



**EKSPRESI OSTEOPONTIN DI DAERAH TEKANAN PADA GIGI YANG
DIBERI KEKUATAN MEKANIK ORTODONTI DENGAN
PEMBERIAN *NATRIUM FLUORIDE* (NaF)**

SKRIPSI

Oleh
Dini Roswati Sya'bani
NIM 141610101015

**BAGIAN ORTODONSIA
FAKULTAS KEDOTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**EKSPRESI OSTEOPONTIN DI DAERAH TEKANAN PADA GIGI YANG
DIBERI KEKUATAN MEKANIK ORTODONTI DENGAN
PEMBERIAN *NATRIUM FLUORIDE* (NaF)**

SKRIPSI

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

Oleh

Dini Roswati Sya'bani

NIM 141610101015

**BAGIAN ORTODONSIA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas matahari yang masih Engkau tampilkan, nafas kami yang masih Engkau panjangkan dan karunia yang tiada henti Engkau berikan;
2. Junjungan kita Rasulullah Nabi Muhammad SAW, Engkau selalu berhati suci, suri tauladan kami dan pencerah dunia ini hingga akhirat nanti;
3. Bapak saya H. Supeno dan Ibu saya Hj. Yuanah yang telah berjuang mendidik saya, memberikan semangat, dorongan, kasih sayang dan pengorbanan yang tiada batas hingga saat ini, serta doa yang tiada hentinya beliau haturkan dengan penuh keikhlasan;
4. Guru-guruku sejak Taman Kanak-kanak sampai dengan Perguruan Tinggi;
5. Semua dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang senantiasa memberikan ilmunya. Semoga ilmu yang Bapak/Ibu berikan bermanfaat dan barokah untukku dan untuk pribadi masing-masing serta menjadi amalan penolong Bapak/Ibu kelak;
6. Teman-temanku tim *Fluor* Shinta Permata Sari, Arie Puspa Ningtyas, dan Nabilah Dzakiyatul Fakhira yang telah meluangkan waktunya untuk bekerja sama, saling memikul berat-ringan permasalahan yang dihadapi dalam penyelesaian Skripsi ini, sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
7. Keluarga LECI SUKSES 2014 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. Agama, bangsa, dan Negara serta almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan . Karena itu bila kau sudah selesai (mengerjakan yang lain). Dan berharaplah kepada Tuhanmu.”

(terjemahan Surat Al Insyirah ayat 6-8)¹

‘Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu, padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui’

(terjemahan Surat Al-Baqarah ayat 216)¹

“Dan apapun yang kamu infakkan atas rizki yang diberikan Allah, maka Allah menggantinya kembali dan Allah-lah sebaik-baik pemberi rezeki”

(terjemahan Surat Saba ayat 39)¹

¹ Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dini Roswati Sya'bani

NIM : 141610101015

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Ekspresi Osteopontin di Daerah Tekanan pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti dengan Pemberian Natrium Fluoride (NaF)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 2 April 2018

Yang menyatakan,

(Dini Roswati Sya'bani)

NIM 141610101015

SKRIPSI

**EKSPRESI OSTEOPONTIN DI DAERAH TEKANAN PADA GIGI
YANG DIBERI KEKUATAN MEKANIK ORTODONTI
DENGAN PEMBERIAN *NATRIUM FLUORIDE* (NaF)**

Oleh

Dini Roswati Sya'bani

NIM 141610101015

Pembimbing

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

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

Skripsi berjudul “Ekspresi Osteopontin di Daerah Tekanan pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti dengan Pemberian Natrium Fluoride (NaF)” karya Dini Roswati Sya’bani telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 2 April 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg.Yenny Yustisia, M.Biotech
NIP 197903252005012001

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

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

drg.Rudy Joelijanto, M.Biomed
NIP 197207151998021001

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

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

drg. Rahardian Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof
NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Ekspresi Osteopontin di Daerah Tekanan pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti dengan Pemberian Natrium Fluoride (NaF); Dini Roswati Sya'bani, 141610101015; 2018; 79 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penampilan merupakan hal yang sangat diperhatikan di era modern ini, tidak terkecuali penampilan akan kerapian gigi. Oleh sebab itu banyak orang termotivasi melakukan perawatan ortodonti untuk merapikan gigi-gelignya. Dalam perawatan ortodonti harus terjadi pergerakan gigi untuk menempatkan posisi gigi yang menyimpang ke posisi yang baik sesuai oklusinya menggunakan piranti ortodonti. Untuk menggerakkan gigi tersebut perlu diaplikasikan gaya ortodonti yang mengakibatkan adanya resorpsi tulang alveolar pada daerah tekanan dan terjadi pembentukan tulang pada daerah tarikan. Pada proses resorpsi tulang, sel yang berperan adalah sel osteoklas, sedangkan untuk proses pembentukan tulang sel yang berperan adalah sel osteoblas.

Selama proses resorpsi secara fisiologis, sel osteoklas menghasilkan osteopontin. Osteopontin merupakan suatu glikoprotein yang terfosforilasi yang biasa disebut dengan bone sialoprotein I. Osteopontin dalam tulang mempengaruhi keseimbangan dalam pembentukan dan reorpsi tulang dengan menghambat deposisi mineral dengan differensiasi osteoklas, meningkatkan aktivitas osteoklas, perlekatan osteoklas, dan juga untuk migrasi osteoklas. Hal ini menunjukkan bahwa osteopontin juga berperan dalam resorpsi tulang salah satunya pada proses pergerakan gigi.

Setelah proses pergerakan, gigi geligi yang sudah digerakkan menggunakan alat atau piranti ortodonti memiliki kecenderungan untuk kembali ke posisi semula atau lebih dikenal dengan istilah relaps. Relaps dapat dicegah dengan menggunakan alat berupa *retainer* yang akan mencegah gigi tersebut kembali ke posisi sebelum dilakukan perawatan ortodonti. Selain dengan pemakaian alat, dapat juga diimbangi dengan penambahan fluor dalam tubuh yang dapat mempercepat bertumbuhan

tulang sehingga tulang memiliki integritas yang baik untuk mempertahankan posisi gigi yang telah dikoreksi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian *Natrium Fluoride* terhadap ekspresi osteopontin pada daerah tekanan tulang alveolar gigi Tikus Wistar yang diberi gaya mekanis ortodonti. Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris. Sampel yang digunakan adalah 20 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok A yang tidak diberi kekuatan mekanis ortodonti dan tidak diaplikasikan gel natrium fluoride, kelompok B dan C yang diberi kekuatan mekanis ortodonti dengan pemasangan *NiTi Closed Coil Spring* sebesar $10\text{gr}/\text{cm}^2$, dan kelompok D dan E yang diberi kekuatan mekanis ortodonti pemasangan *NiTi Closed Coil Spring* sebesar $10\text{gr}/\text{cm}^2$ dan diaplikasikan gel *natrium fluoride*. Kelompok B dan D dilakukan pengamatan selama 7 hari sedangkan kelompok C dan E selama 14 hari. Pengamatan dilakukan dengan membandingkan ekspresi osteopontin pada masing-masing kelompok dengan pewarnaan immunohistokimia dan pemeriksaan *Immuno Ratio Score (IRS)*.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata ekspresi osteopontin pada kelompok A sebesar 84,925%, kelompok B sebesar 95,375%, kelompok D sebesar 90,675%, kelompok C sebesar 94,83 %, dan kelompok E hari sebesar 89,64%. Hal ini menunjukkan ekspresi osteopontin pada kelompok D dan E lebih rendah dibandingkan dengan kelompok B dan C namun tidak melebihi Kelompok A. Data hasil rata-rata Immunoratio ekspresi osteopontin kemudian dianalisis dan menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen. Kemudian dilakukan uji parametrik *One Way Onova* dan *Post Hoc LSD* yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan dari ekspresi osteopontin tiap kelompok.

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan Ekspresi osteopontin di daerah tekanan pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti $10\text{ gr}/\text{cm}^2$ dengan pemberian *Natrium Fluoride (NaF)* 11,75 ppm lebih rendah daripada tidak diberi *Natrium Fluoride* pada tulang alveolar tikus wistar jantan

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Ekspresi Osteopontin di Daerah Tekanan pada Gigi yang Diberi Kekuatan Mekanik Ortodonti dengan Pemberian Natrium Fluoride (NaF)”. 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 berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak saya H. Supeno dan Ibu saya Hj. Yuanah yang telah berjuang mendidik saya, memberikan semangat, dorongan, kasih sayang dan pengorbanan yang tiada batas hingga saat ini, serta doa yang tiada hentinya beliau haturkan dengan penuh keikhlasan;
2. Kakakku Danang Nurwakhid (Alm) yang selalu saya rindukan;
3. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
4. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed. dan Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes selaku dosen pembimbing yang rela meluangkan waktunya untuk membimbing, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
5. drg. Yenny Yustisia, M. Biotech dan drg. Leliana Sandra Devi Ade Putri, Sp. Ort selaku dosen penguji yang tak lelah memberikan masukan dan saran sehingga penelitian dan penulisan ini menjadi lebih baik;
6. Dr. drg. Tecky Indriana, M.Kes dan drg. Suhartini, M. Biotech selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat, saran, dan motivasi selama menjadi mahasiswa;
7. Semua dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang senantiasa memberikan ilmunya. Semoga ilmu yang Bapak/Ibu berikan bermanfaat dan barokah untukku dan untuk pribadi masing-masing serta menjadi amalan penolong Bapak/Ibu kelak;
8. Guru-guruku sejak Taman Kanak-kanak sampai dengan Perguruan Tinggi;

9. Teman-temanku tim Fluor Shinta Permata Sari, Arie Puspa Ningtyas dan Nabilah Dzakiyatul Fakhira yang telah meluangkan waktunya untuk bekerja sama, saling memikul berat-ringan permasalahan yang dihadapi dalam penyelesaian Skripsi ini, sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
10. Mas Wibi Wirawan, S.Si, M.Biomed, mas Agus, bu Wayan, dan bu Itus yang telah banyak membantu dalam penelitian untuk menyelesaikan skripsi ini;
11. Teman-teman Kos Bulgis Queen yang selalu menghibur dan mendukungku baik dalam suka maupun duka (Russela Try S, Azza Muslichah, Arie Puspa N, Fitrotul Hasanah, Shinta Permata S, Fadinda Aisa W, Nufsi Egi P, Deli Lili A, Zulfah Al-Fa'izah, dan Ade Ayu), kenangan dengan kalian tidak akan pernah terlupakan;
12. Teman-teman NIM Dempet yang selalu menghibur dan mendukungku baik dalam suka maupun duka, dan juga penyemangat saat berada di Jember (Umil Syifa K, Lady Ayu B, Meirsa Sawitri, Erfika Arifanti, Nanik Rahmawati, Nabilah Dzakiyatul F, Shinta Permata S, Arie Puspa S, Russela Try S, Nadia Farhatika, dan Arwinda Hening P);
13. Keluargaku LECI SUKSES Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
14. Mochamad Nuri Bachrudin atas dukungan dan semangatnya serta bantuannya dalam menyelesaikan skripsi ini;
15. Teman-teman Blitar yang kuliah di Jember (Indah Ernawati, Bagus Satria, Widodo Eko P) yang selalu membuatku merasa tidak sendirian di Jember;
16. Teman-teman KKN UMD 79 (Bella, Intan, Aida, Yonda, Yuvita, Merisa, Andzar, Naufan, dan Galih) atas pengalaman 45 harinya;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 2 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pergerakan Gigi	5
2.1.1 Jenis Pergerakan Gigi	6
2.2 Tulang	11
2.2.1 Definisi Tulang	11
2.2.2 Struktur Tulang	11
2.3 Remodeling Tulang	13
2.3.1 Peran Osteoblas dan Osteoklas	13
2.3.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi	14
2.4 Fluor	14
2.4.1 Sumber Fluor	14

2.4.2 Cara Penggunaan Fluor	16
2.5 Osteopontin	17
2.6 Imunohistokimia	18
2.6.1 Antibodi	19
2.6.2 Kromogen	20
2.6.3 Counterstain	20
2.7 ImmunoRatio	21
2.8 Kerangka Konsep Penelitian	23
2.8.1 Penjelasan Kerangka Konseptual	24
2.9 Hipotesis	24
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian	25
3.2 Rancangan Penelitian	25
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.3.1 Tempat Penelitian	25
3.3.2 Waktu Penelitian	26
3.4 Sampel Penelitian	26
3.4.1 Subyek Penelitian	26
3.4.2 Besar Sampel Penelitian	26
3.4.3 Syarat Sampel	27
3.5 Variabel Penelitian	27
3.5.1 Variabel Bebas	27
3.5.2 Variabel Terikat	27
3.5.3 Variabel Terkendali	27
3.6 Definisi Operasional	28
3.6.1 <i>Natrium Fluoride</i>	28
3.6.2 Ekspresi Osteopontin	28
3.6.3 Kekuatan Mekanik Ortodonti	28
3.7 Konversi Dosis	28
3.7.1 Dosis Fluor	28
3.7.2 Dosis Bahan Anastetikum	29

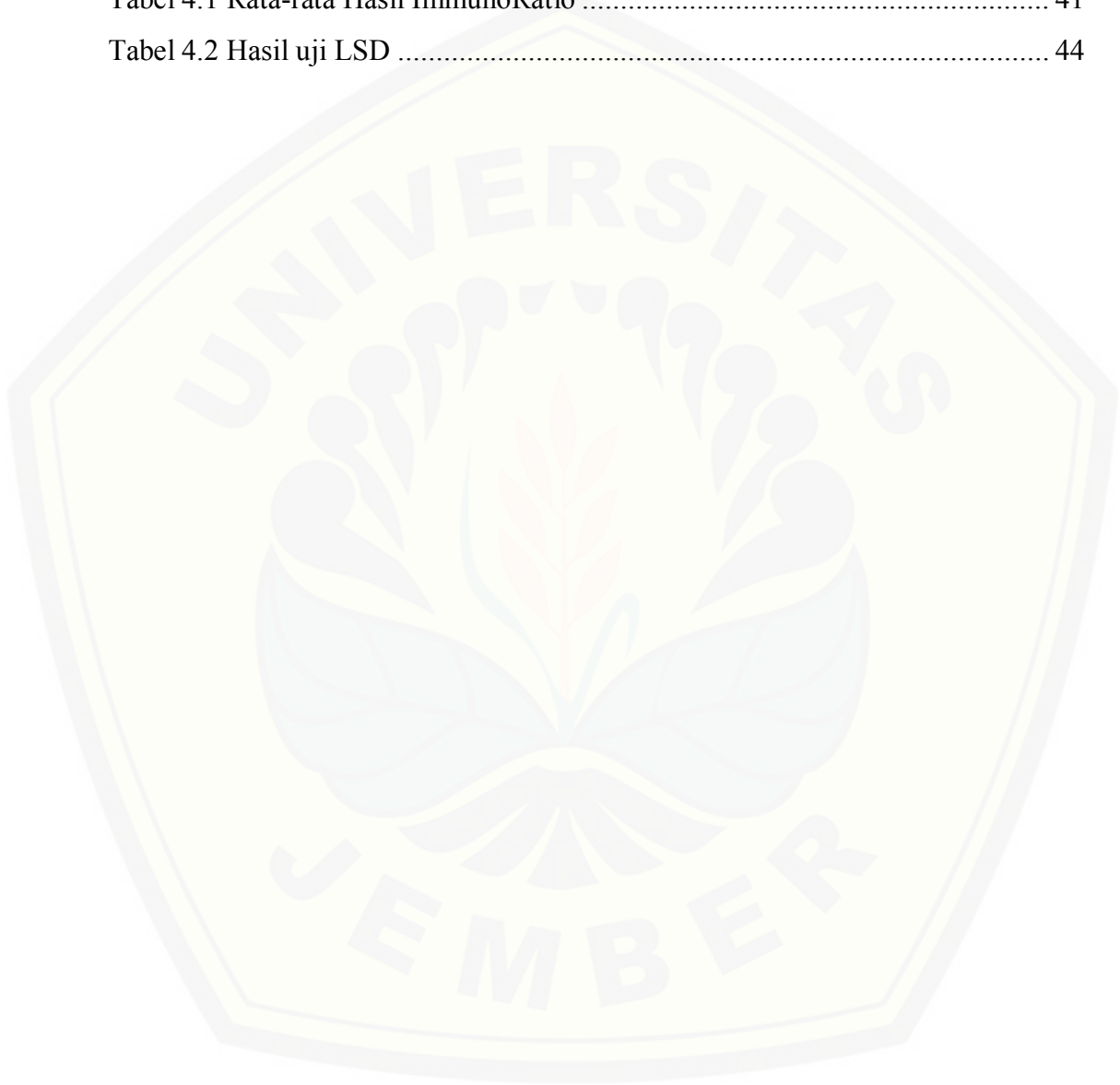
3.8 Bahan dan Alat Penelitian	29
3.8.1 Bahan Penelitian.....	29
3.8.2 Alat Penelitian.....	30
3.9 Bahan untuk Analisis	31
3.10 Prosedur Penelitian	31
3.10.1 Perijinan <i>Ethical Cleareance</i>	31
3.10.2 Persiapan Hewan Coba.....	31
3.10.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	32
3.10.4 Persiapan Geal Natrium Fluoride.....	32
3.10.5 Pemasangan <i>Coil Spring</i>	32
3.10.6 Pengambilan Jaringan Penelitian.....	33
3.10.7 Pembuatan Sediaan dan Pemeriksaan Imunohistikimia.....	34
3.11 Cara Pengolahan dan Analisis Data	38
3.12 Skema Prosedur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian	40
4.2 Analisis Data	42
4.3 Pembahasan	44
BAB 5. PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pergerakan Tipping.....	6
Gambar 2.2 Pergerakan Bodily	7
Gambar 2.3 Pergerakan Rotasi.....	8
Gambar 2.4 Pergerakan Vertikal Ekstrusi.....	9
Gambar 2.5 Pergerakan Vertikal Intrusi	9
Gambar 2.6 Pergerakan Torque.....	10
Gambar 2.7 Tampilan <i>ImmunoRatio</i> secara <i>online</i>	21
Gambar 2.8 Kerangka Konseptual.....	23
Gambar 3.1 Pemasangan <i>Closed Coil Spring</i>	33
Gambar 3.2 Ilustrasi Pemotongan Mesiodistal.....	36
Gambar 3.3 Alur Penelitian.....	39
Gambar 4.1 Diagram Hasil Rata-rata.....	40
Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Imunohistokimia dan Perhitungan <i>ImmunoRatio</i> ..	42

