang selalu menemani dan memberikan semangat;
11. Teman – teman satu penelitian Devina Yulia Putri, Dani Agam Rahmadianto, dan Adik Wulandari;
12. Sahabat tercinta Berliana Calpika F, Hendito Khairiansyah, Kevin Nathaniel L yang selalu menyemangati dan menemani ketika semangat mulai surut.
13. Teman – Teman KKN 86 yang selalu memberikan semangat;
14. Seluruh teman – teman FKG 2015 yang belum bisa saya sebutkan di atas terimakasih atas solidaritas, bantuan dan semangat yang diberikan selama ini;
15. Semua pihak yang turut terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih untuk kalian semua;

Karya ini masih jauh dari sempurna, untuk ini penulis mengharapkan saran dan kritikan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat menjadi lebih baik. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi lebih untuk kemajuan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

Jember, 18 Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRANxvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Pergerakan Gigi Ortodonti	4
2.1.1 Teori Pergerakan Gigi	4
2.1.2 Respon Jaringan Terhadap Kekuatan Ortodonti	5
2.2 Tulang	6
2.2.1 Definisi	6
2.2.2 Struktur Tulang	7
2.3 Proses Remodeling	8
2.4 Natrium Fluoride (NaF)	9
2.4.1 Hubungan <i>NaF</i> dengan Remodeling Tulang	10
2.5 Osteonektin	11
2.6 Imunohistokimia (IHC)	12
BAB 3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Jenis Penelitian	16
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2.1 Tempat Penelitian	16
3.2.2 Waktu Penelitian	16
3.3 Sampel Penelitian	16
3.3.1 Kriteria Sampel Penelitian	16
3.3.2 Besar Sampel Penelitian	17
3.3.3 Jumlah Sampel Penelitian	17
3.4 Variabel Penelitian	18
3.4.1 Variabel Bebas	18
3.4.2 Variabel Terikat	18
3.4.3 Variabel Terkendali	18

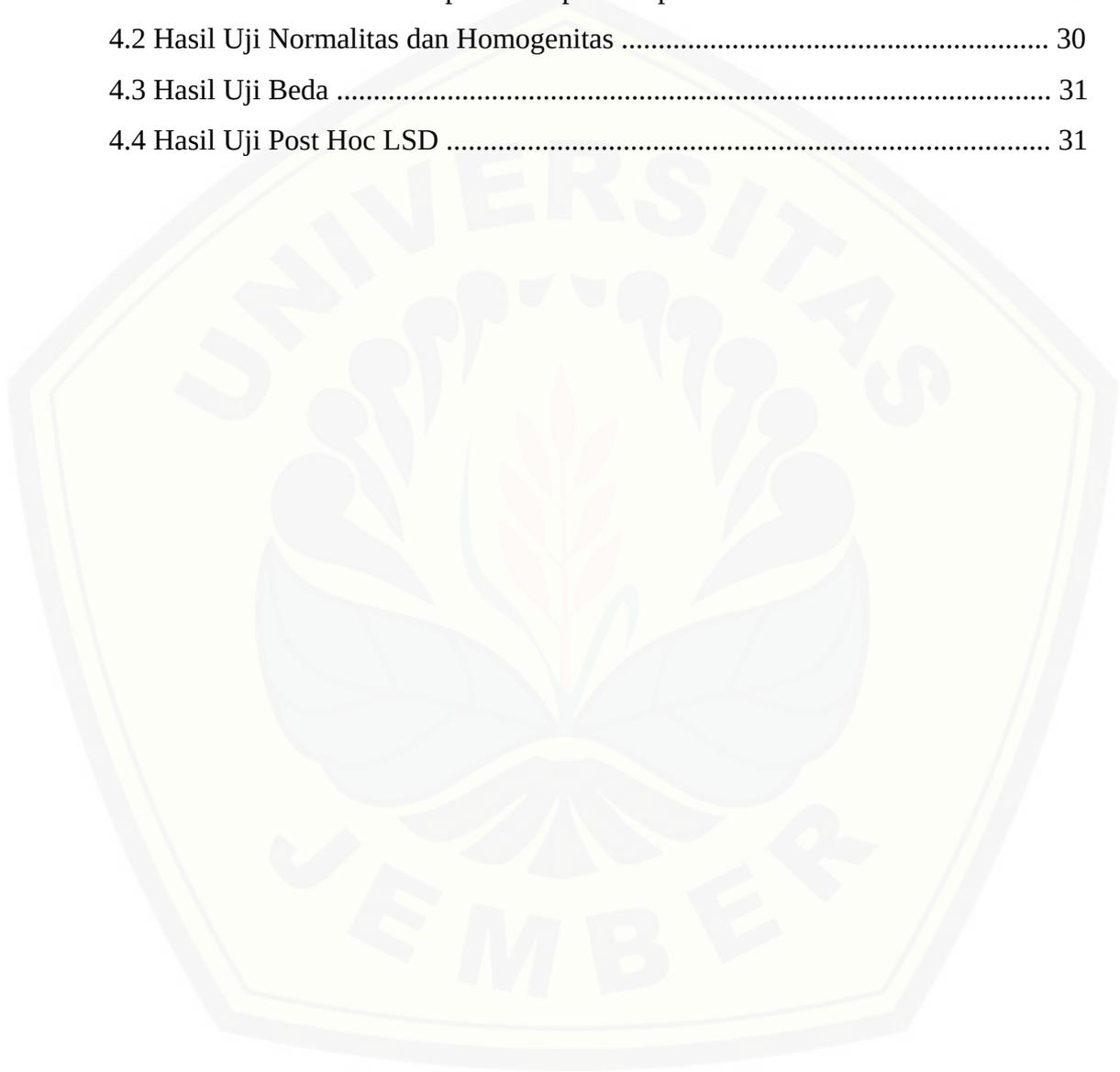
3.5 Definisi Operasional	18
3.5.1 gel NaF	18
3.5.2 Osteonektin	18
3.6 Konversi Dosis	18
3.6.1 Dosis Fluor	19
3.6.2 Dosis Bahan Anestetikum	19
3.7 Bahan dan Alat Penelitian	19
3.7.1 Bahan Penelitian	19
3.7.2 Alat Penelitian	20
3.8 Prosedur Penelitian	20
3.8.1 Perijinan <i>Ethical Clearance</i>	21
3.8.2 Persiapan Hewan Coba	21
3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan	21
3.8.4 Persiapan Gel NaF 11,34 ppm	22
3.8.5 Pemasangan <i>coil spring</i>	22
3.9.6 Pengambilan Jaringan Penelitian	23
3.9.7 Tahap Pembuatan Sediaan dan Pemeriksaan Imunohistokimia	23
3.9 Cara Pengolahan dan Analisis Data	26
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Hasil Penelitian	28
4.2 Analisis Data	30
4.3 Pembahasan	31
BAB 5. PENUTUP	34
5.1 Kesimpulan	34

5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	41



DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata – rata sel osteoblas pada setiap kelompok	29
4.2 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas	30
4.3 Hasil Uji Beda	31
4.4 Hasil Uji Post Hoc LSD	31

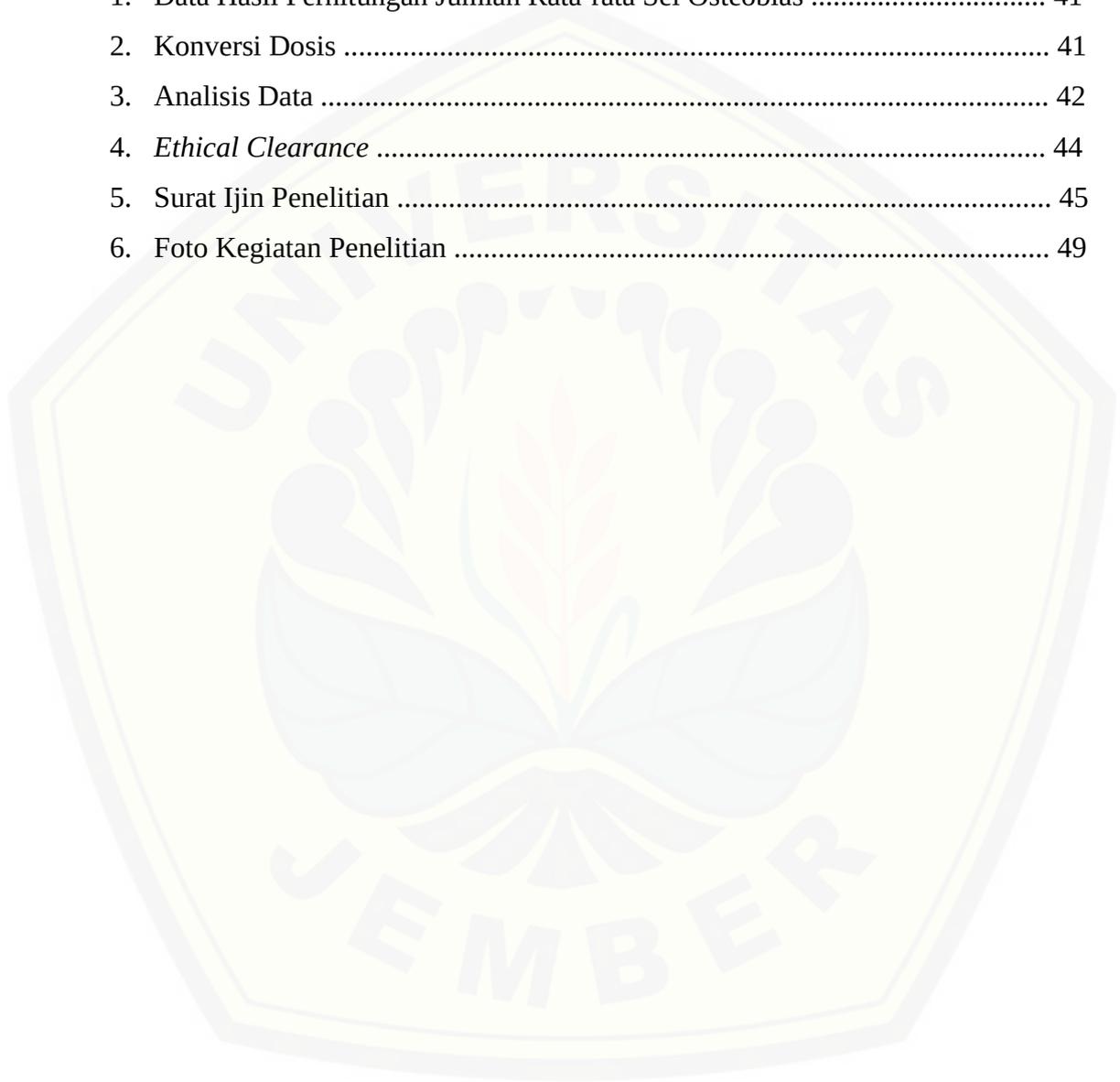


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Bentuk sel tulang	8
2.2 Ekspresi osteonektin pada sel osteoblas dengan pewarnaan imunohistokimia 400x.....	12
2.3 Interaksi antara antigen dan antibodi	13
3.1 Pemasangan <i>closed coil spring</i>	22
3.2 Ilustrasi pemotongan mesiodistal pandangan lingual	25
4.1 Perbandingan rata-rata hasil perhitungan jumlah sel osteoblas yang terekspresi osteonektin pada tiap-tiap kelompok	28
4.2 Gambaran histologis pemeriksaan imunohistokimia pada sel osteoblas yang terekspresi osteonektin perbesaran 1000x.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Data Hasil Perhitungan Jumlah Rata-rata Sel Osteoblas	41
2. Konversi Dosis	41
3. Analisis Data	42
4. <i>Ethical Clearance</i>	44
5. Surat Ijin Penelitian	45
6. Foto Kegiatan Penelitian	49



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Maloklusi merupakan keadaan ketidakaturan gigi geligi dalam lengkung rahang. Prevalensi maloklusi di Indonesia mencapai 80% dan menduduki urutan ketiga setelah karies dan penyakit periodontal (Sudarso, 2008). Hal ini cukup memprihatinkan, walaupun maloklusi bukan merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme, bakteri, maupun virus tetapi kelainan ini dapat mengganggu keadaan rongga mulut. Maloklusi juga dapat menyebabkan gangguan pada fungsi penguyahan, fungsi bicara, mengganggu estetis wajah, bahkan dapat memicu terjadinya penyakit (Erliera, 2015).

