



**EFEK APLIKASI GEL NATRIUM FLUORIDA (NaF)  
TERHADAP EKSPRESI MMP-8 SEL OSTEOLAS  
PADA PERGERAKAN GIGI ORTODONTI**

**SKRIPSI**

Oleh

**Shobrina Wahyuni  
NIM 161610101065**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**EFEK APLIKASI GEL NATRIUM FLUORIDA (NaF)  
TERHADAP EKSPRESI MMP-8 SEL OSTEOLAS  
PADA PERGERAKAN GIGI ORTODONTI**

**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

**Shobrina Wahyuni  
NIM 161610101065**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda tercinta Waluyo dan Ibunda tercinta Rahayu, yang selalu memberikan segalanya untuk saya;
2. Kedua adik saya Ahmad Wahyu Ridwan dan Muhammad Wahyu Firdaus yang selalu menyayangi dan mendukung saya;
3. Seluruh keluarga saya yang selalu mendoakan kebaikan untuk saya;
4. Bapak-Ibu guru sejak taman kanak-kanak sampai SMA yang telah membimbing dan mendidik saya;
5. Dosen-dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah membimbing dan mendidik saya;
6. Teman-teman dekat saya yang selalu ada;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan" (Q.S Al Insyirah: 5-6)\*

“Sesungguhnya Allah berkata, Aku sesuai dengan prasangka hamba-Ku terhadap Aku dan bersamanya ketika ia berdoa kepada-Ku” (HR. Muslim)\*\*



---

\*) Q.S Al Insyirah Ayat 5-6

\*\*\*) H.R Muslim

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Shobrina Wahyuni

NIM : 161610101065

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti” adalah benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya plagiat. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

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

Jember, 26 Maret 2020

Yang menyatakan

Shobrina Wahyuni  
NIM 161610101065

**SKRIPSI**

**EFEK APLIKASI GEL NATRIUM FLUORIDA (NaF)  
TERHADAP EKSPRESI MMP-8 SEL OSTEOLAS  
PADA PERGERAKAN GIGI ORTODONTI**

Oleh

Shobrina Wahyuni  
NIM 161610101065

**Pembimbing**

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

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 13 Februari 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes  
NIP. 198103212005012003

drg. Leliana Sandra Deviade P, Sp.Ort  
NIP. 197208242001122001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed  
NIP. 197207151998021001

Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes  
NIP. 196510131994032001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. R Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros  
NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti;** Shobrina Wahyuni; 161610101065; 2020; 81 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Perawatan ortodonti merupakan salah satu perawatan yang paling utama untuk mengoreksi maloklusi pada gigi. Perawatan ortodonti dengan tekanan pada mahkota akan diteruskan ke akar, ligamen periodontal, dan tulang alveolar sehingga membentuk sisi tekanan dan sisi tarikan. Resorpsi tulang pada sisi tekanan akan menyebabkan pergerakan gigi, sedangkan pada sisi tarikan mengalami aposisi tulang supaya gigi tetap melekat. Adanya pergerakan ortodonti akan menyebabkan respons lokal tulang yang terjadi secara kompleks. Pada proses pergerakan gigi ortodonti yang terjadi, MMP-8 diekspresikan pada sel yang melapisi sementum dan osteosid pada tulang alveolar. Pada sisi tarikan MMP-8 mengalami peningkatan sementara pada sel ligamen periodontal dan sel-sel yang melapisi permukaan tulang alveolar. Sementara, pada sisi tekanan MMP-8 terekspresi pada sekitar jaringan yang mengalami hialinisasi dan pada fibroblas. Pada saat pergerakan gigi ortodonti berlangsung, terjadi suatu proses pembentukan kepadatan tulang. Namun, proses pematatan tulang yang terjadi seringkali tidak optimal sehingga akan menyebabkan resorpsi yang berlebihan. Masalah tersebut dapat dicegah dengan pemberian bahan Natrium Fluorida (NaF). Fluorida dapat diketahui berperan dalam proses pembentukan tulang agar proses terjadinya pergerakan gigi ortodonti dapat berjalan dengan lebih seimbang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Menggunakan 16 sampel tikus Wistar jantan, umur 3-4 bulan dengan berat badan 200-250 gram. Hewan coba tersebut dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Kelompok A (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti selama 7 hari. Kelompok B (4 ekor) merupakan kelompok



yang diberi kekuatan mekanik ortodonti selama 14 hari. Kelompok C (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) selama 7 hari. Kelompok D (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) selama 14 hari. Pemasangan kekuatan mekanik ortodonti diberi gaya mekanik ortodonti sebesar  $10\text{gr}/\text{mm}^2$ . Dengan dosis pemberian NaF 11,34 ppm setiap pemberian sebesar 0,2 – 0,3 mL yang diberikan setiap pagi dan sore. Hasil pengamatan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa untuk jumlah rata-rata ekspresi MMP-8 dengan pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) (Kelompok C dan D) lebih rendah daripada kelompok tanpa pemberian gel Natrium Fluorida (Kelompok A dan B). Jumlah ekspresi MMP-8 paling tinggi diperoleh oleh kelompok B dan paling rendah oleh kelompok C. Data hasil rata-rata jumlah ekspresi MMP-8 kemudian dianalisis pada uji normalitas dan uji homogenitas dan didapatkan hasil bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya dilakukan analisis statistik uji parametrik *One Way Anova* untuk menunjukkan perbedaan dari ekspresi MMP-8 tiap kelompok sampel. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti. Pada pergerakan gigi ortodonti diberi gaya mekanik ortodonti sebesar  $10\text{gr}/\text{mm}^2$  terjadi peningkatan jumlah sel osteoblas yang ditunjukkan dengan penurunan ekspresi MMP-8 pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol. Selain itu, pada kelompok hari ke-7 dibanding hari ke-14 kontrol dan hari ke-7 dibanding hari ke-14 kelompok perlakuan akan semakin meningkat sel osteoblas yang ditunjukkan dengan menurunnya ekspresi MMP-8. Meskipun peningkatan sel osteoblas yang ditunjukkan dengan penurunan ekspresi MMP-8 tidak berbeda secara signifikan.

## PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT karena berkat rahmat dan pertolongan-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan serta bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT karena atas rahmat dan pertolongan-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW, yang menjadi pedoman bagi umat islam. Tanpanya, kita bukanlah apa-apa;
3. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG, selaku Dosen Wali yang telah membimbing dan senantiasa memberi motivasi kepada saya sejauh ini;
5. drg.Rudy Joelijanto, M.Biomed, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah melibatkan saya dalam penelitiannya, serta memberikan bimbingan, saran dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. Dr. drg, Rina Sutjiati, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah melibatkan saya dalam penelitiannya, serta memberikan bimbingan, saran, motivasi, serta meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. Drg. Swasthi Prasetyarini, M.Kes, selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan kritik serta saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
8. drg. Leliana Sandra Deviade Putri, Sp.Ort, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
9. Ibu Rahayu dan Bapak Waluyo saya tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, doa, dukungan, motivasi, serta segalanya untuk saya;

10. Kedua adik saya Ahmad Wahyu Ridwan dan Muhammad Wahyu Firdaus yang selalu menjadi semangat dan motivasi;
11. Teman perantauan yang selalu ada untuk terus memberi semangat dan nasehat bijaksananya Hasna' Fakhriyah Jinan, Faridah Risnawati, Saraswita Gabrillah Saetikho, Fairuz Subiantoro;
12. Seluruh angkatan FKG 2016 DEXTRA, terima kasih kekompakannya serta semangat yang diberikan selama ini, saya bangga bisa menjadi bagian dari kalian;
13. Sahabat-sahabat saya Maryam, Nanda, Ninit, dan Keluarga K2 yang selalu memberi motivasi dan nasehat bijaksananya;
14. Semua pihak yang ikut terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam pembuatan skripsi ini yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih banyak.

Jember, 26 Maret 2020

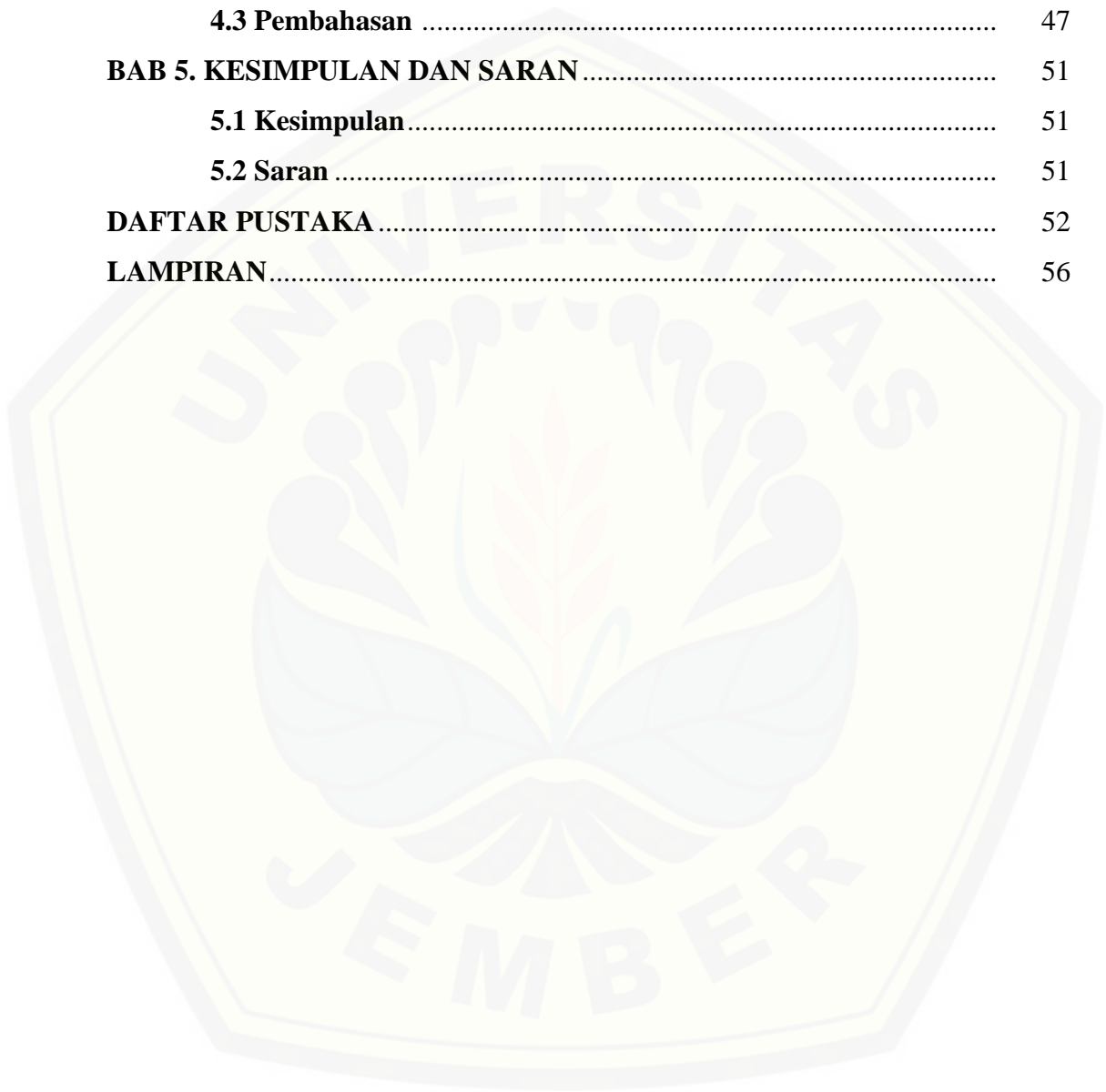
Penulis

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....                 | ii      |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....           | iii     |
| <b>HALAMAN MOTO</b> .....                  | iv      |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....            | v       |
| <b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....          | vi      |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....            | vii     |
| <b>RINGKASAN</b> .....                     | viii    |
| <b>PRAKATA</b> .....                       | x       |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                    | xii     |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....                 | xvi     |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....               | xvii    |
| <b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....              | xviii   |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....            | 1       |
| <b>1.1 Latar Belakang</b> .....            | 1       |
| <b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....           | 4       |
| <b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....         | 4       |
| <b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....        | 4       |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....       | 5       |
| <b>2.1 Jaringan Periodontal</b> .....      | 5       |
| 2.1.1 Tulang Alveolar .....                | 5       |
| 2.1.2 Sementum .....                       | 5       |
| 2.1.3 Ligamen Periodontal (PDL).....       | 6       |
| 2.1.4 Gingiva.....                         | 6       |
| <b>2.2 Tulang</b> .....                    | 6       |
| 2.2.1 Definisi Tulang .....                | 6       |
| 2.2.2 Sel Tulang .....                     | 7       |
| <b>2.3 Pergerakan Gigi Ortodonti</b> ..... | 9       |

|  |    |
|--|----|
| <b>2.4 Remodeling Tulang</b> .....                   | 11 |
| <b>2.5 Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8)</b> ..... | 13 |
| 2.5.1 Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) .....      | 16 |
| <b>2.6 Flour</b> .....                               | 16 |
| <b>2.7 Imunohistokimia</b> .....                     | 18 |
| 2.7.1 Imunohistokimia .....                          | 18 |
| 2.7.1 ImmunoRatio Software (IRS) .....               | 22 |
| <b>2.8 Kerangka Konsep</b> .....                     | 23 |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....                | 26 |
| <b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....                    | 26 |
| <b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....                | 26 |
| <b>3.3 Sampel Penelitian</b> .....                   | 26 |
| 3.3.1 Subjek penelitian.....                         | 26 |
| 3.3.2 Kriteria sampel.....                           | 26 |
| 3.3.3 Besar sampel penelitian .....                  | 26 |
| <b>3.4 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....         | 27 |
| 3.4.1 Tempat penelitian .....                        | 27 |
| 3.4.2 Waktu penelitian .....                         | 28 |
| <b>3.5 Variabel Penelitian</b> .....                 | 28 |
| 3.5.1 Variabel bebas.....                            | 28 |
| 3.5.2 Variabel terikat .....                         | 28 |
| 3.5.2 Variabel terkontrol.....                       | 28 |
| <b>3.6 Definisi Operasional</b> .....                | 28 |
| 3.6.1 Natrium Fluorida.....                          | 28 |
| 3.6.2 Pergerakan gigi ortodonti.....                 | 29 |
| 3.6.3 Ekspresi MMP-8 .....                           | 29 |
| <b>3.7 Dosis</b> .....                               | 29 |
| 3.7.1 Dosis Natrium Fluorida .....                   | 29 |
| 3.7.2 Dosis Bahan Anastetikum.....                   | 30 |
| <b>3.8 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....           | 31 |
| 3.8.1 Alat penelitian.....                           | 31 |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.7.2 Dosis Bahan Anastetikum.....      | 30        |
| <b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b> | <b>43</b> |
| <b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>        | <b>43</b> |
| <b>4.2 Analisis Data .....</b>          | <b>45</b> |
| <b>4.3 Pembahasan .....</b>             | <b>47</b> |
| <b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b> | <b>51</b> |
| <b>5.1 Kesimpulan.....</b>              | <b>51</b> |
| <b>5.2 Saran .....</b>                  | <b>51</b> |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>             | <b>52</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                    | <b>56</b> |



DAFTAR GAMBAR

|  | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Jaringan periodontal .....   | 5       |
| 2.2 Skema proses remodeling tulang.....  | 12      |
| 2.3 Remodeling tulang pada sisi tarikan .....  | 12      |
| 2.4 Remodeling tulang pada sisi tekanan .....  | 13      |
| 2.5 Proses ikatan pada metode <i>direct</i> imunohistokimia.....   | 19      |
| 2.6 Proses ikatan pada metode <i>direct</i> imunohistokimia.....   | 20      |
| 2.7 Proses ikatan metode PAP.....  | 21      |
| 2.8 Proses ikatan metode ABC.....  | 21      |
| 2.9 Kerangka konsep .....  | 23      |
| 3.1 Pemasangan <i>closed coil spring</i> .....   | 35      |
| 3.2 Pemasangan alat ortodonti pada gigi tikus Wistar jantan .....  | 36      |
| 3.3 Ilustrasi pemotongan jaringan dengan arah labial-palatal.....  | 39      |
| 3.4 Alur penelitian.....   | 42      |
| 4.1 Sel osteoblas dengan pewarnaan imunohistokimia pada perbesaran 400x gigi insisivus tikus Wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti .....              | 44      |
| 4.2 Diagram rata-rata presentase ekspresi matriks Metalloproteinase .-8 (MMP-8) gigi insisivus tikus Wistar Jantan pada pergerakan gigi ortodonti (%). ..... | 45      |

DAFTAR LAMPIRAN

|  | Halaman |
|--|---------|
| A Surat Perijinan Penelitian.....  | 56      |
| B Rerata hasil ekspresi matriks metalloproteinase-8 (MMP-8) pada kelompok kontrol dan perlakuan (%)..... | 61      |
| C Uji analisis data.....   | 62      |
| D Gambar hasil <i>Immuno Ratio Score</i> (IRS) .....   | 66      |
| E Gambar hasil Imunohistokima (IHC) .....  | 70      |
| F Alat dan bahan .....   | 74      |
| G Foto kegiatan.....   | 81      |



**DAFTAR SINGKATAN**

|               |   |
|---------------|---|
| ABC           | : <i>Avidin Biotin Complex</i>  |
| BMP           | : <i>Bone Morfogenic Protein</i>  |
| DAB           | : <i>Diaminobenzidine Tetrahydrochloride</i>                                  |
| DNA           | : <i>Deoxy-Ribonucleic Acid</i>   |
| ECM           | : <i>Extracellular Matrix</i>   |
| EGF           | : <i>Epidermal Growth Factor</i>  |
| FGF           | : <i>Fibroblast Growth Factor</i>   |
| HE            | : <i>Hematoxyllin Eosin</i>   |
| HRP           | : <i>Horeseradish Peroxidase</i>  |
| IHC           | : <i>Imunohistokimia</i>  |
| IL            | : <i>Interleukin</i>  |
| IRS           | : <i>ImunoRatio Software</i>  |
| LSAB          | : <i>Labeled Strept Avidin Biotin</i>   |
| MMP           | : <i>Matrix Metalloproteinase</i>   |
| NaF           | : <i>Natrium Fluorida</i>   |
| OPG           | : <i>Osteoprotegerin</i>  |
| OTM           | : <i>Orthodontic Tooth Movement</i>   |
| PAP           | : <i>Peroxidase Anti Peroxidase</i>   |
| PBS           | : <i>Phosphate Buffer Saline</i>  |
| RANK          | : <i>Receptor Activated of Nuclear Factor Kappa-<math>\beta</math></i>        |
| RANKL         | : <i>Receptor Activated of Nuclear Factor Kappa-<math>\beta</math> Ligand</i> |
| RNA           | : <i>Ribonucleic Acid</i>   |
| TGF- $\beta$  | : <i>Transforming Growth Factor-<math>\beta</math></i>                        |
| TIMP          | : <i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinase</i>                                |
| TNF- $\alpha$ | : <i>Tumor Necrosis Factor</i>  |
| VEGF          | : <i>Vascular Endhotelial Growth Factor</i>                                   |

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Maloklusi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut dengan prevalensi di Indonesia mencapai angka 80% dengan urutan ketiga teratas setelah karies dan penyakit periodontal (Oley dkk, 2015). Menurut World Health Organization (WHO) maloklusi adalah suatu keadaan cacat atau gangguan fungsional yang menjadi hambatan bagi kesehatan fisik maupun emosional dari pasien yang memerlukan perawatan. Kelainan maloklusi dapat menyebabkan diskriminasi sosial karena masalah estetik wajah atau dentofasial, masalah dengan fungsi oral, seperti adanya masalah dalam pergerakan rahang (inkoordinasi otot atau rasa nyeri), Temporomandibular Joint Dysfunction (TMD), masalah mastikasi, penelanan, dan berbicara, serta terjadi resiko lebih tinggi terhadap trauma, penyakit periodontal, dan karies (Proffit, 2007). Perawatan yang berkaitan dengan memperbaiki atau mengoreksi maloklusi pada gigi, merupakan salah satu perawatan ortodonti yang paling utama dibutuhkan untuk perawatan maloklusi gigi (Hikmah, 2016).