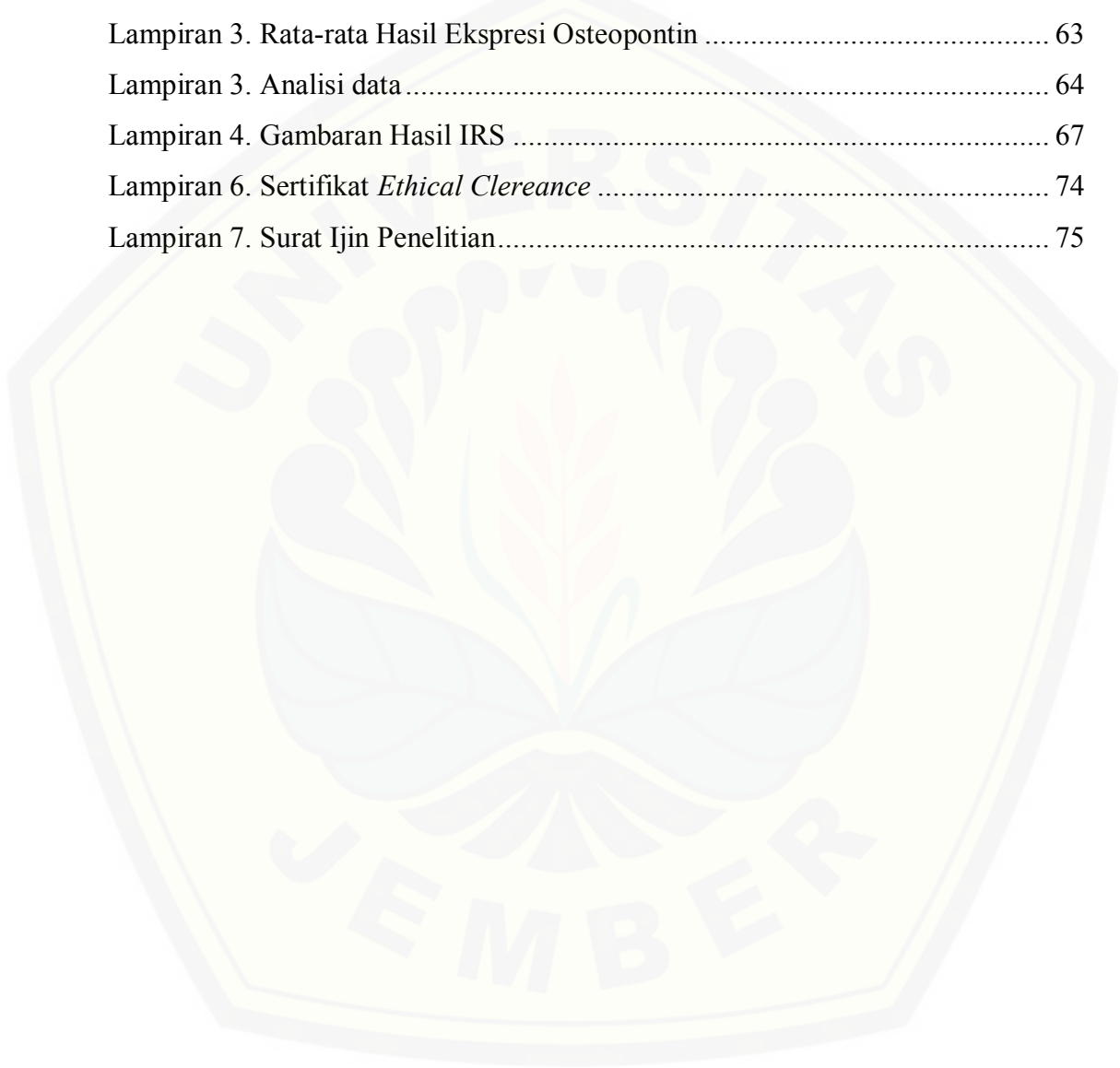
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kekuatan Optimal Pergerakan Gigi	10
Tabel 4.1 Rata-rata Hasil ImmunoRatio	41
Tabel 4.2 Hasil uji LSD	44



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Alat dan Bahan	55
Lampiran 2. Tabel Kekuatan Mekanik Ortodonti Optimal pada Hewan	62
Lampiran 3. Rata-rata Hasil Ekspresi Osteopontin	63
Lampiran 3. Analisi data	64
Lampiran 4. Gambaran Hasil IRS	67
Lampiran 6. Sertifikat <i>Ethical Clereance</i>	74
Lampiran 7. Surat Ijin Penelitian.....	75



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penampilan merupakan hal yang sangat diperhatikan di era modern ini, tidak terkecuali penampilan akan kerapian gigi. Oleh sebab itu banyak orang termotivasi melakukan perawatan ortodonti untuk merapikan gigi-gelignya sehingga penampilannya pun kian semakin baik (Yovela, 2009). Perawatan ortodonti selain bertujuan merapikan gigi juga bertujuan mengoreksi letak dan susunan gigi serta mencegah keadaan abnormal dari bentuk muka (Singh, 2007). Selain itu, perawatan ortodonti juga bertujuan untuk meningkatkan fungsi dan bicara (Rahardjo, 2009).

Untuk menggerakkan gigi yang ingin digerakkan diperlukan suatu aplikasi kekuatan mekanik ortodonti yang mengakibatkan resorpsi pada tulang alveolar di daerah tekanan pada ligamen periodontal, sedangkan terjadi pembentukan tulang pada daerah tarikan di ligamen peridontal (Roberts Harry D, 2004). Remodeling tulang berfungsi untuk mengatur keseimbangan antara pembentukan dan resorpsi tulang dimana sel osteoblas berperan dalam proses pembentukan tulang (Lopes, 2007). Sedangkan sel osteoklas lebih berperan dalam proses resorpsi tulang (Priyana, 2007). Selama proses resorpsi secara fisiologis, sel osteoklas menghasilkan osteopontin (Denhardt, 1993; Weber, 2001; Naldini, 2006).

Osteopontin merupakan fosfoprotein yang dikeluarkan oleh matriks ekstraseluler tulang (Oldberg, 1986). Tidak hanya osteoklas, sel – sel lain seperti kontrosid, osteoblast, makrofag, sel T aktive, sel otot halus dan sel epitel yang berada di beberapa jaringan seperti tulang, ginjal, plasenta, dan otot halus (Denhardt,1993; Weber,2001; Naldini,2006) juga mensekresi osteopontin. Osteopontin memiliki sekuan *arginin-glycin-aspartic acid* atau yang biasa disebut *polyaspartic acid* yang berperan dalam adesi sel yang dapat dikenali oleh integrin sel tulang yaitu $\alpha_v\beta_3$. Ikatan osteopontin dengan $\alpha_v\beta_3$, menyebabkan kemotaksis osteoklas maupun osteoblas bergerak ke arah resorpsi tulang (Ross, 1993), perlekatan dan *signaling* osteoklas (Chellaiah, 2003), dan untuk migrasi osteoklas

(Suzuki, 2002). Ekspresi mRNA osteopontin pada tulang terdeteksi tinggi di daerah resorpsi (Chen dkk, 1993).

Pasca perawatan ortodonti, gigi geligi yang sudah digerakkan menggunakan alat atau piranti ortodonti memiliki kecenderungan untuk kembali ke posisi semula atau lebih dikenal dengan istilah *relaps* sehingga kondisi gigi seperti sebelum dilakukan perawatan ortodonti yang mengakibatkan hilangnya hasil dari perawatan ortodonti. Meskipun pasien merasa perawatan telah usai karena alat telah dilepas, namun gigi mungkin masih belum stabil sehingga tekanan dari jaringan di sekitarnya menyebabkan terjadinya *relaps* (Proffit, 2007). Penyebab lain dari *relaps* adalah kegagalan menghilangkan penyebab maloklusi, kegagalan menyusun rencana perawatan yang baik, ukuran rahang dan harmoni yang tidak tepat, kontak yang tidak baik, dan disharmoni ukuran gigi (Moyers). *Relaps* juga dapat terjadi karena terjadi resorpsi tulang sembilan kali lebih besar daripada aposisi tulang saat mengalami pergerakan gigi (Indahyani, 2002).

Relaps dapat dicegah dengan menggunakan alat berupa *retainer* yang akan mencegah gigi tersebut kembali ke posisi sebelum dilakukan perawatan ortodonti (Alawiyah, 2012). *Retainer* digunakan selama kurang lebih 2 tahun untuk kestabilan oklusi (Iswari, 2012). Namun telah dilakukan penelitian menunjukkan 50% pasien mengalami relaps setelah 2 tahun memakai *retainer* dan 28% terjadi relaps setelah 5 tahun pemakaian *retainer* (Ren dan Vissink, 2008). Dalam pengukuran radiografi sefalometri lateral yang telah dilakukan menunjukkan 10% dari pasien mengalami relaps (Danz, 2012). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa terjadi relaps setelah perawatan ortodonti sebesar 52 kasus (26%) dari 200 kasus (Sheibani, 2010). Beberapa penelitian sebelumnya mengenai pergerakan gigi ortodonti yang bertujuan untuk meningkatkan proses aposisi tulang untuk mencegah *relaps* dapat dilakukan dengan mengkonsumsi vitamin D (Collins, 1988), pemberian relaxin (Liu, 2005) dan dengan pemberian *Sodium Fluoride* secara topikal (Sutjiati, 2016).

Fluoride dapat mempercepat pertumbuhan tulang (Farley., 1983; Hall, 1987; Aaron, 1991; Lau and Baylink, 1998) sehingga tulang memiliki integritas yang baik untuk mempertahankan posisi gigi yang telah dikoreksi (Gianelly, 1971). *Fluoride*

merupakan unsur kimia yang memiliki sifat paling elektronegatif diantara unsur – unsur yang lain sehingga *fluoride* tidak pernah ditemukan dalam bentuk bebas dan selalu berikatan dengan unsur lain membentuk garam *fluoride* (Thylstrup, 1986). *Fluoride* merupakan bahan alami yang ditemukan di kerak bumi. *Fluoride* di alam dapat ditemukan di tanah, batu, dan air (*USDA National Fluoride Database of Selected Beverages and Foods 2004*). Sumber utama dari penambahan *fluoride* di tubuh dapat didapat dari diet berupa air dan makanan. *Fluoride* sering digunakan dalam kedokteran gigi untuk mengurangi tingkat karies gigi. Dosis aman *fluoride* dalam bentuk gel yang digunakan pada perawatan secara topikal adalah sebesar 4000-6000 mg/kg *fluoride*. Sedangkan pada pasta gigi kandungan *fluoride* sebesar 1000 – 1500 mg/kg pasta gigi (Murray, 1986).

Sebelumnya pernah dilakukan penelitian mengenai efek pemberian *natrium fluoride* di daerah tarikan pada pergerakan gigi ortodonti dan didapatkan hasil terjadi peningkatan jumlah sel osteoblas pada daerah tarikan dengan pemberian *Natrium Fluoride* (Sutjiati, 2016), namun belum dilakukan penelitian pada daerah tekanan gigi setelah diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian *Natrium Fluoride*. Oleh karena itu perlu dilakukan peneliti tertarik untuk meneliti efek pemberian *Natrium Fluoride* pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti di daerah tekanan dengan melihat ekspresi osteopontin.

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat ditarik rumusan masalah adalah sebagai berikut.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang di atas, rumusan masalah yang dapat diteliti yaitu bagaimana ekspresi osteopontin di daerah tekanan pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian *Natrium Fluoride*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi osteopontin di daerah tekanan pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian *Natrium Fluoride*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu :

1. Memberikan informasi mengenai efek pemberian *Natrium Fluoride* terhadap ekspresi osteopontin di daerah tekanan gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti.
2. Dapat memberikan informasi mengenai manfaat *Natrium Fluoride*.
3. Dapat meningkatkan keberhasilan perawatan ortodonti.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pergerakan Gigi

Perawatan ortodonti merupakan perawatan di bidang kedokteran gigi yang bertujuan mendapatkan penampilan *dentofasial* yang baik secara estetik yaitu dengan menghilangkan susunan gigi yang berjejal, mengoreksi rotasi dari gigi – geligi, mengoreksi hubungan antar incisal dan juga memperbaiki hubungan oklusi agar memiliki hubungan oklusi yang baik (William, 2000).

Untuk dapat melakukan perawatan ortodonti, maka harus terjadi pergerakan gigi untuk mengembalikan posisi gigi yang menyimpang ke posisi gigi yang baik sesuai dengan oklusinya. Untuk menggerakkan gigi tersebut diperlukan alat ortodonti yang terdiri dari alat ortodonti cekat dan lepasan. Maka dari itu, pergerakan gigi merupakan basis dari perawatan ortodonti (William, 2000).

Pergerakan gigi dapat terjadi secara fisiologis dan patologis. Pergerakan gigi secara fisiologis terjadi pada gigi – geligi dalam perkembangan yaitu bergerak ke mesial, distal, dan anterior (Balajhi, 1997). Sedangkan pergerakan gigi patologis adalah berpindahnya posisi gigi akibat terganggunya keseimbangan antara faktor – faktor yang mempertahankan gigi secara fisiologis dengan penyakit periodontal (Foster, 1997).

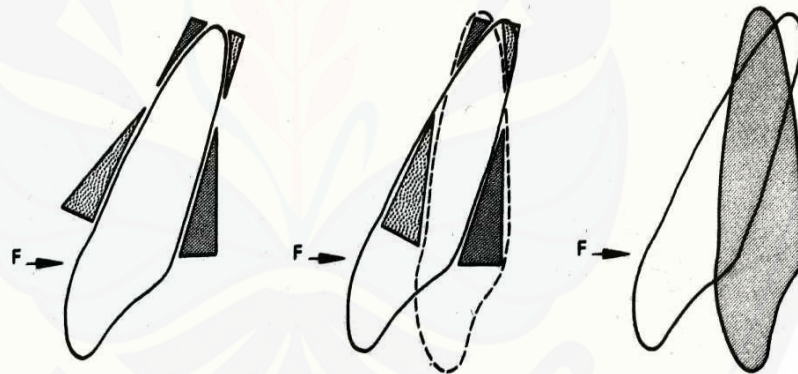
Ada beberapa konsep yang dikemukakan untuk menjelaskan mengenai mekanisme pergerakan gigi ortodontik, salah satunya adalah teori tekanan-tarikan. Teori tekanan-tarikan merupakan teori klasik mengenai pergerakan gigi yang mengubungkan pergerakan gigi dengan perubahan seluler yang dihasilkan oleh *messenger* kimiawi akibat perubahan aliran darah dalam ligamen periodontal. Bila mendapat tekanan, aliran darah akan berkurang, sedangkan ligamen periodontal yang mendapat tarikan, aliran darahnya akan bertambah. Hal ini menyebabkan level oksigen akan berkurang pada daerah tekanan dan akan bertambah pada daerah tarikan. Perubahan kimia ini akan menyebabkan pelepasan molekul biologis lainnya dan kemudian menstimulasi diferensiasi dan aktivitas seluler (Proffit, 2007; Singh, 2004; Meikle, 2006; Mulyani, 1994).

2.1.1 Jenis Pergerakan Gigi Secara Ortodonti

Menurut Mulyani, pergerakan gigi secara ortodonsia terdiri atas (Mulyani 1994)

a. Pergerakan *Tipping*

Pergerakan *Tipping* merupakan pergerakan gigi dimana gigi yang miring dapat ditegakkan dan begitu pula sebaliknya, gigi yang tegak dapat dimiringkan guna mendapatkan hasil yang baik dan juga oklusi yang harmonis sesuai dengan bentuk lengkung gigi. Tipe ini merupakan tipe pergerakan yang paling sederhana dan mudah dilakukan. Tekanannya diaplikasikan pada satu titik di mahkota gigi yang menyebabkan gigi miring menjauhi arah tekanan. Mahkota gigi bergerak searah dengan gaya, sedangkan apeks gigi bergerak berlawanan dengan arah gaya (Balajhi,1997; Foster,1997; William,2000). Pergerakan *Tipping* dapat dilihat pada gambar 2.1 di bawah ini.