Ketidakteraturan susunan gigi geligi atau maloklusi dapat diperbaiki dengan perawatan ortodonti (Sihombing dkk., 2012). Perawatan ortodonti sendiri merupakan prosedur jangka panjang yang bertujuan untuk mendapatkan oklusi yang baik tanpa adanya rotasi gigi maupun diastema (Alawiyah, 2012). Setelah perawatan yang panjang ini diharapkan keberhasilan perawatan ortodonti dapat tercapai yaitu membuat hubungan oklusi yang baik, dan dapat diterima dari segi estetik wajah serta menjaga stabilitas oklusi selama mungkin (Khumar, 2008).

Setelah mendapatkan oklusi yang baik, pasien merasa bahwa perawatan telah selesai dan piranti akan dilepas, namun gigi geligi mungkin masih dalam posisi belum stabil sehingga tekanan dari jaringan lunak di sekitarnya yang terus menerus dapat membuat gigi cenderung kembali ke posisi semula (Proffit dan Fields, 2013). Kembalinya gigi keposisi semula setelah perawatan ortodonti disebut juga dengan *relaps* (Goenhartha dan Rusdiana, 2015).

Prevalensi *relaps* di Indonesia pasca perawatan ortodonti secara umum cukup tinggi. Data tersebut diambil dari 500 pasien yang telah dirawat ortodonti dan prevalensi pasien tersebut mengalami *relaps* adalah sebesar 61,5% (Shebani dkk., 2010). Insiden ini dapat dicegah dengan pemasangan retainer yang merupakan alat pasif ortodonti yang membantu dalam menstabilisasi gigi dalam waktu yang lama. Selain itu fungsi retainer juga untuk memberikan kesempatan reorganisasi struktur-struktur pendukung setelah tahap aktif dalam perawatan

ortodonti (Profit, 2007). Namun setelah menggunakan retainer, pasien juga dapat mengalami *relaps*. Terbukti dengan penelitian menggunakan indeks IOTN yaitu dari 24 pasien, 41,7% mengalami *relaps* pasca menggunakan retainer (Prakosa, 2016).

Relaps juga dapat dicegah dengan pemberian agen bioaktif yang memiliki aktivitas yang signifikan dalam mempercepat atau mencegah pergerakan gigi. Misalnya aplikasi lokal dari agen kalsitropik atau osteoklastik yang memiliki efek signifikan pada remodeling tulang lokal. Prinsip yang digunakan yaitu rekayasa biologi molekuler (Nanda, 2015). Selain itu, telah dilakukan penelitian bahwa pemberian aplikasi topikal *Natrium Fluoride* (NaF) terbukti efektif untuk mencegah terjadinya *relaps* (Sutjiati, 2016).

Mekanisme NaF dalam mencegah terjadinya *relaps* yaitu dengan membantu proses remodeling tulang. Gigi yang diberi perawatan ortodonti akan mengalami resorpsi pada sisi tekanan dan aposisi pada sisi tarikan. Fungsi dari NaF ini yaitu untuk meningkatkan osteoprogenitor dari sel osteoblas sehingga memicu proliferasi osteoblas dan meningkatkan kemampuan mineralisasi osteoblas pada sisi tarikan (Qu, 2008). Selain itu senyawa ini juga dapat meningkatkan pembentukan nodul pada trabekular tulang sehingga mempercepat maturasi tulang dan meningkatkan stabilitas jaringan disekitar gigi sehingga mencegah *relaps* (Matsuda, 2014). Proses maturasi tulang ini salah satunya dipengaruhi oleh protein osteonektin.

Osteonektin merupakan matriks protein yang nonkolageous yang terletak pada sitoplasma osteoblas terutama pada badan golgi (Marcus dkk., 2013). Osteonektin dapat ditemukan di beberapa organ seperti plasenta, otak, hati, ovarium, testis dan tulang, namun protein ini paling banyak ditemukan pada tulang (Noda, 2014). Protein ini juga dinamakan *Secreted Protein, Acidic, Rich Cysteine* (SPARC) yang bekerja mengikat ion Ca^{2+} , kolagen tipe I, hidroksiapatit dan trombospondin yang menginisiasi dari pembentukan kristal serta berperan dalam pengaturan perakitan fibril kolagen pada tulang dan modifikasi pensinyalan sel (Khurana, 2009). Osteonektin juga berperan untuk meningkatkan pembentukan serta pematangan osteoblas sehingga sangat penting untuk

pemeliharaan massa tulang dan untuk menyeimbangkan pembentukan tulang (Marcus dkk., 2013).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk meneliti ekspresi osteonektin pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodontik dengan pemberian NaF secara topikal.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat diambil dari penelitian ini adalah bagaimana pemberian NaF secara topikal dapat meningkatkan ekspresi osteonektin pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti pada sisi tarikan tulang alveolar?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengkaji ekspresi osteonektin pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian NaF secara topikal pada sisi tarikan tulang alveolar.

1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Dapat memberikan informasi mengenai ekspresi osteonektin pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian NaF secara topikal.
2. Memberikan informasi mengenai manfaat NaF.
3. Meningkatkan keberhasilan perawatan ortodonti.
4. Dapat digunakan untuk bahan kajian pada penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pergerakan Gigi Ortodonti

2.1.1 Teori Pergerakan Gigi

Teori pergerakan gigi secara umum dapat dibagi menjadi 3 diantaranya sebagai berikut :

1. *Pressure Tension Theory*

Jika gigi mendapatkan gaya ortodonti maka akan terjadi daerah tekanan dan tarikan. Daerah tekanan adalah daerah periodonsium yang mengalami tekanan karena gigi bergerak mendekat dan daerah tarikan adalah daerah periodonsium yang mengalami tarikan karena gigi bergerak menjauh (Amin, 2016). Teori ini menjelaskan perubahan sel yang dihasilkan oleh komponen kimia selama pergerakan gigi. Terutama karena perubahan aliran darah melalui ligamen periodontal. Perubahan aliran darah dengan cepat menciptakan perubahan lingkungan. Sebagai contoh, kadar oksigen akan lebih rendah di daerah tekanan tetapi mungkin meningkat pada sisi tarikan (Sabane, 2016). Membrana periodontalis terletak diantara gigi dan tulang alveolus. Tekanan yang mengenai gigi akan menjepit membrana periodontalis. Tekanan yang kuat akan menyebabkan pembuluh darah tersumbat. Tersumbatnya pembuluh darah akan menyebabkan tidak aktifnya komponen sel-sel dalam membrana periodontalis dan mungkin akan menyebabkan matinya sel-sel tersebut (Ardhana, 2010).

2. *Blood Flow Theory*

Pada teori ini, pergerakan gigi timbul karena cairan yang dinamis di dalam ligamen periodontal. Ligamen periodontal terdiri dari sistem cairan yang terbuat dari cairan interstitial, elemen selular, pembuluh darah dan perlekatan substansi dasar berisi serat-serat periodontal. Kandungan ligamen periodontal menghasilkan kondisi hidrodinamik yang unik dan menyerupai mekanisme hidrolis *dashock absorber* (Amin, 2016). Ligamen periodontal juga menganut sistem hidrostatis dengan prinsip setiap sinyal akan dikirimkan dan diteruskan ke semua daerah. Aplikasi gaya eksternal pada gigi menyebabkan terjadinya pergerakan cairan di dalam kanalikuli. Ketika cairan kanalikuli berkurang, terjadilah apoptosis osteosit

yang terdapat dalam tulang kemudian akan menarik osteoklas sehingga terjadi resorpsi tulang (Khrisnan dan Davidovitch, 2006).

3. *Bone Bending and Piezoelectric Theory*

Ketika alat ortodonti diaktivasi, gaya yang diberikan pada gigi disalurkan ke semua jaringan di sekelilingnya sehingga gigi akan bergerak lebih besar dibandingkan dengan lebar ligamen periodontal yang menyebabkan terjadinya defleksi pada tulang alveolar. Defleksi pada tulang juga memicu keluarnya potensial elektrik pada permukaan tulang yang sering ditemukan pada material kristalin (Amin, 2016). Teori ini menjelaskan bahwa sinyal-sinyal listrik dihasilkan ketika tulang alveolar melengkung atau defleksi. Sinyal listrik yang memulai gerakan gigi disebut Piezoelektrik (Sabane, 2016). Muatan listrik di daerah tulang alveolar yang mengalami defleksi adalah muatan listrik positif. Peranan pembuluh darah disini adalah membantu meneruskan tekan hidrodinamik dan memberikan nutrisi untuk energi yang diperlukan dalam proses resorpsi tulang (Ardhana, 2010).

2.1.2 Respon Jaringan Terhadap Kekuatan Ortodonti

1. Respon pada Gigi

Pemberian tekanan konstan ke mahkota gigi akan menyebabkannya perubahan posisi, jika gaya yang digunakan sesuai dengan durasi dan intensitas yang cukup dan tidak terhalang oleh oklusi atau gigi lain. (Premkumar, 2015). Gerakan yang dapat terjadi berupa *tippingbodily*ekstrusi atau elongasi, *intrusive* atau *depressive, torque* (Amin, 2012).

2. Respon Tulang Alveolar dan Ligamen Periodontal

Ligamen periodontal berfungsi sebagai sumber untuk proliferasi elemen seluler, osteoblas dan osteoklas ketika dirangsang oleh tarikan atau tekanan. Ketika gaya ortodontik diberikan, maka area tekanan dan tarikan terlihat berubah, baik di ligamen periodontal dan tulang alveolar (Cardaropoli dan Gaveglio, 2007).

2.2 Tulang

2.2.1 Definisi

Beberapa bidang studi menggambarkan tulang dengan sudut pandang yang berbeda-beda. Ketika dilihat dari sudut pandang material, biokimia, atau fisik, tulang digambarkan sebagai bahan komposit yang terdiri dari komponen organik yang terdiri dari protein kolagen dan non kolagen dan fase mineral yang terdiri dari kalsium dan fosfat. Selain itu dari sudut pandang biologis, tulang adalah jaringan hidup yang kompleks yang dibuat dan dipelihara oleh setidaknya tiga jenis sel utama, yaitu osteoblas, osteosit dan osteoklas (Glorieux dkk., 2011).

2.2.2 Struktur Tulang Alveolar

Salah satu struktur pendukung utama tulang adalah sel tulang. Sel tulang terdiri dari tiga sel, diantaranya:

a. Sel Osteoklas

Osteoklas merupakan sel-sel yang menyerap matriks – matriks ekstraseluler termineralisasi. Sel ini muncul dari progenitor hematopoietik yang juga memproduksi makrofag. Sel prekursor osteoklas bergerak menuju permukaan tulang dan bergabung untuk membentuk sel multinuklear. Osteoklas sangat jarang berada di tulang, dapat ditemukan hanya dua hingga tiga sel per μm^3 permukaan tulang (Katagiri dan Takahashi, 2002).