Perawatan ortodonti pada dasarnya adalah upaya menggerakkan gigi atau mengoreksi malrelasi dan malformasi struktur dentokraniofasial untuk koreksi terhadap struktur dentofasial pada anak-anak dan dewasa. Tujuannya adalah untuk memperoleh oklusi yang optimal dan harmonis, baik letak maupun fungsinya serta untuk menciptakan keseimbangan antara hubungan oklusal gigi geligi, estetik wajah, dan stabilitas hasil perawatan (Nor, 2016). Pada saat melakukan perawatan tersebut terjadi suatu pergerakan gigi untuk dapat mengembalikan posisi gigi yang tidak sesuai ke posisi yang baik sesuai dengan oklusinya (Nor, 2016).

Gigi yang diberi kekuatan ortodonti akan bergerak melalui terjadinya proses remodeling tulang alveolar dan jaringan periodontal terhadap adanya gaya mekanis sebagai respon yang diberikan. Pemasangan alat ortodonti pada gigi yang akan digerakkan, akan menyebabkan adanya sisi tekanan dan sisi tarikan dalam ligamen periodontal. Proses aktif dan dinamis pada keseimbangan resorpsi tulang

oleh osteoklas dan deposisi tulang oleh osteoblas merupakan proses dari remodeling tulang yang terjadi (Hikmah, 2016). Adanya pergerakan ortodonti akan menyebabkan respons lokal tulang yang terjadi secara kompleks.

Matriks Metalloproteinase (MMP) merupakan suatu enzim proteolitik yang dijumpai pada manusia sekurang-kurangnya 23 macam. Berdasarkan gambaran strukturnya MMP dibagi menjadi kolagenase, gelatinase, stomelisin, matrilisin, dan matriks metalloproteinase jenis membran. Kolagenase terdiri dari kolagenase 1 (MMP-1), kolagenase 2 (MMP-8), kolagenase 3 (MMP-13) (Susilowati, 2010). Pergerakan ortodonti akibat pergerakan gigi terjadi secara bertahap. Pertama, gerakan yang terbatas pada soketnya disebabkan adanya tekanan pada matriks. Kedua, adanya tekanan pada sel akan menyebabkan terjadinya deformitas sel-sel. Pada tahap ini, MMP-8 akan mendegradasi kolagen dari matriks ekstraseluler. Ketiga, terjadi aktivasi dan diferensiasi sel fibroblas dan osteoblas pada ligamen periodontal dan osteosit pada tulang dengan memproduksi sitokin, NO, prostaglandin, TNF alfa, dan proses yang terakhir adalah remodeling (Susilowati, 2010).

Pada proses pergerakan gigi ortodonti yang terjadi, MMP-8 diekspresikan pada sel yang melapisi sementum dan osteosid pada tulang alveolar. Pada sisi tarikan MMP-8 mengalami peningkatan sementara pada sel ligamen periodontal dan sel-sel yang melapisi permukaan tulang alveolar pada hari ke-4 dan osteosit dalam tulang alveolar diekspresikan MMP-8 pada hari ke-4 dan ke-7. Kemudian ekspresi MMP-8 akan kembali normal pada hari ke-14. Sementara, pada sisi tekanan MMP-8 terekspresi pada sekitar jaringan yang mengalami hialinisasi dan pada fibroblas pada hari ke-2 hingga ke-7. Ekspresi MMP-8 akan kembali normal pada hari ke-14 (Schöder, 2018).

Terekspresinya MMP-8 pada saat proses pergerakan gigi ortodonti akan memudahkan sel-sel bermigrasi ke tempat yang dikehendaki, misalnya osteoblas pada sisi aposisi dan osteoklas pada sisi resorpsi tulang alveolar. Sehingga akan memungkinkan terjadinya pergerakan gigi akibat perawatan ortodonti (Schöder, 2018).

Pada saat pergerakan gigi ortodonti berlangsung, terjadi suatu proses pembentukan kepadatan tulang. Namun, proses pematatan tulang yang terjadi seringkali tidak optimal sehingga akan menyebabkan resorpsi yang berlebih. Pematatan tulang akan dipicu oleh proses osteogenesis (Indriana, 2016). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa proses remodeling tulang, terutama proses aposisi tulang atau pembentukan tulang telah banyak dilakukan, antara lain oleh Collins (1988) dengan mengkonsumsi vitamin D. Penelitian lain yang dilakukan oleh Rahardjo, dkk (2014) dengan pemberian gel teripang emas dan pemberian ikan teri oleh Indriana (2016) dapat meningkatkan proses aposisi. Selain itu, juga dilakukan penelitian dengan pemberian Natrium Fluorida (NaF) sebanyak 11,7 ppm secara topical dapat meningkatkan proses aposisi dengan meningkatkan proliferasi sel osteoblas (Sutjiati, 2016).

Fluor merupakan salah satu mineral yang dibutuhkan di dalam tubuh. Pada proses tumbuh kembang, fluor akan berperan dalam pembentukan struktur tulang dan gigi (Kusmiyati, 2012). Di bidang kedokteran gigi pemberian fluor merupakan salah satu upaya untuk mencegah adanya karies (Putri dkk, 2011). Dalam Ratna (1997) menyebutkan bahwa, telah dilakukan banyak penelitian mengenai pemberian fluorida pada daerah tulang yang mengalami kerusakan, akan merangsang pembentukan tulang dengan meningkatkan osteoblas (Herlina, 2000).

Suatu penelitian telah dilakukan untuk mengamati efek pemberian Natrium Fluorida (NaF) pada daerah tarikan dari gigi yang dilakukan perawatan ortodonti didapatkan suatu hasil bahwa terjadi peningkatan osteoblas pada daerah tersebut (Sutjiati, 2016). Hal serupa juga terjadi pada sisi tekanan yang diamati, bahwa dengan pemberian Natrium Fluorida (NaF) dapat menurunkan osteoklas yang terbentuk (Ningtryas, 2018). Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Arie (2018) diketahui bahwa dengan pemberian Natrium Fluorida (NaF) 11,75 ppm pada daerah pergerakan gigi ortodonti akan terjadi penurunan sel osteoklas yang dapat dilihat dari menurunnya ekspresi Matriks Metalloproteinase-13 (MMP-13) pada sisi tekanan (Ningtyas, 2018).

Berdasarkan uraian diatas, Fluorida dapat diketahui berperan dalam proses pembentukan tulang agar proses terjadinya pergerakan gigi ortodonti dapat berjalan dengan lebih seimbang. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti efek aplikasi pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) sel osteoblas pada pergerakan gigi ortodonti pada tulang alveolar gigi tikus Wistar jantan.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut didapatkan rumusan masalah bagaimanakah efek aplikasi pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) sel osteoblas pada pergerakan gigi ortodonti pada tulang alveolar gigi tikus Wistar jantan.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

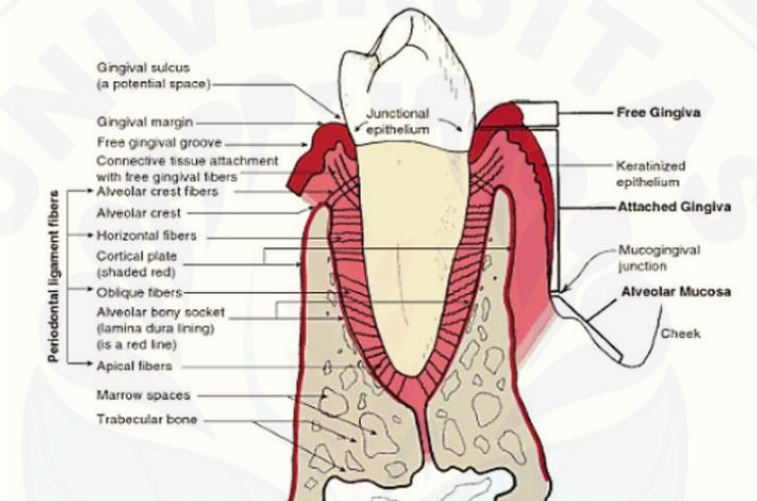
Manfaat penelitian ini diharapkan sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti.
2. Sebagai acuan tambahan mengenai manfaat Natrium Fluorida (NaF) berhubungan dengan keberhasilan perawatan ortodonti.
3. Sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jaringan Periodontal

Periodonsium merupakan jaringan pendukung gigi termasuk tulang alveolar, semesntum, ligamen periodontal, dan gingiva (Scheid, 2011). Fungsi secara umum dari jaringan periodontal adalah sebagai kesatuan yang menjaga gigi tetap pada posisinya, dalam berbagai macam respon yang dialami oleh gigi (Saputri, 2018).



Gambar 2.1 Jaringan periodontal (Scheid, 2011).

#### 2.1.1 Tulang Alveolar

Tulang rahang atas kiri dan kanan bersama-sama tulang rahang bawah mempunyai puncak tulang yang disebut prsesus alveolaris yang mengelilingi akar gigi sehat pada lengkung tersebut. Akar tiap gigi yang erupsi terpendam di dalam alveolus (jamak alveoli) atau soket gigi yang bentuknya sesuai dengan bentuk akar gigi yang dikelilinginya. Setiap alveolus diliputi oleh lapisan tulang kompak yang tipis seperti terlihat pada radiograf, disebut lamina dura (Scheid, 2011).

#### 2.1.2 Sementum

Sementum adalah lapisan luar berwarna kuning suram yang menutupi akar gigi. Sementum sangat tipis terutama pada garis servikal, dengan ketebalan 50-100  $\mu\text{m}$ . Terdiri atas 65% kalsium hidroksiapatit (termineralisasi dan

terkalsifikasi), 35% bahan organik (serabut kolagen), dan 12% air. Sementum memiliki kekerasan seperti tulang, tetapi jauh lebih lunak dari email. Berkembang dari sakus dental (mesoderm) dan dihasilkan oleh sel-sel yang disebut sementoblas (Scheid, 2011).

### 2.1.3 Ligamen Periodontal (PDL)

Ligamen periodontal merupakan ligamen yang sangat tipis terdiri atas banyak serabut yang menghubungkan permukaan luar akar gigi (yang dilapisi sementum) dengan lapisan tipis tulang padat (lamina dura) membatasi setiap alveolus atau soket gigi. Komponen utama dari ligamen periodontal adalah serabut kolagen, yang melekatkan sementum akar gigi ke soket tulang alveolar. Serabut ini dari pucuk tulang alveolar ke apeks gigi, meliputi serabut alveolar, serabut horizontal, serabut miring (oblique), dan serabut apikal (Scheid, 2011). Ligamen periodontal berperan penting dalam menyalurkan beban oklusal yang berlebihan serta menyuplai nutrisi ke sementum, tulang dan gingiva melalui pembuluh darah (Saputri, 2018).

### 2.1.4 Gingiva

Gingiva merupakan bagian dari (mukosa mulut) yang dilapisi epitelium berkeratin. Gingiva adalah satu-satunya bagian periodontal yang terlihat pada pemeriksaan rongga mulut. Sebagian melekat erat pada tulang alveolar di bawahnya dan disebut gingiva cekat. Sebagian lainnya adalah gingiva bebas (marginal gingiva) yang merupakan suatu lengkung leher gingiva yang tipis yang mengelilingi gigi, dengan adanya ruangan potensial diantara gingiva bebas dan gigi yang disebut sulkus gingiva. Marginal gingiva (tepi gingiva bebas) adalah tepi gingiva yang paling dekat dengan permukaan pengunyahan gigi-gigi (Scheid, 2011).

## 2.2 Tulang

### 2.2.1 Definisi Tulang

Tulang merupakan suatu bentukan khusus dari jaringan ikat yang tersusun dari sel, serat, dan matriks ekstraselular. Secara umum, tulang mengalami kalsifikasi yang disebabkan karena adanya pengendapan mineral dalam matriks.

Hal ini mengakibatkan tulang menjadi keras sehingga dapat menahan beban yang lebih besar. Fungsi utama tulang adalah sebagai kerangka tubuh yang kaku dan dapat memberikan perlekatan bagi otot dan organ. Selain itu, tulang juga berfungsi untuk melindungi organ dalam tubuh, seperti otak, jantung, paru, organ urinarium, dan organ reproduksi (Eroschenko, 2008).

### 2.2.2 Sel Tulang

#### a. Sel-sel pada Tulang

##### 1) Sel Osteoprogenitor

Sel osteoprogenitor merupakan sel induk pluripoten berasal dari jaringan ikat mesenkim. Sel-sel ini terletak pada lapisan dalam jaringan ikat periosteum dan di lapisan endosteum melapisi rongga sumsum, osteon (sistem Harvers) dan kanalis perforans tulang. Periosteum dan endosteum berfungsi untuk memberikan nutrisi tulang bagi osteoblas baru untuk pertumbuhan, remodeling, dan perbaikan tulang. Pada tahapan pembentukan tulang, sel osteoprogenitor akan berproliferasi dengan mitosis dan berdiferensiasi menjadi osteoblas yang akan menyekresi serat kolagen dan matriks tulang (Eroschenko, 2008).

##### 2) Sel Osteoblas

Sel osteoblas terletak pada permukaan tulang. Osteoblas berfungsi untuk menyintesis, menyekresi, dan mengendapkan komponen organik matriks tulang baru yang disebut osteoid. Osteoid adalah suatu matriks tulang yang tidak mengalami kalsifikasi dan tidak mengandung mineral (Eroschenko, 2008).

##### 3) Sel Osteosit

Sel osteosit merupakan sel utama tulang yang merupakan bentukan *mature* dari osteoblas. Osteosit terletak di dalam lakuna dan berdekatan dengan pembuluh darah. Osteosit terperangkap dalam matriks tulang yang diproduksi oleh osteoblas, sehingga terdapat saluran khusus atau kanal halus (kanalikuli) yang akan melindungi osteosit agar tetap hidup. Melalui kanalikuli tersebut



osteosit akan mempertahankan homeostasis matriks tulang sekitar, kadar kalsium dan fosfat dalam darah. Matriks tulang akan teresorpsi oleh osteoklas apabila osteosit mengalami kematian (Eroschenko, 2008).

#### 4) Sel Osteoklas

Sel osteoklas terdapat di sepanjang permukaan tulang yang mengalami resorpsi, remodeling, dan perbaikan tulang. Osteoklas bukan merupakan turunan dari sel osteoprogenitor. Osteoklas berasal dari penyatuan sel progenitor hemopoietik atau darah yang termasuk turunan sel makrofag mononuklearis-monosit di sumsum tulang. Selama proses remodeling, osteoklas memiliki fungsi utama untuk melakukan resorpsi tulang (Eroschenko, 2008).

#### b. Matriks Tulang

Matriks tulang terdiri dari sel hidup dan material ekstraseluler. Dibandingkan dengan tulang rawan matriks tulang jauh lebih keras, karena mengalami kalsifikasi atau mineralisasi. Matriks tulang sangat vaskular, karena nutrisi dan metabolit tidak mudah berdifusi melalui matriks terkalsifikasi. Matriks tulang mengandung komponen organik yang memungkinkan tulang untuk menahan tarikan dan komponen anorganik yang memungkinkan tulang menahan tekanan (Eroschenko, 2008).

Komponen organik utama pada tulang adalah kolagen tipe I yang mengandung protein serta komponen lainnya yaitu glikosaminoglikan sulfat dan asam hialuronat yang membentuk agregat proteoglikan besar. Selama mineralisasi tulang, glikoprotein, osteokalsin, dan osteopontin berikatan erat dengan kristal kalsium. Protein matriks lainnya yaitu sialoprotein akan mengikat osteoblas pada matriks ekstraselular melalui integrin protein membran plasma (Eroschenko, 2008).

Komponen anorganik terdiri dari mineral kalsium dan fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit. Ikatan antara hidroksiapatit dengan serat kolagen kasar akan membentuk tulang yang keras, tahan-lama, dan kuat (Eroschenko, 2008).

### 2.3 Pergerakan Gigi Ortodonti

Perawatan ortodonti merupakan salah satu perawatan yang paling utama untuk mengoreksi maloklusi pada gigi (Hikmah, 2016). Tujuan dilakukannya perawatan ortodonti adalah untuk memperoleh oklusi yang optimal dan harmonis, baik letak maupun fungsinya serta untuk menciptakan keseimbangan antara hubungan oklusal gigi geligi, estetik wajah, dan stabilitas hasil perawatan (Nor, 2016). Perawatan ortodonti dengan tekanan pada mahkota akan diteruskan ke akar, ligamen periodontal, dan tulang alveolar sehingga membentuk sisi tekanan dan sisi tarikan. Resorpsi tulang pada sisi tekanan akan menyebabkan pergerakan gigi, sedangkan pada sisi tarikan mengalami aposisi tulang supaya gigi tetap melekat (Utari, 2007).