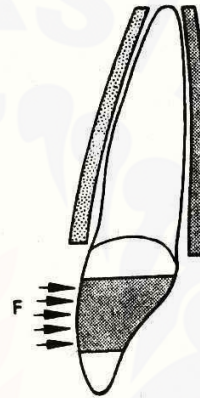


Gambar 2.1 Pergerakan *tipping*(Foster T.D Buku Ajar Ortodonti, Alih Bahasa Lilian Yuwono, 1997; 175)

Bila terjadi gerakan *tipping*, ligamen periodontal akan tertekan, namun tidak rusak, pembuluh darah masih vital dalam waktu 24 – 48 jam sesudah pemberian tekanan ortodonti. Osteoklas terlihat sepanjang permukaan tulang dan terjadi resorpsi pada daerah tekanan dan terjadi deposisi pada daerah tegangan (Bahirrah, 2004).

b. Pergerakan *Bodily*

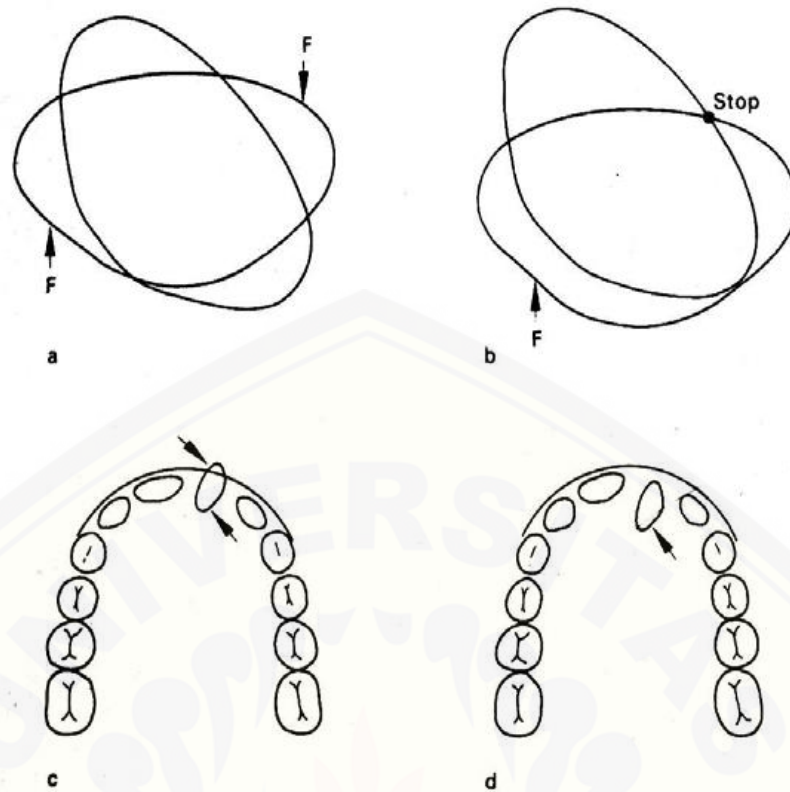
Pergerakan *Bodily* adalah pergerakan menyeluruh dari sebuah gigi ke posisi yang baru dengan jumlah tekanan yang setara pada seluruh bagian dari gigi. Tekanan harus diaplikasikan pada daerah mahkota yang lebar dan setiap pergerakan tilting harus dibatasi. Pergerakan ini menyebabkan resorpsi tulang terjadi pada daerah tekanan dan terjadi pembentukan tulang pada daerah tarikan (Foster, 1997). Untuk mengetahui pergerakan *bodily* dapat dilihat pada gambar 2.2 di bawah ini



Gambar 2.2 Pergerakan *Bodily* (Foster T.D Buku Ajar Ortodonti, Alih Bahasa Lilian Yuwono, 1997; 177)

c. Pergerakan Rotasi

Pergerakan rotasi merupakan gerakan gigi berputar pada sumbu panjangnya. Rotasi adalah suatu penjangkaran gigi yang sulit dilakukan dan sukar untuk dipertahankan. Rotasi gigi dalam soketnya membutuhkan aplikasi dengan tekanan ganda. Kekuatan pada gerakan rotasi berada pada satu titik dari mahkota dan juga untuk mencegah Bergeraknya bagian mahkota yang lain (Balajhi, 1997; Foster, 1997; William, 2000). Gambaran pergerakan rotasi dapat dilihat pada gambar 2.3 di bawah ini

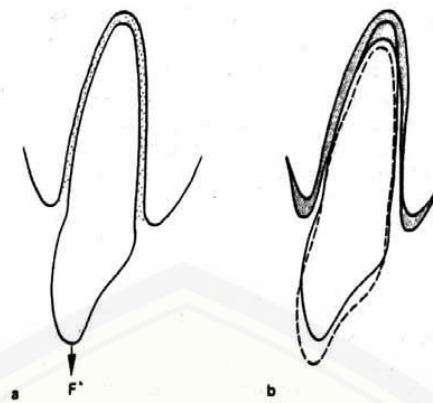


Gambar 2.3 Pergerakan rotasi (Foster T.D Buku Ajar Ortodonti, Alih Bahasa Lilian Yuwono, 1997; 176)

Pergerakan rotasi memiliki kecenderungan untuk relaps yang lebih besar, hal ini disebabkan serat – serat yang melekatkan gigi geligi ke tulang menjadi mudah terorganisasi kembali selama dan sesudah pergerakan gigi. Serat – serat yang menghubungkan dengan jaringan gingiva masih utuh, hanya mengalami distorsi selama pergerakan gigi dan sebagian besar serat – serat gingival tersebut meregang (Foster, 1997).

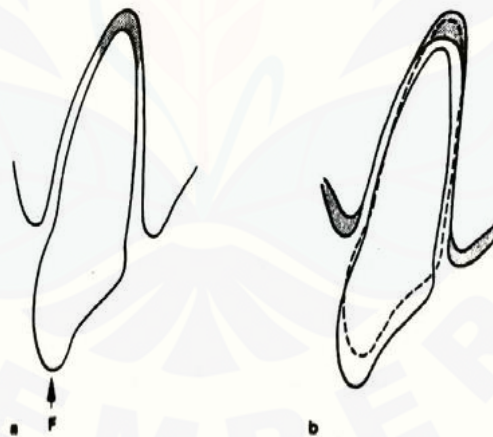
d. Pergerakan Vertikal

Pergerakan ini ada dua jenis yaitu pergerakan ekstrusi dan intrusi yang mana kedua pergerakan ini memperoleh kekuatan dengan arah yang berlawanan. Ekstrusi merupakan pergerakan gigi yang keluar dari alveolus dimana akar mengikuti mahkota. Ekstrusi ini dapat terjadi tanpa resorpsi dan deposisi tulang yang dibutuhkan untuk pembentukan kembali pendukung gigi. Pergerakan ekstrusi biasanya mengakibatkan tarikan pada seluruh struktur pendukung (Foster,1997;Bahirrah,2004). Pergerakan vertikal ekstrusi dapat dilihat pada gambar 2.4 di bawah ini.



Gambar 2.4 Pergerakan vertikal ekstrusi (Foster T.D Buku Ajar Ortodonti, Alih Bahasa Lilian Yuwono, 1997; 179)

Intrusi merupakan pergerakan gigi ke dalam alveolus. Hal ini menyebabkan resorpsi tulang, terutama di sekitar apeks gigi. Dalam gerakan ini, terjadi daerah tekanan pada seluruh struktur jaringan pendukung, sehingga tidak ada daerah tarikan (Bahirrah, 2004). Gambaran pergerakan vertikal intrusi dapat dilihat pada gambar 2.5 di bawah ini.



Gambar 2.5 Pergerakan vertikal intrusi (Foster T.D Buku Ajar Ortodonti, Alih Bahasa Lilian Yuwono, 1997; 179)

e. Pergerakan *Torque*

Pergerakan *torque* merupakan pergerakan akar gigi dengan hanya pergerakan sedikit mahkota. Pergerakan ini menyebabkan terjadinya resorpsi pada daerah tekanan dan pada daerah tarikan akan terjadi aposisi yang mengakibatkan gigi miring di sekitar apeksnya (Foster,1997;Bahirrah,2004). Gambaran pergerakan torque dapat dilihat pada gambar 2.6 di bawah ini.



Gambar 2.6 Pergerakan *torque* (Foster T.D Buku Ajar Ortodonti, Alih Bahasa Lilian Yuwono, 1997;178)

Pada tabel berikut ini akan menggambarkan kekuatan optimal yang dapat diberikan untuk mendapatkan berbagai pergerakan gigi

Tabel 2.1 Kekuatan optimal untuk pergerakan gigi (Profit WR; Fields HR; Ackerman JL; Contemporary Orthodontics, 1986;236).

Tipe Pergerakan Gigi	Kekuatan gr/cm ²
Tipping	50 – 75
Bodili	100 – 150
Rotasi	50 – 75
Ekstrusi	50 – 75
Intrusi	15 – 25
Torque	75 – 125

2.2 Tulang

2.2.1 Definisi Tulang

Tulang merupakan bentuk kaku dari jaringan ikat yang membentuk sebagian besar kerangka vertebrata yang lebih tinggi. Jaringan tulang terdiri atas sel – sel dan matriks intersel. Matriks mengandung unsur organik seperti serat - serat kolagen, dan juga mengandung unsur anorganik. Garam – garam anorganik yang membuat tulang menjadi kaku adalah kalsium fosfat, kalsium karbonat, sedikit kalsium florida, dan juga magnesium florida. Sedangkan yang berperan menambah kekuatan tulang adalah serat – serat kolagen (Leeson, 1996).

2.2.2 Struktur Tulang

a. Sel – sel Tulang

Tulang memiliki empat jenis sel (Leeson, 1996; Conrad , 2009; Eroschenko, 2003), yaitu :

1) Sel Osteogenik

Sel osteogenik merupakan sel sel induk pluripoten yang belum berdiferensiasi yang berasal dari jaringan ikat mesenkim. Biasanya ditemukan pada permukaan tulang di lapisan dalam periosteum, pada endoestium, dan dalam saluran vaskular. Sel ini memiliki dua jenis, yaitu preosteoblas dan preosteoklas. Preosteoblas merupakan sel yang akan menghasilkan osteoblas yang memiliki sedikit retikulum endoplasma. Sedangkan osteoklas merupakan sel yang akan menghasilkan osteoklas dan memiliki banyak ribosom (Leeson, 1996).

2) Osteoblas

Osteoblas berfungsi membuat, menyekresikan dan mengendapkan unsur organik matriks tulang baru yang disebut osteoid. Osteoblas mengandung enzim fosfatase alkali yang menandakan bahwa sel – sel ini tidak hanya berhubungan dengan pembuatan matriks, namun juga mineralisasinya. Osteoid merupakan matriks tulang yang belum mengapur karena baru dibentuk dan tidak mengandung mineral. Namun tidak lama setelah

deposisi, osteoid mengalami mineralisasi dan menjadi tulang (Leeson, 1996).

3) Osteosit

Osteosit merupakan osteoblas yang terpendam dalam matriks tulang. Dengan menggunakan mikroskop elektron, akan memperlihatkan bahwa osteosit dan cabangnya tidak melekat langsung pada matriks disekitarnya, tetapi terpisah dari dinding lakuna dan kanalikuli oelh daerah amorf tipis. Daerah ini berfungsi sebagai medium pertukaran metabolit (Leeson, 1996).

4) Osteoklas

Osteoklas merupakan sel multinuklear besar yang terdapat di sepanjang permukaan tulang yang terjadi resorpsi, remodeling, dan perbaikan tulang. Osteoklas sering terdapat di dalam sebuah lekuk dangkal pada tulang yang teresorpsi atau terkikis secara enzimatik yang disebut Lakuna Howship. Osteoklas awalnya berada di dalam tulang yang berasal dari prekursor mirip monosit. Sel ini mengeluarkan kolagenase dan enzim proteolitik lain yang menyebabkan matriks tulang melepaskan bagian substansi dasar yang mengapur. Setelah proses resorpsi, osteoklas akan mengihilang untuk berdegenerasi (Leeson, 1996).

Osteoblas dan osteoklas diproduksi di sumsum tulang dan terbentuk melalui dua garis diferensiasi CFU (*colony formation unit*) yang berbeda. Pembentukan osteoklas malaliu CFU-GM (granulosit-makrofag) mengikuti garis diferensiasi hematopoietik. Untuk pembentukan osteoblas melalui CFU-F (fibrosit) mengikuti garis diferensiasi mesensimal pada stroma sumsum tulang. Pembentukan osteoblas dapat berlangsung secara independen tanpa memerlukan interaksi dengan progenitor osteoklas. Namun sebaliknya, dalam pembentukan osteoklas membutuhkan interaksi yang kompleks dengan pregenitor osteoblas, dimana diferensiasi CFU-GM menjadi osteoklas tidak dapat berlangsung tanpa interaksi seluler komponen sel – sel stroma yang memproduksi osteoblas (Epstein, 1995; Tolar J, 2004; Bezerra, 2005).

b. Matriks Tulang

Matriks tulang secara umum tersusun dalam lapisan – lapisan atau lamel – lamel setebal 3 – 7 mm. Lamel – lamel tersebut adalah hasil peletakan matriks yang terjadi secara ritmik. Serat dalam lamel tersusun sejajar satu dengan yang lain dalam bentuk pilinan atau helix. Pada puncak pilinan, beralih dalam lamel sebelahnya dengan sudut 90° (Leeson, 1996).

2.3 Remodeling Tulang

Aplikasi gaya ortodonti pada gigi geligi mengakibatkan resorpsi pada tulang alveolar di daerah tekanan pada ligamen periodontal, sedangkan terjadi pembentukan tulang pada daerah tarikan di ligamen peridontal (Roberts-Harry dan Sandy, 2004). Tulang akan mengalami proses remodeling secara konstan. Remodeling tulang merupakan suatu proses yang kompleks meliputi resorpsi tulang dan pembentukan tulang. Dalam remodeling tulang, membutuhkan 3 sel yang berperan yaitu osteoklas, osteoblas, dan juga osteosit (Wongdee, 2011).

2.3.1 Peran Osteoblas dan Osteoklas dalam Remodeling Tulang

Proses remodeling merupakan dua tahapan dari aktivitas seluler yang terjadi secara siklik, yakni resorpsi tulang oleh osteoklas dan formasi tulang oleh osteoblas. Osteoklas akan meresorpsi melalui proses asidifikasi dan digesti proteolitik. Setelah osteoklas meninggalkan daerah resorpsi, osteoblas akan menginvasi area tersebut dan memulai proses formasi dengan cara sekresi osteoid yang selanjutnya mengalami mineralisasi. Kecepatan resorpsi dan formasi tulang berlangsung dalam kecepatan yang sama sehingga masa tulang tetap konstan (Epstein, 1995; Tolar J, 2004; Bezerra, 2005).

Dengan pemberian gaya mekanis, osteosit berperan sebagai mekanoreseptor untuk mendeteksi perubahan aliran *bone fluid* dalam *bone canaliculi*, serta meresponnya melalui sinyal transmisi menuju osteoblas. Setelah itu, osteoblas menstimulasi diferensiasi osteoklas dan meresorpsi tulang (Wongdee, 2011). Resorpsi dan pembentukan tulang selama pergerakan gigi secara ortodonti tergantung pada arah, besar, dan lamanya gaya mekanis diberikan. Jika pemberian

bahan mekanis yang berlebihan, maka akan menekan jaringan periodontal, sehingga akan terjadi trombosis, kematian sel, dan hyalinisasi (Meikle, 2006).

2.3.2 Faktor – faktor yang Mempengaruhi Remodeling Tulang

Aktivitas resorpsi dan formasi tulang dipengaruhi oleh berbagai faktor sistemik yang kompleks. Keseimbangan antara aktivitas osteoklastik dan osteoblastik dipengaruhi oleh pasokan hormon steroid yang konstan pada sel – sel tulang. Gangguan dalam regulasi nampak jelas pada penuaan dan keadaan defisiensi estrogen (Epstein, 1995; Riggs, 1987). Selain dipengaruhi oleh hormon, juga dipengaruhi oleh usia dan keadaan menopause. Faktor faktor resiko yang juga mempengaruhi massa dan densitas tulang adalah densitas tulang awal yang dibawa ketika lahir dan ketersediaan kalsium (Monroe, 2003). Faktor lain yang berperan adalah vitamin D. Suplementasi vitamin D terbukti meningkatkan kepadatan tulang, bahkan pada wanita yang sudah menopause (Jackson, 2006). Ada juga hormon paratiroid yang dapat meningkatkan resorpsi tulang dengan cara melepaskan kalsium dari matrik tulang ke dalam sirkulasi darah untuk menjaga kadar kalsium di dalam darah agar tetap dalam keadaan normal (Grey, 1999). Selain itu, sitokin dan enzim juga berperan sebagai koregulator maupun koreseptor dalam diferensiasi maupun aktivitas sel – sel tulang (Monroe, 2003).

2.4 Fluor

Fluor merupakan elemen kimia yang bersifat elektronegatif di antara semua elemen – elemen kimia. Karena bersifat elektronegatif, fluor tidak pernah ditemukan dalam bentuk elemen bebas. Pada umumnya, fluor bersama – sama dengan elemen lain membentuk garam – garam fluoride (Thylstrup, 1996).

2.4.1 Sumber Fluor

a. Fluor di Lithosphere

Fluor di dunia tersedia dalam jumlah yang sangat bebas yang sebagian besar terikat pada mineral dan senyawa kimia lainnya secara biologis dan tidak terdapat dalam bentuk ion bebas (WHO, 1994). Pada bukit kapur terdapat 300 – 700 ppm fluor dan 4700 ppm pada bukit kapur

yang lunak (Thylstrup, 1996).. Konsentrasi fluor dalam tanah berbeda – beda. Konsentrasinya bertambah menurut kedalamannya. Di daerah pegunungan yang sangat tinggi, kandungan fluor dalam tanah biasanya rendah (WHO, 1994).

b. Fluor dalam Air

Semua air mengandung fluor dalam konsentrasi yang berbeda – beda. Air dengan kandungan fluor tinggi biasanya ditemukan di kaki gunung dan di daerah yang secara geologis terdiri dari endapan yang berasal dari laut. Air laut mempunyai kandungan fluor sebesar 0,81 mg/liter. Sedangkan kandungan fluor dalam air yang berasal dari danau, sungai, atau sumur buatan kadarnya di bawah 0,5 mg/liter. Adanya perbedaan kadar fluor disebabkan perbedaan keadaan hidrologi setempat (WHO, 1994).

c. Fluor di Udara / Polusi

Polusi fluor dapat terjadi pada lingkungan pertambangan, pembuangan industri, pembakaran batu bara, pupuk dan pestisida yang tidak disertai perlindungan. Sumber utama polusi fluor adalah pertambangan dan industri. Masalah yang muncul pada daerah pertambangan phosphat dan fluorospar adalah saat debu yang kaya akan fluor tertiuip angin, lalu menempel pada tanaman, yang kemudian dapat memasuki rantai makanan (WHO, 1994).

d. Fluor dalam Makanan dan Minuman

Fluor dalam makanan berasal dari tumbuh – tumbuhan yang dipengaruhi oleh konsentrasi fluor dalam air yang terdapat di tempat tumbuhan tersebut tertanam. Misalnya dalam kentang, kapri, tomat, jeruk, apel, dan strobery terdapat 0,1 mg/kilogram (WHO, 1994). Jika pada tanaman teh antara 3,2 – 4 mg/kilogram, sedangkan jika diseduh dapat mengandung fluor hingga 8,6 mg/liter tergantung lamanya penyeduhan dan jumlah serta jenis teh yang digunakan. Fluor dalam makanan dan minuman yang diolah dipengaruhi oleh konsentrasi fluor air yang digunakan saat pengolahan (Thylstrup, 1996).

e. Fluor pada Penyulingan dan Instalasi Penjernihan Air Minum Rumah Tangga

Kegiatan industri tertentu dapat meningkatkan kandungan fluor pada mata rantai pengolahan makanan. Proses seperti penyulingan dapat menurunkan kandungan fluor dalam makanan. Beberapa alat untuk memproses air rumah tangga yang kerjanya dengan proses osmosa balik justru merugikan karena penggunaan alat tersebut dapat membersihkan fluor dari air. Kandungan fluor dalam air kemasan bervariasi tergantung dari asal sumber air yang digunakan (Thylstrup, 1996).

2.4.2 Cara Penggunaan Fluor

Konsumsi fluor sesuai kebutuhan sangat menguntungkan, namun jika dikonsumsi dalam jumlah yang berlebihan juga dapat merugikan. Kebutuhan akan fluor ini sesuai dengan konsep dose respons. Dengan mempertimbangkan manfaat dan kerugian yang diakibatkan oleh fluor, maka pemakainnya harus hati – hati. Pemberian fluor dapat dilakukan dengan cara :

- a. Sistemik yaitu dengan melalui fluoridasi air minum, garam, susu, dan tablet fluor.
- b. Topikal aplikasi dengan bahan – bahan tertentu yang dilakukan oleh dokter gigi atau tenaga kesehatan lainnya. Dan topikal aplikasi untuk masyarakat dapat berupa pemakaian pasta gigi dan kumur – kumur dengan larutan yang mengandung fluor (Agtini, 2005).