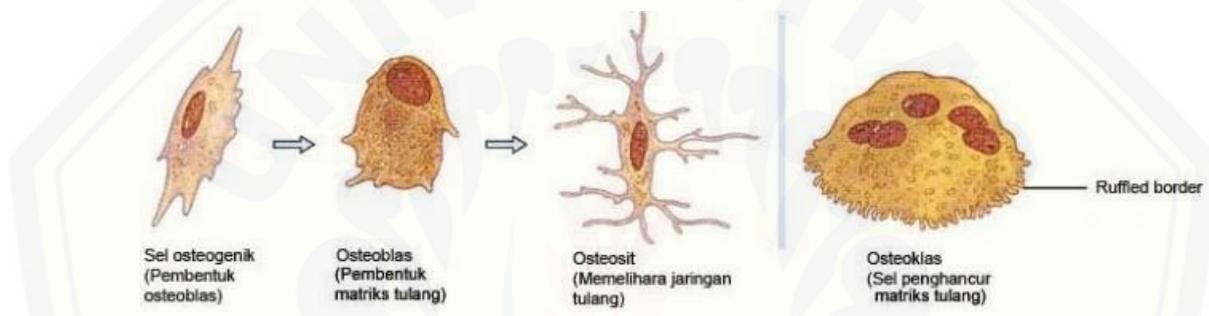
b. Sel Osteoblas

Osteoblas berasal dari sel punca mesenkimal yang memiliki potensi untuk berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel jaringan ikat. Osteoblas umumnya berbentuk kuboid atau kolumnar, dan ditemukan pada lapisan permukaan tulang di tempat-tempat pembentukan tulang aktif, seperti selama perkembangan tulang atau perbaikan fraktur (Khurana, 2009). Osteoblas dikenal sebagai sel-sel yang membentuk tulang yang dicirikan oleh kemampuan untuk mensekresikan kolagen tipe I kaya matriks ekstraseluler yang akhirnya termineralisasi serta proteoglikan yang sebagian besar menyusun komponen organik dari matriks tulang, yang juga dikenal

sebagai osteoid. Osteoblas juga terlibat dalam mineralisasi selanjutnya dari osteoid, melalui vesikel yang melepaskan matriks dan mengendapan kalsium dan fosfat (Franz dkk., 2006).

c. Sel Osteosit

Osteosit adalah sel-sel tulang yang hidup di dalam substansi tulang, Osteosit berasal dari osteoblas yang terperangkap dan dikelilingi oleh matriks tulang yang dihasilkan sendiri. Ruang yang ditempati dikenal sebagai lakuna. Osteosit berperan dalam pensinyalan sel dan mempertahankan viabilitas matriks tulang (Khurana, 2009).



Gambar 2.1 Bentuk sel-sel tulang

2.3 Proses Remodeling

Remodeling tulang merupakan proses terjadinya resorpsi tulang yang selanjutnya digantikan oleh pembentukan tulang baru. Keseimbangan antara resorpsi dan pembentukan tulang menentukan dampak yang ditimbulkan, baik terjadi proses penyembuhan atau proses pathogenesis penyakit. Remodeling tulang dilakukan oleh osteoklas, osteoblas, osteosit, dan jenis sel aksesori lainnya, yang disebut sebagai unit remodeling tulang (Diel dan Pfeilschifter, 2000).

1. Resorpsi dan aktivasi osteoklas

Proses pertama dalam siklus ini adalah aktivasi. Aktivasi prekursor osteoklas berasal dari monosit yang beredar pada peredaran darah atau prekursor makrofag sumsum tulang, Bukti menunjukkan bahwa aktivasi osteoklas dipicu oleh kematian atau gangguan osteosit yang terdekat dengan osteoklas yang berakibat menurunnya komponen organik dan

anorganik dari matriks tulang. Osteoklas bergerak sepanjang permukaan tulang. Pada tulang kortikal mereka menembus tulang dan membuat lubang silinder. Pembentukan, aktivasi, dan aktivitas osteoklas diatur oleh sitokin lokal, termasuk RANKL, interleukin-1 (IL-1) dan IL-6, faktor penstimulasi dan hormon sistemik seperti PTH 1,25-dihidroksivitamin D dan kalsitonin. Resorpsi osteoklas terjadi dengan memberi sinyal melalui interaksi RANKL / RANK (Hochberg dkk., 2015).

2. Pembalikan dan pembentukan oleh osteosit
3. Fase pembalikan dimulai ketika sel mononuklear muncul di permukaan tulang. Sel-sel ini menyiapkan permukaan tulang untuk memulai pembentukan tulang oleh osteoblas baru dan menyediakan sinyal untuk diferensiasi dan migrasi osteoblas. Fase pembentukan akan mengikuti osteoblas yang meletakkan matriks tulang sampai tulang yang sudah teresorpsi digantikan oleh yang baru. Ketika fase ini selesai, permukaan tulang ditutupi dengan sel lapisan tulang selama periode istirahat yang berkepanjangan, sampai siklus remodeling baru dimulai. Tahapan siklus remodeling memiliki panjang yang berbeda. Resorpsi terjadi selama sekitar 2 minggu, fase pembalikan dapat berlangsung hingga 4 atau 5 minggu, sementara pembentukan dapat berlanjut selama 4 bulan sampai unit struktur tulang baru benar-benar terbentuk (Hadjidakis dan Androulakis, 2006).

Remodeling tulang juga terjadi pada dua zona pergerakan gigi yaitu zona tekana dan tarikan dengan mekanisme dibawah ini :

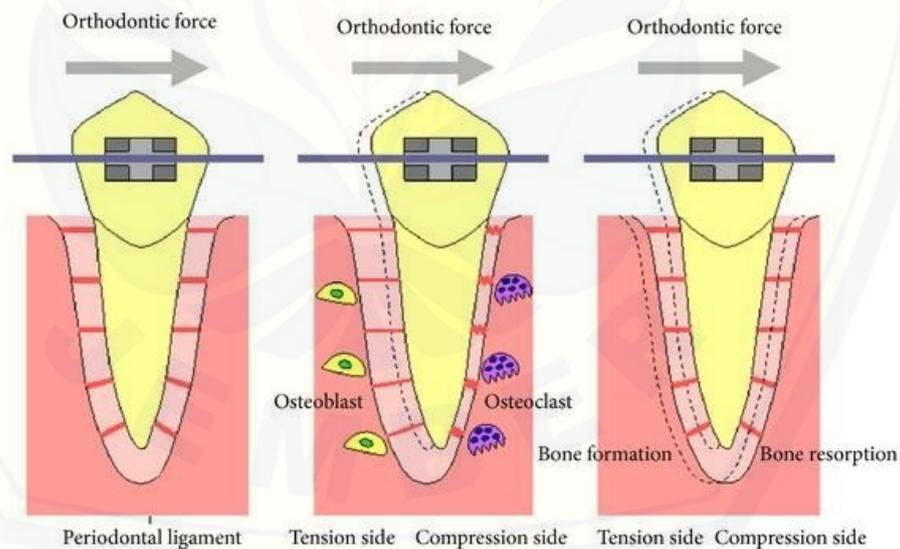
- a. Zona Tekanan

Jumlah kekuatan merupakan faktor penting dalam perubahan jaringan pada zona tekanan. Pada gaya yang optimal yaitu tidak lebih dari tekanan kapiler $20-26 \text{ g/cm}^2$ dan ligamen periodontal akan memendek sebanyak sepertiga lebarnya (Alam, 2012). Tekanan merangsang aktivitas sel osteoklas pada tulang alveolar dari lamina dura dengan sel-sel yang berproliferasi dari ligamen periodontal. Reaksi membran periodontal dan

tulang alveolar, serta sementum dan dentin, bervariasi dengan tingkat gaya yang diterapkan. (Premkumar, 2015).

b. Zona Tarikan

Aktivitas seluler di daerah tarikan lebih lambat jika dibandingkan dengan zona tekanan. Peningkatan aktivitas seluler di zona tarikan dapat dilihat dengan waktu sekitar 30 jam. Pada daerah permukaan tulang, kekuatan gerakan gigi akan ditransmisikan ke ligamen periodontal (Premkumar, 2015). Membran periodontal pada sisi tarikan akan meregang. Regangan ini menyebabkan jarak antara prosesus alveolar dan gigi melebar. Pelebaran jarak ini mengakibatkan peningkatan vaskularisasi di sisi tarikan karena adanya vasodilatasi pembuluh darah. Akibatnya mobilisasi sel seperti fibroblast dan osteoblas terjadi di area ini sehingga osteoid terbentuk oleh osteoblas di ligamen periodontal yang berdekatan dengan lamina dura. Sehingga tulang akan mengalami kalsifikasi ringan (Alam, 2012).



Gambar 2.2 Gambaran zona tarikan dan tekanan selama perawatan ortodonti

2.4 Natrium Fluoride (NaF)

NaF merupakan komponen kimia anorganik yang berbentuk padat dan tidak berwarna. Struktur NaF berupa komponen ionik yaitu Na^+ dan F^- (Manela, 2014). NaF dapat disajikan dalam berbagai bentuk, diantaranya :

1. Sistemik

a. Fluoridasi air minum

Fluoridasi air minum pertama kali diperkenalkan pada tahun 1940-an, dan penggunaannya telah menghasilkan penurunan tingkat karies secara substansial. Fluoridasi air ini digunakan sebagai ukuran kesehatan masyarakat. Kandungan *fluoride* optimal dalam air minum yaitu 1 ppm. Untuk daerah lain di mana tingkat *fluoride* jauh lebih tinggi dari tingkat yang direkomendasikan, kelebihan *fluoride* ini dapat dihilangkan selama pemrosesan.

b. Suplemen *fluoride*

Suplemen *fluoride* dapat diberikan kepada anak-anak yang berisiko karies atau dengan kandungan fluoride rendah. Pemberiannya dapat berupa tetes, tablet hisap atau tablet, dosis pemberiannya bervariasi tergantung dari *fluoride* yang terkandung dalam suplai air dan usia anak.

2. Topikal

Fluoride topikal yang tersedia meliputi *NaF*, *natrium monofluorophosphate*, asam fosfat berfluorida, *stannous fluoride*, *fluoride* dari semen ionomer kaca, dan bahan gigi lain yang melepaskan *fluoride*. Tujuan pertama kali digunakannya *fluoride* topikal yaitu untuk meningkatkan serapan *fluoride* meningkatkan pertukaran ion melalui penggunaan pH yang rendah, dan mencegah demineralisasi jaringan keras gigi.

3. In Office

Varnish fluoride tersedia dalam bentuk natrium fluoride 5%, setara dengan 22.600 ppm fluoride. Sebagian besar uji klinis, membuktikan bahwa penggunaan utama dari *in office fluoride* adalah untuk pencegahan karies gigi. Selain itu, American Dental Association merekomendasikan

penggunaan varnis natrium fluorida dengan konsentrasi 5% untuk pencegahan karies pada anak-anak dan orang dewasa. Frekuensi aplikasi dianjurkan sebanyak dua kali atau empat kali per tahun.

2.4.1 Hubungan *NaF* dengan Remodeling Tulang

Pemberian gel *NaF* secara topikal akan mempengaruhi proses remodeling tulang. Peran *NaF* terhadap tulang diantaranya dengan mempengaruhi kekuatan tulang menggantikan ion hidroksil dalam kristal-kristal tulang untuk membentuk fluoroapatite dan meningkatkan osteoblas. *Fluoride* memiliki efek pada struktur, fungsi dan kekuatan sel tulang (Panchal, 2013). Fluoride juga berperan dalam peningkatan kepadatan massa tulang sebagai indikator terjadinya remodeling tulang (Yang dkk., 2017). Penelitian yang dilakukan Azapira (2011) tentang pengaruh *NaF* terhadap perbaikan tulang yang fraktur pada tikus, membuktikan bahwa adanya peningkatan kepadatan tulang trabekular pada enam minggu pasca fraktur. Peningkatan ini dikarenakan adanya afinitas ion fluor terhadap tulang sehingga bisa menstimulasi osteoblas dan meningkatkan proses aposisi dan mineralisasi tulang.