Terdapat tiga fase dalam pergerakan gigi ortodonti menurut Burstone (1962), yaitu fase inisial, fase *lag*, fase *postlag*. Pada fase inisial ditandai dengan pergerakan yang sangat cepat setelah pemasangan alat ortodonti. Ditandai dengan terjadinya pergerakan gigi pada ligamen periodontal dan tulang alveolar. Fase ini diikuti dengan fase *lag*, yaitu ketika tidak ada atau rendahnya tingkat pergerakan gigi yang terjadi. Perlambatan ini diakibatkan karena hialinisasi ligamen periodontal pada sisi tekanan. Pergerakan gigi akan terhenti sampai sel yang mengalami nekrosis dihilangkan. Selama fase *postlag*, terjadi peningkatan pergerakan gigi secara bertahap (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

Penelitian oleh Hixon dkk (1969, 1970) menyatakan terdapat dua fase pergerakan gigi ortodonti, yaitu pergerakan awal mekanik dan respon metabolik yang tertunda. Sedangkan Van Leeuwen dkk., (1999) dan von Böhl dkk., (2004) menyatakan pergerakan gigi ortodonti terjadi dalam empat fase. Fase pertama menunjukkan fase inisial pergerakan gigi di dalam soket tulang selama 24 jam hingga dua hari. Diikuti fase *lag*, di mana terjadi penghentian gerakan gigi sekitar dua puluh hingga tiga puluh hari. Setelah jaringan nekrotik bersih, terjadi fase ketiga dan keempat. Para peneliti menilai bahwa pola tersebut sesuai dengan tiga fase yang dijelaskan oleh Burstone (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

Setelah terpasangnya alat ortodonti, reaksi seluler dan jaringan dimulai pada fase inisial. Adanya tekanan dan tarikan yang terjadi pada ligamen periodontal

akan memulai perekrutan progenitor osteoklas dan osteoblas, serta ekstrasvasi dan pemanggilan mediator kimia sel-sel inflamasi (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

Pada fase *lag*, sisi tekanan terjadi gangguan aliran darah, kerusakan seluler, serta adanya sinyal sel yang memicu terjadinya apoptosis atau nekrosis yang menyebabkan meluasnya daerah yang mengalami hialinisasi. Mekanisme tersebut menyebabkan terhambatnya pergerakan gigi yang berlangsung selama dua puluh hingga tiga puluh hari. Pergerakan gigi akan terjadi kembali setelah jaringan nekrotik dihilangkan oleh sel fagosit, seperti makrofag, *giant cell*, dan osteoklas yang berasal dari ligamen periodontal yang terdekat. Kemudian pada sisi tarikan terbentuk osteoblas progenitor baru yang berasal dari sel-sel seperti fibroblas (*pericytes*) disekitar kapiler ligamen periodontal. Preosteoblas akan berproliferasi dan bermigrasi ke permukaan tulang alveolar, di sepanjang serat Sharpey yang membentang. Bersamaan dengan itu, fibroblas ligamen periodontal di sisi tarikan mulai berlipat ganda dan memperbarui matriks disekitarnya membentuk matriks tulang baru (*osteoid*) (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

Fase *postlag* pergerakan gigi ortodonti, dikenal sebagai fase akselerasi dan linier, dimulai sekitar empat puluh hari setelah aplikasi kekuatan mekanik orotodonti. Sisi tekanan ligamen periodontal ditemukan adanya serat kolagen yang tidak tepat serat dan letaknya. Selain itu, tampak permukaan tulang yang tidak teratur akibat terjadinya resorpsi. Suatu penelitian melaporkan bahwa daerah hialinisasi terbentuk pada sisi tekanan, terutama dengan kekuatan mekanik yang besar. Hal ini menunjukkan bahwa pembersihan jaringan nekrotik akan terus terjadi selama proses pergerakan gigi. Sedangkan pada sisi tarikan ligamen periodontal terjadi deposisi tulang baru yang dibuktikan oleh alkalin fosfatase positif sel osteoblas (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

Laporan oleh von Böhl *dkk.*, (2004) telah menunjukkan bahwa gigi yang mengalami kekuatan besar menunjukkan hialinisasi lebih sering daripada gigi yang mengalami kekuatan ringan. Dengan demikian, pengembangan zona hialinisasi memiliki hubungan yang pasti dengan besarnya gaya, tetapi tidak

memiliki hubungan dengan laju pergerakan gigi (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

#### 2.4 Remodeling Tulang

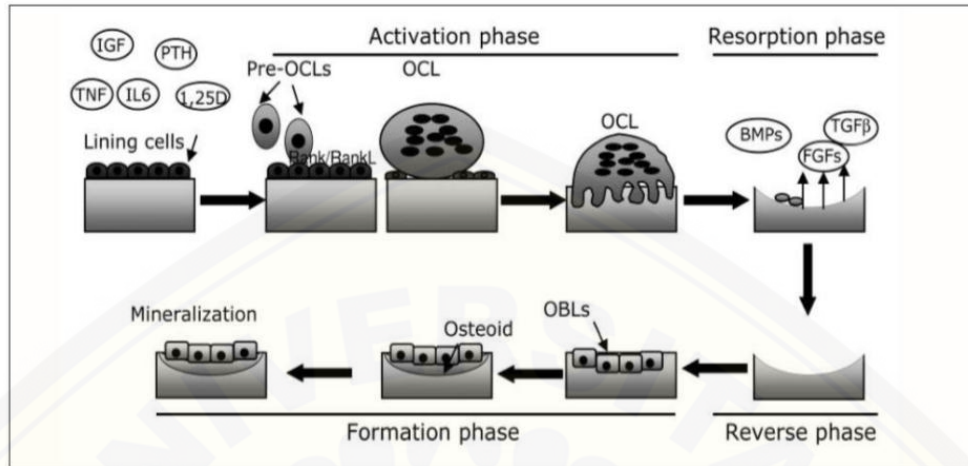
Pada proses pergerakan gigi ortodonti terbentuk daerah tarikan dan tekanan. Aksioma dasar perawatan ortodonti adalah “*bone traces tooth movement*”, yang berarti pergerakan gigi ortodonti yang baik adalah pergerakan gigi yang diikuti remodeling tulang dengan derajat yang sama besar (Utari, 2007).

Proses remodeling tulang memiliki 4 tahapan. Fase pertama merupakan fase aktivasi, pada fase ini akan terjadi pelepasan faktor pada tulang seperti *Tumor Necrosis Faktor- $\alpha$*  (TNF-  $\alpha$ ) yang akan mengaktifkan *lining cells* yang merupakan sel osteoblas keadaan non-aktif. Pada akhirnya, sel tersebut akan meningkatkan ekspresi permukaan sel itu sendiri dari *receptor activated nuclear kappa- $\beta$  ligand* (RANKL) yang akan berinteraksi dengan *receptor activated nuclear kappa- $\beta$*  (RANK) yang akan diekspresikan oleh pra-osteoklas. Interaksi keduanya akan memicu fusi dan diferensiasi pra-osteoklas menuju osteoklas berinti banyak.

Fase kedua merupakan fase resorpsi, dimana sel osteoklas yang tediferensiasi akan terpolarisasi lalu melekat pada permukaan tulang dan akan melarutkannya. Untuk melarutkan komponen anorganik melalui tahap pengasaman matriks tulang dan untuk melarutkan atau degradasi komponen organik pada tulang melalui pelepasan enzim lisosomal, seperti katepsin-K, dan MMP. Setelah melaksanakan fungsinya, sel osteoklas akan mengalami apoptosis, untuk menghindari proses resorpsi berlebihan.

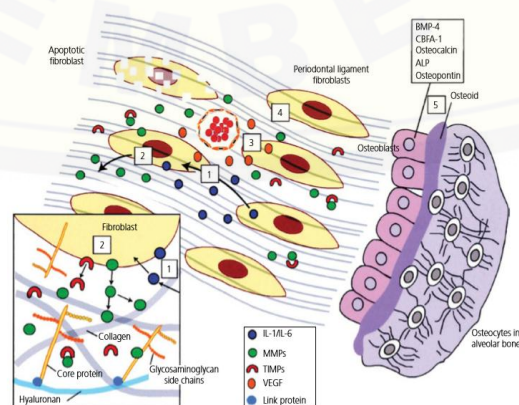
Fase ketiga merupakan fase *reverse*, yang diketahui sel-sel menyerupai makrofag akan menghilangkan partikel sisa yang dihasilkan selama proses degradasi matriks. Fase keempat merupakan fase formasi, dalam fase ini akan terjadi pelepasan beberapa faktor pertumbuhan termasuk, *bone morfogenetic protein* (BMP), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF-  $\beta$ ), yang akan bertanggung jawab merekrut sel osteoblas pada daerah yang diserap kembali. Selanjutnya, sel osteoblas akan menghasilkan matriks tulang

yang baru, kemudian akan terjadi proses mineralisasi, sehingga proses remodeling tulang dapat selesai (Rucci, 2008)



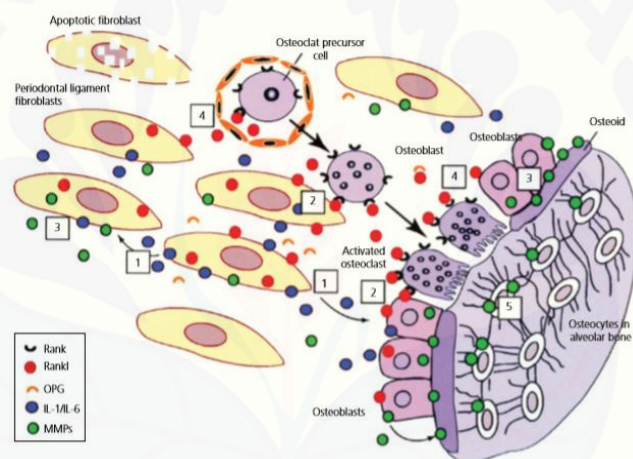
Gambar 2.2 Skema proses remodeling tulang (Rucci, 2008)

Pada sisi tarikan, fibroblas dalam ligamen periodontal akan menyintesis sitokin seperti IL-1 dan IL-6 yang akanmenstimulasi matriks metalloproteinase (MMP) dan menghambat sintesis inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP) oleh sel-sel ligamen periodontal melalui mekanisme autokrin dan parakrin. Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) yang diproduksi oleh fibroblas yang teraktivasi secara mekanis mendorong angiogenesis. Degradasi oleh MMP akan memicu terjadinya proliferasi sel dan pertumbuhan kapiler. Sel-sel ligamen periodontal, osteoblas, dan sel-sel pelapis tulang akan memasuki fase biosintesis dengan sintesis molekul-molekul dan matriks lainnya (Krishnan dan Davidovitch, 2015).



Gambar 2.3 Remodeling tulang pada sisi tarikan (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

Pada sisi tekanan, sel pada ligamen periodontal yang mengalami tekanan akan menyintesis IL-1 dan IL-6 yang akan bertindak secara autokrin dan parakrin untuk mengatur RANKL dan ekspresi MMP oleh sel ligamen periodontal dan osteoblas. MMP yang berasal dari osteoblas akan merusak lapisan permukaan non-mineral osteoid, sedangkan MMP yang diproduksi oleh sel ligamen periodontal akan merusak matriks ekstraseluler. RANKL dapat merangsang pembentukan dan fungsi dari osteoklas prekursor mononuklear sel yang akan masuk permukaan tulang dan merusak matriks mineral. Perubahan bentuk tulang alveolar akan meregulasi ekspresi MMP oleh osteosit yang ada di sekitar permukaan tulang (Krishnan dan Davidovitch, 2015).



Gambar 2.4 Remodeling tulang pada sisi tekanan (Krishnan dan Davidovitch, 2015).

## 2.5 Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8)

Matriks Metalloproteinase (MMP) merupakan suatu protein yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan akan bekerja bersama inhibitor metalloproteinase (TIMP). MMP memiliki 25 jenis yang diklasifikasikan menjadi lima sesuai dengan fungsi dan strukturnya, yaitu (1) kolagenase, (2) gelatinase, (3) stomelysins, (4) matriks tipe membran metalloproteinase (MT-MMP), dan (5) MMP lainnya (Vanesa dkk, 2016).

Matriks Metalloproteinase merupakan suatu kelompok enzim yang bertanggung jawab pada pemecahan komponen dari matriks ekstraseluler, pada proses fisiologis dan patologis pada jaringan hidup. Berdasarkan klasifikasi yang

telah ada, MMP memiliki fungsi yang berbeda tiap klasifikasinya. Kolagenase, terdiri dari MMP-1, MMP-8, MMP-13, dan MMP-18 dapat mendegradasi kolagen tipe I, II dan III, menghasilkan kolagen atau gelatin terdenaturasi. MMP-1 disintesis oleh makrofag, fibroblas, dan sel dendritik. MMP-8 disintesis oleh neutrofil. MMP-13 disekresikan oleh fibroblas (Vanesa dkk, 2016).

Gelatinase A (MMP-2) dan B (MMP-9) adalah dua jenis MMP yang termasuk dalam kalsifikasi gelatinase. Berfungsi untuk mendegradasi kolagen tipe IV dari *basement membrane*. MMP-2 juga mencerna kolagen I, II dan III pada kondisi jaringan normal yang diekspresikan oleh sel stroma pada sebagian besar jaringan (makrofag, sel mast, fibroblas, dendritik, endotel, dan sel hemapoietik). MMP-9 disekresikan oleh dendritik dan sel hemapoietik, neutrofil, makrofag, sel mast, fibroblast, dan limfosit. Namun, MMP-9 tidak ditemukan dalam jaringan normal (Vanesa dkk, 2016).

Stromelysin terdiri dari MMP-3, MMP-10, dan MMP-11 yang berfungsi mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan *basement membrane*. MMP-3 disekresi limfosit, endotel, dendritik, dan fibroblas. MMP-3 secara tidak langsung akan mengontrol sel yang bermigrasi. MMP-11 berhubungan dengan proses adipogenesis. Matrilysin terdiri dari MMP-7 dan MMP-26 secara struktural adalah yang paling sederhana karena kekurangan domain hemopexin, yang berperan dalam mengikat substrat khusus MMP dan inhibitor endogen, bekerja pada permukaan sel molekul dan secara khusus diekspresikan oleh sel-sel tumor yang berasal dari epitel. MMP-7 terlibat dalam angiogenesis, invasi sel dan proses inflamasi yang disekresikan oleh sel osteoklas, makrofag, dan sel endotel (Vanesa dkk, 2016).

Matriks tipe membran metalloproteinase (MT-MMP) adalah bagian dari *basement membrane* dan berperan dalam aktivitas proteolitik dari MMP lain. Terbagi menjadi protein transmembran, melalui daerah hidrofobik yang terdiri dari MMP-14, MMP-15, MMP-16, dan MMP-24. Protein dengan glikofosfatidylinositol (GPI) yang terdiri dari MMP-17 dan MMP-25. Pada kelompok MMP lainnya terdiri dari MMP-12, MMP-20, MMP-22, MMP-23, dan MMP-28 (Vanesa dkk, 2016).

Matriks Metalloproteinase (MMP) memiliki peranan penting dalam metabolisme jaringan ikat dan tulang. Pergerakan gigi ortodonti (OTM) diinduksi oleh gaya yang terjadi pada ligamen periodontal dan remodeling tulang alveolar. Pergerakan yang diberikan pada gigi akan menyebabkan respons inflamasi pada jaringan periodontal, dan terjadi perubahan biokimia sedemikian rupa sehingga terjadi remodeling pada ligamen periodontal dan sekitarnya. Mediator inflamasi akan dilepaskan untuk memicu proses biologis yang berkaitan dengan resorpsi dan aposisi tulang alveolar. Dari sekian mediator inflamasi yang terlibat, salah satunya yaitu matriks metalloproteinase (MMP) yang memiliki peranan dalam degradasi matriks ekstra seluler (ECM) (Canavaro dkk, 2012).

Degradasi oleh MMP akan memicu terjadinya proliferasi sel dan pertumbuhan kapiler. Sel-sel ligamen periodontal, osteoblas, dan sel-sel pelapis tulang akan memasuki fase biosintesis dengan sintesis molekul-molekul dan matriks lainnya (Krishnan dan Davidovitch, 2015). MMP akan disekresikan sebagai proenzim tidak aktif yang dapat diaktifkan oleh pemrosesan proteolitik dalam ECM. MMP dan inhibitor spesifiknya, inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP) akan bekerja bersamaan untuk mengatur terjadinya remodeling ligamen periodontal (Canavaro dkk, 2012).

Inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP) akan berperan sebagai penyeimbang dari aktivitas matriks metalloproteinase (MMP) untuk mencegah terjadinya kondisi patologis yang dapat terjadi pada periodontal, fibrosis, dan lain sebagainya. Inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP) terbagi menjadi empat yaitu TIMP-1, -2, -3, dan -4. Terdiri dari dimer (senyawa yang terdiri dari dua molekul) domain N-terminal dan yang lebih kecil domain C-terminal yang keduanya distabilkan oleh tiga ikatan disulfida. Kemudian, domain terminal yang tidak terikat akan mengikat MMP pada ikatan seng yang aktif untuk menghambat MMP (Gardner, 2003).

Inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP-1) adalah glikoprotein yang larut dari 184 asam amino. Dapat diinduksi dan diatur oleh faktor-faktor seperti ester phorbol, interleukin (IL)-1 $\beta$ , *growth factor* (TGF)- $\beta$ 1, retinoid, faktor pertumbuhan epitel (EGF), IL-6, oncostatin, dan faktor penghambat leukimia.



TIMP-2 yang terdiri dari 194 asam amino, larut, protein non-glikosilasi. TIMP-3 tidak mengandung glikosilasi dan tidak larut, terikat erat dengan matriks ekstraselular (ECM) dan telah terbukti dapat meningkatkan perubahan detasemen pada sel. TIMP-3 adalah inhibitor MMP tipe membran yang efektif. TIMP-4, merupakan TIMP yang ditemukan paling terbaru yang didapatkan dari hasil kloning cDNA jantung manusia, apabila ekspresi dari TIMP-4 berlebih dapat menyebabkan apoptosis (Gardner, 2003).

#### 2.5.1 Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8)

Pada proses pergerakan gigi ortodonti yang terjadi, MMP-8 diekspresikan pada sel yang melapisi sementum dan osteosid pada tulang alveolar. Pada sisi tarikan MMP-8 mengalami peningkatan sementara pada sel ligamen periodontal dan sel-sel yang melapisi permukaan tulang alveolar pada hari ke-4. Osteosit dalam tulang alveolar diekspresikan MMP-8 pada hari ke-4 dan ke-7 pada sisi tarikan. Ekspresi MMP-8 akan kembali normal pada hari ke-14. Sementara, pada sisi tekanan MMP-8 terekspresi pada sekitar jaringan yang mengalami hialinisasi dan pada fibroblas pada hari ke-2 hingga ke-7. Ekspresi MMP-8 akan kembali normal pada hari ke-14 (Schöder, 2018).

Terekspresinya MMP-8 pada saat proses pergerakan gigi ortodonti akan memudahkan sel-sel bermigrasi ke tempat yang dikehendaki, misalnya osteoblas pada sisi aposisi dan osteoklas pada sisi resorpsi tulang alveolar. Sehingga akan memungkinkan terjadinya pergerakan gigi akibat perawatan ortodonti (Schöder, 2018).

## 2.6 Fluor

Fluor merupakan salah satu unsur yang dapat ditemui di dalam kerak bumi, bebatuan, dan air. Fluor dalam kehidupan banyak digunakan dalam bidang industri. Pada tubuh manusia fluor dapat diperoleh dari makanan (makanan dan air) dan terdapat juga dalam produk gigi yang mengandung fluorida. Pada abad ke-20, fluoridasi air digunakan untuk mencegah karies gigi. Bersamaan dengan penurunan angka karies gigi terjadi peningkatan prevalensi fluorosis gigi sebagai efek samping dari paparan fluor (Everett, 2011).

Natrium fluorida banyak tersedia dari makanan yang diserap oleh organ pencernaan. Fluor akan didistribusikan ke seluruh bagian tubuh, dengan 50% fluor yang terserap dieksresikan oleh ginjal. Sisa akumulasi fluor akan didistribusikan ke dalam tulang dan gigi, serta sedikit pada jaringan lunak. Lebih dari 95% tubuh mengandung fluor pada tulang dengan kadar bergantung pada jumlah konsumsi fluor, lama paparan, bioavailabilitas, spesies, umur, dan pola makan. Jika konsumsi fluor menurun, kadar fluor pada tulang akan menurun secara perlahan selama periode waktu yang lama. Konsumsi fluor secara berlebihan akan menyebabkan kelainan pada tulang dan gigi disebut fluorosis (Thomson, 2018)

Ada beberapa tingkatan mediasi untuk fluor dapat mempengaruhi tulang. Fluor dapat secara langsung berinteraksi dengan matriks mineral tulang secara fisiokimia. Fluoridasi *in vitro* tulang dengan dosis tertentu dari fluor akan menyebabkan hidroksiapatit menjadi fluoroapatit, perubahan kristal, dan penurunan kekuatan sifat mekanik. Fluoroapatit akan lebih stabil dan tahan asam daripada hidroksiapatit. Fluor juga dapat memperlambat terjadinya mineralisasi dan mampu mengubah struktur kristal tulang. Fluor pada dosis  $10^{-5}M$  dan  $10^{-7}M$  dapat mempengaruhi matriks metalloproteinase (MMP), mempengaruhi komposisi remodeling matriks yang kemudian terjadi mineralisasi sel tulang (Everett, 2011).