Fluor di dalam air minum mempengaruhi gigi dan tulang. Ion fluoride akan menggantikan ion hidroksida pada hidroksiapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)\text{OH}$ yang merupakan suatu mineral penting dalam penyusunan enamel gigi dan tulang. Menurut batasan yang dikeluarkan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 1985, ion fluor memiliki efek menguntungkan jika kadarnya sekitar 0,7 mg/L, namun dapat membahayakan jika kadarnya melebihi 1,5 mg/L. Pada rentangan kadar antara 1 – 1,5 mg/L akan cukup untuk memperkuat enamel gigi. Jika rentang kadar fluor antara 1,5-4 mg/L dapat menyebabkan dental fluorosis, dan jika terpapar fluor dengan kadar 4 – 10 mg/L dalam jangka waktu yang lama dapat terjadi tulang

fluorosis. Kondisi ini akan menyebabkan tulang menjadi rapuh dalam menyangga tubuh (Slade, 2013).

Fluor dapat mempengaruhi osteoblas dan osteoklas secara *in vivo* dan *in vitro*, salah satunya dalam bentuk natrium fluoride (NaF). NaF merupakan suatu agen anabolik yang mampu meningkatkan massa tulang, meskipun mekanismenya masih belum diketahui (Farley et al, 1983;. Hall, 1987;. Aaron et al, 1991; Lau dan Baylink, 1998). *Natrium Fluoride* dapat menghambat aktivitas osteoklas dengan konsentrasi antara 0,15-30 mg/L (Taylor, 1990). Fluor juga sering digunakan dalam kedokteran gigi untuk mengurangi tingkat karies gigi. Dosis aman fluor dalam bentuk gel yang digunakan pada perawatan secara topikal adalah sebesar 4000-6000 mg/kg fluoride. Sedangkan pada pasta gigi kandungan fluoride sebesar 1000 – 1500 mg/kg pasta gigi (Murray, 1986).

2.5 Osteopontin

Osteopontin (OPN) merupakan suatu glikoprotein yang terfosforilasi yang biasa disebut dengan *bone sialoprotein 1* (Zhang, 1990). Osteopontin memiliki sekuen *arginin-glysin-aspartic acid* atau yang biasa disebut dengan *polyaspartic acid* yang berperan penting dalam adesi sel yang dapat dikenali oleh integrin sel tulang yaitu $\alpha_v\beta_3$ (Ross, 1993). Integrin merupakan suatu reseptor adhesi pada permukaan sel (Hynes, 1992). Ikatan osteopontin dengan $\alpha_v\beta_3$ menyebabkan kemotaksis osteoklas maupun osteoblas ke arah resorpsi tulang (Ross, 1993), selain itu juga menyebabkan perlekatan dan signaling osteoklas (Chelliaiah, 2003) dan juga untuk migrasi osteoklas (Suzuki, 2002). Osteopontin dalam tulang mempengaruhi keseimbangan dalam pembentukan dan resorpsi tulang. Osteopontin menghambat deposisi mineral dengan diferensiasi osteoklas dan meningkatkan aktivitas osteoklas (Standal, 2004).

Osteoklas berkembang dari sel prekursor yaitu monosit atau makrofag menjadi sel multinukleat dari resorpsi tulang. Maturasi dan diferensiasi dari makrofag menjadi osteoklas tergantung oleh sekresi atau ekspresi dari sel stromal atau osteoblas, kelompok faktor stimulasi makrofag (M-CSF) dan reseptor untuk aktivasi NF- κ B (RANKL) (Teitelbaum,2000).

Osteopontin tidak seperti essential faktor dalam perkembangan osteoklas selama perkembangan tulang normal, distribusi osteoklas dan juga osteopontin juga normal. Osteopontin berperan penting dalam osteoklastogenesis. PTH yang menginduksi signal RANKL secara normal diantaranya peningkatan jumlah serta aktivasi osteoklas, namun peningkatan ini mengganggu keberadaan osteopontin (Liaw, 1998).

Bahan osteopontin berperan penting dalam fungsi osteoklas. Sekuen RGD pada osteopontin akan berikatan dengan integrin $\alpha_v\beta_3$ dari osteoklas yang mengakibatkan perlekatan osteoklas pada daerah resorpsi dan selanjutnya akan meresorpsi tulang (Ross, 1993). Ikatan sekuen RGD dari osteopontin dengan integrin $\alpha_v\beta_3$ juga diperlukan prekursor osteoklas untuk melakukan proliferasi membentuk osteoklas yang multinukleus (Miyamoto, 2000) dan menstimulasi ekspresi CD44 pada permukaan sel osteoklas yang berfungsi untuk mobilitas osteoklas di daerah resorpsi (Chelliaiah, 2003).

Osteopontin tidak hanya disekresi oleh osteoklas. Sel lain seperti sel T, makrofag, NK cells, dan osteoblas juga dapat mensekresi osteopontin. Beberapa mediator inflamasi dan faktor pertumbuhan seperti IL-1, TNF- α dan PDGF juga dapat menstimulasi transkripsi osteopontin melalui aktivitas protein kinase C (Denhardt, 2001). Namun, ekspresi mRNA osteopontin terdeteksi dengan kadar yang tinggi pada osteoklas (Merry, 1993)

2.6 Imunohistokimia

Teknik Imunohistokimia merupakan suatu metode yang memiliki tujuan untuk mengidentifikasi sel – sel spesifik berdasarkan komponen antigenik atau produk selulernya dengan reaksi kompleks antigen-antibodi. Imunohistokimia digunakan sebagai dasar penegakan diagnosis dan identifikasi tipe sel berdasarkan sitomorfologi. Pemeriksaan ini sering dilakukan pada kasus-kasus tumor atau keganasan (Baratawidjaya, 2000; Leong, 1993). Selain itu, imunohistokimia juga sering digunakan untuk penelitian guna mengetahui distribusi dan lokasi biomarker ataupun protein terekspresi pada berbagai macam jaringan tubuh (Ramos-Vera, 2005)

Imunohistokimia merupakan penggabungan antara pemeriksaan histologi atau sitologi dengan imunologi. Metode pewarnaan substansi atau bahan aktif di dalam jaringan menggunakan prinsip dasar imunologi yaitu dengan pengikatan bahan aktif atau antigen pada sisi aktif yang spesifik oleh anti bahan aktif atau antibodi. Hasil reaksi ini dapat diidentifikasi pada spesimen jika antibodi diikat oleh suatu penanda atau marker yang dapat berupa fluoresin, enzim, bahan partikel, atau isotop yang dapat divisualisasikan, sehingga dapat menandai keberadaan bahan aktif dalam jaringan. Bahan aktif dapat berupa protein, karbohidrat, asam nukleat, lemak, bahan – bahan alami lainnya serta bahan sintetik (Nurhidayat, 2002; Setijanto, 2002). Pemeriksaan imunohistokimia memiliki kemampuan yang tinggi untuk memisahkan, menseleksi, dan bersifat spesifik. Pemeriksaan ini untuk mendeteksi adanya antigen, hal ini dikarenakan adanya ikatan spesifik antara antigen dan antibodi (Ambari, 2003; Roitt, 1989; Haines, 1991).

2.6.1 Antibodi

Antibodi merupakan bahan penting dalam imunohistokimia dalam mendeteksi suatu bahan aktif. Molekulnya seperti huruf Y, dimana kedua tangannya memiliki sisi ikat dari antibodi yaitu Fab. Ada 2 macam antibodi yaitu antibodi monoklonal dan antibodi poliklonal. Antibodi monoklonal merupakan suatu antibodi yang murni mengandung satu jenis antibodi untuk satu sisi antigenik yang khas dari antigen tersebut. Antibodi monoklonal ini memiliki spesifitas yang tinggi karena hanya akan mengikat satu jenis antigenik saja dari suatu antigen, sehingga penggunaan antibodi ini sangat rawan terhadap kehilangan antigenik pada antigen yang akan diikat. Antibodi monoklonal biasa digunakan untuk reagen diagnostik dan untuk keperluan penelitian imunohistokimia dengan spesifitas yang sempit, sehingga tidak terjadi reaksi silang dengan antigen lain. Pada proses fiksasi preparat yang umumnya menggunakan formalin dapat mempengaruhi keberadaan antigenik yang dapat bereaksi dengan antibodi tersebut, sehingga jika antigenik yang spesifik terhadap antibodi tersebut hilang karena proses fiksasi, maka ikatan antara antibodi dan antigen tidak dapat terjadi. Biasanya titer antibodi monoklonal pada pewarnaan imunohistokimia lebih tinggi dibandingkan dengan antibodi poliklonal (Nurhidayat, 2002).

Antibodi poliklonal memiliki spesifitas yang lebih rendah dibandingkan dengan antibodi monoklonal, namun afinitasnya dalam berikatan dengan antigen lebih tinggi. Antibodi poliklonal merupakan campuran antibodi-antibodi yang berasal dari beberapa antigenik spesifik dari suatu antigen, sehingga antibodi ini lebih toleran terhadap kehilangan satu atau lebih antigenik spesifik akibat proses yang dilalui preparat tersebut. Ikatan antara antigen dan antibodi masih mungkin terjadi dengan antigenik yang masih tersisa pada antigen tersebut. Proses pembuatan antibodi ini relatif murah dan lebih mudah dibandingkan dengan antibodi monoklonal, dan umumnya lebih stabil terhadap perubahan pH dari medianya. Namun tetap ada kemungkinan terjadi reaksi silang dengan antigen yang lain karena antibodi ini berasal dari beberapa antigenik spesifik dari antigen. Tidak seperti antibodi monoklonal yang tidak memungkinkan terjadi reaksi silang dengan antigen yang lain (Nurhidayat, 2002)

2.6.2 Kromogen

Kromogen merupakan suatu bahan yang dapat mem-visualisasikan substansi penanda pada ikatan immunokomplek pada pewarnaan imunohistokimia. Bahan ini biasanya dicampurkan dengan substrat dari enzim penanda sebelum digunakan. Bahan kromogen yang sering digunakan adalah *3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride* (DAB). DAB dapat memvisualisasikan warna coklat pada penggunaan penanda peroksidase. DAB juga memiliki ikatan yang sangat kuat dengan peroksida sehingga dengan proses dehidrasi dan *clearing* tidak akan mengalami perubahan warna. Namun, DAB ini memiliki sifat karsinogenik, sehingga perlu hati hati dalam penggunaannya. Bahan kromogen lain adalah *3-amino-9-ethylcarbazol* yang memberi warna merah, sedangkan *4-cloro-1-naphthol* yang memberi warna biru (Nurhidayat, 2002).

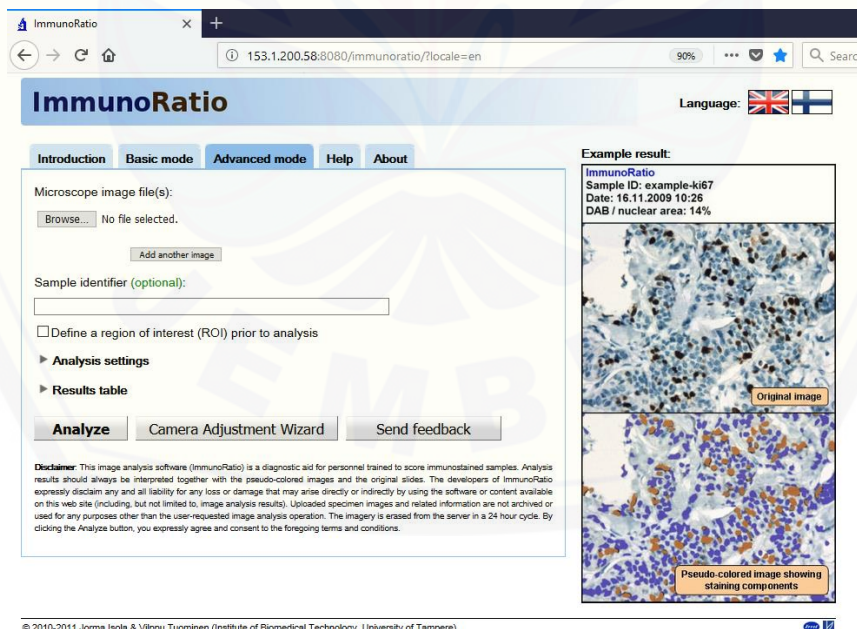
2.6.3 Counterstain

Counterstain bertujuan untuk memvisualisaikan detil jaringan selain bagian yang terwarnai secara imunohistokimia. Jika bagian sitoplasma yang terwarnai,

maka inti sel perlu di *counterstain*. Jika bagian yang terwarnai adalah inti sel, maka sitoplasma sel perlu di *counterstain*. Bahan yang biasa digunakan adalah *haematoxilin*. Pewarnaan imunohistokimia disertai dengan *counterstain* dapat menunjukkan detail lokasi immunopositif disertai detail jaringan sekitarnya (Nurhidayat, 2002)

2.7 ImmunoRatio (IRS)

ImmunoRatio adalah suatu metode analisis yang dapat diterapkan pada pewarnaan Imunohistokimia (IHC), dimana melalui analisis IRS ini dapat diketahui ekspresi marker tertentu sesuai keinginan peneliti melalui warna coklat yang terlihat saat dilakukan identifikasi preparat Imunohistokimia. IRS ini dapat digunakan secara bebas dengan cara *online* melalui internet (Gambar 2.7). Selain itu IRS juga dapat diakses *offline* sebagai *plugin* dari perangkat lunak pengolahan citra ImageJ 1.46 yang merupakan perangkat lunak pengolahan citra yang dapat digunakan oleh semua sistem operasi komputer (Ferreira T A dan Rasband W, 2012).

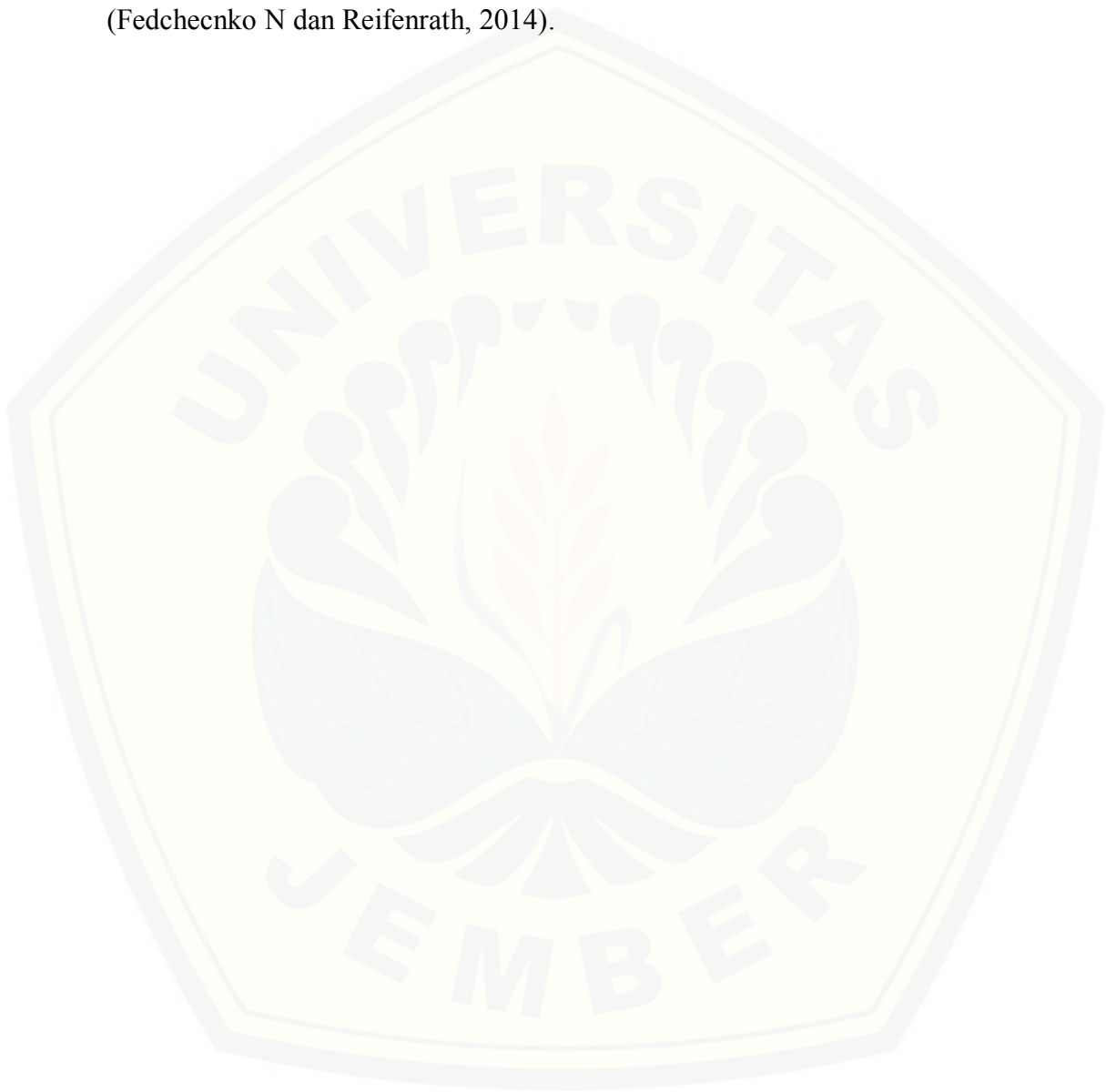


© 2010-2011 Jorma Isola & Villeppu Tuominen (Institute of Biomedical Technology, University of Tampere)