2.4.2 Mekanisme Penyerapan Gel *NaF* Pada Sulkus Gingiva

Obat topikal adalah obat yang mengandung dua komponen dasar yaitu zat pembawa (vehikulum) dan zat aktif. Zat aktif merupakan komponen bahan topikal yang memiliki efek terapeutik, sedangkan zat pembawa adalah bagian inaktif dari sediaan topikal dapat berbentuk cair atau padat yang membawa bahan aktif berkontak dengan mukosa. Idealnya zat pembawa mudah dioleskan, mudah dibersihkan, tidak mengiritasi. Selain itu, bahan aktif harus berada di dalam zat pembawa dan mudah dilepaskan. Untuk mendapatkan sifat zat pembawa yang demikian, maka ditambahkan bahan atau unsur senyawa tertentu yang berperan dalam memaksimalkan fungsi dari zat pembawa (Ermawati, 2014).

Penetrasi gel pada sulkus gingiva rongga mulut diawali oleh masuknya gel *NaF* kedalam epitel rongga mulut melalui mekanisme transport pasif. Ion fluorida secara reversibel bergabung dengan ion hidrogen untuk membentuk hidrogen fluorida (HF) atau asam hidrofluorik. HF yang terbentuk merupakan molekul bermuatan yang dapat dengan mudah melewati membran biologis (Ranjan dan

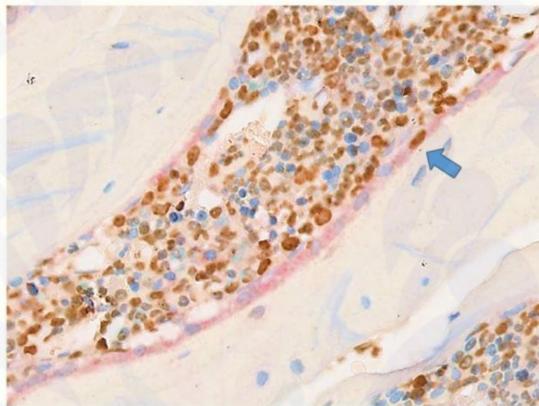
Ranjan, 2015). *Fluoride* diangkut ke bagian tubuh melalui aliran darah dan terbagi dalam dua bentuk, fluoride organik dan anorganik. Nilai total F dalam plasma darah kurang signifikan secara biologis karena tidak ada konversi organik ke bentuk anorganik. Jumlah F dalam darah yaitu sekitar 75% *fluoride* anorganik tetap dalam plasma, sekitar 5% terikat dengan protein plasma dan sisanya ada pada eritrosit. Pada pH di atas 3,45 seperti dalam plasma darah, cairan jaringan, dan sejenisnya, fluoride ada terutama dalam bentuk terionisasi (Gropper dan Smith, 2008). Sekitar 99% sisa fluoride ditemukan dalam tulang, sisanya di dalam darah dan di jaringan lain. Tulang memiliki afinitas yang baik untuk menggabungkan fluoride dengan hidroksiapatit untuk membentuk fluorapatite. Fluorapatit akan menghasilkan kristal apatit yang lebih besar, kurang larut, dan lebih stabil (Whitfield dan Morley, 2013). Selain itu ion F^{-} berinteraksi dengan gugus asam amino NH_3^{-} yang akan berinteraksi dengan protein dalam makrofag (Nicholas dan Christopher, 2015).

2.5 Osteonektin

Osteonektin merupakan matriks protein yang nonkolageous yang terletak pada sitoplasma osteoblas terutama pada badan golgi (Marcus dkk., 2013). Osteonektin dapat ditemukan di beberapa organ seperti plasenta, otak, hati, ovarium, testis dan tulang, namun protein ini paling banyak ditemukan pada tulang (Noda, 2014). Protein ini juga dinamakan SPARC (*Secreted Protein, Acidic, Rich Cysteine*) atau BM-40 (*Basement Membrane tumor factor - 40*). Protein ini dahulu disebut *matricellular* yang merupakan sekelompok modular, protein ekstraseluler yang fungsinya didapat dengan mengikat protein matriks serta reseptor pada permukaan sel, atau molekul lain seperti sitokin dan protease, yang berinteraksi secara bergantian dengan permukaan sel. Fungsi utamanya yaitu untuk mengikat ion Ca^{2+} , kolagen tipe I, hidroksiapatit dan trombospondin yang dapat menginisiasi pembentukan Kristal (Khurana, 2009). Fungsi osteonektin lainnya pada jaringan diantaranya mengatur penyusunan fibril kolagen pada kulit dan tulang serta modifikasi bentuk sel, migrasi, proliferasi, diferensiasi, kelangsungan hidup, dan modulasi pensinyalan sel. Osteonektin juga

berperan untuk meningkatkan pembentukan serta pematangan osteoblas sehingga sangat penting untuk pemeliharaan massa tulang dan untuk menyeimbangkan pembentukan tulang dan resorpsi sebagai respon terhadap hormon paratiroid (PTH) (Marcus dkk., 2013).

Osteonektin yang terekspresi akan terlokalisasi pada matriks ekstraseluler daerah-daerah yang mengalami kalsifikasi dan mineralisasi (Ulrich dan Wiesmann, 2003). Kemunculan osteonektin mencapai 2% dari total protein yang muncul pada saat remodeling tulang (Evered dan Harnett, 2008). Protein ini akan mencapai puncak kemunculan pada hari ke-21 (Acton, 2011).



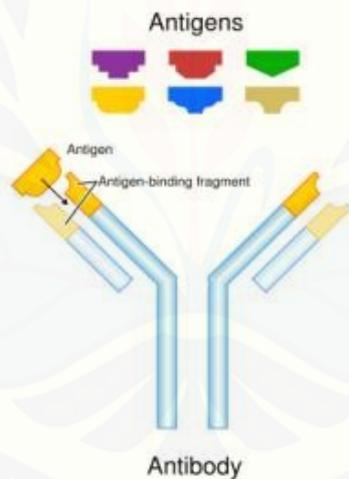
Gambar 2.2 Ekspresi osteonektin pada sel osteoblas dengan pewarnaan imunohistokimia 400x

2.6 Imunohistokimia (IHC)

Imunohistokimia merupakan proses untuk mendeteksi antigen (protein, karbohidrat, dsb) pada sel dari jaringan dengan prinsip reaksi antibodi yang berikatan terhadap antigen pada jaringan. Nama imunohistokimia diambil dari nama “immune” yang menunjukkan bahwa prinsip dasar dalam proses ini ialah penggunaan antibodi dan “histo” menunjukkan jaringan secara mikroskopis. Imunohistokimia seringkali digunakan untuk mengukur dan mengidentifikasi proses proliferasi sel dan apoptosis sel. Imunohistokimia juga sering digunakan untuk penelitian dasar dalam rangka mengetahui distribusi dan lokasi biomarker ataupun protein terekspresi pada berbagai macam jaringan pada tubuh (Ramosvara, 2005)

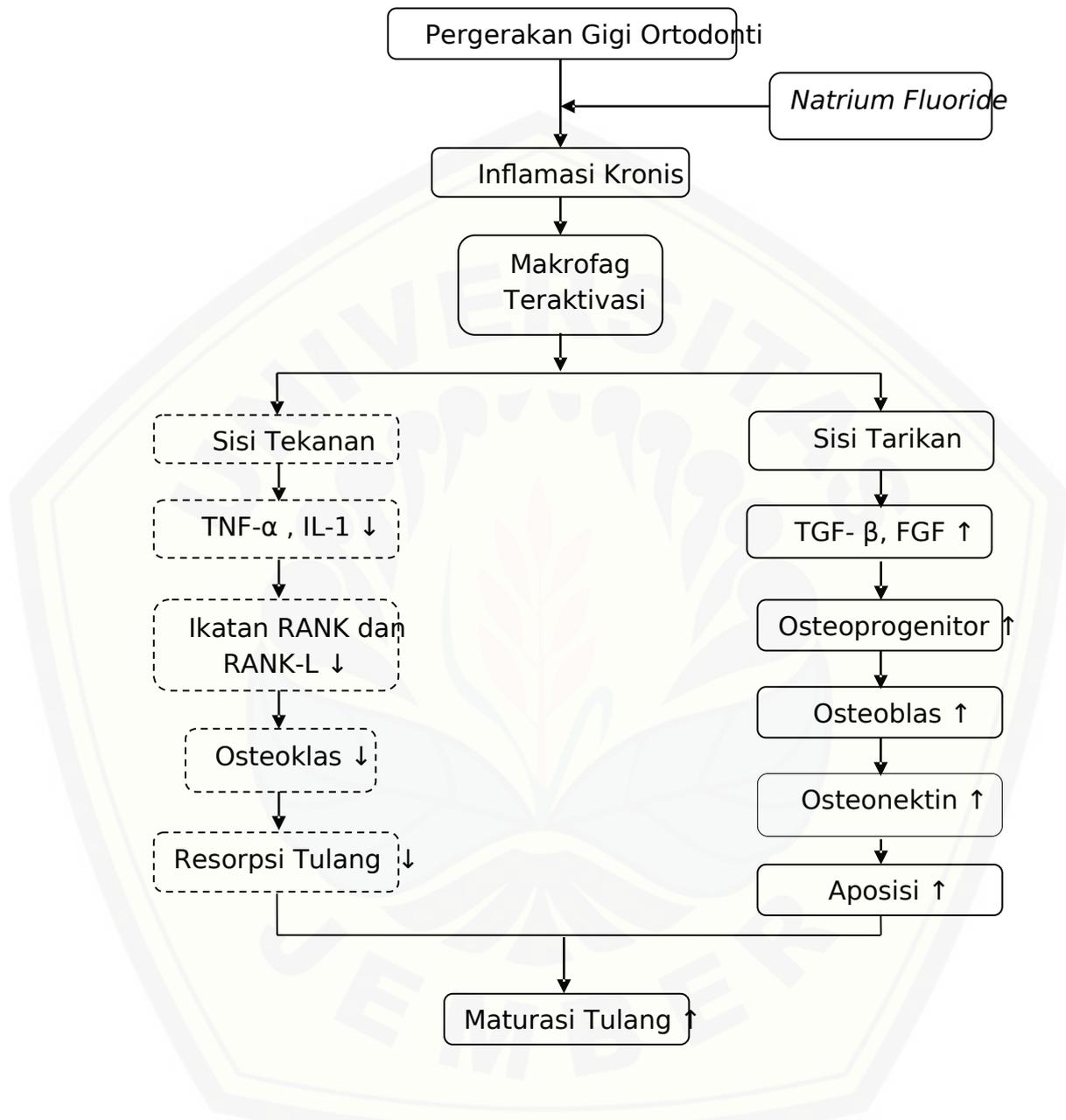
Konjugasi antibodi dengan enzim seperti peroksidase dilakukan untuk visualisasikan hasil interaksi antara antigen dan antibodi. Selain itu juga bisa digunakan *fluorophore* seperti fluorescen atau rhodamin. Sel dalam jaringan difiksasi kemudian dilokalisasi diantara sel dan divisualisasikan dengan mikroskop elektron atau mikroskop cahaya untuk mempelajari morfologi sel (Rantam, 2003).