Fluor dapat bekerja pada osteoblas dan osteoklas secara *in vivo* dan *in vitro*. Peningkatan massa tulang dapat terjadi dengan adanya agen anabolik Natrium Fluorida (NaF). Struktur dan kekuatan massa tulang yang baru tidaklah normal. Pada tulang trabekular, fluor menghasilkan peningkatan volume tulang dan ketebalan trabekular tanpa peningkatan konektivitas trabekular sehingga kualitas tulang akan berkurang. Pada pengamatan yang dilakukan, diketahui bahwa konsentrasi lokal yang diberikan secara rendah pada pengguna implan, terjadi peningkatan diferensiasi osteoblas dan pembentukan permukaan tulang dengan ditandai ekspresi osteogenik pada bagian implan. Ketika dosis pemberian fluor rendah (0,5% berat) akan meningkatkan pembentukan tulang baru, sedangkan apabila dosis pemberian fluorida lebih tinggi (2,23% berat) akan menghambat pembentukan tulang baru. Paparan fluor sistemik yang tinggi dapat menyebabkan

fluorosis skeletal yaitu suatu kondisi yang ditandai osteosklerosis, kalsifikasi ligamen, dan sering menyertai osteoporosis, osteomalasia, atau osteopenia (Everett, 2011).

Fluorida dapat menghambat fungsi dari osteoklas dengan konsentrasi 0,5-1mM atau mendekati 15mg/L (sekitar 0,8mM) konsentrasi ketika dilakukan pemeriksaan in vitro. NaF dengan kisaran 0,15 mg / L hingga 30 mg / L (sekitar 0,004 mM hingga 0,7 mM) akan menimbulkan efek bifasik dari fluorida. Di 15-30 mg / L, aktivitas resorpsi osteoklas terhambat. Namun, pada 1 mg / L (sekitar 0,050 mM), fungsi osteoklas meningkat (Everett, 2011).

## 2.7 Imunohistokimia

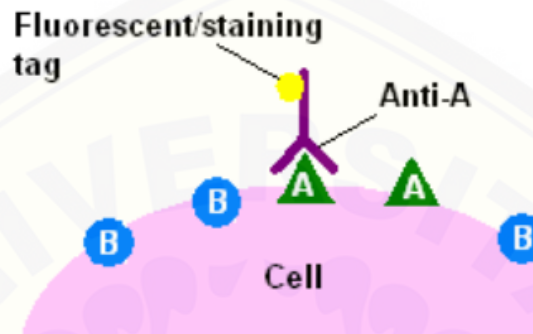
Teknik pewarnaan jaringan dan sel saat ini telah berkembang pesat. Pewarnaan tidak lagi hanya menggunakan teknik pewarnaan HE (*hematoxyllin-Eosin*), *cresyl violet*, dan lain-lain, tetapi telah banyak pewarnaan yang menggunakan dasar ikatan antigen dan antibodi. teknik pewarnaan menggunakan antigen dan antibodi pada tingkat protein, DNA (*deoxy-ribonucleic acid*) maupun RNA (*ribonucleic acid*) (Kalanjati, 2014).

### 2.7.1 Imunohistokimia

Teknik imunohistokimia (IHC) adalah suatu metode yang bertujuan untuk mengidentifikasi sel-sel spesifik berdasarkan komponen antigenik atau produk selulernya dengan reaksi kompleks antigen-antibodi (Rahayu dan Elza, 2004). Imunohistokimia berperan dalam diagnostik dengan pengamatan biologi molekuler (Sudiono, 2008). Terdapat dua metode dasar identifikasi antigen dalam jaringan dengan imunohistokimia, yaitu *direct* dan *indirect* (Adi, 2013).

Prinsip dari metode imunohistokimia *direct* adalah menggunakan antibodi primer yang sudah berlabel yang akan berikatan berikatan langsung dengan antigen target secara . Metode ini merupakan metode pengecatan satu langkah karena hanya melibatkan satu jenis antibodi, yakni antibodi yang terlabel, contohnya antiserum terkonjugasi fluorescein isothiocyanate (FITC) atau rodhamin (Adi, 2013).

Pada metode *direct*, antibodi spesifik yang mengenali antigen jaringan akan dimodifikasi dengan mengkonjugasikan molekul indikator pada antibodi tersebut. molekul indikator tersebut dapat berupa molekul yang berpendar seperti biotin atau enzim peroksidase, sehingga apabila diberikan substrat akan memberikan warna pada jaringan tersebut (Adi, 2013).

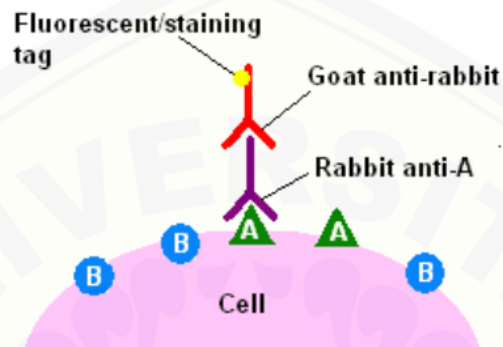


Gambar 2.5 Proses ikatan pada metode direct imunohistokimia (Adi, 2013)

Prinsip metode imunohistokimia *indirect* menggunakan antibodi primer yang tidak ada labelnya, namun digunakan juga antibodi sekunder yang sudah memiliki label dan akan bereaksi dengan IgG dari antibodi primer. Metode tidak langsung (*indirect method*) menggunakan dua macam antibodi, yaitu antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer bertugas mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan (*first layer*), sedangkan antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer (*second layer*). Antibodi kedua merupakan anti-antibodi primer. Pelabelan antibodi sekunder diikuti dengan penambahan substrat berupa kromogen. Kromogen merupakan suatu gugus fungsi senyawa kimiawi yang dapat membentuk senyawa berwarna bila bereaksi dengan senyawa tertentu (Adi, 2013).

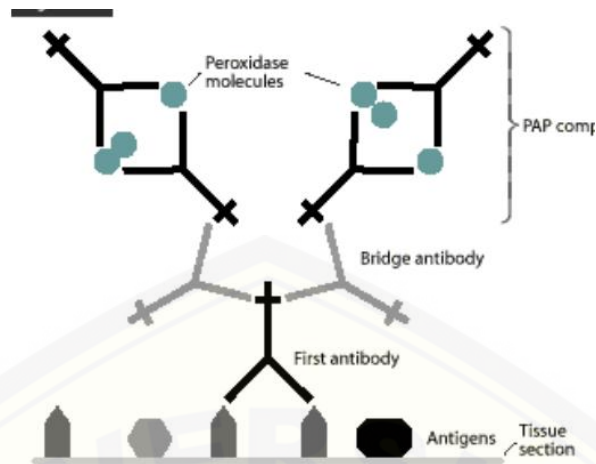
Penggunaan kromogen fluorescent dye seperti FITC, rodhamin, dan Texas-red disebut metode immunofluorescence, sedangkan penggunaan kromogen enzim seperti peroksidase, alkali fosfatase, atau glukosa oksidase disebut metode immunoenzyme. Pada metode ini antibodi spesifik yang mengenali antigen jaringan disebut sebagai antibodi primer dan tidak dilakukan modifikasi pada antibodi ini. Namun diperlukan antibodi lain yang dapat berikatan dengan

antibodi primer yang disebut dengan antibodi sekunder. Antibodi sekunder ini dimodifikasi sehingga memiliki molekul indikator pada antibodi tersebut. Setiap 1 antibodi primer dapat dikenali oleh lebih dari 1 antibodi sekunder, oleh karena itu, setelah diberikan substrat akan terbentuk warna yang lebih jelas pada jaringan tersebut (Adi, 2013).



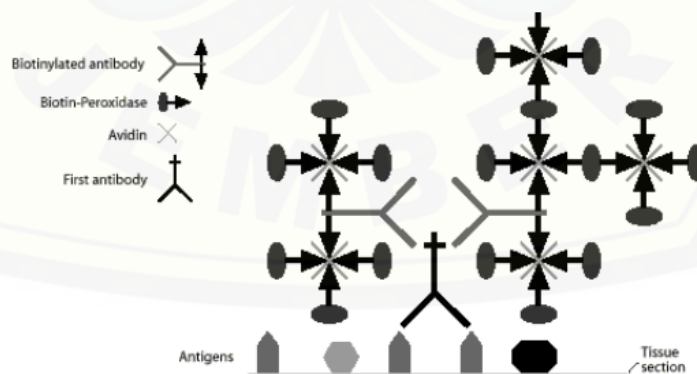
Gambar 2.6 Proses ikatan pada metode direct imunohistokimia (Adi, 2013)

Saat ini dikembangkan ada beberapa metode *indirect* imunohistokimia yakni metode peroxidase anti-peroxidase PAP, metode Avidin-Biotin Complex (ABC) dan Labeled Strept Avidin Biotin (LSAB). Metode PAP Metode PAP adalah analisis imunohistokimia menggunakan tiga molekul peroksidase dan dua antibodi yang membentuk seperti roti sandwich. Teknik ini memanfaatkan afinitas antibodi terhadap antigen (enzim) untuk membentuk kompleks imun stabil sebagai perlawanan terhadap proses kimia terkonjugasi. Fitur unik dari prosedur ini adalah larutan enzim antibodi dan kompleks imun PAP. Enzim Horseradish Peroksidase, protein imunogenik, digunakan untuk menyuntik spesies tertentu dan merespon imun poliklonal yang dihasilkan terhadap enzim. Antiserum ini dipanen dan ditempatkan dalam larutan pada enzim sehingga membentuk kompleks imun yang larut (Adi, 2013).



Gambar 2.7 Proses ikatan metode PAP (Adi, 2013)

Metode Avidin-Biotin-Complex (ABC) adalah salah satu modifikasi dari metode indirecr, yang mana metode ini memanfaatkan afinitas terhadap molekul avidin- biotin oleh tiga enzim peroksidase. Situs pengikatan beberapa biotin dalam molekul avidin tetravalen bertujuan untuk amplifikasi dan merespon sinyal yang disampaikan oleh antigen target. Metode ini terdiri atas tiga lapis. Komponen utama dalam reaksi ini adalah avidin molekul glikoprotein yang mempunyai afinitas yang sangat tinggi terhadap biotin dan dapat dilabel dengan peroxidase atau fluorescein . Biotin adalah vitamin dengan berat molekul rendah dapat dikonjugasikan dengan berbagai molekul lain seperti antibodi (Adi, 2013).



Gambar 2.8 Proses ikatan metode ABC (Adi, 2013)

Metode Labeled Strept Avidin Biotin (LSAB) Metode ini merupakan penyempurnaan dari metode ABC, lapis pertama adalah:unlabeled primary

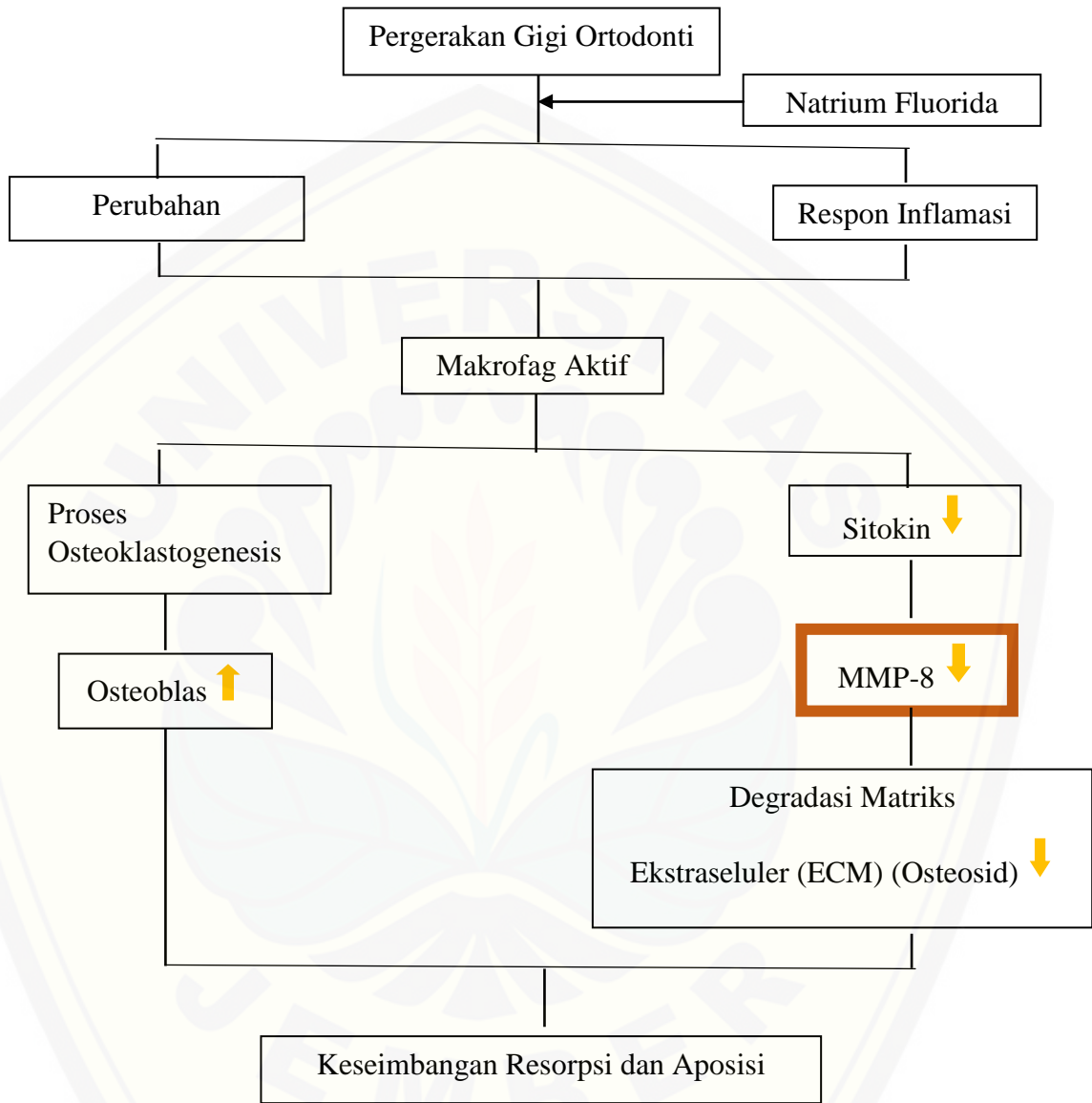
antibody, lapis kedua adalah biotinylated antibody. Dan lapis ketiga adalah HRP-Streptavidin atau AP-Streptavidin. Metode ini to replace the complex of avidin-biotin peroxidase 5 -10 kali lebih sensitive dibandingkan metode ABC (Adi, 2013).

#### 2.7.2 ImmunoRatio Software (IRS)

ImmunoRatio Software (IRS) merupakan suatu software perkembangan pertama dari imageJ yang dapat digunakan untuk analisa pada pewarnaan Imunohistokimia (IHC). Melalui analisis IRS dapat diketahui ekspresi marker tertentu berdasarkan warna coklat yang terlihat saat dilakukan identifikasi preparat Imunohistokimia (Ferreira dan Rasband, 2012).

ImmunoRatio Software dapat diakses secara bebas melalui webb aplikasi. Melalui internet maupun melakukan download software. Dengan pengaksesan internet menggunakan seluruh web browser dan seluruh sistem operasi yang telah ada (Tuominen dkk, 2010).

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.9 Kerangka konsep

Keterangan:

Panah Kuning : Hasil diberi Natrium Fluorida

Kotak Merah : Parameter yang diperiksa



### **Penjelasan Kerangka Konsep**

Proses pergerakan gigi ortodonti yang diberikan pada gigi akan menyebabkan terjadinya suatu respon inflamasi dan perubahan vaskuler yang mengaktivasi sel Makrofag. Beberapa mediator tersebut akan mengaktivasi remodeling tulang alveolar pada daerah tarikan dan tekanan.

Mediator inflamasi yang terlibat dalam proses remodeling tulang akan menyintesis sitokin seperti IL-1 dan IL-6 yang akan menstimulasi matriks metalloproteinase-8 (MMP-8). MMP-8 tersebut akan mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) sel osteosit sehingga memicu terjadinya proliferasi sel dan pertumbuhan kapiler.

Telah dilakukan banyak penelitian mengenai pemberian fluorida pada daerah tulang yang mengalami kerusakan, akan merangsang pembentukan tulang dengan meningkatkan osteoblas (Herlina, 2000). Pemberian Natrium Fluorida (NaF) akan memicu penurunan sintesis sitokin sehingga matriks metalloproteinase-8 (MMP-8) juga akan mengalami penurunan ekspresi. Hal ini, akan menyebabkan degradasi matriks ekstraseluler (ECM) juga akan mengalami suatu penurunan.

Pemberian Natrium Fluorida juga akan mempengaruhi proses osteoklastogenesis yang mengakibatkan osteoblas dapat mengalami peningkatan. Dengan adanya penurunan degradasi matriks ekstraseluler dan adanya peningkatan pada osteoblas akan menyeimbangkan daerah yang mengalami resorpsi dan aposisi.

### **2.9 Hipotesis**

Efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) akan menyebabkan penurunan terhadap ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) pada pergerakan gigi ortodonti pada tulang alveolar gigi tikus Wistar jantan. Dengan adanya penurunan MMP-8 maka sel yang mengalami degradasi matriks ekstraseluler (ECM) akan mengalami penurunan. Selain itu dengan penambahan NaF akan menyebabkan sel osteoblas akan mengalami peningkatan, dengan berkurangnya degradasi ECM dan

meningkatnya sel osteoblas maka daerah aposisi dan resorpsi pada pergerakan gigi ortodonti akan lebih seimbang.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Merupakan salah satu metode dalam penelitian kuantitatif, dengan tujuan meneliti hubungan sebab akibat. Penelitian jenis ini membandingkan satu atau lebih variabel pada kelompok eksperimental yang mengalami manipulasi dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi. Manipulasi berarti mengubah sifat-sifat variabel bebas secara sistematis (Payadnya dan Jayantika, 2018).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan ialah *post test only control group design* yang melibatkan dua kelompok kelas, yaitu kelompok eksperimental dan kelompok kontrol. Setelah diberi perlakuan pada kelompok eksperimental dilakukan tes, begitu juga pada kelompok kontrol akan dilakukan tes tanpa dilakukan perlakuan. Dengan adanya tes pada kedua kelompok, akan diketahui efek perlakuan yang diberikan (Ismail, 2018).

### 3.3 Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Subjek Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*).

#### 3.3.2 Kriteria Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kriteria :

- a. Kondisi fisik sehat dan tidak mengalami kelainan
- b. Jenis kelamin jantan, untuk menghindari hormon seks wanita (estrogen) mempengaruhi sel osteoklas dan sel osteoblas
- c. Umur 3-4 bulan dengan berat badan 200-210 gram, diharapkan mempunyai proses remodeling yang adekuat dan untuk menghindari

pengaruh hormon pertumbuhan Kondisi fisik sehat dan tidak memiliki kelainan.

### 3.3.3 Besar sampel penelitian

Besar sampel ditentukan berdasarkan jumlah ulangan yang dianggap telah cukup baik dengan rumus (Daniel, 2013)

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

**Keterangan :**

- n = Besar sampel tiap kelompok
- Z = Nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $Z = 1,96$
- $\sigma$  = Standart deviasi sampel
- d = Kesalahan yang masih dapat ditoleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat diterima ( $\sigma$ ) sama besar dengan (d) maka :

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

$$n \geq (1,96)^2$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan jumlah sampel masing-masing kelompok adalah sebesar 4 ekor. Dengan perhitungan tersebut ditentukan secara acak 1 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan waktu pengamatan pada hari ke-7 dan hari ke-14. Sehingga besar sampel yang diperlukan sebanyak 16 ekor, yang terbagi dalam 4 kelompok.