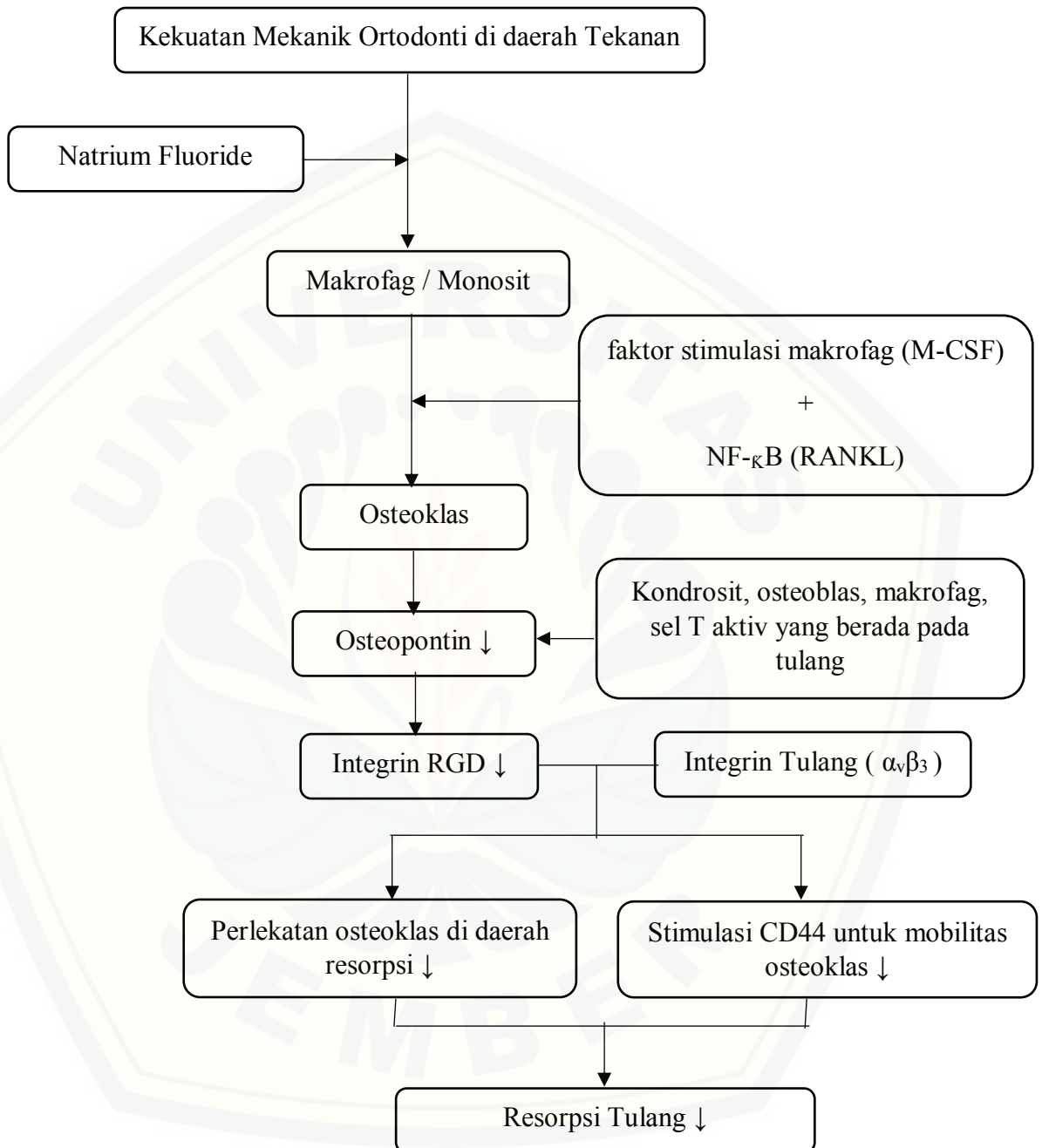
Gambar 2.7 Tampilan *ImmunoRatio* secara *online*

Namun metode IRS ini memiliki kekurangan yaitu bila pewarnaan IHC tidak homogen maka akan terjadi bias pada perhitungan marker yang diinginkan. Selain pewarnaan yang tidak homogen, adanya artefak-artefak yang terbentuk

akibat pewarnaan yang tidak baik juga dapat mempengaruhi hasil perhitungan IRS. Maka dari itu, dalam melakukan pewarnaan IHC harus dilakukan dengan metode yang benar agar warna dapat homogen serta menghindari terbentuknya artefak yang dapat mengganggu keakuratan saat dilakukan analisis dengan *ImmunoRatio* (Fedcheenko N dan Reifenrath, 2014).



2.8 Kerangka Konseptual



Gambar 2.8 Kerangka Konseptual

2.8.1 Penjelasan Kerangka Konseptual

Dengan adanya kekuatan mekanik ortodonti pada daerah tekanan akan menimbulkan inflamasi sehingga mengaktifkan makrofag dan monosit yang merupakan sel prekursor dari osteoklas. Maturasi dan difetensiasi osteoklas dari makrofag atau monosit dipengaruhi oleh kelompok faktor stimulasi makrofag (M-CSF) dan reseptor untuk aktivasi NF- κ B (RANKL). Osteoklas yang matur akan mensekresi osteopontin untuk aktivitas sel osteoklas itu sendiri. Osteopontin memiliki integrin RGD yang jika berikatan dengan integrin Tulang ($\alpha_v\beta_3$) akan menyebabkan perlekatan osteoklas di daerah resorpsi dan juga stimulasi CD44 untuk mobilitas osteoklas sehingga menyebabkan resorpsi dari tulang. Dengan penambahan *Natrium Fluoride* ini diharapkan terjadi penurunan osteoklas yang mengakibatkan sekresi osteopontin berkurang sehingga resorpsi dari tulang menurun.

2.9 Hipotesis

Ekspresi osteopontin di daerah tekanan pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti dengan pemberian *Natrium Fluoride* lebih rendah daripada tidak diberi *Natrium Fluoride* pada tulang alveolar tikus wistar jantan.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris. Sampel maupun perlakuan diharapkan terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan dapat dipercaya. Penelitian jenis ini merupakan suatu penelitian yang bertujuan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memanipulasi atau mengintervensi variabel dalam satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat, kemudian membandingkannya dengan kelompok kontrol yang tidak dilakukan perlakuan atau dimanipulasi (Notoadmodjo, 2010)

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized post test only control group design*, yaitu rancangan penelitian yang memungkinkan peneliti untuk mengetahui efek perlakuan dan tanpa perlakuan pada unit eksperimen (Notoadmodjo, 2010). Pengukuran variabel dilakukan setelah hari ke – 7 dan hari ke – 14. Dalam penelitian eksperimental ini terdapat perlakuan dan pengulangan (replikasi) serta terdapat kontrol pembandingan (Hienz dkk, 2015).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di :

- a. Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- b. Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember
- c. Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember
- d. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- e. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2017 hingga Februari 2018

3.4 Sampel Penelitian

3.4.1 Subyek penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar jantan dengan berat 200 – 250 gram dengan kondisi tikus dalam keadaan sehat.

3.4.2 Besar sampel penelitian

Besar sampel ditentukan berdasarkan jumlah ulangan yang dianggap telah cukup baik dengan menggunakan rumus (Daniel, 2009) :

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

Keterangan :

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

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat diterima (σ) 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, jumlah sampel masing-masing kelompok adalah sebesar 4 ekor. Pada penelitian ini terbagi secara acak 2 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan waktu pemeriksaan hari ke-7 dan hari ke-14, sehingga besar sampel yang diperlukan sebanyak 20 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok.

3.4.3 Syarat Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai persyaratan kondisi fisik sehat dan tidak mengalami kelainan :

a. Jenis kelamin jantan

Pemilihan jenis kelamin ini ditujukan untuk menghindari pengaruh dari hormon – hormon seks wanita (estrogen) terhadap aktivitas osteoklas dan osteoblas.

b. Umur dewasa dan berat badan ideal

Umur dewasa dengan berat badan 200 – 250 gram diharapkan mempunyai proses remodeling yang adekuat dan juga untuk menghindari pengaruh hormon – hormon pertumbuhan.

c. Pakan yang sesuai dan seragam

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

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *Natrium Fluorideide* secara topikal

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah osteopontin

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini antara lain:

- a. Jenis hewan coba
- b. Umur hewan coba berat badan hewan coba
- c. Tatalaksana pemeliharaan hewan coba
- d. Jenis dan bahan anastesi

- e. Lokasi gigi dan pergerakan gigi
- f. Cara pemberian dan dosis bahan perlakuan
- g. Waktu evaluasi
- h. Metode pemeriksaan

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 *Natrium Fluoride*

Natrium Fluoride yang digunakan awalnya dalam bentuk bubuk lalu dibuat dalam bentuk gel dengan dosis 11,75 ppm yang diaplikasikan secara topikal ke dalam sulkus gingiva (Sutjiati,2016).

3.6.2 Ekspresi Osteopontin

Ekspresi osteopontin pada penelitian ini dilihat di daerah tekanan dengan pewarnaan Imunohistokimia dan dilakukan perhitungan dengan software *Immuno Ratio* dengan hasil persentase (%) yang didapatkan dari perbandingan warna coklat yang tervisualisasi oleh pewarna DAB yang terpilih dengan total luas area seluruh lapang pandang (Tuominen dkk, 2010).

3.6.3 Kekuatan Mekanik Ortodonti

Kekuatan mekanik ortodonti yang diberikan dalam penelitian ini diaplikasikan pada insisif central tikus wistar untuk menggerakkan gigi insisif ke arah distal dengan menggunakan *NiT iclosed coil spring* sebesar 10 gram/cm² (Ren, 2003; Lampiran 2) yang ekuivalen dengan 10 cN (Sella, 2012) dengan diukur menggunakan tension gauge (Sutjiati,2016).

3.7 Konversi Dosis

3.7.1 Dosis *Fluoride*

Bahan *fluoride* yang digunakan adalah *Natrium Fluoride* bentuk gel dengan dosis 11,75 ppm yang merupakan sediaan *fluoride* yang aman untuk tikus wistar yang digunakan dalam penelitian ini dengan berat sebesar 200-250 gram.

Pengaplikasian Natrium *Fluoride* pada pada tikus wistar dilakukan 2 kali sehari, yakni, pada pagi dan sore hari (Sutjiati,2016).

3.7.2 Dosis Bahan Anastetikum

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, 2015)

- a. Dosis ketamin yang digunakan :

Konsentrasi 10% Ketamin

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

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

Rumus = (Dosis x Berat) : Konsentrasi

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

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

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

- b) Dosis Xylazine yang digunakan :

Konsentrasi 2 % Xylazine

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

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

Rumus = (Dosis x Berat) : Konsentrasi

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

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

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

3.8 Bahan dan Alat Penelitian

3.8.1 Bahan Penelitian

- Hewan coba tikus Wistar jantan
- Natrium *Fluoride* 11,75 ppm dalam bentuk gel
- Kawat ortodonsi
- Bahan kawat *stainless steel*
- Semen Glass Ionomer Tipe IX (Fuji IX)

- f. Bahan anestetikum : Ketamin dan Xyla
- g. EDTA 10%
- h. Carbopol 1%
- i. TEA 3%
- j. Propilenglicol 3%
- k. Etanol
- l. *Paraffin*
- m. Alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut
- n. *Xylol*
- o. *Phosphate buffer saline (PBS)*
- p. Asam nitrat
- q. Asam sitrat
- r. HCL
- s. NaCl
- t. NaOH
- u. Buffer fosfat
- v. *Aquadest*
- w. Akuabides
- x. Formalin 10%
- y. *Haematoxyllim Eosin*
- z. Antibodi monoklonal anti-rat
- aa. Minuman dan makanan standar untuk hewan coba

3.8.2 Alat Penelitian

- a. Kandang peliharaan hewan coba
- b. Tempat makan dan tempat minum hewan coba
- c. *Disposable spuit*
- d. Timbangan analitik
- e. Kotak kaca
- f. *Scalpel*
- g. Gunting

- h. Tabung reaksi
- i. Pipet
- j. Botol squat
- k. Mikroskop cahaya
- l. Kamera
- m. Slide
- n. *Round bur*
- o. *Closed coil spring*
- p. *Low speed*
- q. *Stainless steel ligature wire*
- r. *Tension gauge (ormco)*
- s. *Deck glass* dan *obyek glass*
- t. Sarung tangan dan masker

3.9 Bahan unuk Analisis

- a. Bahan – bahan pemeriksaan imunohistokimia yaitu bahan ekspresi osteopontin
- b. Aquades untuk menghilangkan kelebihan cat
- c. Haematoxylin

3.10 Prosedur Penelitian

3.10.1 Perijinan *Ethical Cleareance*

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

3.10.2 Persiapan Hewan Coba

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

3.10.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi 5 kelompok sebagai berikut:

- a. Kelompok A (4 ekor) merupakan kelompok yang tidak diberi kekuatan mekanis ortodonti dan tidak diberi perlakuan.
- b. Kelompok B (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanis ortodonti selama 7 hari.
- c. Kelompok C (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanis ortodonti selama 14 hari.
- d. Kelompok D (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanis ortodonti berupa pemasangan *NiTi closed coil spring* dengan pemberian *fluoride* selama 7 hari.
- e. Kelompok E (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi kekuatan mekanis ortodonti berupa pemasangan *NiTi closed coil spring* dengan pemberian *fluoride* selama 14 hari.

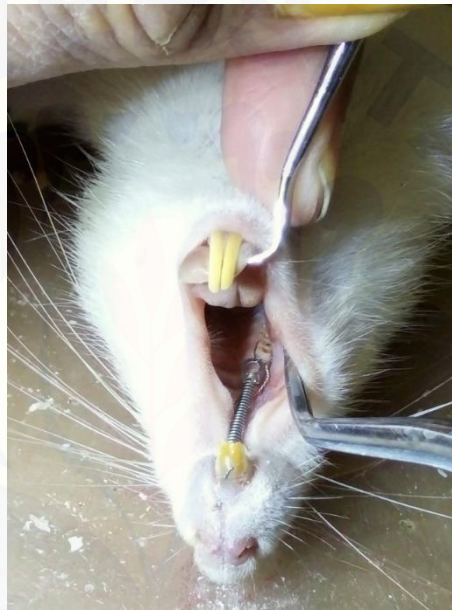
3.10.4 Persiapan Gel Natrium *Fluoride* (NaF) 11,75 ppm

Natrium *Fluoride* (NaF) diperoleh dalam bentuk bubuk berwarna putih yang diproses menjadi bentuk gel. Pembuatan gel dilakukan dengan mencampurkan NaF sebanyak 11,75 mg, carbopol sebanyak 1%, TEA sebanyak 3%, dan Propilen sebanyak 3% dalam 1 liter aquadest steril menggunakan mortal dan alu (Rowe dkk, 2009)

3.10.5 Pemasangan *coil spring*

- a. Selama prosedur pemasangan dan aktivasi *NiTi closed coil spring* berdiameter 0,010 inch dilakukan injeksi intramuskuler pada tikus dengan larutan ketamine dan xyla dengan perbandingan 1: 2 masing – masing sebesar 0,15 – 0,18 ml.
- b. Sebelum dipasang kekuatan *NiTi closed coil spring* diukur dengan menggunakan *tension gauge* untuk menghasilkan kekuatan sebesar 10 gr/cm² (Sella, 2012).

- c. Sebuah *ni-ti closed coil spring* diletakkan di antara gigi insisif sentral rahang atas dan molar pertama kiri rahang atas untuk menggerakkan insisif central ke arah distal. Piranti ini difiksasi dengan 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi insisif sentral rahang atas melalui sebuah lubang yang dibuat dengan *round bur* pada sisi disto vertical dengan 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi molar pertama. Untuk meningkatkan retensi, diaplikasikan *glass ionomer cement* (Sella, 2012).



Gambar 3.1 Pemasangan *closed coil spring* (Koleksi Pribadi,2017)

- d. Hewan coba pada kelompok D dan E merupakan hewan coba yang diberi perlakuan gel NaF 11,75 ppm secara topikal ke dalam sulkus gingiva dengan syringe modifikasi sebanyak 0,5 ml dua kali sehari. Pemberian NaF pada hewan coba dilakukan setelah hewan coba diberi makan (Sutjiati,2016).

3.10.6 Pengambilan Jaringan Penelitian

Dilakukan dekaputasi hewan coba kelompok A pada hari ke- 1 setelah adaptasi lingkungan , kelompok B dan D pada hari ke-8 dan kelompok C dan E pada hari ke-15. Euthanasia hewan coba dilakukan dengan injeksi ketamin over dosis secara intramuskular. Pengambilan jaringan dilakukan dengan menggunakan knable tang dan scalpel pada bagian anterior rahang atas. Pemotongan jaringan ini

dilakukan di atas papan gabus. Jaringan yang diambil untuk penelitian harus segar artinya, jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan coba dilakukan euthanasia (Muntiha, 2001).

3.10.7 Tahap Pembuatan Sediaan dan Pemeriksaan Imunohistokimia

a. Perendaman Jaringan dengan Larutan Buffered Neutral Formalin 10%.

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

b. Perendaman larutan dekalsifikasi

Dilakukan dekalsifikasi pada jaringan dengan menggunakan EDTA 10% selama 21 – 30 hari. Proses dekalsifikasi bertujuan untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, dan memudahkan dalam proses pemotongan. Jaringan dicuci dengan PBS 3 - 5x untuk membersihkan dari kontaminan (Santoso, 2006). Proses dekalsifikasi selesai ditandai dengan jaringan yang sudah lunak (Muntiha, 2001).

c. Pemrosesan Jaringan

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

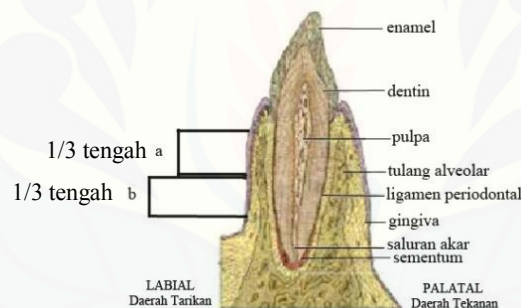
- a) Alkohol 70 % = ± 15 menit
- b) Alkohol 80 % = 1 jam
- c) Alkohol 95 % = 2 jam
- d) Alkohol 95 % = 1 jam
- e) Alkohol 100 % = 1 jam
- f) Alkohol 100 % = 1 jam
- g) Alkohol 100 % = 1 jam (Universitas Jember, 2006).

- 2) Clearing yaitu proses penjernihan menggunakan bahan clearing seperti xylol, toluel, dan benzen. Pada penelitian ini menggunakan xylol. Tahapan clearing sebagai berikut :
 - a) Xylol = 1 jam
 - b) Xylol = 2 jam
 - c) Xylol = 2 jam (Universitas Jember, 2006).
- 3) Impregnasi yaitu proses infiltrasi bahan embedding dalam jaringan pada suhu 56°-60°C, caranya jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel, kemudian dimasukkan ke dalam bahan embedding yaitu paraffin TD 56°-60°C. Tahapan impregnasi sebagai berikut :
 - a) Paraffin (56°-68°C) = 2 jam
 - b) Paraffin (56°-68°C) = 2 jam
 - c) Paraffin (56°-68°C) = 2 jam (Universitas Jember, 2006).
- 4) Pembuatan Blok Jaringan (*embedding*)

Embedding merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan embedding, yaitu paraffin, cellulose, dan tissue text. Pada penelitian ini menggunakan paraffin TD 56°-60°C. Tahapan *embedding* sebagai berikut :

 - a) Mempersiapkan alat cetak blok parafin dan meletakkan alat cetak tersebut di tempat dengan permukaan rata.
 - b) Tuangkan paraffin cair (TD 56°-60°C) ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi dengan *surgical* yang kita inginkan dan jangan lupa diberi label sampel, tunggu beberapa menit sampai paraffin beku (Universitas Jember, 2006).
- 5) Tahapan Penyayatan Jaringan
 - a) Olesi obyek glass dengan meyer egg albumin dan tempelkan blok paraffin pada blok holder mikrotom dengan bantuan pemanasan.