Imunohistokimia merupakan pemeriksaan imunopatologik yang sangat potensial untuk memeriksa antigen secara lokal di jaringan yang menggunakan antibodi spesifik. Pemeriksaan imunohistokimia mempunyai kemampuan yang tinggi untuk memisahkan, menseleksi, dan bersifat spesifik. Pemeriksaan imunohistokimia untuk mendeteksi adanya antigen, hal ini disebabkan adanya ikatan spesifik antara antigen dan antibodi (Ambari, 2003). Interaksi antara antigen dengan antibodi dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.3 Interaksi antara antigen dan antibodi

2.7 Kerangka Konsep



Keterangan:

TGF-β : Transforming Growth Factor-β

FGF : Fibroblast Growth Factor

TNF-α : Tumor Necrosis Factor-α

IL-1 : Interleukin-1

RANK : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B

RANKL : Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand

————— : diteliti

----- : tidak diteliti

2.7.1 Penjelasan Kerangka Konsep

Gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti, akan mengalami proses inflamasi kronis oleh karena gaya yang diberikan maupun tekanannya. Inflamasi kronis ini menyebabkan makrofag akan teraktivasi dan mengeluarkan beberapa sitokin diantaranya menstimulasi pembentukan osteoklas dan osteoblas. Sitokin yang menstimulasi pembentukan osteoklas yaitu TNF- α dan IL-1, kedua sitokin ini mempengaruhi proses ikatan RANK dengan RANK-L, ketika sudah terjadi ikatan antar keduanya maka akan terbentuk osteoklas dan menyebabkan resorpsi tulang.

Selain itu ada pula sitokin yang menstimulasi pembentukan osteoblas yaitu TGF- β dan FGF, kedua sitokin ini mempengaruhi diferensiasi sel osteoprogenitor untuk menjadi osteoblas, didalam osteoblas mengandung osteonektin yang mempercepat pembentukan kristal tulang dan mempercepat maturasi tulang. Dengan pemberian *NaF* pada gigi yang diberi gaya ortodonti diharapkan dapat menyebabkan peningkatan pembentukan osteoblas sehingga meningkatkan sekresi osteonektin. Peningkatan osteonektin akan menyebabkan aposisi matriks tulang menjadi lebih cepat sehingga dapat mempercepat maturasi tulang.

2.9 Hipotesis

Pemberian *NaF* secara topikal dapat meningkatkan ekspresi osteonektin pada tulang alveolar tikus wistar jantan pada sisi tarikan yang diberi kekuatan mekanik ortodonti.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*, yaitu rancangan penelitian yang memungkinkan peneliti untuk mengetahui efek perlakuan dan tanpa perlakuan pada unit eksperimen (Notoatmodjo, 2002).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di:

- a) Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember
- b) Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- c) Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- d) Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Oktober 2018.

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Kriteria sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus strain wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria :

- a. Jenis kelamin jantan
Pemilihan jenis kelamin ini bertujuan untuk menghindari pengaruh dari hormon – hormon seks wanita (esterogen) terhadap aktivitas osteoklas dan osteoblas.
- b. Umur tikus 2-3 bulan.
- c. Berat badan 200-250 gram

Berat badan 200-250 gram diharapkan mempunyai proses remodeling yang adekuat dan juga untuk menghindari pengaruh hormon - hormon pertumbuhan.

- d. Keadaan umum tikus baik.
- e. Pakan yang sesuai dan seragam

Tikus yang dipakai sebagai hewan coba diberi makan agar memiliki berat badan yang cukup ideal dan status kesehatan yang cukup baik. Hewan dilakukan aklimatisasi selama seminggu sebelum diberi perlakuan untuk adaptasi dengan tempat dan makanan (Sutjiati, 2016).

3.3.2 Besar sampel penelitian

Besar sampel ditentukan berdasarkan jumlah ulangan yang dianggap telah cukup baik dengan rumus (Daniel, 2005) ;

$$n \geq \frac{Z^2 x \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

- n = Besar sampel tiap kelompok
- Z = Nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$
- σ = Standart deviasi sampel (Sya'bani, 2018)
- d = Kesalahan yang masih dapat ditoleransi

$$n \geq \frac{Z^2 x \sigma^2}{d^2}$$

$$n \geq \frac{(1,96)^2 x (2.8)}{(0,05)^2}$$

$$n \geq 4,256$$

$$n \geq 5$$

Jumlah sampel minimum yang harus digunakan tiap kelompok adalah 5 ekor.

3.3.3 Jumlah sampel penelitian

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu 20 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 2 kelompok dengan masing – masing 10 ekor dan dibagi lagi menjadi 2 subkelompok yang masing – masing berjumlah 5 ekor.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah gel *NaF*.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel Terikat pada penelitian ini adalah osteonektin.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel Terkendali dalam penelitian ini antara lain :

- a. Jenis hewan coba
- b. Umur hewan coba berat badan hewan coba
- c. Prosedur pemeliharaan hewan coba
- d. Jenis dan bahan anastesi
- e. Lokasi gigi dan pergerakan gigi
- f. Cara pemberian dan dosis bahan perlakuan
- g. Waktu evaluasi
- h. Metode pemeriksaan

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Gel *NaF*

Fluor yang digunakan dalam penelitian ini adalah *NaF* dalam bentuk gel bening atau tidak berwarna dengan dosis 11,34 ppm yang diaplikasikan secara topikal kedalam sulkus gingival dengan menggunakan syringe modifikasi.

3.5.3 Osteonektin

Osteonektin yang dihitung pada penelitian ini adalah osteonektin yang berada pada sitoplasma sel osteoblas tepat diatas tulang alveolar dalam satuan sel. Warna dari sel osteoblas harus ungu dan terdapat warna coklat didalamnya karena warna coklat menandakan terekspresinya osteonektin. Perhitungan dilakukan oleh 4 pengamat dan dirata-rata.

3.6 Konversi Dosis

3.6.1 Dosis Fluor

Dosis NaF Gel pada penelitian ini adalah 11,34 ppm dengan perhitungan dosis optimal fluor dalam bentuk topikal sebanyak 2,16 gram/kgBB/hari. Volume yang diberikan sebanyak 0,2-0,3 ml dengan beracuan pada konsentrasi optimal fluor yaitu 0,2% (Vilas, 2015).

3.6.2 Dosis Bahan Anastetikum

Bahan anestesi yang digunakan berupa campuran ketamin dan xylazine. Ketamin 10% (dosis 50 mg/kg) dan Xylazine 2% (dosis 5 mg/kg) secara intramuskuler. Volume yang diberikan yaitu xylazine sebanyak 0,05 – 0,0625 ml dan ketamin 0,1 – 0,125 ml (Hartiningsih, 2015).

3.7 Bahan dan Alat Penelitian

3.7.1 Bahan Penelitian

- a) Hewan coba tikus Wistar Jantan
- b) Natrium Fluorida 11,34 ppm dalam bentuk gel
- c) *Ni-ti closed coil spring* 0,25 mm
- d) *Stainless steel ligature wire* 0,1 mm
- e) Semen Glass Ionomer Tipe IX (Fuji IX)
- f) Bahan anestetikum : Ketamin dan Xylazine
- g) Asam Format 10%
- h) Carbopol 1%
- i) TEA 3%
- j) Propilenglicol 3%
- k) Etanol
- l) Paraffin
- m) Alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut
- n) *Xylol*
- o) *Phosphate buffer saline* (PBS)
- p) Asam nitrat
- q) Asam sitrat

- r) HCL
- s) NaCl
- t) NaOH
- u) Buffer fosfat
- v) *Aquadest*
- w) Akuabides
- x) Formalin 10%
- y) *Antibody monoklonal anti-rat spesifik osteonectin*
- z) Minuman dan makanan standart untuk hewan coba

3.7.2 Alat Penelitian

- a) Kandang peliharaan hewan coba
- b) Tempat makan dan minum hewan coba
- c) *Disposable spuit*
- d) Timbangan analitik
- e) Kotak kaca
- f) *Scalpel*
- g) Gunting
- h) Tabung reaksi
- i) Pipet
- j) Botol spuit
- k) Mikroskop cahaya
- l) Kamera
- m) Slide
- n) *Round bur*
- o) *Closed coil spring*
- p) *Low speed*
- q) *Stainless steel ligature wire*
- r) *Tension gauge (ormco)*
- s) *Deck glass* dan *object glass*
- t) Sarung tangan dan masker

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Perijinan *Ethical Cleareance*

Pengurusan keterangan kelayakan Etika Penelitian kepada Unit Etika dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

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

3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi 4 kelompok yang terbagi dalam 2 kelompok (kelompok kontrol yaitu kelompok yang hanya diberi kekuatan mekanis ortodonti dan kelompok perlakuan yaitu kelompok yang diberi kekuatan mekanis ortodonti berupa pemasangan *ni-ti closed coil spring* dengan pemberian fluor), sebagai berikut :

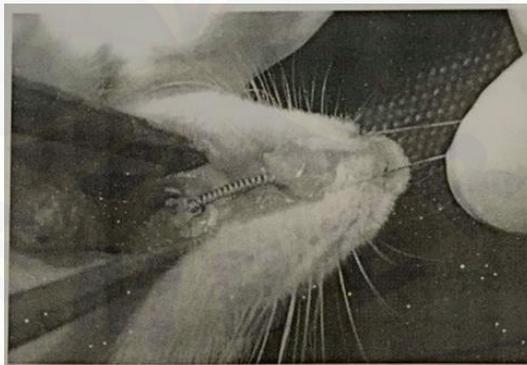
- a) Kelompok A (5 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* tanpa pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 7 hari.
- b) Kelompok B (5 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* dengan pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 7 hari.
- c) Kelompok C (5 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* tanpa pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 14 hari.
- d) Kelompok D (5 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *ni-ti closed coil spring* dengan pemberian *NaF* gel 0,2 – 0,3 ml selama 14 hari (Sutjiati, 2014).

3.8.4 Persiapan Gel NaF 11,34 ppm

NaF diperoleh dalam bentuk bubuk berwarna putih yang diproses menjadi bentuk gel. Pembuatan gel dilakukan dengan mencampurkan NaF sebanyak 11,34 mg, carbopol 1%, TEA 3%, dan Propilen 3% dalam 1 liter *aquadest* steril menggunakan mortal dan alu (Rowe dkk., 2009)

3.8.5 Pemasangan *coil spring*

- a) Selama prosedur pemasangan dan aktivasi *ni-ti closed coil spring* berdiameter 0,25 mm dilakukan tikus sudah diinjeksi intramuskuler dengan larutan ketamin dan xylazine dengan perbandingan 1 : 2 masing - masing sebesar 0,15 – 0,18 ml agar tidak merasakan sakit.
- b) Sebelum dipasang kekuatan *ni-ti closed coil spring* diukur dengan menggunakan *tension gauge* untuk menghasilkan kekuatan sebesar 10 gr/cm².
- c) Sebuah *ni-ti closed coil spring* diletakkan diantara gigi insisif sentral rahang atas dan molar pertama kiri rahang atas untuk menggerakkan molar ke arah mesial. Piranti ini difiksasi dengan 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi insisif sentral rahang atas melalui sebuah lubang yang dibuat dengan *round bur* pada sisi distovertikal dengan 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi molar pertama. Untuk meningkatkan retensi, diaplikasikan *glass ionomer cement*. (Sella, 2012)



Gambar 3.1 Pemasangan *closed coil spring*.

- d) Hewan coba pada kelompok C dan D merupakan hewan coba yang diberi perlakuan gel NaF 11,34 ppm secara topikal ke dalam sulkus gingiva dengan *syringe* modifikasi dua kali sehari. Pemberian NaF pada hewan coba dilakukan setelah hewan coba diberi makan (Sutjiati, 2016).

3.8.6 Pengambilan Jaringan Penelitian

Dekaputasi hewan coba dilakukan pada kelompok A dan C pada hari ke-8 dan kelompok B dan D pada hari ke-15. Euthanasia hewan coba dilakukan dengan injeksi ketamin overdosis secara intramuskular. Pengambilan jaringan dilakukan dengan menggunakan *knable* tang dan *scalpel* pada bagian anterior rahang atas. Pemotongan jaringan ini dilakukan diatas papan gabus. Jaringan yang diambil untuk penelitian harus segar, artinya jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan coba dilakukan euthanasia (Muntiha, 2001).