## 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

### 3.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di :

- a) Perlakuan hewan coba di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- b) Pembuatan gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember

c) Pembuatan preparat histologi di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

d) Pembacaan preparat di Laboratorium Biologi Molekul dan Bioteknologi CDAST Universitas Jember

#### 3.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019 sampai Januari 2020.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah gel Natrium Fluorida (NaF) secara topikal.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel Terikat pada penelitian ini adalah MMP-8.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel Terkendali dalam penelitian ini antara lain :

- a. Pemilihan hewan coba meliputi jenis kelamin hewan coba, umur hewan coba, berat badan hewan coba, jenis hewan coba
- b. Pemeliharaan hewan coba meliputi pemberian makan dan minum, jenis makan dan minum, serta pembersihan kandang
- c. Bahan dan dosis anastesi
- d. Lokasi gigi dan arah pergerakan gigi
- e. Cara pemberian dan dosis bahan perlakuan
- f. Waktu evaluasi
- g. Metode pemeriksaan

### 3.6 Definisi Operasional

#### 3.6.1 Natrium Fluorida

Natrium Fluorida (NaF) berupa bubuk yang dibuat menjadi bentuk gel dengan dosis 11,34 ppm, diaplikasikan secara topikal menggunakan syringe modifikasi pada daerah sulkus gingiva gigi insisif rahang atas tikus Wistar jantan (Sutjiati, 2016).

### 3.6.2 Pergerakan gigi ortodonti

Secara ortodonti gigi akan bergerak melalui terjadinya proses remodeling tulang alveolar dan jaringan periodontal terhadap adanya gaya mekanis sebagai respon yang diberikan (Hikmah, 2016). Pada penelitian yang dilakukan, diberikan suatu gaya mekanis yang berasal dari besar kekuatan tekanan yang diberikan pada gigi insisif sentral untuk menggerakkan gigi insisif ke arah palatal menggunakan *ni-ti closed coil spring* dengan kekuatan sebesar 10 gram/mm<sup>2</sup> yang diukur dengan menggunakan *tension gauge* (Sutjiati, 2016).

### 3.6.3 Ekspresi MMP-8

Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) adalah salah satu jenis dari berbagai MMP yang ada. MMP-8 merupakan salah satu MMP yang termasuk dalam klasifikasi kolagenase yang berfungsi mendegradasi kolagen tipe I, II, dan III. MMP-8 diekspresikan pada sel yang melapisi sementum dan osteosid pada tulang alveolar. Terekspresinya MMP-8 pada saat proses pergerakan gigi ortodonti akan memudahkan sel-sel bermigrasi ke tempat yang dikehendaki, misalnya osteoblas pada sisi aposisi dan osteoklas pada sisi resorpsi tulang alveolar. Sehingga akan memungkinkan terjadinya pergerakan gigi akibat perawatan ortodonti (Schöder, 2018). Dalam penelitian yang dilakukan, ekspresi MMP-8 sel osteoblas dilihat dengan pemeriksaan imunohistokimia. Ekspresi MMP-8 berupa jumlah sel osteoblas yang ditandai dengan adanya warna coklat pada sitoplasma sel osteoblas.

## 3.7 Dosis

### 3.7.1 Dosis Natrium Fluorida

Bahan yang digunakan yaitu Natrium Florida bentuk gel dengan dosis 11,34 ppm yang merupakan sediaan fluorida yang aman untuk tikus wistar dengan berat sekitar 200-250 gram (Dewan Pangan dan Gizi *Institute of Medicine*). Pengaplikasian Natrium Fluorida (NaF) pada tikus wistar dilakukan 2 kali sehari, pada pagi dan sore hari.

Dosis yang digunakan sebagai berikut :

Dosis optimal fluor 2,16 mg/kg/hari

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

Rumus : (Dosis optimal x Berat badan x hari)

$$\begin{aligned}
 &= (2,16 \text{ mg/kg/hari} \times 0,25 \text{ kg} \times 7 \text{ hari}) + (2,16 \text{ mg/kg/hari} \times 0,25 \text{ kg} \\
 &\quad \times 14 \text{ hari}) \\
 &= 3,78 \text{ mg} + 7,56 \text{ mg} \\
 &= 11,34 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Jadi, dosis fluor dalam mg adalah 11,34 mg dan jika dilarutkan dalam 1 liter aquadest menjadi 11,34 ppm (mg/L).

Volume yang diberikan

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

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Dosis optimal} \times \text{Berat badan}}{\text{Konsentrasi optimal}}$$

$$= \frac{2,16 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg}}{2 \text{ mg/mL}}$$

$$= 0,216 \text{ mL}$$

$$= \frac{2,16 \text{ mg} \times 0,25 \text{ kg}}{2 \text{ mg/mL}}$$

$$= 0,27 \text{ mL}$$

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

### 3.7.2 Dosis Bahan Anestetikum

Bahan anestesi yang digunakan berupa campuran ketamin dan xylazine. Ketamin 10% (dosis 50 mg/kg, Pantex Holland) dan Xylazine 2% (dosis 5 mg/kg, Pantex Holland) secara intramuskuler (Hartiningsih dkk, 2015).

a) Dosis ketamin yang digunakan :

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 10\% Ketamin} &= \frac{10 \text{ gr}}{100 \text{ mL}} \\
 &= \frac{10.000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \\
 &= 100 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

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

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Dosis} \times \text{Berat badan hewan}}{\text{Konsentrasi}}$$

$$= \frac{50 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 0,1 \text{ mL}$$

$$= \frac{50 \text{ mg} \times 0,25 \text{ kg}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 0,125 \text{ mL}$$

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

b) Dosis Xylazine yang digunakan :

$$\text{Konsentrasi 2 \% Xylazine} = \frac{2 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

$$= \frac{2.000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 20 \text{ mg/mL}$$

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

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Dosis} \times \text{Berat badan hewan}}{\text{Konsentrasi}}$$

$$= \frac{5 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg}}{20 \text{ mg/mL}}$$

$$= 0,05 \text{ mL}$$

$$= \frac{5 \text{ mg} \times 0,25 \text{ kg}}{20 \text{ mg/mL}}$$

$$= 0,0625 \text{ mL}$$

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

### 3.8 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.8.1 Alat Penelitian

- 1) Kandang peliharaan hewan coba
- 2) Tempat makan dan tempat minum hewan coba
- 3) Timbangan berat badan hewan coba (Exhaust)
- 4) Timbangan analitik (Sartorius)
- 5) Mortar dan alu
- 6) Kotak kaca



- 7) Gunting
- 8) Tabung reaksi
- 9) Ni-ti closed coil spring
- 10) Stainless steel ligature wire
- 11) Tension gauge
- 12) Disposable syringe 1 ml
- 13) Excavator, sonde setengah lingkaran, scalpel, arteri clamp, pinset
- 14) Pot jaringan
- 15) Mikromotor contra angle low speed
- 16) Minidrill
- 17) Diamond round bur
- 18) Kuas, kertas saring, label identitas
- 19) Tissue cassette
- 20) Autoprocessing
- 21) Block mould
- 22) Pisau mikrotom (Microtome Holder)
- 23) Slide warmer
- 24) Deck glass
- 25) Object glass
- 26) Wadah baskom
- 27) Staining jar
- 28) Mikroskop cahaya
- 29) Kamera mikroskop optilab
- 30) Knable tang
- 31) Sarung tangan dan masker
- 32) Mikropipet
- 33) Kamera mikroskop optilab

### 3.8.2 Bahan Penelitian

- 1) Pakan standar hewan coba (Turbo, Indonesia) dan air minum
- 2) Bubuk Natrium Fluorida (Emsure, EMD Milipore Corp., Germany)
- 3) Carbopol 1%, TEA 3%, dan propilen glikol 3%

- 4) Semen Glass Ionomer Tipe IX (Fuji IX)
- 5) Larutan buffer neutral formalin 10% (Makmur Jaya, Indonesia)
- 6) Asam Formiat 10% (Merck)
- 7) Bahan Anestetikum Ketamin (KTM-100) dan Xylazine (Interchemie)
- 8) Bahan embedding
- 9) Paraffin (Leica)
- 10) meyer egg albumin
- 11) Alkohol 100%, 95%, 80%, 75%, 70% dan Alkohol absolut (Novapharin, Indonesia)
- 12) Xylol (Bratachem)
- 13) Akuades steril (Waterone)
- 14) Blocking serum (kit)
- 15) Diaminobenzidine tetrahydrochloride (ScyTek)
- 16) Mayer's Hematoxylin
- 17) Buffer fosfat
- 18) Etanol absolut
- 19) Entellan (Merck)
- 20) Bluing reagent (ScyTek)
- 21) Phosphate buffer saline (PBS) (pH 7,6)
- 22) Peroxidase blocking solution (ScyTek)
- 23) Prediluted blocking serum
- 24) Horseradish peroxidase (HRP)
- 25) Antibodi primer MMP-8
- 26) Antibodi sekunder biotin (ScyTek)
- 27) Cotton palate

### **3.9 Prosedur Penelitian**

#### **3.9.1 Perijinan Ethical Cleareance**

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

### 3.9.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dilakukan proses adaptasi dengan aklimatisasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan. Hewan coba diletakkan dalam kandang dengan satu hewan dalam setiap kandangnya dengan diberi pakan standar hewan coba (Turbo, Indonesia) dan air minum yang diganti sehari 2x setiap pagi dan sore. Makanan untuk hewan coba diberikan dengan cara dilunakkan dengan menambahkan air secukupnya kedalam makanan keras yang dihancurkan, kemudian dibuat bulat-bulat, dan diletakkan di wadah makanan yang telah disediakan, hal ini bertujuan untuk mempermudah hewan coba dalam memakan makanan. Pembersihan kandang dilakukan setiap hari, dengan mengganti sekam di dalam kandang.

### 3.9.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba yang sudah diadaptasi kemudian dikelompokkan menjadi 4 kelompok sebagai berikut:

- a) Kelompok A (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti selama 7 hari.
- b) Kelompok B (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti selama 14 hari.
- c) Kelompok C (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) selama 7 hari.
- d) Kelompok D (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) selama 14 hari.

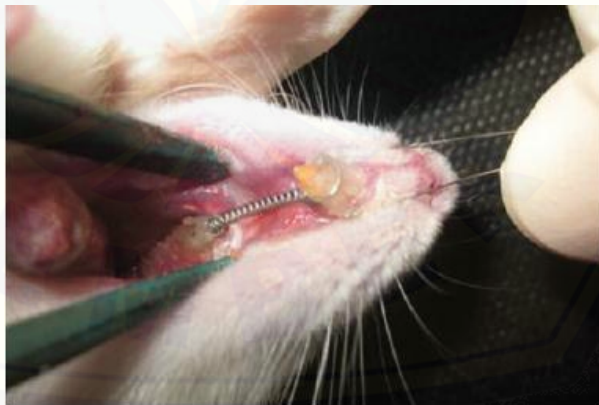
### 3.9.4 Persiapan Gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm

Natrium Fluorida (NaF) diperoleh dalam bentuk bubuk berwarna putih yang diproses menjadi bentuk gel. Dosis fluor sebesar 11,34 ppm. Pembuatan gel dilakukan dengan mencampurkan NaF sebanyak 11,34 mg, carbopol 1%, TEA 3%, dan Propilenglicol 3% dalam 1 liter *aquadest* steril menggunakan mortar dan alu (Rowe dkk., 2009).

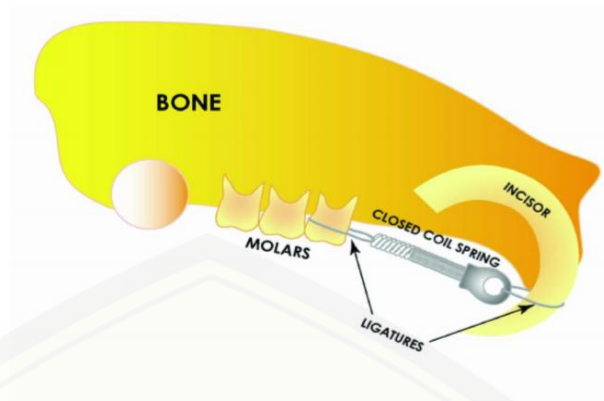
### 3.9.5 Perlakuan Hewan Coba

#### 1) Pemasangan *coil spring*

- a) Sebelum dilakukan prosedur pemasangan dan aktivasi *ni-ti closed coil spring* dilakukan injeksi intramuskuler pada tikus dengan larutan ketamin dan xylazine dengan perbandingan 1 : 2 masing - masing sebesar 0,15 – 0,18 ml.
- b) Pengukuran kekuatan *ni-ti closed coil spring* menggunakan *tension gauge* untuk menghasilkan kekuatan sebesar 10 gr/mm<sup>2</sup>.
- c) Pemasangan kawat *ni-ti closed coil spring* yang diletakkan diantara gigi insisif sentral rahang atas dan molar pertama kanan rahang atas untuk menggerakkan gigi insisif ke arah palatal. Piranti ini difiksasi dengan 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi insisif sentral rahang atas melalui sebuah lubang yang dibuat menggunakan *round bur* pada sisi distovertikal serta 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi molar pertama. Untuk meningkatkan retensi, diaplikasikan *glass ionomer cement*. (Sella RC, 2012).



Gambar 3.1 Pemasangan closed coil spring (Seifi dkk., 2013)



Gambar 3.2 Pemasangan alat ortodonti pada gigi tikus Wistar jantan (Mah dkk., 2014)

- 2) Hewan coba pada kelompok C dan D merupakan hewan coba yang diberi perlakuan gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm diberikan secara topikal menggunakan syringe modifikasi pada sulkus gingiva gigi insisif tikus rahang atas Wistar jantan. Pemberian gel Natrium Fluorida (NaF) sebanyak dua kali sehari, pagi dan sore dengan volume 0,2 – 0,3 ml (Sutjiati, 2016).

#### 3.9.6 Euthanasia Hewan Coba

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

#### 3.9.7 Proses Pembuatan Sediaan dan Pemeriksaan Imunohistokimia

##### 1. Fiksasi Jaringan dengan Larutan *Buffer Neutral Formalin* 10%

Dalam pembuatan sediaan, diharapkan sel dan jaringan yang akan diamati masih memiliki keadaan yang mirip dengan keadaan ketika masih hidup. Untuk mencapai keadaan ini, maka jaringan yang diambil dari tubuh harus segera diawetkan pada suatu cairan yang disebut dengan

teknik fiksasi. Pada proses penelitian, dilakukan fiksasi menggunakan larutan *Buffer Neutral Formalin* 10% (Khristian dan Inderiati, 2017). Fiksasi jaringan dilakukan selama minimal 12-24 jam (Musyarifah dan Salmiah, 2018).

## 2. Perendaman Larutan Dekalsifikasi

Proses dekalsifikasi merupakan suatu teknik yang dilakukan untuk menghilangkan mineral dari tulang atau jaringan yang mengandung garam kalsium. Dilakukan dekalsifikasi pada jaringan dengan menggunakan asam formiat 10% selama 7 hari (Khristian dan Inderiati, 2017). Jaringan dicuci menggunakan PBS 3-5x untuk membersihkan dari kontaminan (Santoso, 2006). Larutan tersebut apabila digunakan bersamaan dengan formalin diklaim sangat baik dalam proses dekalsifikasi serta tidak mempengaruhi pewarnaan (Khristian dan Inderiati, 2017). Proses dekalsifikasi dapat dikatakan selesai apabila jaringan sudah lunak (Muntiha, 2001).

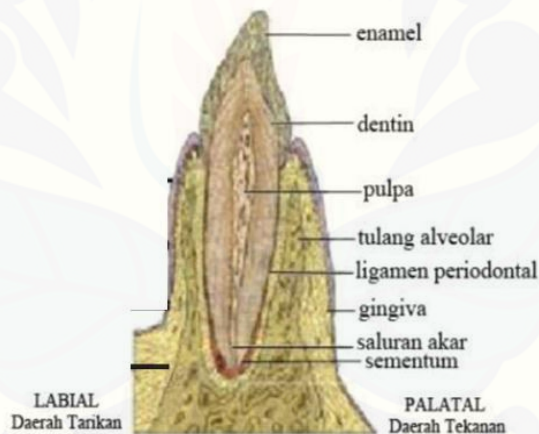
## 3. Pemrosesan Jaringan

- a. Dehidrasi suatu proses yang dilakukan untuk menghilangkan air dan zat fiksatif dari komponen jaringan. Pada tahapan ini digunakan alkohol sebagai cairan dehidrasi (Khristian dan Inderiati, 2017) 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 (Khristian dan Inderiati, 2017).
- b. *Clearing* yaitu proses penjernihan menggunakan bahan *clearing* seperti xylol, toluene, kloroform, xylol substitusi, dan citrus fruit oil. Setelah proses *clearing*, maka jaringan akan bening dan tembus cahaya (Khristian dan Inderiati, 2017). Pada penelitian ini

menggunakan xylol, sebagai agen clearing sebagai pengganti alkohol dari tahapan dehidrasi yang telah dilakukan (Khristian dan Inderiati, 2017). Tahapan *clearing* sebagai berikut:

1. Xylol = 1 jam
  2. Xylol = 2 jam
  3. Xylol = 2 jam (Khristian dan Inderiati, 2017).
- c. Impregnasi yaitu proses infiltrasi bahan *embedding* dalam jaringan pada suhu  $56^{\circ} - 60^{\circ} \text{C}$ , dengan cara jaringan dibungkus menggunakan kertas saring yang telah diberi label untuk 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
- d. Pembuatan Blok Jaringan (*embedding*)
- Embedding* yaitu proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* meliputi *paraffin*, *cellulose*, dan *tissue text*. Pada penelitian ini menggunakan paraffin TD ( $56^{\circ} - 60^{\circ} \text{C}$ ). Tahapan *embedding* sebagai berikut:
1. Mempersiapkan alat cetak blok paraffin dan meletakkan alat cetak tersebut pada tempat yang memiliki permukaan rata.
  2. Tuangkan paraffin cair TD ( $56^{\circ} - 60^{\circ} \text{C}$ ) ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi dengan *surgical* yang kita inginkan kemudian diberi label sampel, tunggu beberapa menit hingga paraffin beku (Khristian dan Inderiati, 2017).
- e. Tahapan Penyayatan Jaringan
1. Olesi *object glass* dengan *meyer egg* albumin, kemudian tempelkan blok paraffin pada *block holder* mikrotom dengan bantuan pemanasan.

2. Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelum dilakukan penyayatan bersihkan pisau mikrotom terlebih dahulu menggunakan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan *xylol* dengan arah tegak lurus.
3. Atur ketebalan sayatan mikrotom antara 4-6 $\mu$ m, atau sesuai dengan kebutuhan.
4. Sayatan yang telah diperoleh diambil menggunakan kuas kemudian letakkan diatas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56<sup>0</sup> – 58<sup>0</sup> C hingga sayatan mekar.
5. Sayatan yang telah mekar diambil dengan *object glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg* albumin, dan keringkan dengan *hotplate* dengan suhu 30<sup>0</sup> – 35<sup>0</sup> C, minimal selama 12 jam (Universitas Jember, 2006)



Gambar 3.3 Ilustrasi pemotongan jaringan dengan arah labial-palatal

- f. Pengecatan Jaringan
  - a. Sediaan dilakukan deparafinisasi preparat menggunakan larutan *xylol* sebanyak tiga kali, masing-masing selama 10 menit.
  - b. Rehidrasi menggunakan etanol absolut sebanyak 3 kali, masing-masing selama 10 menit kemudian inkubasi preparat selama 24 jam dengan suhu 3<sup>0</sup>C.
  - c. Keluarkan preparat hingga uap menghilang.