- b) Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya bersihkan pisau mikrotom dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan xylol dengan arah tegak lurus.
- c) Atur ketebalan sayatan mikrotom antara 4-6 μm , atau sesuai kebutuhan.
- d) Ambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan diatas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56°-58°C hingga sayatan mekar.
- e) Ambil sayatan yang telah mekar dengan obyek glass yang telah diolesi dengan meyer egg albumin, dan keringkan dengan *hotplate* dengan suhu sekitar 30-35°C, minimal selama 12 jam (Universitas Jember, 2006).



Gambar 3.2 Ilustrasi pemotongan mesiodistal pandangan lingual

- 6) Pengecatan dan pembacaan imunohistokimia
 - a) Sediaan dilakukan deparafinisasi preparat dengan larutan *xylene* sebanyak tiga kali masing-masing selama 3 menit.
 - b) Rehidrasi dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95% dan etanol 70% masing- masing selama dua menit, satu menit dan terakhir dengan air selama satu menit.
 - c) *Object glass* direndam dengan *peroxidase blocking solution* pada suhu kamar selama 10 menit.
 - d) Inkubasi preparat dalam *prediluted blockingserum* 25°C selama 10 menit.

- e) Preparat direndam di dalam antibodi monoklonal Osteopontin 25°C selama 10 menit.
- f) Preparat dicuci dengan *phosphatase buffer salien* (PBS) selama 5 menit.
- g) Inkubasi preparat dengan antybody sekunder pada suhu 25°C selama 10 menit.
- h) Preparat dicuci dengan *phosphatase buffer salien* (PBS) selama 5 menit.
- i) Inkubasi preparat dengan *peroxidase* pada suhu 25°C selama 10 menit.
- j) Preparat dicuci dengan *phosphatase buffer salien* (PBS) selama 5 menit.
- k) Inkubasi preparat dengan kromoden diaminobenzidine (DAB) pada suhu 25° C selama 10 menit.
- l) Inkubasi preparat *Hematoxylin* selama 3 menit.
- m) Preparat dicuci dengan air mengalir.
- n) Preparat dibersihkan dan ditetesi dengan mounting media kemudian ditutup dengan *cover glass*.
- o) Pengamatan hasil ekspresi osteopontin dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Penghitungan dilakukan pada daerah tekanan menggunakan software analisis *ImmunoRatio*. (Fedchecenko N dan Reifenrath, 2014). Ekspresi osteopontin dianalisis melalui warna coklat oleh DAB yang terlihat saat dilakukan identifikasi preparat Imunohistokimia (Fedchecenko N dan Reifenrath, 2014). Warna coklat yang dipilih berdasarkan dengan ukuran yang tertera pada software *Immuno Ratio* yang disesuaikan dengan ukuran sel yang ingin dilihat (Mungle dkk, 2016). Hasil persentase (%) didapatkan dari perbandingan warna coklat oleh DAB yang terpilih dengan total luas area seluruh lapang pandang (Tuominem dkk, 2010).

Pengambilan gambar dilakukan pada 3 lapang pandang yang berbeda pada daerah tekanan untuk tiap-tiap preparat.

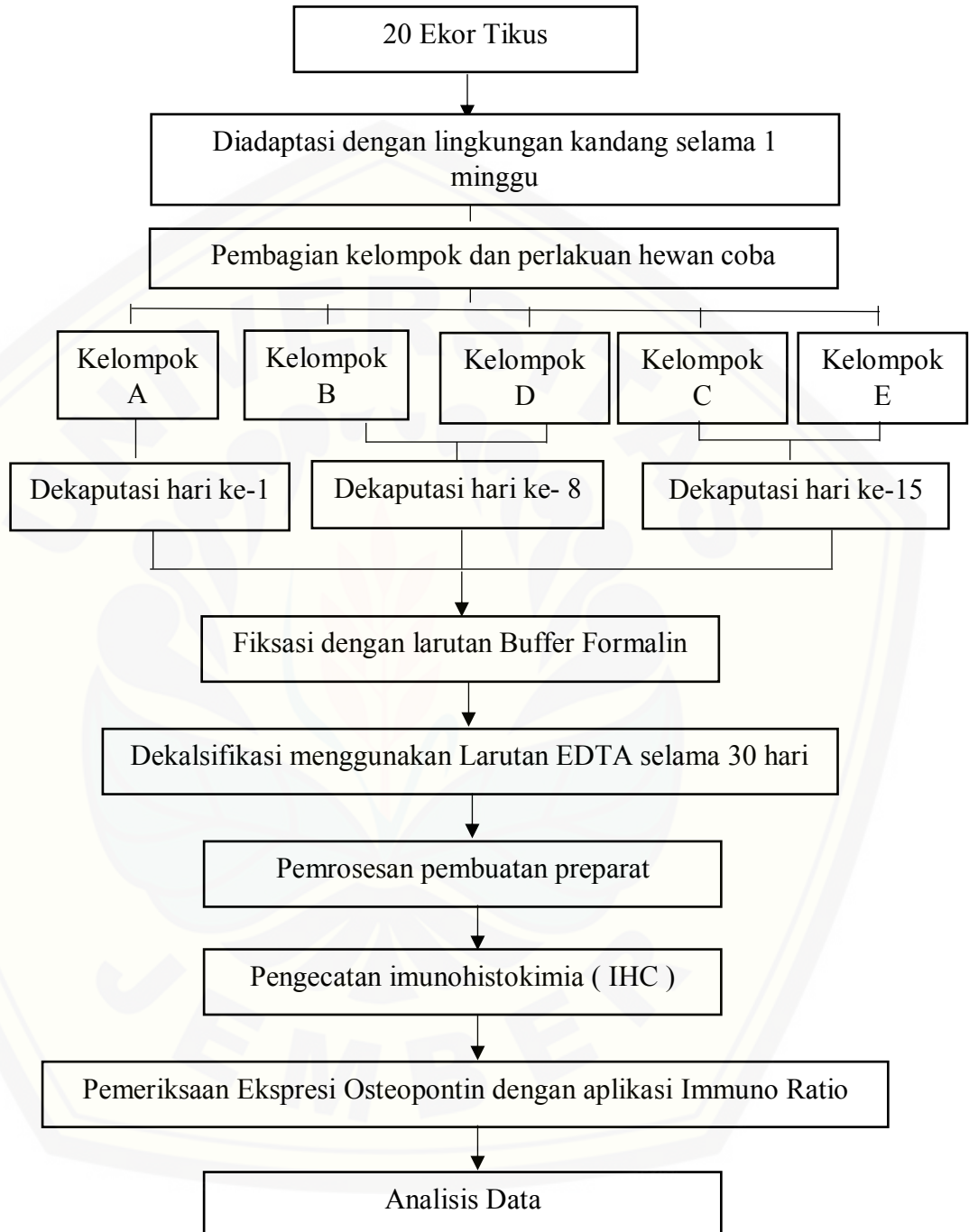
3.11 Cara Pengolahan dan Analisis Data

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

- a) Uji normalitas untuk menguji variabel yang diperiksa dalam penelitian berdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro Wilk*
- b) Uji homogenitas untuk menyatakan bahwa data antar kelompok memiliki matriks kovarians yang homogen menggunakan uji *Levene*
- c) Analisis varian, data berdistribusi normal dan homogen 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 deviasinya serta foto-foto.

3.12 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 3.3 Alur Penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekspresi osteopontin di daerah tekanan pada gigi yang diberi kekuatan mekanik ortodonti 10 gr/cm² dengan pemberian *Natrium Fluoride* (NaF) 11,75 ppm lebih rendah daripada tidak diberi *Natrium Fluoride* pada tulang alveolar tikus wistar jantan (*Rattus Norvegicus*).

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh *Natrium Fluoride* (NaF) dengan variable lain yang berpotensi dapat menurunkan proses resorpsi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis yang bervariasi agar diketahui dosis yang paling efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Aaron, J.E., de Vernejoul, M.C., Kanis, JA. 1991. The effect of sodium fluoride on trabecular architecture. *Bone* 12, 307-310.
- Alawiyah, Tuti dan Pricillia Priska Sianita. 2012. Retensi Dalam Perawatan Prtodonti. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi*, 29-35.
- Alfaqeeh, S.A., Anil, S. 2011. Lactate Dehydrogenase Activity In Gingival Crevicular Fuid as a Marker In Orthodontic Tooth Movement. *Open Dent J*, 5:105-9.
- Agtini, M. 2005. Fluor dan Kesehatan Gigi.
- Amabari, E. 2003. Deteksi Antigen Toxoplasma dengan teknik Imunohistokimia pada Abortus Spontan. *Tesis. Fakultas Kedokteran. Semarang.*
- Balajhi, S. 1997. *Orthodontics the Art and Science 1ed.* New Delhi: Arya (Medi) Publishing House.
- Bahirrah, S. 2004. Pergerakan Gigi dalam Bidang Ortodonsia Cekat. *Repository, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara.*
- Baratawidjaya, K. 2000. *Imunologi Dasar Edisi 4 Pemeriksaan Sistem Imun.*
- Bezerra, M.C., Charvalho, J.P., Prokopowitsch, A.S., Pereira, P.M.R. 2005. *RANK, RANKL and osteoprotegerin in arthritic bone loss.* Retrieved from Braz J Med Biol Res: <http://www.scielo.br/pdf/bjmbr/v38n2/5600.pdf>.
- Chelliaiah, M., Kizer, N., Biswas, R. 2003. Osteopontin Deficiency Produces Osteoclast Dysfunction Due to Reduce CD44 Surface Expression. *Mol Biol Cell*, 14(1) 173-89.
- Chen, J. Singh K., Mukherjee B.B., Sodek J. 1993. Developmental Expression of osteopontin (OPN) mRNA in rat tissue: evidence a role for osteopontin organisation in bone formation and resorption. 13: 113-23
- Collins, M.K., Sinclair P.M. 1988. The local use of vitamin D to increase the rate of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 94(40) : 278-84
- Conrad, E. 2009, Nov 17. *Structure of Bone.* Retrieved from <http://homepage.mac.com/myers/misc/bonefiles/bonestruct.html>

- Daniel, W. 2009. *Biostatistic Fpundation for Analysis in The Health Science (th Edition)*. United States of America.
- Danz, J.C., Greuter, C., Sifakakis., Fayed, M., Pandis, N., Katsaros, C. 2012. Stability and Relapse After Orthodontic Treatment of Deep Bite Cases—a Long-Term Follow-Up Study. *European Journal of Orthodontics*
- Denhardt, D.T dan Gou X. 1993. Osteopontin : A Protein with Diverse Functions. *FASEB J*, 1475-82.
- Denhardt, D.T., Noda, M., O'Regan, A.W., Pavlin, D., Berman, J.S. 2001. Osteopontin as a Means to Cope with Environmental Insults: Regulation of Inflammation, Tissue Remodeling, and Cell Survival. *J Clin Invest*, 1055-61.
- Epstein, F. 2 Feb 1995. *Bone Marrow. Cytokines, and Bone Remodeling*. Retrieved from <http://content.nejm.org/cgi/reprint/332/5/305.pdf>.
- Eroschenko, V. 2003. *Atlas Histology Di Fiore dengan Korelasi Fungsional (Edisi Kesembilan)*. Jakarta: EGC.
- Farley, J.R. Wergwdal, J.E., Baylink, D.J. 1983. Fluoride directly stimulates proliferation and alkaline phosphatase activity of bone-forming cells. *Science*, 330-332.
- Fedchenko N dan Reifenrath J. 2014. Different Approaches for Interpretation and Reporting of Immunohistochemistry Analysis Result in The Bone Tissue – A Review. *Creative Commons Attribution License*. 9 : 221
- Ferreira T.A. dan Rasband W. 2012. “The ImageJ user guide, Version 1.43 [EB/OL]”, Diakses pada 5 Februari 2018 dari <http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/user-guide.pdf>
- Foster, T. 1997. *Buku Ajar Ortodonti Edisi 3*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Grey, A. 1999. *A role for interleukin-6 in parathyroid hormone-induced bone resorption in vivo*. Retrieved from Endo: <http://endo.endo-journals.org/cgi/reprint/140/10/4683>
- Gianelly, A.A. dan Goldman. 1971. *Biologic Basis of Orthodontics I ed*. Philadelphia: Les & Febiger.
- Haines, M.D., B.J, Chelack. 1991. Technical Considerationssm For Developing Enzyme Immunohistochemical Staining Precedure On Foemalin – Fixed Paraffin- Embedded Tissue for Diagnostic Pathology. *J Vet*, 101-112.

- Hall, B.K. 1987. Sodium fluoride as an initiator of osteogenesis from embryonic mesenchyme in vitro. *Bone* 8, 111-116.
- Hartiningih, A. 2015. Suplementasi Calcitriol Menurunkan Risiko Osteoporosis Tikus Ovariectomi. *FKH Universitas Gajah Mada*.
- Herniyati. 2016. Analisis VEGF pada Pergerakan Gigi Ortodonti setelah pemberian seduhan kopi robusta (*coffeacanephora*). *Jurnal Teknosains*. 5(2):146-81.
- Herschel, S. 2007. The need for toothpaste with Lower than konvensional fluoride concentrations for Preschool-aged Children. *Journal of Public Health Dentistry*, 216-221
- Hynes, R. 1992. Integrins: Versatility, modulation, and Signaling in cell Adhesion. *Cell*, 69:11-25.
- Indahyani, Didin Erma., Al-Supartinah, S., Totok, U., Marsetyawan, H.N.E. 2007. Pengaruh Induksi Lipopolisakarida (LPS) terhadap Osteopontin Tulang Alveolaris Tikus pada masa Erupsi Gigi. *Indonesian Journal of Dentistry*, 2-7.
- Indahyani, Didin Erma. 2002. Manfaat asam lemak omega 3 polysaturated pasca perawatan ortodonti. *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi*. Edisi Khusus Foril: 357-61.
- Iswari,H. 2012. Relaps dan pencegahannya dalam Ortodonti. *Widya*. 29(319):53-8
- Jackson, R. 16 Feb 2006. *Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures*. Retrieved from N Engl J Med: <http://content.nejm.org/cgi/reprint/354/7/669.pdf>
- Koseki, T., Gao, Y., Okahashi, N. 2002. Role of TGF-beta family in osteoclastogenesis induced by RANKL. *Cell Signal*. 14(1), 31-36.
- Lau, K.H dan Baylink D.J. 1998. Molecular mechanism of action of fluoride on bone cells. *J Bone Miner Res*, 1660-1667.
- Leeson, C. 1996. *Buku Ajar Histologi (Edisi Kelima)*. Jakarta: EGC.
- Leong, A. 1993. *Applied Immunohistochemistry for the Surgical Pathologist*. London: Edward Arnold.
- Liaw, L., Birk, D.E., Ballas, C.B. 1998. Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). *J Clin Invest*, 1468-78.

- Liu, Z.J., King G.J., Gu G.M., Shin J.Y., Stewart D.R. 2005. Does Human relaxin accelerate orthodontic tooth movement in rats?. *Ann N Y Acad Sci.* 1041: 388-94
- Lopes J, Fonseca, J., Canhao, H. 2007. Osteoblast and Bone Reformation . *Acta Reumatol Port*, 103-10.
- Meikle, M. 2006. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod*, 28:221-40.6.
- Merry, K., Doods, R., Littlewood, A., Gowen, M. 1993. Expression of Osteopontin mRNA by Osteoclasts and Osteoblast in Modelling Adult Human Bone. *J Cell Sci*, 1013-20.
- Miyamoto, T. 2000. An Adherent Condition is Required for Formation of Multinuclear Osteoclasts in The Presence of Macrophage Colony-Stimulating Factor and Receptor Activator of Nuclear Factor kB Ligand. *Blood*, 96 (13) 4335 - 43.
- Monroe, D.G., Secreto, F.J., Spelberg, T.C. 1 Agustus 2003. *Overview of estrogen action in osteoblast: role of the ligand, the receptor, and the co-regulators.* Retrieved from J Musculoskel Neuron Interact: <http://www.ismni.org/jmni/pdf/14/31SPELSBERG.pdf>
- Moyers, R.E. 1988. Handbook of Orthodontics. 4th Edition. Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago, London, Boca Raton.
- Mulyani. 1994. *Biomekanik Pergerakan Gigi*. Jakarta: Widya Medika.
- Mungle T., Suman T., Indu A., Bijan ., Sanjit ., Rosina ., Sanjoy ., Asok K.M., Chandan C. 2016. Automated characterization and counting of ki-67 protein for breast cancer prognosis: a quantitative immunohistochemistry approach. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 18: 169-146
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*.
- Murray, J. 1986. Appropriate Use of Fluorides for Human Health. *World Health Organization*.
- Naldini, Leali, D., Pucci, A. 2006. IL-1 Medicates the Proangiogenic Activity of Osteopontin Activated Human Monocytes. *J Immunol*, 4267-70.
- Notoadmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Nurhidayat. 2002. Deteksi Bahan Aktif dengan Metode Immunohistokimia. *Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.*
- Oldberg, A., Franzen, A., Heinegard, D. 1986. Cloning and Sequence Analysis of Rat Bone Sialoprotein (Osteopontin) cDNA Reveals an Arg-Gly-Asp cell binding Sequence. *Proc Natl Acad Sci*, 8819-23.
- Priyana, A. 2007. Peran Pertanda Tulang dalam Serum pada Tatalaksana Osteoporosis.
- Proffit, W. 2007. *Contemporary Orthodontics 5th ed.* St. Louis: Mosby Elsevier.
- Rahardjo, P. 2009. *Oethodonti Dasar.* Surabaya: Aielangga University Press.
- Ramos-Vera, J. 2005. Technical Aspect of Immunohistochemistry. *Vet Pathol*, 405-426.
- Ren Y., Vissink, A. 2008. Cytokine in Crevicular Fluid and Orthodontic Tooth Movement. *Eur J Oral Sci*, 87-97
- Ren, Y., Jaap C.M., Anne M.K.J. 2003. Optimum Force Magnitude for Orthodontic Tooth Movement: A Systemic Literature Review. *Angle Orthod.* 73:86-92
- Riggs, B. Mei 1987. *Pathogenesis of osteoporosis.* Retrieved from Am J Obstet Gynecol : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3578454>
- Rittling, S.R., Matsumoto, H.N., McKee, M.D. 1998. Mice Lacking Osteopontin Show Normal Development and Bone structure but display altered osteoclast formation in vitro. *J Bone Miner Res*, 391-394.
- Roberts, H.D., Sandi, J. 2004. Orthodontics Part 11 : Orthodontics Tooth Movement. *British Dental Journal*, 391-394.
- Roitt, L.B., Jonathan., David. 1989. *Immunology Second Edition.* Washinton: The V.V Mosby Company.
- Ross, F. 1993. Interaction Between the Bone Matrix Proteins Osteopontin and Bone Sialoprotein and the Osteoclast Integrin $\alpha v \beta 3$ Potentiate Bone Resorbtion. *J Biol Chem*, 288 (13) 9901-7.
- 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