3.8.7 Tahap Pembuatan Sediaan dan Pemeriksaan Imunohistokimia

1. Perendaman Jaringan dengan Larutan *Buffered Neutral Formalin* 10%

Jaringan yang telah terambil dilakukan fiksasi dengan menggunakan larutan *Buffered Neutral Formalin* 10%. Larutan ini berfungsi untuk mengawetkan jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel dan mempertahankan morfologi sel seperti semula (Muntiha, 2001). Fiksasi jaringan dilakukan selama minimal 24 jam (Santoso, 2006).

2. Perendaman Larutan Dekalsifikasi

Dekalsifikasi dilakukan pada jaringan dengan menggunakan asam format 10% selama 7 hari. Proses dekalsifikasi bertujuan untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, dan memudahkan proses pemotongan. Jaringan dicuci menggunakan PBS 3-5x untuk membersihkan dari kontaminan (Santoso, 2006). Proses dekalsifikasi selesai ditandai dengan jaringan yang sudah lunak (Muntiha, 2001).

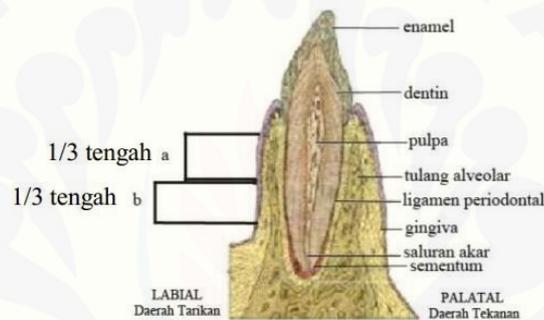
3. Pemrosesan Jaringan

a. Dehidrasi yaitu penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi. Tahapan dehidrasi sebagai berikut :

1. Alkohol 70% = ± 15 menit
2. Alkohol 80% = 1 jam

3. Alkohol 95% = 2 jam
 4. Alkohol 95% = 1 jam
 5. Alkohol 100% = 1 jam
 6. Alkohol 100% = 1 jam
 7. Alkohol 100% = 1 jam (Universitas Jember, 2006)
- b. *Clearing* yaitu proses penjernihan menggunakan bahan *clearing* seperti *xylol*, *toluel* dan *benzen*. Pada penelitian ini menggunakan *xylol*. Tahapan *clearing* sebagai berikut:
1. Xylol = 1 jam
 2. Xylol = 2 jam
 3. Xylol = 2 jam (Universitas Jember, 2006).
- c. Impregnasi yaitu proses infiltrasi bahan *embedding* dalam jaringan pada suhu $56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$, caranya jaringan dibungkus dengan kertas saring yang telah diberi label ntuk menghindari kekeliruan identitas sampel, kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu paraffin TD ($56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$). Tahapan impregnasi sebagai berikut:
1. Paraffin ($56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$) = 2 jam
 2. Paraffin ($56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$) = 2 jam
 3. Paraffin ($56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$) = 2 jam (Universitas Jember, 2006).
4. Pembuatan Blok Jaringan (*embedding*)
- Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu *paraffin*, *cellulose*, dan *tissue text*. Pada penelitian ini menggunakan paraffin TD ($56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$). Tahapan *embedding* sebagai berikut:
- a. Mempersiapkan alat cetak blok paraffin dan meletakkan alat cetak tersebut di tempat dengan permukaan rata.
 - b. Tuangkan paraffin cari TD ($56^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$) ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi dengan *surgical* yang kita inginkan dan jangan lupa diberi label sampel, tunggu beberapa menit sampai paraffin beku (Universitas Jember, 2006).
5. Tahapan Penyayatan Jaringan

- a. Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya bersihkan pisau mikrotom dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan *xylol* dengan arah tegak lurus.
- b. Atur ketebalan sayatan mikrotom antara 4-6 μ m, atau sesuai kebutuhan.
- c. Ambil sayatan yang telah diperoleh dengan kaus lalu letakkan diatas permukaan *waterbath* dengan temperatur tetap 56⁰ – 58⁰C hingga sayatan mekar.
- d. Ambil sayatan yang telah mekar dengan *object glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*, dan keringkan dengan *hotplate* dengan suhu 30⁰ – 35⁰C, minimal selama 12 jam (Universitas Jember, 2006).



Gambar 3.2 Ilustrasi pemotongan mesiodistal pandangan lingual

6. Pengecatan dan Pembacaan Imunohistokimia
 - a. Sediaan dilakukan deparafinisasi preparat dengan larutan *xylene* sebanyak tiga kali masing-masing selama 3 menit.
 - b. Rehidrasi dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95% dan etanol 70% masing-masing selama 2 menit, 1 menit dan terakhir dengan air selama 1 menit.
 - c. *Object glass* direndam dengan *peroxidase blocking solution* pada suhu kamar selama 10 menit.
 - d. Inkubasi preparat dalam *prediluted blocking serum* 25⁰C selama 10 menit.
 - e. Preparat direndam di dalam antibodi monoklonal Osteonektin 25⁰C selama 10 menit.
 - f. Preparat dicuci dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) selama 5 menit.

- g. Inkubasi preparat dengan antibodi sekunder pada suhu 25°C selama 10 menit.
- h. Preparat dicuci dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) selama 5 menit.
- i. Inkubasi preparat dengan *peroxidase* pada suhu 25°C selama 10 menit.
- j. Preparat dicuci dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) selama 5 menit.
- k. Inkubasi preparat dengan *kromogen diamino benzidine* (DAB) pada suhu 25°C selama 10 menit.
- l. Inkubasi preparat *hematoxylin eosin* selama 3 menit.
- m. Preparat dicuci dengan air mengalir.
- n. Preparat dibersihkan dan ditetesi dengan *mounting media* kemudian ditutup dengan *cover glass*.
- o. Pengamatan hasil ekspresi Osteonektin dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Penghitungan jumlah osteoblas pada daerah tarikan. Pengamatan diamati dengan dua pengamat untuk menghindari dari subjektivitas (Sutjiati, 2016).

3.9 Cara Pengolahan dan Analisis Data

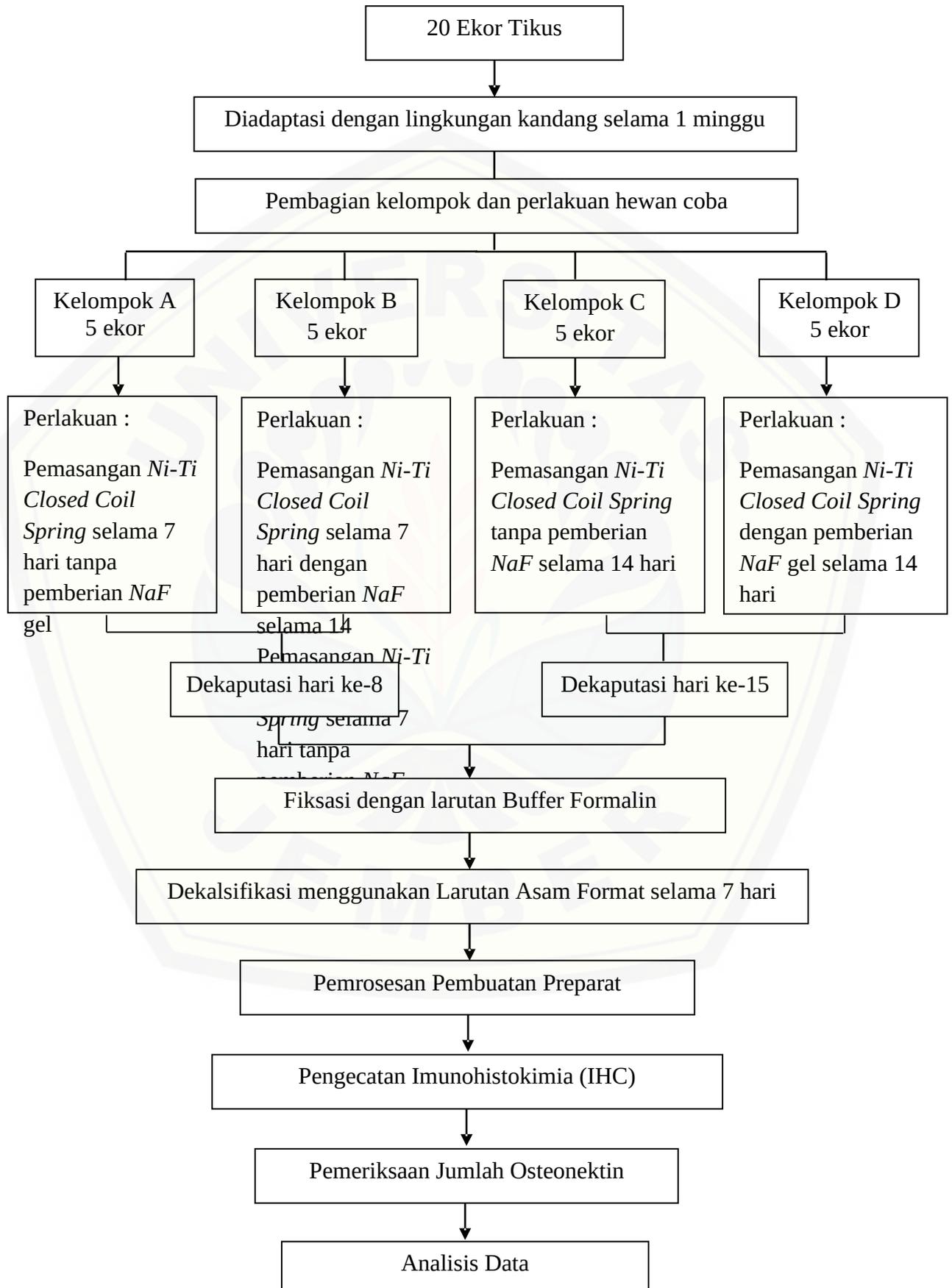
Pengumpulan data dilakukan dalam lingkungan yang terkontrol dan terkendali dengan asumsi kondisi diusahakan sama dan dapat dikendalikan.

Urutan analisis data :

- a) Uji normalitas untuk menguji variabel yang diperiksa dalam penelitian berdistribusi normal menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*.
- b) Uji homogenitas untuk menyatakan bahwa data antar kelompok memiliki matriks kovarians yang homogen menggunakan uji *Levene*.
- c) Analisis varian menggunakan uji antar *Oneway Anova*.
- d) Uji lanjutan LSD (*Least Significant Difference*) diperlukan untuk mengetahui rata – rata pada dua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan.

Data hasil penelitian ini akan ditampilkan dalam bentuk tabel yang berisi besarnya rata-rata dan standart deviasinya serta foto-foto.