- d. Cuci preparat menggunakan aquadest sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit
- e. Bersihkan *object glass* kemudian tetesi preparat dengan *peroxidase blocking solution* sebanyak 2 tetes kemudian inkubasi pada suhu ruang selama 40 menit.
- f. Cuci preparat menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- g. Bersihkan *object glass* kemudian tetesi preparat dengan *prediluted blocking serum* sebanyak 100  $\mu$ l menggunakan mikropipet kemudian inkubasi dengan suhu 3<sup>0</sup>C selama 24 jam.
- h. Cuci preparat menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- i. Rendam preparat dalam antibodi monoklonal MMP-8 sebanyak 80  $\mu$ L menggunakan mikropipet kemudian inkubasi dengan suhu 3<sup>0</sup>C selama 24 jam.
- j. Cuci preparat dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- k. Rendam preparat dengan antibodi sekunder sebanyak 2 tetes kemudian inkubasi pada suhu ruang selama 60 menit.
- l. Cuci preparat dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- m. Rendam preparat dengan *horseradish peroxidase* (HRP) sebanyak 2 tetes kemudian inkubasi pada suhu ruang selama 40 menit.
- n. Cuci preparat dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) selama 5 menit.
- o. Aliri preparat dengan *aquadest*.
- p. Rendam preparat dengan *diaminobenzidine tetrahydrochloride* (DAB) sebanyak 100  $\mu$ L menggunakan mikropipet selama 15 menit kemudian bilas dengan aquadest.
- q. Tetesi preparat dengan *mayer's hematoxylin* selama 2 menit sebanyak 2 tetes.
- r. Cuci preparat dengan air mengalir.

- s. Tetesi preparat dengan *bluing reagent* sebanyak 2 tetes selama 30 detik.
- t. Cuci preparat dengan air mengalir.
- u. Inkubasi pada suhu 60<sup>0</sup>C selama 24 jam
- v. Bersihkan preparat lalu tetesi dengan *mounting media* kemudian ditutup dengan *cover glass* (Sutjiati R, 2016).

#### 3.9.8 Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8) Sel Osteoblas

Hasil pengecatan jaringan menggunakan imunohistokimia akan terlihat ekspresi MMP-8. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40×, 100×, dan 400× sebanyak jumlah sampel dan dilakukan pengambilan gambar dengan optilab (Sutjiati R, 2016).

Gambar yang telah didapatkan nantinya akan dilakukan perhitungan dengan memasukkan gambar perbesaran 400× pada Software Immuno Ratio Score (IRS) yang nantinya akan terlihat presentase ekspresi MMP-8 sel osteoblas. Pengamatan diamati dengan dua pengamat untuk menghindari dari subjektivitas (Sutjiati R, 2016).

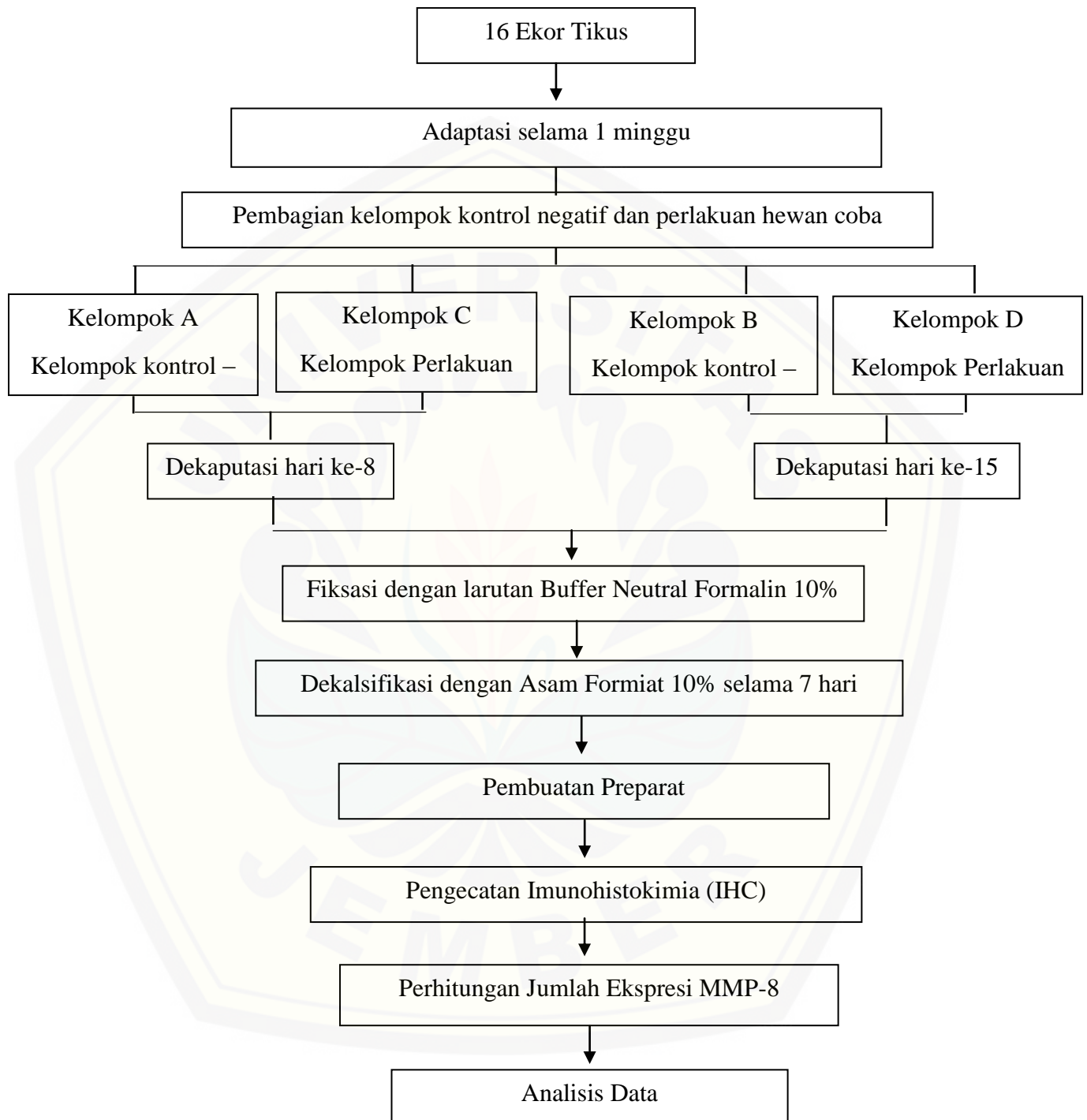
### 3.10 Pengolahan dan Analisis Data

Pengumpulan data dilakukan dalam lingkungan yang terkontrol dan terkendali dengan asumsi kondisi diusahakan sama dan dapat dikendalikan. Data hasil ImunoRatio yang telah ada dilakukan pengambilan rata-rata pada tiap kelompok sampel. Urutan analisis data meliputi :

- a) Uji normalitas untuk menguji variabel yang diperiksa dalam penelitian berdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro Wilk.*
- b) Uji homogenitas untuk menyatakan bahwa data antar kelompok memiliki matriks kovarians yang homogen menggunakan uji *Levene.*
- c) Analisis varian, bila data berdistribusi normal maka dilakukan uji antar kelompok menggunakan *One-way Anova.*

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

### 3.11 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 3.4 Alur Penelitian

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm pada sulkus gingiva insisivus tikus Wistar jantan yang diberi kekuatan ortodonti sebesar 10gr/cm<sup>2</sup> terdapat penurunan jumlah ekspresi MMP-8 pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol.
2. Pada kelompok hari ke-7 dibanding hari ke-14 kontrol dan hari ke-7 dibanding hari ke-14 perlakuan jumlah ekspresi MMP-8 mengalami peningkatan. Meskipun jumlah ekspresi MMP-8 tidak berbeda secara signifikan.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diajukan sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian dengan jarak waktu pengamatan yang lebih bervariasi, pada fase pergerakan gigi yang berbeda-beda.
2. Perlu dilakukan pertimbangan lebih lanjut mengenai waktu yang tepat untuk pemberian perlakuan (aplikasi Natrium Fluorida).
3. Perlu dilakukan pertimbangan lebih lanjut mengenai cara pemberian makan dan minum pada hewan coba.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap cara aplikasi Natrium Fluorida (NaF) pada gigi yang dilakukan perawatan ortodonti.
5. Perlu dilakukan pengukuran jarak gigi sebelum dan sesudah pemasangan alat ortodonti, untuk memastikan adanya pergerakan pada gigi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adi, Anak Agung Ayu Mirah. 2013. Teknik Immunostaining. Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
- Cavaro, Cristiane., J.C. Junior., dan R. Teles. 2012. Matrix Metalloproteinases - 1, -2, -3, -7, -8, -12, And -13 In Gingival Crevicular Fluid During Orthodontic Tooth Movement: A Longitudinal Randomized Split-Mouth Study. *European Journal of Orthodontics* doi:10.1093/ejo/cjs053.
- Daniel, W.W. 2013. *Biostatistics Foundation for Analysis in the Health Science* 10<sup>th</sup> edition. Canada:John Wileyand Sons, Inc.
- Eroschenko P.V. 2008. *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. 11th Ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Everett, E. T. 2015. Fluorida's Effects on the Formation of Teeth and Bones, and the Influence of Genetics. *J Dent Res* 90(5):552-560, 2011.
- Ferreire Tiago dan Rasband W. 2012. *The ImageJ User Guide, Version 1.46*. Foreword.
- Gardner, Jessica., A. Ghorpade. 2003. Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP)-1: The TIMPed Balance of Matrix Metalloproteinases in the Cental Nervous System. *J Neurosci Res*. 2003 December 15; 74 (6).
- Hartiningsih, Anggraeni, D., I. Widiyono, dan Wuryastut, H. 2015. Respons Tulang Femur Tikus Ovariohisterektomi yang Mengkonsumsi Kasein dan Disuplementasi Calcitriol Selama 30 Minggu. *Jurnal Veteriner*. 16 (1): 68-77.
- Herlina, Eka Chandra. 2000. Hubungan Kontrasepsi Hormonal dengan Densitas Mineral Tulang Pada Wanita Menopause dan Pasca Menopause. *Tesis*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Hikmah, N., Shita, A.D.P., dan Maulana, H. 2016. Rasio Ostoklas dan Osteoblas pada Tulang Alveolar Model Tikus Diabetes dengan Aplikasi Gaya. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 29, No. 1, Februari 2016.
- Indriana, T. 2016. Pemberian Asupan Ikan Teri (*stolephorus sp*) Terhadap Proses Osteogenesis Melalui Ekspresi Osteoprotegerin dan Kolagen Tipe I pada Daerah Tarikan Pergerakan Gigi Ortodonti. *Disertasi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Ismail, Fajri. 2018. *Statistik*. Jakarta: Prenadamedia Group.

- Kalanjati, Viskasari Pintoko. 2014. Teknik Pewarnaan Imunohistokimia. *Majalah Biomorfologi* Volume 27 No.2 Juli 2014.
- Keristian, Erick., dan Inderiati, Dewi. 2017. *Sitohistoteknologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan.
- Khrishnan, Vinot., dan Ze'en Davidovitch. 2015. *Biological Mechanisms Of Tooth Movement* 2nd Ed. John Wiley & Sons, Ltd.
- Kusmiyati. 2012. Nutrisi di Awal Perkembangan. *J. Pijar MIPA*, Vol. VII No.1, Maret : 1 - 42 ISSN 1907-1744.
- Mah, Su-Jung; Y., YS. Chun; W. H Lim. 2014. Expression of MMP-9 and -13 on the Pressure Side under Orthodontic Loading. *Open Journal of Stomatology*, 2014, 4, 412-417.
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)*. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Ningtyas, Arie Puspa. 2018. Peranan Pemberian Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Sel Osteoklas Melalui Ekspresi Matriks Metalloproteinase-13 (MMP-13) Pergerakan Gigi Ortodonti. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Nor, Sakinah., Wibowo, Diana., dan Helmi Z.N. 2016. Peningkatan Lebar Lengkung Gigi Rahang Atas Melalui Perawatan Ortodonti Menggunakan Sekrup Ekspansi. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi* Vol I. No 1. Maret 2016.
- Oley, A.B., Anindita, P.S. dan Leman, M.A. 2015. Kebutuhan Perawatan Ortodonti Berdasarkan Index of Orthodontic Treatment Need pada Usia Remaja 15-17 Tahun. *Jurnal E-Gigi*. 3 (2): 292-297.
- Payadnya, I Putu Ade Andre. dan Jayantika, I Gusti Agung Ngurah Trisna. 2018. *Panduan Penelitian Eksperimen Beserta Analisis Statistik Dengan SPSS* Yogyakarta: Deepublish.
- Proffit WR, Henry W. Fields, David M. Sarver. *Contemporary Orthodontics*, 4<sup>th</sup> ed, Canada, Elsevier : 2007.
- Putra, Angga Permana., H. Arifin., C. M. Mursin. 2017. Perbandingan Efek Induksi Propofol dengan Ketamin terhadap Penurunan Nilai Neutrofil pada

- Pasien dengan Tindakan Anestesi Umum. *Jurnal Anastesi Perioperatif* 5 (1) 32-7.
- Putri, Megananda Hiranya., E. Herijulianti., dan N. Nurjannah. 2011. *Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Rahayu, Yani C., Auerkari, Elza I. 2004. Teknik Imunohistokimia Sebagai Pendeteksi Antigen Spesifik Penyakit Infeksi. *IJD* 2004; 11(2): 76-82 Jakarta.
- Rofiq, Aunun., J. W. Arifin. 2013. Pengaruh Induksi Propofol dan Ketamin Terhadap Kadar Procalcitonin Plasma. *Jurnal Anestesiologi Indonesia* Volume V, Nomor 2, Tahun 2013.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*, 6th Edition. Pharmaceutical Press. London pp. 110-113, 283, 286, 592-594.
- Rucci, N. 2008. Molecular Biology of Bone Remodelling. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. 5 (1): 49-56.
- Santoso, H. B. 2006. Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisialis Tibia Fetus Mencit (*Mus musculus* L.) dari Induk dengan Perlakuan Kafein. *Bek. Penel. Hayati*, 12: 69-74.
- Saputri, Dewi. 2018. Gambaran Radiograf Pada Penyakit Periodontal. *J Syiah Kuala Dent Soc*, 2018, 3 (1): 16-21.
- Scheid, Rickne C dan G, Weiss. 2011. *Woelfel Dental Anatomy* 8<sup>th</sup> Ed. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Schöder, Agnes., K. Bauer., G. Spanier., Proff, Peter., Wolf, Michael., Kirschneck, Christian. 2018. Expression Kinetics of Human Periodontal Ligament Fibroblast in The Early Phases of Orthodontic Tooth Movement. *Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature* 2018.
- Seifi, M., M.R. Badiee, Z. Abdolazimi, P. Amdjadi. 2013. Effect of basic fibroblas growth factor on orthodontic tooth movement in rats. *Cell Journal*. 15 (3): 230-237.
- Sella, R.C., M.R. de Mendonca, Cuoghi, O.A., An, Li.T. 2012. Histomorphic evaluation of periodontal compression and tension sides during orthodontic tooth movement in rats. *Dental Press J Orthod*. 17 (3): 108-117.

- Sudiono, Janti. 2008. *Pemeriksaan Patologi Untuk Diagnosis Neoplasma Mulut*. Jakarta: EGC.
- Susilowati. 2010. Peran Matriks Metalloproteinase-8 pada Cairan Krevikular Gingiva Selama Pergerakan Gigi Ortodonti. *Dentofasial*, Vol.9, No.1, April 2010: 47-54.
- Sutjiati, R. 2016. Mekanisme Hambatan Relaps Pergerakan Gigi Ortodonti Pemberian Natrium Fluorida (Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar). *Disertasi*. Surabaya: Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Thomson, Larry J. 2018. *Veterinary Toxicology*. Elsevier.
- Tuominen, Vlipu J., Sanna Ruotoistenmäki, Arttu Vitonen, Mervi Jumppanen, dan Jorma Isola. 2010. ImmunoRatio: a publicly available web application for quantitative image analysis of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and Ki-67. *Tuominen dkk. Breast Cancer Research*.
- Vanesa, Pareira Prado., Natalia, Asquino., Delmira, Apellaniz., Luis, Bueno Rossy., Gabriel, Tapia., Ronell, Bologna Molia. 2016. Metalloproteinase (MMPs) Of The Extracellular Matrix in Dentistry. *Odontostomatologia*/Vol. XVIII No.28/November 2016.



LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Surat Perijinan Penelitian

|   |   |
|---|---|
|    | <p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)<br/>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER<br/>(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH<br/>FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>                                      |
| <p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b><br/><u>No.582/UN25.8/KEPK/DL/2019</u></p>  |   |
| Title of research protocol  | : "Effects of Sodium Fluoride (NaF) Application on MMP8 Osteoblast Cell Expression in Orthodontic Tooth Movement"   |
| Document Approved   | : Research Protocol   |
| Principal investigator  | : Shobrina Wahyuni  |
| Member of research  | : -   |
| Responsible Physician   | : Shobrina Wahyuni  |
| Date of approval  | : Desember 2019- Januari 2020   |
| Place of research   | : Universitas Jember  |
| <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, October 11<sup>th</sup> 2019</p>   |   |
| <br>Dean of Faculty of Dentistry<br>Universitas Jember<br>(drg. R. Bahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.) | <br>Chairperson of Research Ethics Committee<br>Faculty of Dentistry Universitas Jember<br>(Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu-Ratna Dewanti, M.Si.) |



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37, Kampus Tegay Boto Kotak Pos 159 Jember 68121  
Telepon (0331) 333536, 331743 Fasimili, (0331) 331991  
Laman: [fk.unej.ac.id](http://fk.unej.ac.id)

Nomor : 771 /UN25.8.TL/2019  
Perihal : Ijin Penelitian

19 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Bagian 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. Adapun bentuk kegiatan penelitiannya adalah pembuatan gel Natrium Fluorida bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- |    |                        |   |
|----|------------------------|---|
| 1  | Nama                   | : Shobrina Wahyuni  |
| 2  | NIM                    | : 161610101065  |
| 3  | Semester/Tahun         | : VII/2019-2020   |
| 4  | Fakultas               | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                 | : Jl. Danau Toba II No. 71A Jember  |
| 6  | Judul Penelitian       | : Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti   |
| 7  | Lokasi Penelitian      | : Laboratorium Farmasetika<br>Fakultas Farmasi Universitas Jember   |
| 8  | Data/alat yg di pinjam | : -   |
| 9  | Waktu                  | : Desember 2019 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian      | : Mengetahui efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus Wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti. |
| 11 | Dosen Pembimbing       | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M. Biomed<br>: 2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



an. Dekan  
Wakil Dekan I  
**Dr. drg. Masniari Novita, Sp.OF(K)**  
NIP.196811251999032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37, Kampus Tegay Boto Kotak Pos 159 Jember 68121  
Telepon (0331) 333536, 331743 Fasimili. (0331) 331991  
Laman: [fkg.unej.ac.id](http://fkg.unej.ac.id)

Nomor : 771 /UN25.8.TL/2019  
Perihal : Ijin Penelitian

19 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Bagian 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. Adapun bentuk kegiatan penelitiannya adalah perlakuan hewan bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- |    |                        |   |
|----|------------------------|---|
| 1  | Nama                   | : Shobrina Wahyuni  |
| 2  | NIM                    | : 161610101065  |
| 3  | Semester/Tahun         | : VII/2019-2020   |
| 4  | Fakultas               | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                 | : Jl. Danau Toba II No. 71A Jember  |
| 6  | Judul Penelitian       | : Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti.  |
| 7  | Lokasi Penelitian      | : Laboratorium Hewan Coba<br>Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yg di pinjam | : -   |
| 9  | Waktu                  | : Desember 2019 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian      | : Mengetahui efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus Wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti. |
| 11 | Dosen Pembimbing       | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M. Biomed<br>2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. Masniari Novita, Sp.OF(K)  
NIP.196811251999032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37, Kampus Tegay Boto Kotak Pos 159 Jember 68121  
Telepon (0331) 333536, 331743 Fasimili. (0331) 331991  
Laman: [fkj.unej.ac.id](http://fkj.unej.ac.id)