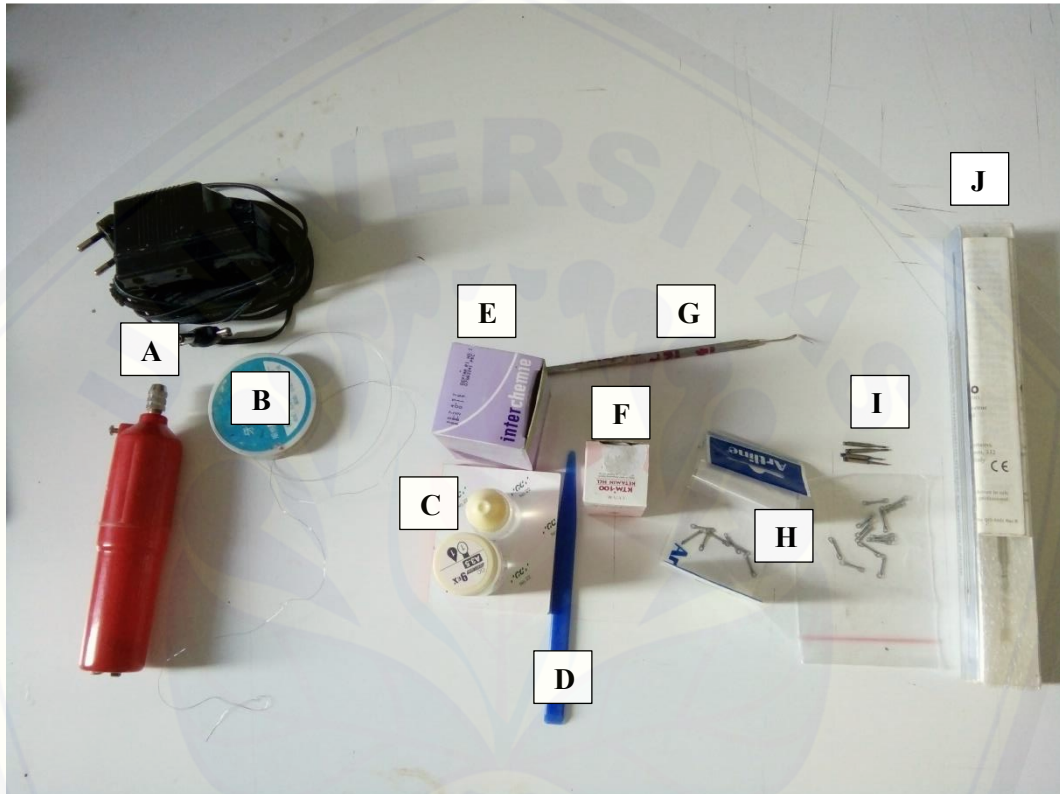
- Santoso, H. 2006. Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisialis Tibia Fetus Mencit (Mus musculus L) : An Immunohistochemical Study in Rabbits. *Reasearch Report Fluoride*, 17(1): 23-30.
- Seifi, M., Eslami, B., Saffar AS. 2003. The Effect of Prostaglandin E2 and Calcium Gluconate on Orthodontic Tooth Movement and Root Resorbtion in Rats. *Eur J Orthod*, 25(2): 199-204.
- Sella, R.C., de Mendoca, M.R., Osmar, Aparecido. 2012. Histomorphic Evaluaation of Periodontal Compresion and Tension Sides during Orthodontic Tooth Movement in Rats. *Dental Press J Orthod*, 17(3): 108-17.
- Setijanto, H. 2002. Teknik Mempelajari Biologi Sel; Identifikasi Beberapa Substansi atau Senyawa yang Terlibat Dalam Metanolisme Sel. *Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya*.
- Sheibani., Valaci, N., Vasoghi, M., Noorbakhsh, M. 2010. Incidence of Relaps in Orthodontic Treatments and Related Factors. *Journal of Research in Dental Science*. 7(2) ; 32-41
- Singh, G. 2004. *Textbook of Orthodontics*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publisher.
- Singh, G. 2007. *Texbook of Orthodontics Second Edition*. New Delhi: Jitendra P Vij.
- Slade, G.D., Sanders, A.E., Do, L., Robert-Thomson, K., Spencer, A.J. 2013. Effect of Fluoridated Drinking Water on Dental Caries in Australian Adults. *Journal of Dental Research*, 1-7.
- Standal, T. 2004. Role of Osteopontin in Adhesion, Migration, Cell Survival and Bone Remodeling.
- Sutjiati, R. 2016. Mekanisme Hambatan Relaps Pergerakan Gigi Ortodonti pada Pemberian Natrium Fluoride (NaF). *Desertasi*. Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Suzuki, K., Zhu, B., Ritthin, S.R. 2002. Colocalization of Intracellular Osteopontin with CD44 is Associated with Migration, Cell Fusion, and Resorption in Osteoclast. *J Bone Miner Res*, 1486-97.
- Taylor, M.L., Maconnachie, E., Frank, K., Boyde, A., Jones, S.J. 1990. The Effect of Fluoride on the Resorption by Osteoclast in Vitro. *j Bone Miner Res*, 121-130.

- Theill, L.E., Boyle, W.J., Penninger, J.M.. 2002. RANK-L and RANK: T-cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol.* 20, 795-823.
- Thylstrup, A., Fejerkov, O. 1996. *Textbook of Clinical Cariology 2nd edition.* Copenhagen: Munksgaard.
- Tolar, J. 30 Desember 2004. *Osteopetrosis.* Retrieved from N Engl J Med: <http://content.nejm.org/cgi/reprint/351/27/2839.pdf>
- Tuominen, V.J., Ruotoistenmäki S., Viitanen A., Jumppanen M., Isola J. 2012. ImmunoRatio: a publicly available web application for quantitative image analysis of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and Ki-67. *Breast Cancer Res.* 12(4): 138-40.
- Universitas Jember. (2006). *Buku petunjuk Praktikum Patologi Anatomi Degenerasi dan Radang.* Jember: Badan Penerbit Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Walsh. 2001. Home care self-applied fluoride product: current concepts for maximal effectiveness. *Dental Practice,* 66-67
- Weber, G. 2001. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy. *Biochim Biophys,* 61-85.
- WHO. 1994. Fluorides and Oral health. *WHO Technical Report Series 846,* 1-35.
- William, J. 2000. *Prinsip dan Praktik Alat-alat Ortodonti Cekat.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Wongdee, K. 2011. Osteoporosis in Diabetes Mellitus: Possible Cellular and Molecular Mechanisms. *World Journal of Diabetes,* 41-48.
- Yovela, Y. 2009. Penatalaksanaan Kasus Protusif Gigi Anterior Atas dengan Kelainan Periodontal pada Pasien Dewasa.
- Zhang, Q., Domenicucci, C., Goldberg, H.A., Wrana, J.L, Sodek, J. 1990. Characterization of Fetal Porcine Bone Sialoproteins, Secreted Phosphoprotein I (SPPI Osteopontin), Bone Sialoprotein, and a 23-kda Glycoprotein. *J Boil Chem,* 265(13) 7583-9.
- (USDA National Fluoride Database of Selected Beverages and Foods 2004,<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Fluoride/Fluoride.html>).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

1.1 Alat dan Bahan untuk Pemasangan NiTi Closed Coil Spring pada Gigi Tikus Wistar



Keterangan Gambar

- | | |
|------------------|----------------------------|
| A. Minidrill | F. Ketamine |
| B. Ligature Wire | G. Sonde Lurus |
| C. Glass Ionomer | H. NiTi Closed Coil Spring |
| D. Spatula Agate | I. Mata Bur |
| E. Xylazine | J. Tention Gauge Ormco |



Syringe Modifikasi

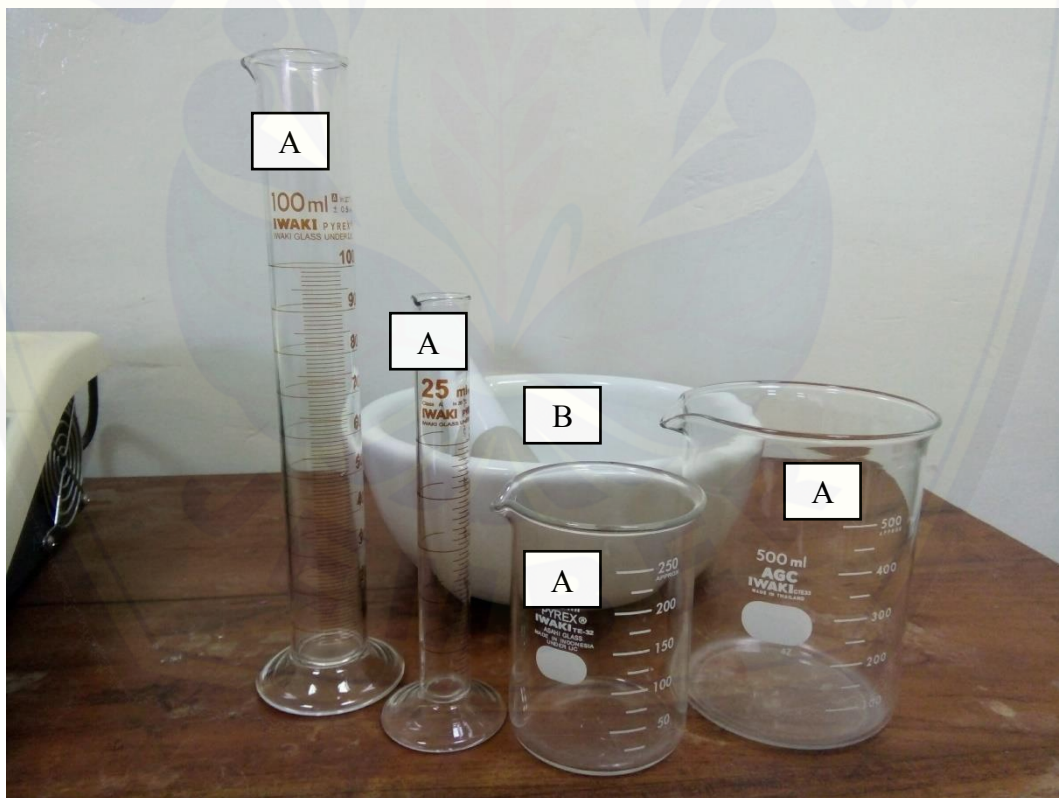


Tempat Jaringan



Tikus wistar jantan

1.2 Alat dan Bahan Pembuatan Gel *Natrium Fluoride* 11,75 ppm



Keterangan :

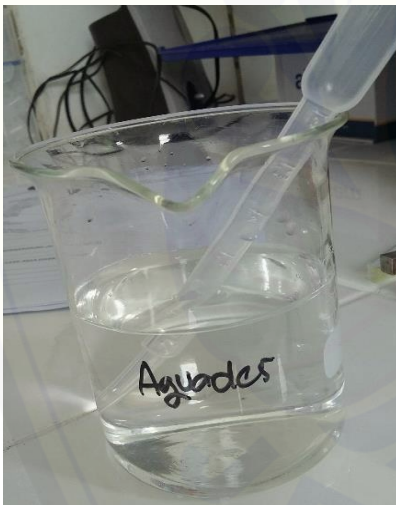
- A. Gelas Ukur
- B. Mortar dan Pastel



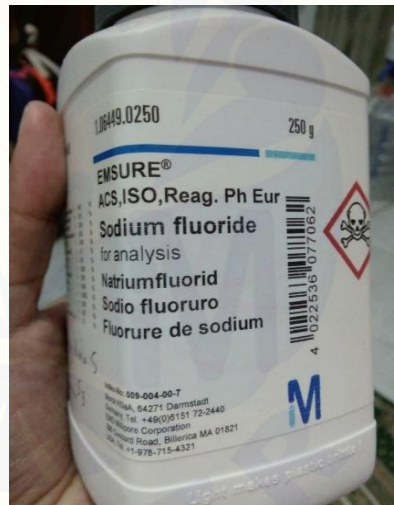
Timbangan Analitik



Propilenglikol, TEA,
Carbopol



Aquadest



Natrium Fluoride

1.3 Alat dan Bahan Pengenceran EDTA



EDTA



Magnetic Stirrer



Timbangan Analitik

1.4 Alat dan Bahan Pembuatan Parafin Blok



Xylo dan Alkohol



Parafin Cair



Cetakan Parafin

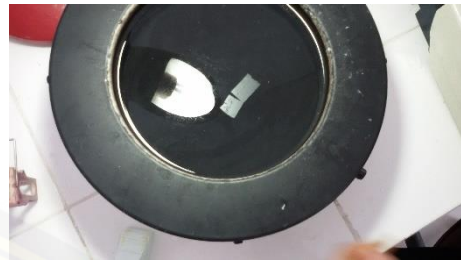


Blok jaringan

1.5 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat



Mikrotom



Waterbath

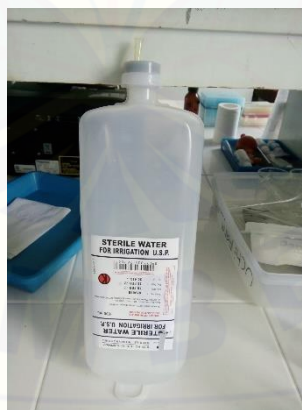


Object Glass

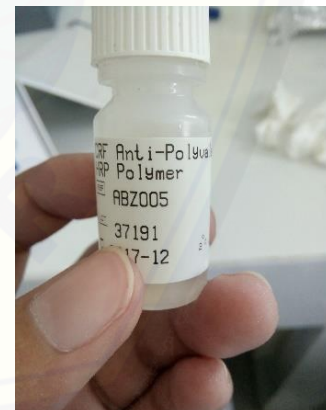
1.6 Alat dan Bahan Pewarnaan Imunohistokimia



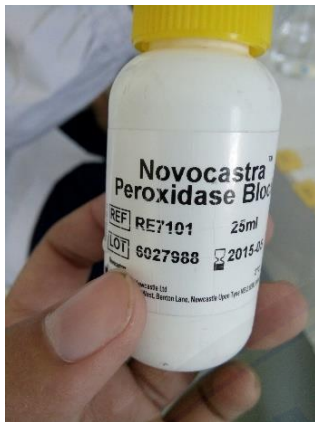
Marker RANKL



Sterile Water



Polymer



Peroxidase Blocker



Pristine



Background Blocker



Deck glass



Entelan



Oven



Enzym



Diaminobenzinidine (DAB)



Hematoxylin



Mikropipet



Vortex

1.7 Alat Pemeriksaan



Mikroskop Olympus



Kamera

Lampiran 2. Tabel Kekuatan Mekanik Ortodonti Optimal Pada Hewan

TABLE 1. List of Included Animal Studies (Cat, Dog, Monkey)

Author	Year	Ref	C	Species	B/T	Teeth	Force (cN)	D	Results
Utley	1968	14	4	Cat	T	Cmax	40-60 135-165 400-560	4w	No relation between rate of cuspid TM and force magnitude
Mitchell	1973	15	2	Cat	T	Cmax	150	12-25w	Higher force per unit of root surface area increases rate of TM
Fortin	1971	16	2	Dog	B	P ₂ mand	150-200 450	4w	Light forces result in greater TM than heavier forces
Pilon	1996	17	3	Dog	B	P ₂ mand	50 100 200	17w	No relationship between force magnitude and TM
Leeuwen	1999	18	2	Dog	B	P ₂ mand	10 25	17w	Force regimen has more influence on rate of TM than force magnitude
Von Böhl	2001	p.c.	2	Dog	B	P ₂ mand	25	17w	Large individual variations in velocity of TM
Maltha	2001	p.c.	2	Dog	B	P ₂ mand	300 10 300 600 1200	17w	Large individual variations in velocity of TM; in some individuals no effect of increasing force
Dellinger	1967	19	4	Monkey	T	P ₁ max	10 50 100 300	8w	Optimal force for intrusion is 50 cN
Steiner	1981	20	2	Monkey	B	I _{max} , I _{mand}	50	16w	The central incisors were moved labially 0.19 mm/wk on average

Ref indicates number of the study in the reference list; C, number of experimental conditions in the referred study; B/T, Bodily or tipping tooth movement; Teeth: I, incisor; C, canine; P, premolar; M, molar; Max, maxillary; mand, mandible; L, left; R, right; _{1,2} number of the teeth; D, duration of longest observation in the study; TM, tooth movement; p.c., personal communication.

TABLE 2. List of Included Animal Studies (Rat, Rabbit, Guinea Pig)*

Author	Year	Ref	C	Species	B/T	Teeth	Force (cN)	D	Results
Storey	1955	21	9	Rat, rabbit, and guinea pig	T	I _{max}	25 50 150	1w	Increase in rate of TM with increasing force in rabbit and rat, not in guinea pig
Steigman	1981	22	4	Rat	I	I _{mand}	2-10 14-23 38-40	2w	Medium loads are optimal for intrusive movement
Bridges	1988	23	2	Rat	T	M ₁ max	60	2w	Young rats TM about 0.66 mm/wk, adult rats TM about 0.45 mm/wk (linear stage)
King	1991	29	6	Rat	T	M ₁ max	20 40 60	2w	20 cN group TM about 0.28/wk, 40 cN group TM about 0.16 mm/wk, 60 cN group TM about 0.17 mm/wk (linear stage)
Gibson	1992	30	2	Rat	T	M ₁ max	40	2w	TM about 0.16 mm/wk (linear stage)
King	1994	31	2	Rat	T	M ₁ max	40	2w	Young rats TM about 0.27 mm/wk, adult rats TM about 0.25 mm/wk (linear stage)
Gu	1999	32	2	Rat	T	M ₁ max	40	2w	TM 0.18 mm/wk
Botting	1973	33	2	Guinea pig	T	I _{max}	3-7 30-40	2w	Optimal range of force in growing guinea pig between 3-7 g and 30-40 g applied to the upper incisor teeth

* For an explanation of the abbreviations see Table 1.