3.10 Skema Prosedur Penelitian



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa *Natrium Fluoride* (NaF) 11,34 ppm yang diaplikasikan pada sulkus gingival tikus putih wistar jantan secara topikal dan diberi kekuatan mekanik ortodonti sebesar 10 gr/cm² dapat meningkatkan ekspresi osteonektin pada sel osteoblas di daerah tarikan.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan penulis adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh *Natrium Fluoride* (NaF) dengan variabel lain yang berpotensi dapat meningkatkan proses aposisi tulang khususnya pada daerah tarikan sehingga dapat menurunkan angka kejadian relaps.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk menganalisa peran Fluor pada komposisi tulang alveolar yang telah diberi gel *Natrium Fluoride*

DAFTAR PUSTAKA

- Acton, Q. A. 2012. *Calcium-Binding Proteins: Advances in Research and Application: 2011 Edition*. Georgia. Scholarly Brief
- Alam, M. K. 2012. *A to Z Orthodontics*. Malaysia. PPSP Publication
- Alawiyah, T. 2012. *Retensi Dalam Perawatan Ortodonti*. Jakarta. JITEKGI.
- Ambari, E. 2003. *Deteksi Antigen Toxoplasma Dengan Teknik Imunohistokimia Pada Abortus Spontan*. Semarang. Tesis. Fakultas Kedokteran.
- Amin, M. N. 2016. *Aspek Biologis Pergerakan Gigi Secara Ortodonsi*. Jember. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Ardhana, W. 2010. *Biomekanika Ortodontik*. Yogyakarta. Bagian Ortodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Univesitas Gajah Mada.
- Azapira, M. R. 2011. *Effect of Sodium Fluoride on fracture healing in Experimental rabbits*. Iran. Journal of Applied Animal Research.
- Bilezikian, J. P. 2002. *Principles of Bone Biology*. New York. Academic Press.
- Cardaropoli, D., dan L. Gaveglio. 2007. *The Influence of Orthodontic Movement on Periodontal Tissues Level*. Elsevier Inc
- Daniel, W. 2005. *Biostaic Foundation for Analysis in The Health Sciences*. Eight Edition. Georgia: Willey. p. 12
- Diel I. J., dan J. Pfeilschifter. 2000. *Osteoporosis Due To Cancer Treatment: Pathogenesis and Management*. J Clin Oncol: 1570 –1593.
- Erliera. 2015. *Hubungan Status Gizi Dengan Kasus Gigi Berjejal Pada Murid SMP Kecamatan Medan Baru*. Medan. Dentika Dental Journal.
- Evered, D., dan S. Harnett. 2008. *Cell and Molecular Biology of Vertebrate Hard Tissues*. Chichester. Interscience Publication

- Franz, O. T. A., dan B. K. Hall, dan P. E. Witten. 2006. *Buried alive: how osteoblasts become osteocytes*. Dev Dyn. 235:176–190.
- Goenharto, S. dan E. Rusdiana. 2015. *Perbandingan Piranti Retensi Ortodonti Lepasan dan Cekat*. Surabaya. Journal of Vocational Health studies.
- Glorieux, F. H., J. M. Pettifor, dan H. Juppner. 2011. *Pediatric Bone: Biology and Diseases*. San Diego, USA. Academic Press.
- Hadjidakis dan Androulakis. 2006. *Bone Remodelling*. New York. New York Academy of Sciences.
- Hartiningsih, A. 2015. *Suplementasi Calcitriol Menurunkan Risiko Osteoporosis Tikus Ovariectomi*. FKH Universitas Gajah Mada.
- Hochberg, M. C., A. J. Silman, J. S. Smolen, M. E. Weinblatt, dan M. H. Weisman. 2015. *Rheumatology*. Philadelphia. Elsevier Mosby.
- Katagiri, T., dan Takahashi, N. 2002. *Regulatory Mechanism Of Osteoblast And Osteoclast Differentiation*. Japan. Matsumoto Dental University.
- Khumar. 2008. *Orthodontics*. India. Elsevier India
- Khurana, J. S. 2009. *Bone Pathology*. New York. Springer Science & Business Media.
- Khrisnan, V., dan Z. Davidovitch. 2006. *Cellular, Molecular, and Tissue-Level Reactions to Orthodontic Force*. India. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.
- Komori, T. 2009. *Regulation of Osteoblast Differentiation by Runx-2*. *Osteoimmunology*. 658(1): 43-49.
- Manela, C. 2014. *Pengaruh Penambahan Natrium Florida Terhadap Kadar 6 Monoacetylmorphin Dan Morfin Pada Sampel Darah*. Jakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Marcus, R., D. Feldman, D. Nelson, dan C. J. Rosen. 2007. *Osteoporosis*. United State of America. Elsevier inc
- Marcus, R., D. Feldman, D. Nelson, dan C. J. Rosen. 2013. *Osteoporosis*. United State of America. Elsevier inc
- Matsuda, S. S. 2014. *Differential Effects Of Fluoride During Osteoblasts Mineralization In C57BL/6J And C3H/Hej Inbred Strains Of Mice*. Bio Trace Elem Res.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin Dan Eosin (HE). Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Nanda, R. 2015. *Esthetics and Biomechanics in Orthodontics*. Connecticut. Elsevier Saunders.
- Nicholas, B. L., dan M. Christoper. 2015. *Functional Monomerization of a CIC-Type Fluoride Transporter*. J Mol Biol 427(22): 3607-3612.
- Noda, M. 2014. *Cellular and Molecular Biology of Bone*. Japan. Academic Press.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta Rineka Cipta.
- Panchal, S. 2013. *Effect of Sodium Fluoride in Maternak and Offspring Rats and its Amelioration*. India. Asian Pasific Journal of Reproduction.
- Prakosa, M. S. I. 2016. *Prevalensi Terjadinya Relaps Setelah Perawatan Dengan Alat Ortodontik Cekat (Evaluasi Menggunakan Indeks Ortodontik Treatment Need/IOTN)*. Yogyakarta. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Premkumar S. 2015. *Textbook of orthodontics*. New Delhi. Reed Elsevier India Pvt. Ltd.
- Profit, W. R. 2007. *Contemporary Orthodontic, 4th ed*. St.Louis: Mosby.

- Proffit, W. R. dan H. W. Fields. 2013. *Contemporary Orthodontics*. Canada. Elsevier Health Science.
- Qu, W. J. 2008. *Sodium Fluoride Modulates Caprine Osteoblast Proliferation And Differentiation*. *Journal Bone Mineralization and Metabolism*.
- Ramosvara, J. A. 2005. *Technical Aspects of Immunohistochemistry*. *Vet. Pathol.* Vol 42 : 405-426.
- Rantam, F. A. 2003. *Metode Immunologi*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 3-88.
- Rowe, R. C., P. J. Sheskey, dan M. E. Quinn. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient, 6th Edition*. Pharmaceutical Press. London. pp. 110-113,283-286,592-594.
- Sabane, A. 2016. *Biology of Tooth Movement*. Las Vegas. *British Journal of Medicine & Medical Research*.
- Santoso, H. 2006. *Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisialis Tibia Fetus Mencit (Mus musculus L) : An Immunohistochemical Study in Rabbits*. *Research Report Fluoride*, 17(1): 23-30.
- Sella, R. C., M. R. de Mendoca, dan A. Osmar. 2012. *Histomorphologic Evaluation of Periodontal Compression and Tension Sides during Orthodontic Tooth Movement in Rats*. *Dental Press J Orthod*, 17(3): 108-117.
- Shebani, A., N. Valaci, M. Vasooghi, dan M. Noorbakhsh. 2010. *Incidence of relaps in Orthodontic Treatments and Related Factors*. *Journal of Research in Dental Sciences*.7(2): 32-41.
- Sihombing, I., S. Wangko, dan S. J. R. Kalangi. 2012. *Peran Estrogen dalam Remodeling Tulang* *Jurnal Biomedik* 4(3): 18-28.
- Sudarso, I. S. R. 2008. *Solusi Penetapan Waktu dan Manajemen Perawatan Ortodonti pada Anak Masa Tumbuh Kembang*. *Dentika Dental Journal*.

- Sutjiati, R. 2016. *Mekanisme Hambatan Relaps Pergerakan Gigi Ortodonti pemberian Natrium fluoride (Studi Eksperimental Tikus Wistar)*. Disertasi. Surabaya. Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Sya'bani, D. R. 2018. *Eksresi Osteopontin Di Daerah Tekanan Pada Gigi Setelah Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Dengan Pemberian Natrium Fluoride (Naf)*. Jember. Universitas Jember
- Tinanoff, N. 2010. *Fluoride Guide*. Maryland. The Academy of Dental Therapeutics and Stomatology.
- Ulrich, M., dan H. P. Wiesmann. 2006. *Bone and Cartilage Engineering*. Springer Science Business Media. Germany.
- Universitas Jember. 2006. *Buku Petunjuk Praktikum Degenerasi dan Radang*. Jember. Badan Penerbit Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Vilas, A. M. 2015. *Multidisciplinary Approaches for Studying and Combating Microbial Pathogens*. Florida. Universal Publishers
- Yang, C., Y. Wang, dan H. Xu. 2017. *Fluoride Regulate Osteoblastic Transforming Growth Factor β 1 Signaling by Medicating Recycling of the Type I Receptor ALK5*. China. PLoS ONE.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Perhitungan Jumlah Rata-rata Sel Osteoblas

Kelompok	Tikus	LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	Rata-rata
A	1	7	8	6	9	8	7.9
	2	8	7	8	8	9	7.9
	3	8	7	7	8	8	7.8
	4	6	8	8	9	8	7.5
	5	8	7	6	7	8	7.5
B	1	10	11	10	10	11	10.3
	2	12	9	9	11	9	10
	3	11	10	10	10	11	10.3
	4	10	11	12	10	10	10.4
	5	10	8	11	12	12	10.6
C	1	13	12	13	11	8	11.4
	2	10	12	13	11	10	11.2
	3	12	12	12	11	12	11.8
	4	13	12	11	12	12	12
	5	11	10	8	11	14	10.8
D	1	15	13	13	13	15	13
	2	13	14	10	15	10	13.4
	3	12	12	14	14	15	13.2
	4	13	12	12	11	17	12.8
	5	15	11	13	14	11	12.7

Lampiran 2. Konversi Dosis

2.1 Dosis Natrium Fluoride

a. Dosis *Natrium Fluoride Gel*

Rumus = Dosis optimal x Berat Badan x Hari

$$= 2,16 \text{ mg/kgBB/hari} \times 0,25 \text{ kg} \times 7 = 3,78 \text{ mg}$$

$$= 2,16 \text{ mg/kgBB/hari} \times 0,25 \text{ kg} \times 14 = 7,56 \text{ mg}$$

$$= (3,78 \text{ mg} + 7,56 \text{ mg}) = 11,34 \text{ mg}$$

Dilartukan dalam 1 liter aquadest menjadi 11,34 ppm.

b. Volume yang diberikan

Konsentrasi optimal 0,2% = 0,2 gr / 100ml = 200 mg/ 100ml = 2mg/ml

Rumus = (Dosis x Berat Badan) : Konsentrasi

$$= (2,16 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg}) : 2\text{mg/ml} = 0,216 \text{ ml}$$

$$= (2,16 \text{ mg} \times 0,25 \text{ kg}) : 2\text{mg/ml} = 0,27 \text{ ml}$$

Jadi, volume gel yang diberikan sebesar 0,2 – 0,3 ml

2.2 Dosis Bahan Anastetikum

a) Dosis ketamin yang digunakan :

Konsentrasi 10% Ketamin

$$= 10 \text{ gr} / 100 \text{ ml} = 10.000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} = 100 \text{ mg/ml}$$

Berat badan hewan coba 200 – 250 gr = 0,2 – 0,25 kg

Rumus = (Dosis x Berat) : Konsentrasi

$$= (50 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg}) : 100 \text{ mg/ml} ; (50 \text{ mg} \times 0,25 \text{ kg}) : 100 \text{ mg/ml}$$

$$= 0,1 \text{ ml} ; 0,125 \text{ ml}$$

Jadi dosis Ketamin yang digunakan adalah 0,1 – 0,125 ml

b) Dosis Xylazine yang digunakan :

Konsentrasi 2% Xylazine

$$= 2 \text{ gr} / 100 \text{ ml} = 2000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} = 20 \text{ mg/ml}$$

Berat badan hewan coba 200 – 250 gr = 0,2 – 0,25 kg

Rumus = (Dosis x Berat) : Konsentrasi

$$= (5 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg}) : 20 \text{ mg/ml} ; (5 \text{ mg} \times 0,25 \text{ kg}) : 20 \text{ mg/ml}$$

$$= 0,05 \text{ ml} ; 0,0625 \text{ ml}$$

Jadi dosis Xylazine yang digunakan adalah 0,05 – 0,0625 ml

Lampiran 3. Analisis Data

3.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VAR00001
N		20
Normal Parameters ^a	Mean	10.6250
	Std. Deviation	2.00339
Most Extreme Differences	Absolute	.163
	Positive	.163
	Negative	-.136
Kolmogorov-Smirnov Z		.729
Asymp. Sig. (2-tailed)		.662

a. Test distribution is Normal.