Nomor : 7571/UN25.8.TL/2019  
Perihal : Ijin Penelitian

19 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Bagian 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. Adapun bentuk kegiatan penelitiannya adalah pembuatan preparat histologi bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- |    |                        |   |
|----|------------------------|---|
| 1  | Nama                   | : Shobrina Wahyuni  |
| 2  | NIM                    | : 161610101065  |
| 3  | Semester/Tahun         | : VII/2019-2020   |
| 4  | Fakultas               | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                 | : Jl. Danau Toba II No. 71A Jember  |
| 6  | Judul Penelitian       | : Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti   |
| 7  | Lokasi Penelitian      | : Laboratorium Histologi<br>Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 8  | Data/alat yg di pinjam | : Miskroskop, Timbangan, dll  |
| 9  | Waktu                  | : Desember 2019 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian      | : Mengetahui efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus Wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti. |
| 11 | Dosen Pembimbing       | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M. Biomed<br>2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. Masniari Novita, Sp.OF(K)  
NIP.196811251999032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37, Kampus Tegal Boto Kotak Pos 159 Jember 68121  
Telepon (0331) 333536, 331743 Fasimili. (0331) 331991  
Laman: [fkj.unej.ac.id](http://fkj.unej.ac.id)

Nomor : *JKI* /UN25.8.TL/2019  
Perihal : Ijin Penelitian

19 DEC 2019

Kepada Yth  
Ketua Divisi Biologi Molekul dan Bioteknologi  
CDAST Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian. Adapun bentuk kegiatan penelitiannya adalah pembacaan preparat bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- |    |                        |   |
|----|------------------------|---|
| 1  | Nama                   | : Shobrina Wahyuni  |
| 2  | NIM                    | : 161610101065  |
| 3  | Semester/Tahun         | : VII/2019-2020   |
| 4  | Fakultas               | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                 | : Jl. Danau Toba II No. 71A Jember  |
| 6  | Judul Penelitian       | : Efek Aplikasi Gel Natrium Fluorida (NaF) Terhadap Ekspresi MMP-8 Sel Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Ortodonti.  |
| 7  | Lokasi Penelitian      | : Laboratorium Biologi Molekul dan Bioteknologi CDAST Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yg di pinjam | : -   |
| 9  | Waktu                  | : Desember 2019 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian      | : Mengetahui efek aplikasi gel Natrium Fluorida (NaF) terhadap ekspresi MMP-8 sel osteoblas tulang alveolar tikus Wistar jantan pada pergerakan gigi ortodonti. |
| 11 | Dosen Pembimbing       | : 1. drg. Rudy Joelijanto, M. Biomed<br>: 2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



**Dr. drg. Masniari Novita, Sp.OF(K)**  
NIP.196811251999032001

**LAMPIRAN B. Rerata Hasil Ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 (MMP-8)  
pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan (%)**

| Ekspresi MMP-8 Kelompok Kontrol Hari ke-7    |       |
|--|-------|
| 1  | 34,3  |
| 2  | 63,9  |
| 3  | 46,5  |
| 4  | 19,4  |
| Rerata jumlah ekspresi<br>MMP-8              | 41,02 |
| Ekspresi MMP-8 Kelompok Kontrol Hari ke-14   |       |
| 1  | 45,1  |
| 2  | 29,2  |
| 3  | 87    |
| 4  | 75,9  |
| Rerata jumlah ekspresi<br>MMP-8              | 59,3  |
| Ekspresi MMP-8 Kelompok Perlakuan Hari ke-7  |       |
| 1  | 16,4  |
| 2  | 36,0  |
| 3  | 21,3  |
| 4  | 83,3  |
| Rerata jumlah ekspresi<br>MMP-8              | 39,25 |
| Ekspresi MMP-8 Kelompok Perlakuan Hari ke-14 |       |
| 1  | 57,5  |
| 2  | 26,2  |
| 3  | 73,9  |
| 4  | 75,0  |
| Rerata jumlah ekspresi<br>MMP-8              | 58,15 |

**LAMPIRAN C. Uji Analisis Data****C.1 Uji Analisis Data Kontrol Hari ke-7 dan Perlakuan Hari ke-7****C.1.1 Uji Normalitas****Tests of Normality**

|               | Shapiro-Wilk |    |      |
|---------------|--------------|----|------|
|               | Statistic    | df | Sig. |
| Ekspresi MMP8 | .902         | 8  | .300 |

a. Lilliefors Significance Correction

**C.1.2 Uji Homogenitas****Test of Homogeneity of Variances**

Ekspresi MMP8

| Levene<br>Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|------|
| .667                | 1   | 6   | .445 |

**C.1.3 Uji One Way Anova****ANOVA**

Ekspresi MMP8

|                   | Sum of<br>Squares | df | Mean<br>Square | F    | Sig. |
|-------------------|-------------------|----|----------------|------|------|
| Between<br>Groups | 6.125             | 1  | 6.125          | .009 | .926 |
| Within Groups     | 3870.215          | 6  | 645.036        |      |      |
| Total             | 3876.340          | 7  |                |      |      |

## C.2 Uji Analisis Data Kontrol Hari ke-14 dan Perlakuan Hari ke-14

### C.2.1 Uji Normalitas

#### Tests of Normality

|               | Shapiro-Wilk |    |      |
|---------------|--------------|----|------|
|               | Statistic    | df | Sig. |
| Ekspresi MMP8 | .899         | 8  | .283 |

a. Lilliefors Significance Correction

### C.2.2 Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

Ekspresi MMP8

| Levene<br>Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|------|
| .605                | 1   | 6   | .466 |

### C.2.3 Uji One Way Anova

#### ANOVA

EkspresiMMP8

|                   | Sum of<br>Squares | df | Mean<br>Square | F    | Sig. |
|-------------------|-------------------|----|----------------|------|------|
| Between<br>Groups | 2.645             | 1  | 2.645          | .004 | .950 |
| Within Groups     | 3703.710          | 6  | 617.285        |      |      |
| Total             | 3706.355          | 7  |                |      |      |



### C.3 Uji Analisis Data Kontrol Hari ke-7 dan Kontrol Hari ke-14

#### C.3.1 Uji Normalitas

##### Tests of Normality

|               | Kontrol | Shapiro-Wilk |    |      |
|---------------|---------|--------------|----|------|
|               |         | Statistic    | df | Sig. |
| Ekspresi MMP8 | Hari 7  | .998         | 4  | .992 |
|               | Hari 14 | .935         | 4  | .626 |

a. Lilliefors Significance Correction

#### C.3.2 Uji Homogenitas

##### Test of Homogeneity of Variances

Ekspresi MMP8

| Levene<br>Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|------|
| 1.695               | 1   | 6   | .241 |

#### C.3.3 Uji One Way Anova

##### ANOVA

EkspresiMMP8

|                   | Sum of<br>Squares | df | Mean<br>Square | F     | Sig. |
|-------------------|-------------------|----|----------------|-------|------|
| Between<br>Groups | 667.951           | 1  | 667.951        | 1.246 | .307 |
| Within Groups     | 3216.608          | 6  | 536.101        |       |      |
| Total             | 3884.559          | 7  |                |       |      |

#### C.4 Uji Analisis Data Perlakuan Hari ke-7 dan Perlakuan Hari ke-14

##### C.4.1 Uji Normalitas

###### Tests of Normality

| Perlakuan |         | Shapiro-Wilk |    |      |
|-----------|---------|--------------|----|------|
|           |         | Statistic    | df | Sig. |
| Ekspresi  | Hari 7  | .839         | 4  | .191 |
| MMP8      | Hari 14 | .847         | 4  | .216 |

a. Lilliefors Significance Correction

##### C.4.2 Uji Homogenitas

###### Test of Homogeneity of Variances

Ekspresi MMP8

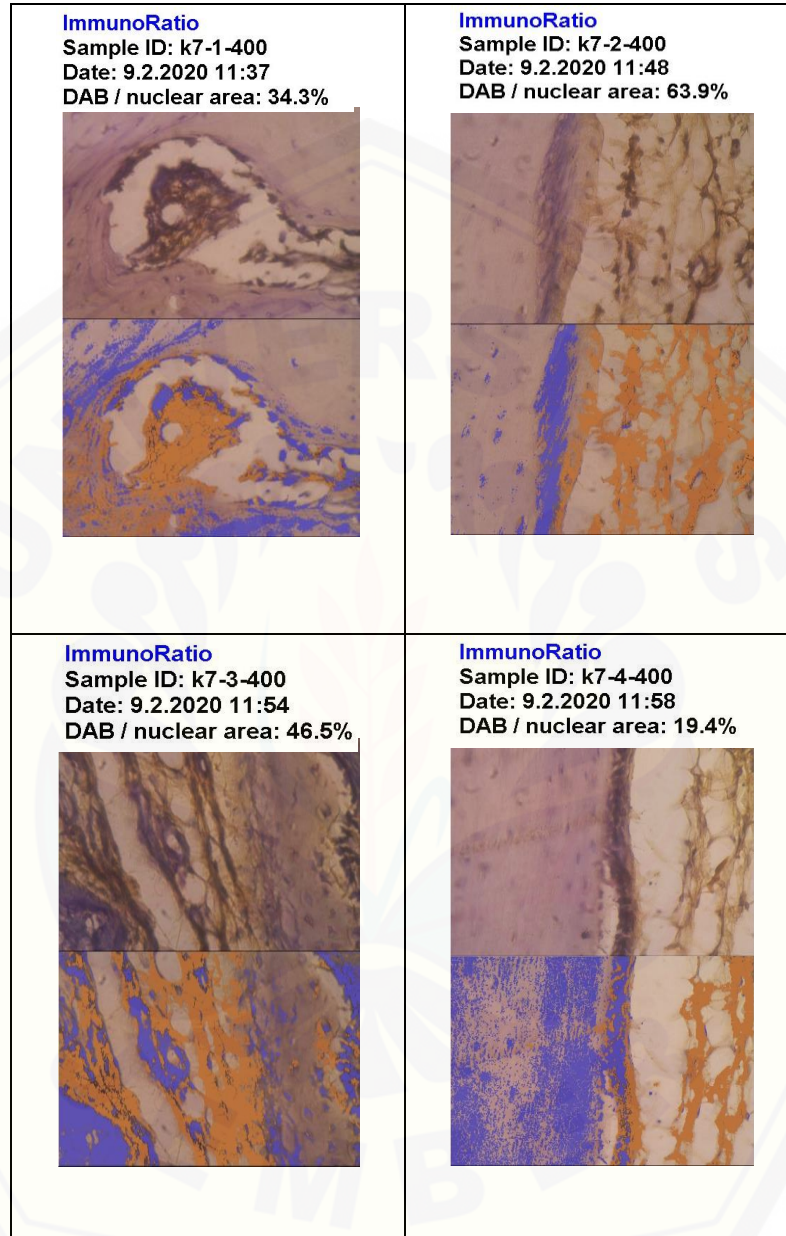
| Levene<br>Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|------|
| .296                | 1   | 6   | .606 |

##### C.4.3 Uji One Way Anova

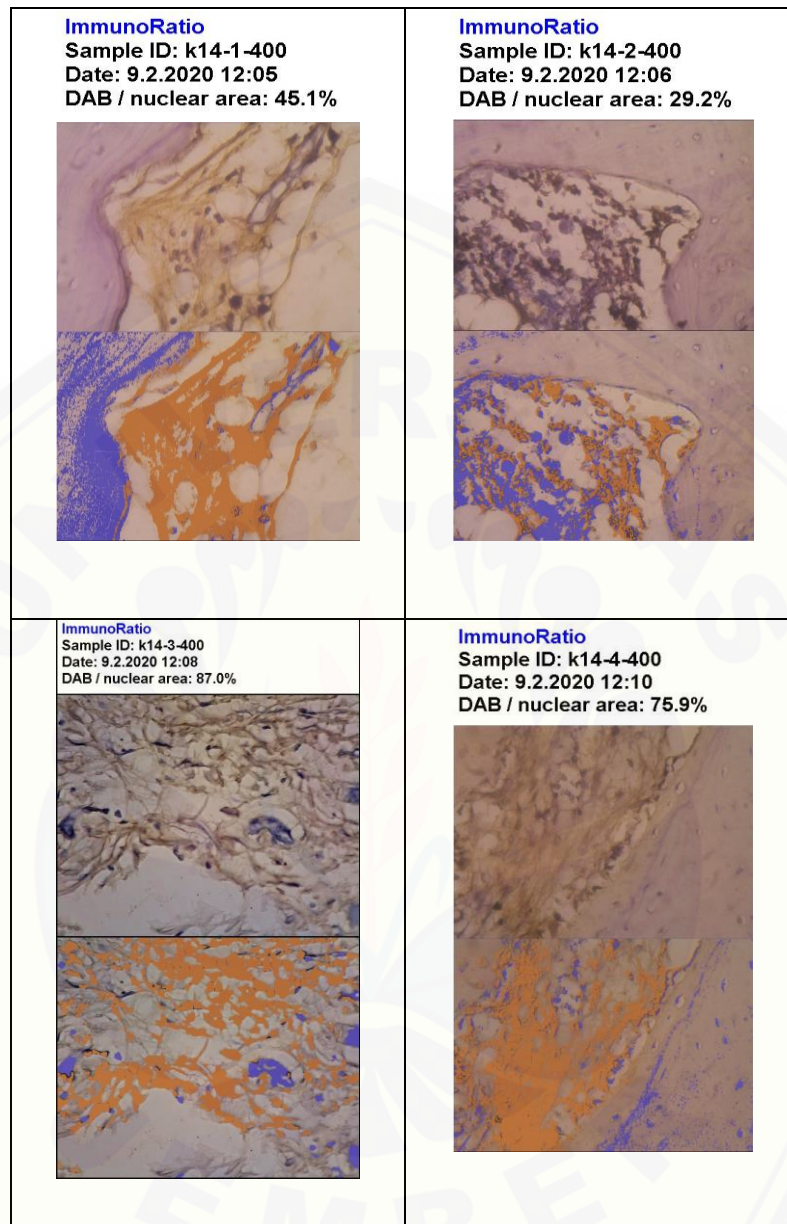
###### ANOVA

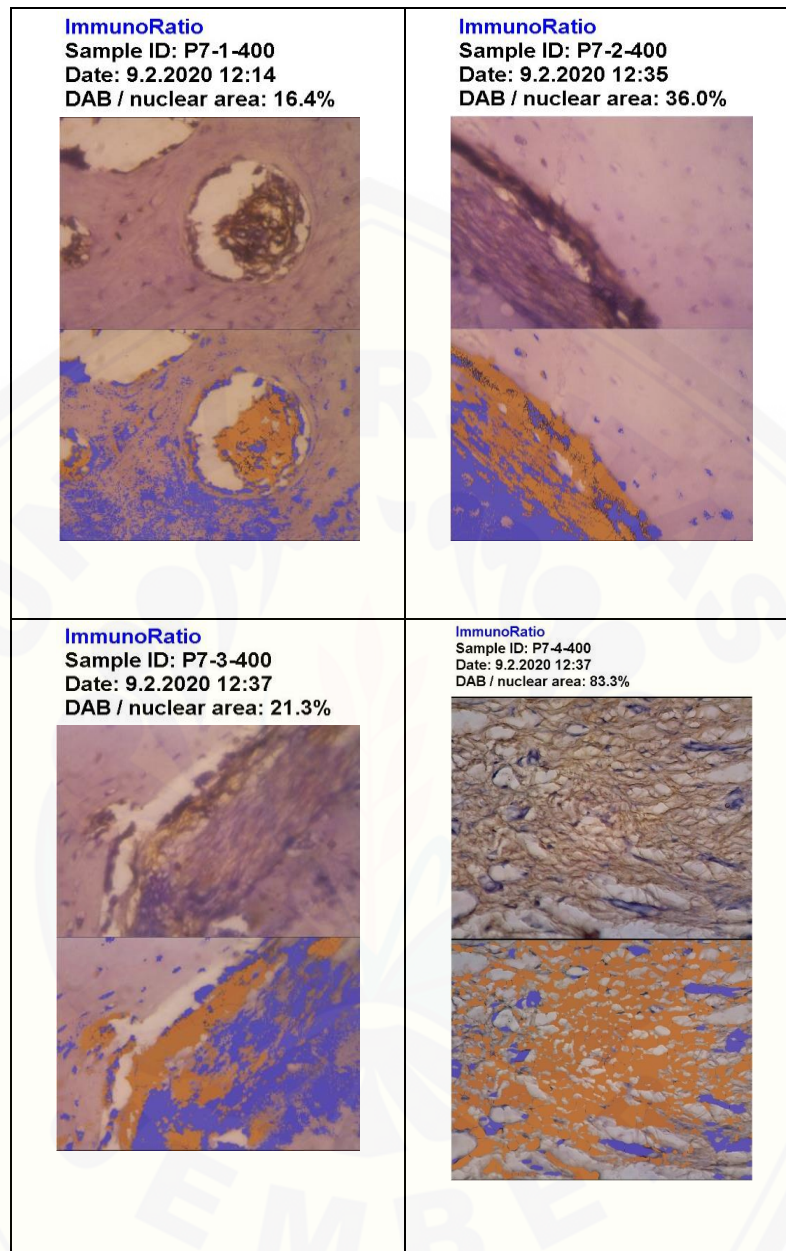
Ekspresi MMP8

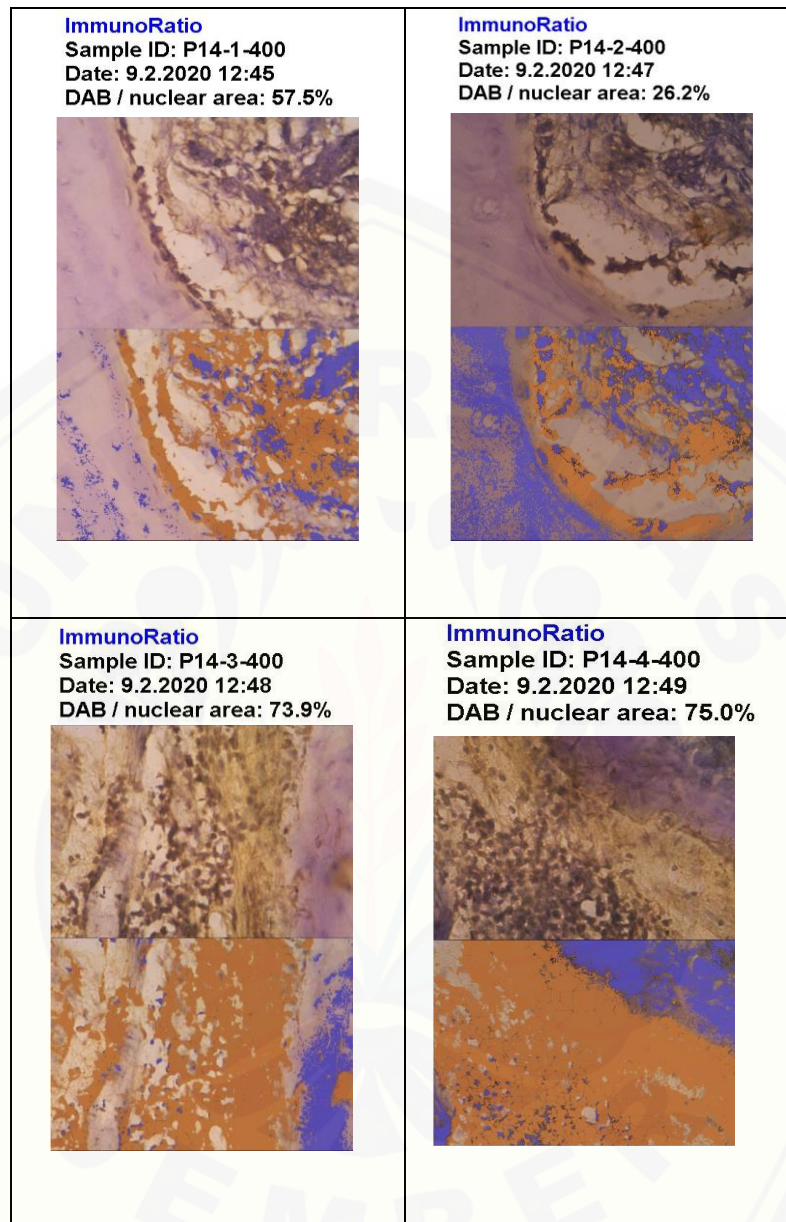
|                   | Sum of<br>Squares | df | Mean<br>Square | F    | Sig. |
|-------------------|-------------------|----|----------------|------|------|
| Between<br>Groups | 712.531           | 1  | 712.531        | .981 | .360 |
| Within Groups     | 4357.318          | 6  | 726.220        |      |      |
| Total             | 5069.849          | 7  |                |      |      |