3.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

jumlah sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.913	3	16	.168

3.3 Uji Beda

ANOVA

jumlah sel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	74.858	3	24.953	182.136	.000
Within Groups	2.192	16	.137		
Total	77.050	19			

3.4 Uji LSD

Multiple Comparisons

jumlah sel
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok A	kelompok B	-2.86000 [*]	.23409	.000	-3.3563	-2.3637
	kelompok C	-3.46000 [*]	.23409	.000	-3.9563	-2.9637
	kelompok D	-5.40000 [*]	.23409	.000	-5.8963	-4.9037
kelompok B	kelompok A	2.86000 [*]	.23409	.000	2.3637	3.3563
	kelompok C	-.60000 [*]	.23409	.021	-1.0963	-.1037
	kelompok D	-2.54000 [*]	.23409	.000	-3.0363	-2.0437
kelompok C	kelompok A	3.46000 [*]	.23409	.000	2.9637	3.9563
	kelompok B	.60000 [*]	.23409	.021	.1037	1.0963
	kelompok D	-1.94000 [*]	.23409	.000	-2.4363	-1.4437
kelompok D	kelompok A	5.40000 [*]	.23409	.000	4.9037	5.8963
	kelompok B	2.54000 [*]	.23409	.000	2.0437	3.0363
	kelompok C	1.94000 [*]	.23409	.000	1.4437	2.4363

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

Lampiran 4. Sertifikat *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
	<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No. 154/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>
<p>Title of research protocol : "Pemberian <i>Natrium Fluoride</i> (NaF) Pada Gigi Yang Diberikan kekuatan Orthodonti Terhadap Ekspresi <i>Osteonektin</i>'</p>	
<p>Document approved : Research Protocol</p>	
<p>Principal investigator : Anjelia Gelli Bagiada</p>	
<p>Member of research : 1. Dani Agam Rahmadianto 2. Adik Wulandari 3. Devina Yulia Putri</p>	
<p>Responsible Physician : Anjelia Gelli Bagiada</p>	
<p>Date of approval : August 3rd, 2018</p>	
<p>Place of research : Laboratory of Biomedic Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>	
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, August 6th, 2018</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>	<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>
 (Prof. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)	 (Prof. Dr. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)

Lampiran 5. Surat Ijin Penelitian



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

Nomor : 4624/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

26 NOV 2018

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

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Anjelia Gelli Bagiada |
| 2 | NIM | : 151610101118 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perum Bunga Nirwana Cluster Menteng Blok D-23 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Pemberian Natrium Fluoride pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk perlakuan terhadap hewan coba dan pemrosesan jaringan |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed
2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



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



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

Nomor : ~~4635~~/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

26 NOV 2018

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Di
Surabaya

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Anjelia Gelli Bagiada |
| 2 | NIM | : 151610101118 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perum Bunga Nirwana Cluster Menteng Blok D-23 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Pemberian Natrium Fluoride pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk pembedahan jaringan dan pembuatan preparat jaringan |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed
3. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



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



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

Nomor : 467/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

26 NOV 2018

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Farmasetika
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Anjelia Gelli Bagiada |
| 2 | NIM | : 151610101118 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perum Bunga Nirwana Cluster Menteng Blok D-23 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Pemberian Natrium Fluoride pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Mortar, Alu, Gelas Ukur Besar, Mixer, Timbangan Mikro |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk membuat gel <i>Natrium Fluoride</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed
2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



an, Dekan
Wakil Dekan I,
Dr. drg. Ida Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



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

nomor : 463/UN25.8.TL/2018
tanggal : Ijin Penelitian

26 NOV 2018

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Di
Malang

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Anjelia Gelli Bagiada |
| 2 | NIM | : 151610101118 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perum Bunga Nirwana Cluster Menteng Blok D-23 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Pemberian Natrium Fluoride pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti Terhadap Ekspresi Osteonektin |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Inkubator, Oven, Mikroskop Cahaya, dan Pipet |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk pewarnaan jaringan menggunakan imunohistokimia dan pengamatan jaringan |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed
2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



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

Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian

6.1 Alat dan Bahan untuk Pemasangan NiTi Closed Coil Spring dan Aplikasi Gel Natrium Fluoride (NaF) pada Gigi Tikus Wistar



A. Tikus Wistar Jantan



Stainless steel ligature wire 0,1 mm



ni-ti closed coil spring 0,25 mm



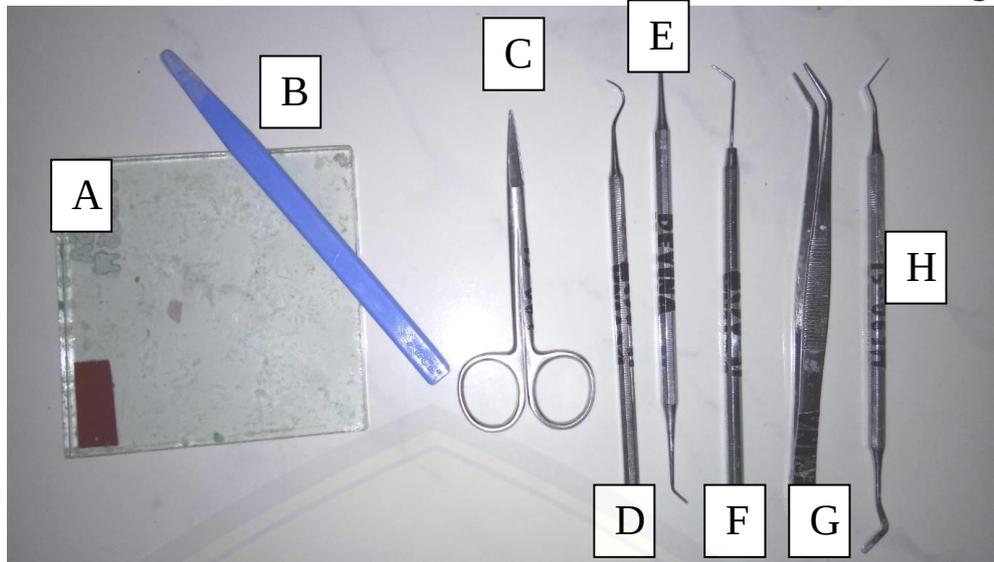
Disposable Spuit 1 cc



Xylazine



Ketamin



- A. Kotak Kaca
- B. Spatula Agate
- C. Gunting
- D. Sonde Setengah Lingkaran
- E. Excavator
- F. Sonde Lurus
- G. Pinset
- H. Plastik Filling Instrument



Semen Glass Ionomer Tipe IX dan Paper Pad



Arteri Clamp



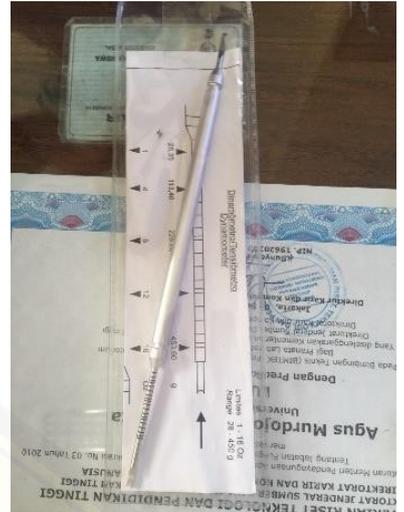
Papan Bedah



Syringe Modifikasi

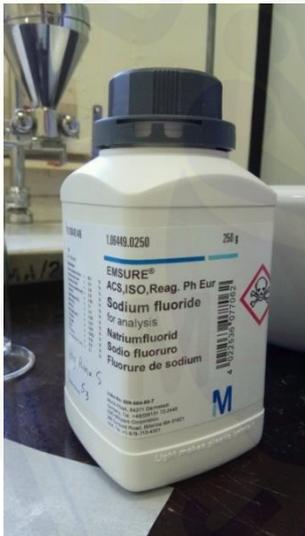


Bur dan Minidrill



Tension Gauge

6.2 Alat dan Bahan Pembuatan Gel *Sodium Fluoride* (NaF) 11,34 ppm



Bubuk *Sodium Fluoride* (NaF)



Propilenglicol 3%



TEA 3%



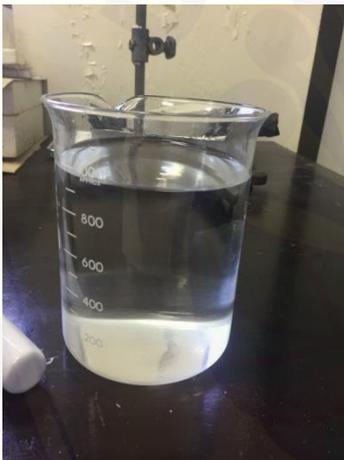
Carbopol 1%



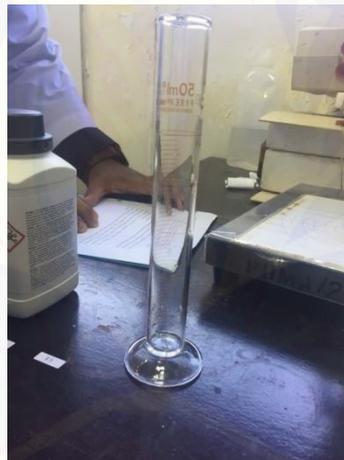
Aquadest



Timbangan Analitik



Beaker Glass



Gelas Ukur



Mortar dan Alu



Homogenizing Mixer

6.3 Alat dan Bahan Dekalsifikasi Jaringan



Tempat Jaringan



Asam Formiat

6.4 Alat dan Bahan Pemrosesan Jaringan dan Pembuatan Parafin Blok



Auto Processing



Dispenser 60⁰C



Inkubator



Paraffin



Kaset



Freezer



Blok Jaringan

6.5 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat



Mikrotom



Waterbath 37°C



Hot Plate



Object Glass



Xylol

6.6 Alat dan Bahan Pewarnaan Jaringan dan Pengamatan Preparat Jaringan



Antibodi Osteokalsin



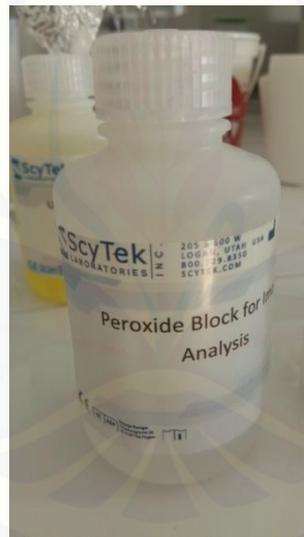
Oven



Mikropipet



Prediluted Blocking Serum



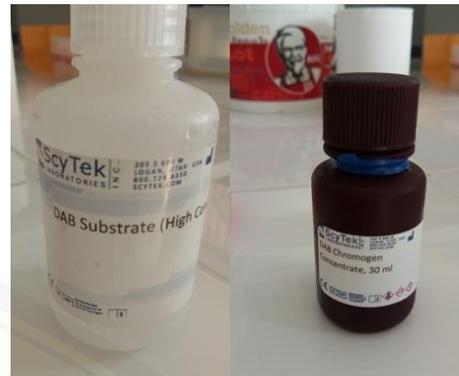
Peroxidase Blocking Solution



Antibodi Sekunder Biotin



Xylol dan Etanol Absolut



Diaminobenzidine
Tetrahydrochloride (DAB)



Horseradish
Peroxidase (HRP)



Mayer's Hematoxylin



Bluing Reagent



Entelan



Object Glass



Vortex



Preparat Jaringan



Mikroskop Cahaya