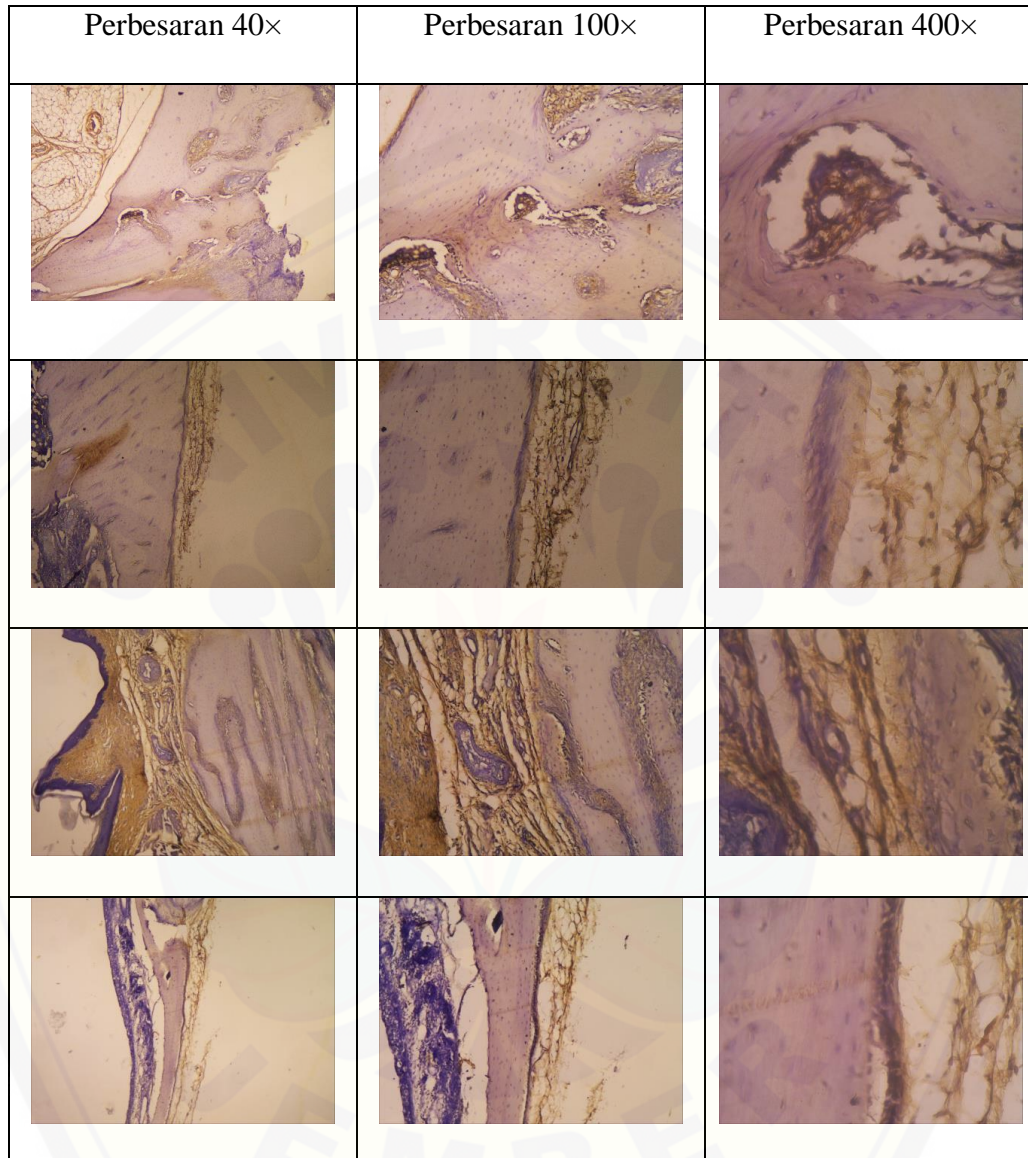
**LAMPIRAN D. Gambar Hasil *Imuno Ratio Score (IRS)*****D.1 Gambar Hasil IRS Kontrol Hari Ke-7**

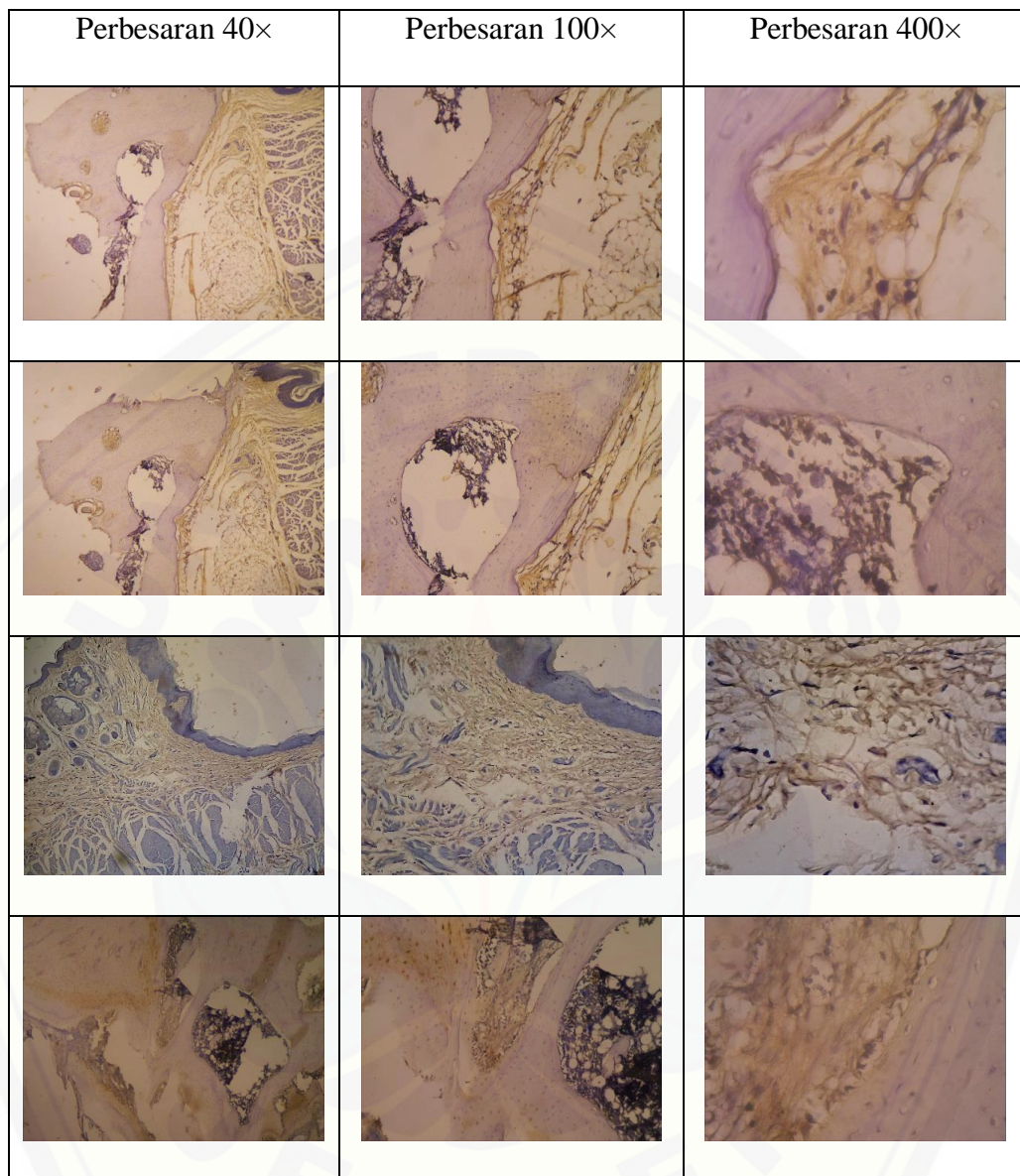
**D.2 Gambar Hasil IRS Kontrol Hari Ke-14**



**D.3 Gambar Hasil IRS Perlakuan Hari Ke-7**

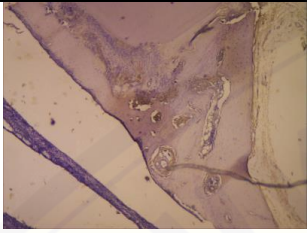
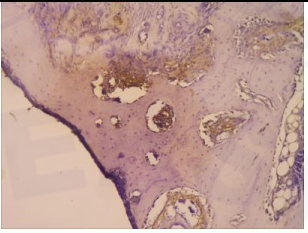
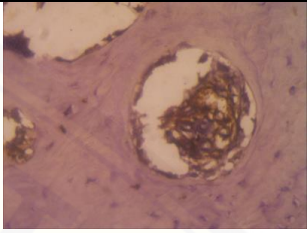
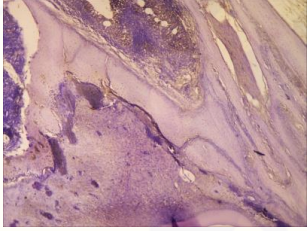
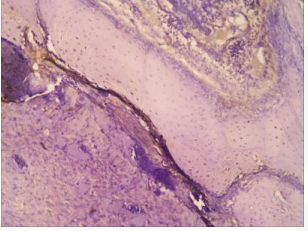
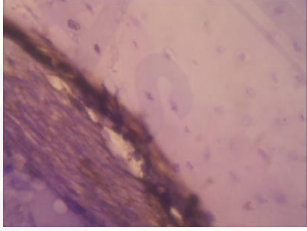
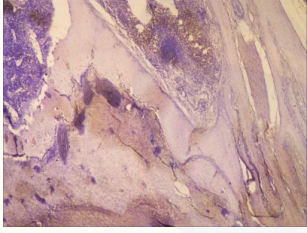
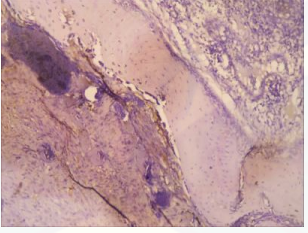
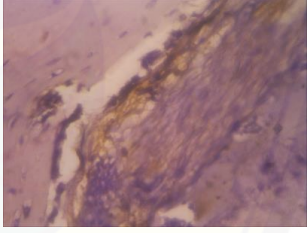
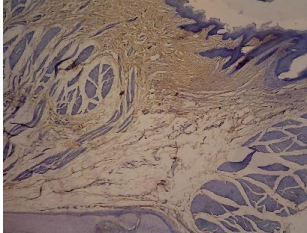
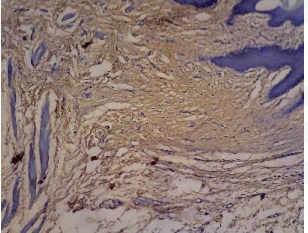
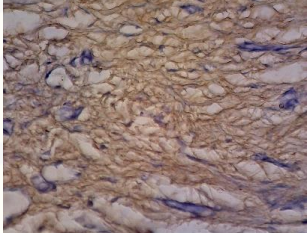
**D.4 Gambar Hasil IRS Perlakuan Hari Ke-14**

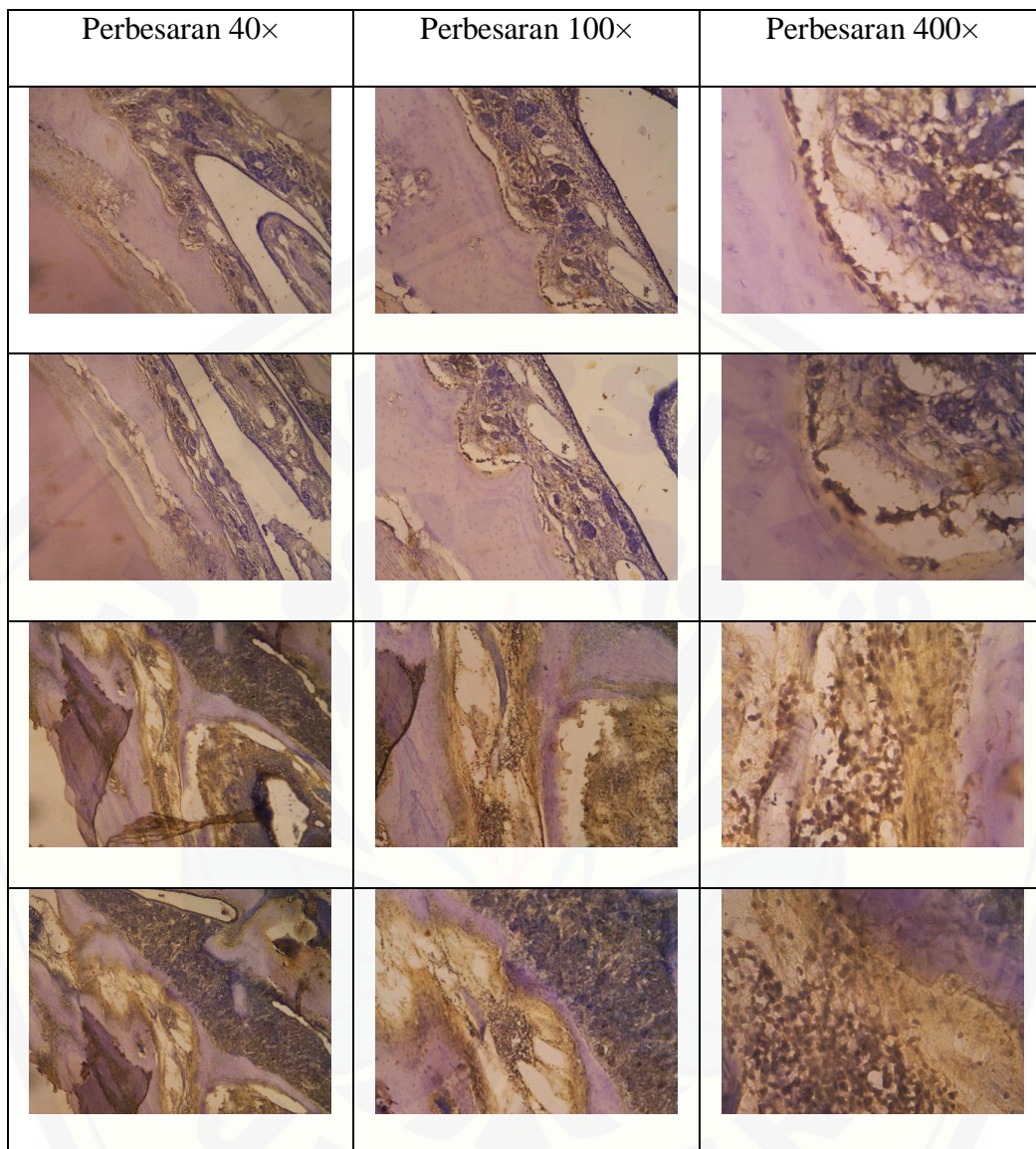
**LAMPIRAN E. Gambar Hasil Imunohistokimia (IHC)****E.1 Gambar Hasil Kontrol Negatif Hari Ke-7**

**E.2 Gambar Hasil Kontrol Negatif Hari Ke-14**



**E.3 Gambar Hasil Kontrol Positif Hari Ke-7**

| Perbesaran 40×  | Perbesaran 100×   | Perbesaran 400×   |
|---|---|---|
|    |    |    |
|   |   |   |
|  |  |  |
|  |  |  |

**E.4 Gambar Hasil Kontrol Positif Hari Ke-14**

**LAMPIRAN F. Alat dan Bahan**



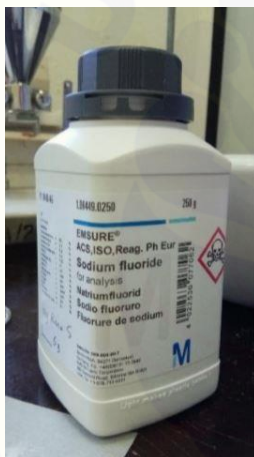
Carbopol



TEA



Propilen glikol



Bubuk NaF



Aquades steril



Tikus Wistar jantan



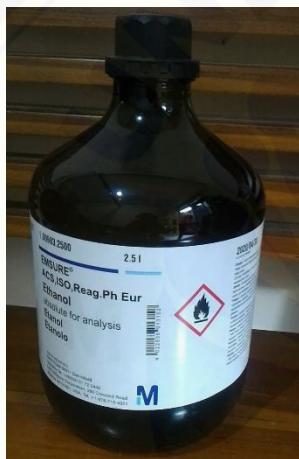
Ketamin



Xylazine



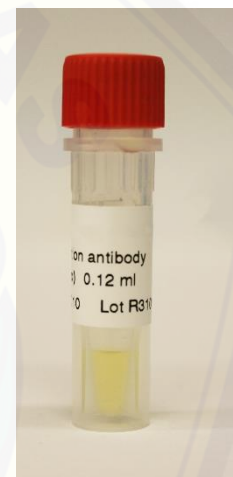
Handsoon dan masker



Alkohol absolut



Glass Ionomer tipe IX



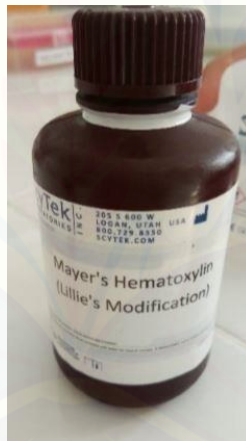
Antibodi primer MMP-8



1. DAB kit (Peroxidase blocking solution, Prediluted blocking serum, Diaminobenzidine tetrahydrochloride
2. Object glass
3. Deck glass
4. Asam formiat
5. Phosphat buffer saline
6. Meyer egg albumin
7. Entelan
8. Buffer neutral formaline 10%
9. Parafin
10. Xylol



Antibodi sekunder biotin



Mayer's hematoxylin



Bluing reagent



Timbangan analitik



Homogenizing mixer



Gelas ukur



Pipet



Beaker glass



Mortal dan alu



Timbangan berat badan hewan coba



Syringe modifikasi



Disposable syringe 1 mL



Mikromotor contra angle low speed



Ni-Ti closed coil spring



Tension gauge



Stainless steel ligature wire



Mikrotom



Slide Warmer



Water Bath



Inkubator



Tissue cassette



Mikropipet





Staining jar



Pot jaringan



Mikroskop cahaya dan kamera optilab

**LAMPIRAN G. Foto Kegiatan**



Satu hewan coba dalam kandang, dengan pakan standard dan minum



Hewan coba setelah diberi anestesi sebelum pemasangan piranti ortodonti



Proses pemasangan alat ortodonti pada gigi insisivus maksila tikus wistar jantan



Dekaputasi pada hewan coba



Proses dekalsifikasi jaringan