(Ren dkk, 2003)

Lampiran 3. Rata-rata Hasil Jumlah Ekspresi Osteopontin

Kelompok A	Lapang pandang 1*	Lapang pandang 2*	Lapang pandang 3*	Rata-rata*
1	74	79,8	78,8	77,5333
2	83,5	85,8	85,5	84,9333
3	93,7	94,7	92,3	93,5667
4	83,8	85,2	82	83,6667
Rerata jumlah ekspresi Osteopontin				84,925
Kelompok B	Lapang pandang 1*	Lapang pandang 2*	Lapang pandang 3*	Rata-rata*
1	95,8	97,6	92,5	95,3
2	95,1	95,8	88,1	93
3	97,4	98,7	97,8	97,9667
4	95,1	94,4	96,2	95,2333
Rerata jumlah ekspresi Osteopontin				95,375
Kelompok C	Lapang pandang 1*	Lapang pandang 2*	Lapang pandang 3*	Rata-rata*
1	97,3	96,5	93,3	95,7
2	93,7	97,7	99,7	97,0333
3	94,5	97,3	96,3	96,0333
4	92,6	89,4	89,7	90,5667
Rerata jumlah ekspresi Osteopontin				94,8333
Kelompok D	Lapang pandang 1*	Lapang pandang 2*	Lapang pandang 3*	Rata-rata*
1	94	94	94,5	94,1667
2	88	89,5	86,1	87,8667
3	90,5	88,7	81,6	86,9333
4	90,6	94,2	96,4	93,7333
Rerata jumlah ekspresi Osteopontin				90,675
Kelompok E	Lapang pandang 1*	Lapang pandang 2*	Lapang pandang 3*	Rata-rata*
1	83,7	84,9	82,2	83,6
2	98,7	90,2	98,9	95,9333
3	92,2	93,8	93,3	93,1
4	85,8	85,3	86,7	85,9333
Rerata jumlah ekspresi Osteopontin				89,6417

*Dalam Satuan (%)

Lampiran 4. Uji Analisis Data

3.1 Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Tikus		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hasil	Kelompok A	,249	4	.	,963	4	,801
	Kelompok B	,264	4	.	,947	4	,700
	Kelompok D	,289	4	.	,814	4	,130
	Kelompok C	,368	4	.	,802	4	,106
	Kelompok E	,238	4	.	,918	4	,526

a. Lilliefors Significance Correction

3.2 Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

hasil	Levene	Statistic	df1	df2	Sig.
		1,746	4	15	,192

3.3 Uji Parametri *One-Way Anova*

ANOVA

hasil	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	290,701	4	72,675	3,475	,034
Within Groups	313,677	15	20,912		
Total	604,378	19			

3.4 Uji LSD

Multiple Comparisons

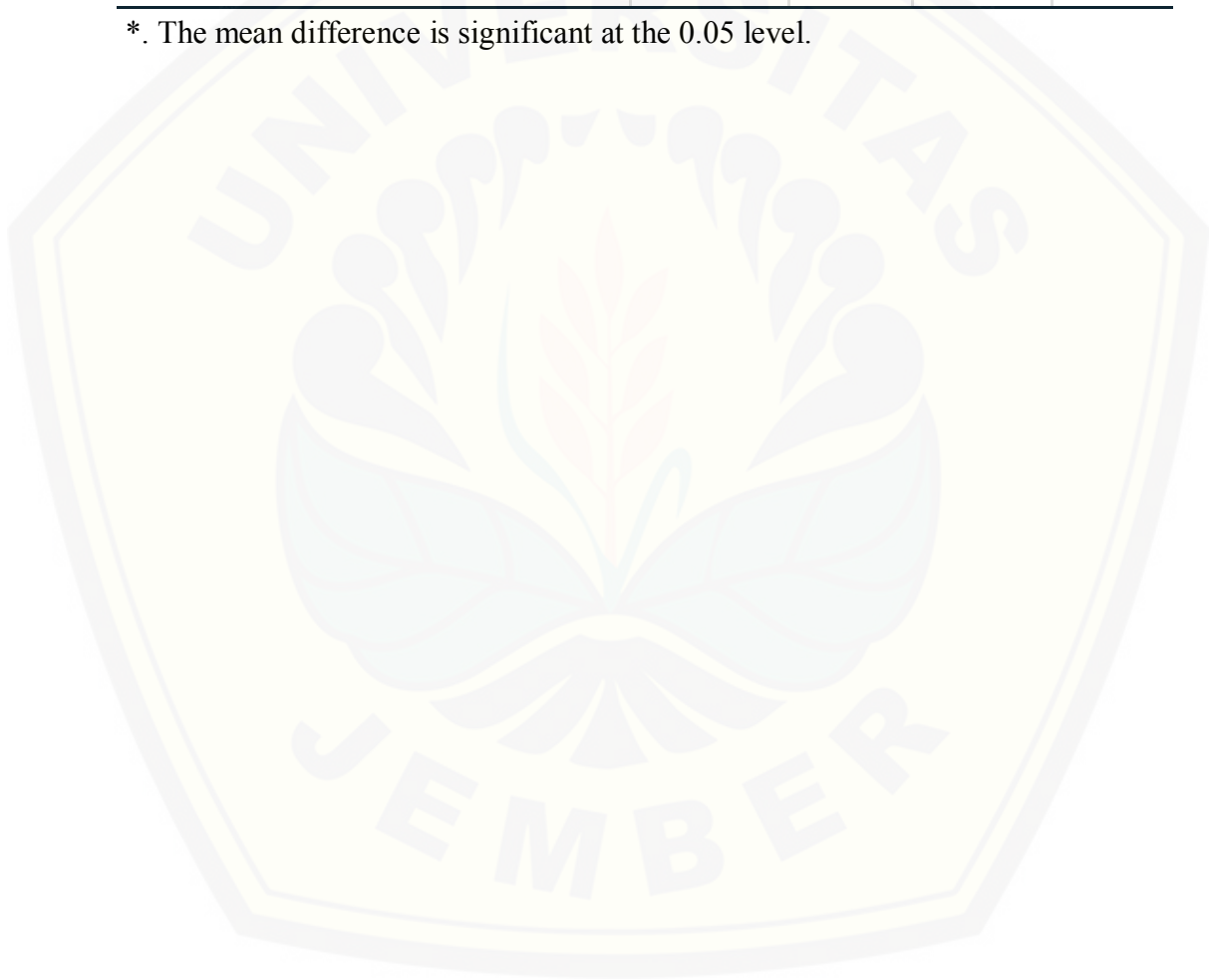
Dependent Variable: hasil

LSD

(I) tikus	(J) tikus	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok A	Kelompok B	-10,45250*	3,23356	,006	-17,3447	-3,5603
	Kelompok D	-5,75000	3,23356	,096	-12,6422	1,1422
	Kelompok C	-9,91000*	3,23356	,008	-16,8022	-3,0178
	Kelompok E	-4,72000	3,23356	,165	-11,6122	2,1722
Kelompok B	Kelompok A	10,45250*	3,23356	,006	3,5603	17,3447
	Kelompok D	4,70250	3,23356	,166	-2,1897	11,5947
	Kelompok C	,54250	3,23356	,869	-6,3497	7,4347
	Kelompok E	5,73250	3,23356	,097	-1,1597	12,6247
Kelompok D	Kelompok A	5,75000	3,23356	,096	-1,1422	12,6422
	Kelompok B	-4,70250	3,23356	,166	-11,5947	2,1897
	Kelompok C	-4,16000	3,23356	,218	-11,0522	2,7322
	Kelompok E	1,03000	3,23356	,754	-5,8622	7,9222
Kelompok C	Kelompok A	9,91000*	3,23356	,008	3,0178	16,8022
	Kelompok B	-,54250	3,23356	,869	-7,4347	6,3497
	Kelompok D	4,16000	3,23356	,218	-2,7322	11,0522

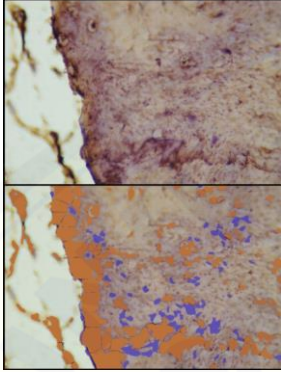
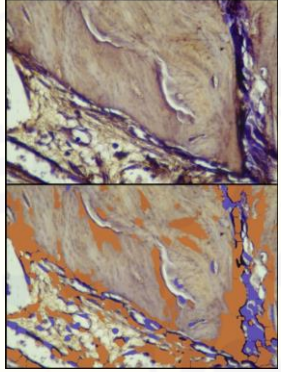
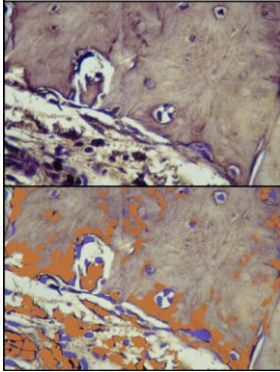
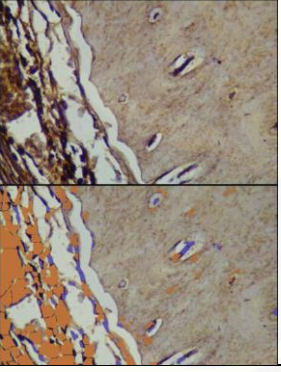
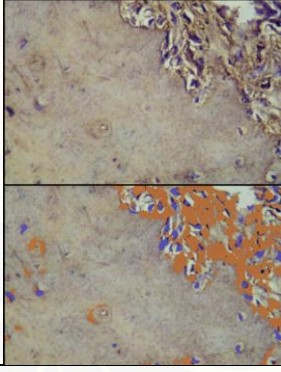
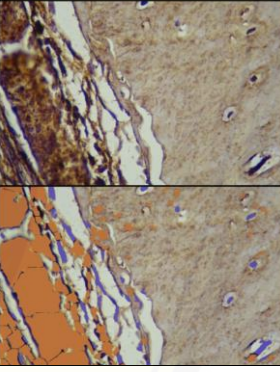
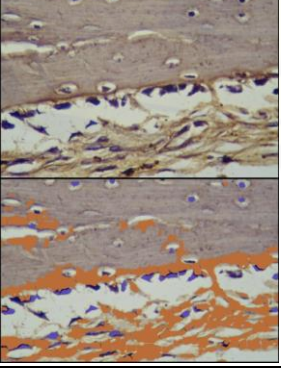
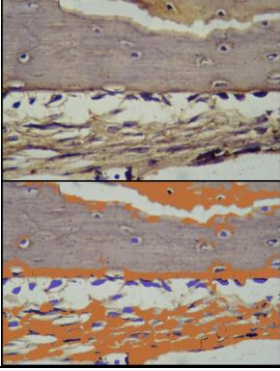
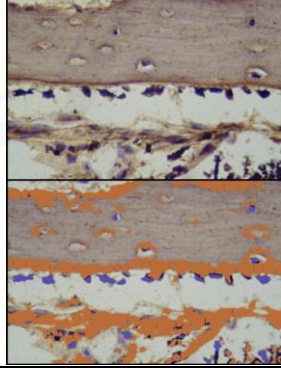
	Kelompok E	5,19000	3,23356	,129	-1,7022	12,0822
Kelompok E	Kelompok A	4,72000	3,23356	,165	-2,1722	11,6122
	Kelompok B	-5,73250	3,23356	,097	-12,6247	1,1597
	Kelompok D	-1,03000	3,23356	,754	-7,9222	5,8622
	Kelompok C	-5,19000	3,23356	,129	-12,0822	1,7022

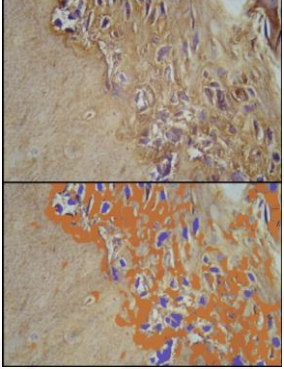
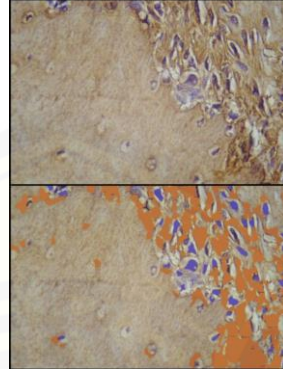
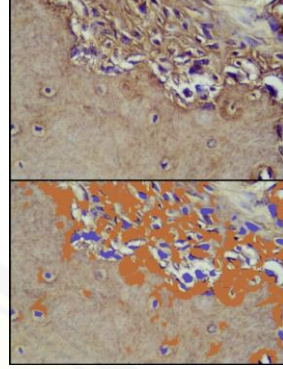
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



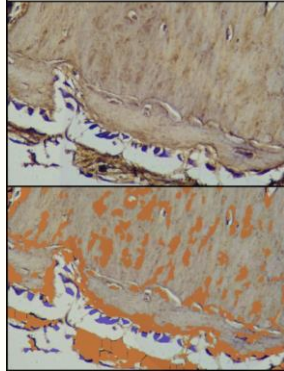
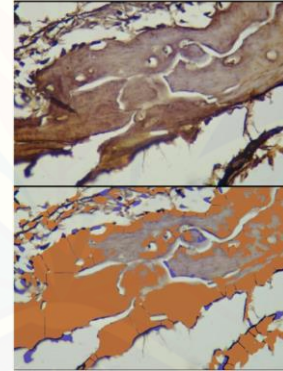
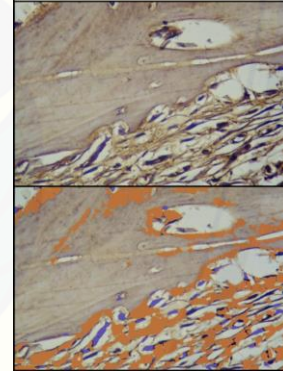
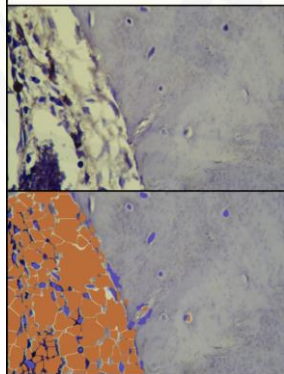
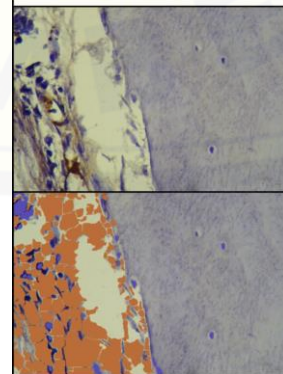
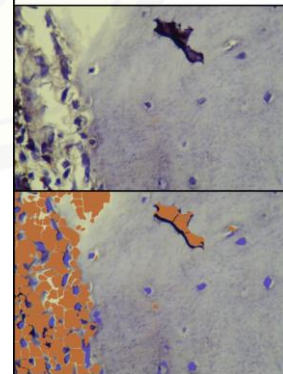
Lampiran 5. Gambar Hasil IRS

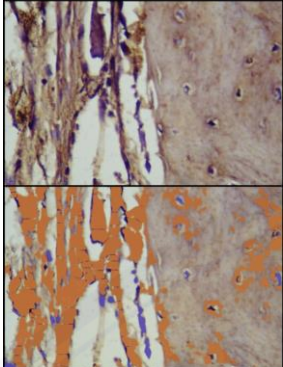
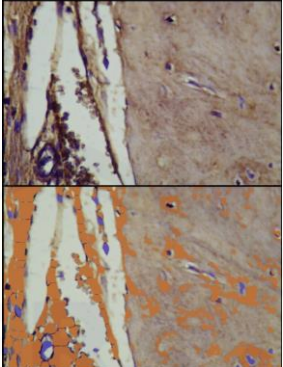
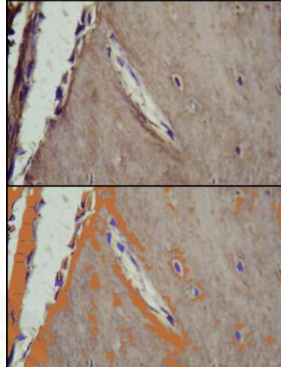
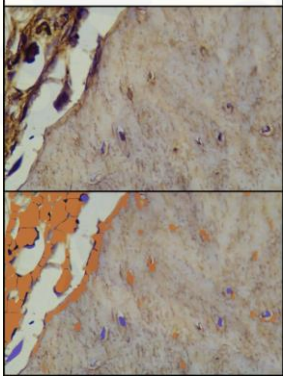
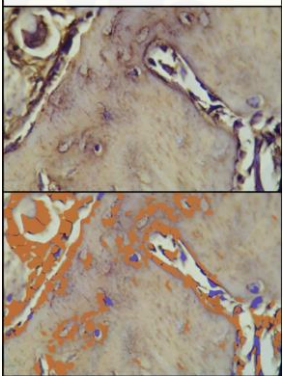
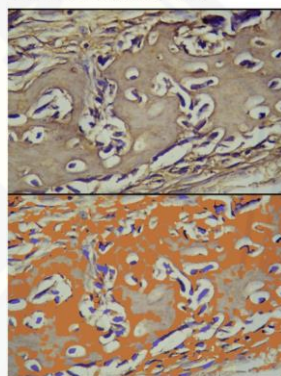
4.1 Gambar Hasil IRS Kelompok A

No	Hasil 1	Hasil 2	Hasil 3
1.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1188 Date: 7.2.2018 14:08 DAB / nuclear area: 74.0%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1149 Date: 7.2.2018 09:49 DAB / nuclear area: 79.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1141 Date: 7.2.2018 09:45 DAB / nuclear area: 78.8%</p> 
2.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1200 Date: 7.2.2018 14:35 DAB / nuclear area: 85.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC0010 Date: 6.2.2018 10:17 DAB / nuclear area: 83.5%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1202 Date: 7.2.2018 14:43 DAB / nuclear area: 85.5%</p> 
3.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1274 Date: 14.2.2018 03:52 DAB / nuclear area: 93.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1276 Date: 7.2.2018 15:37 DAB / nuclear area: 94.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1282 Date: 7.2.2018 15:44 DAB / nuclear area: 92.3%</p> 

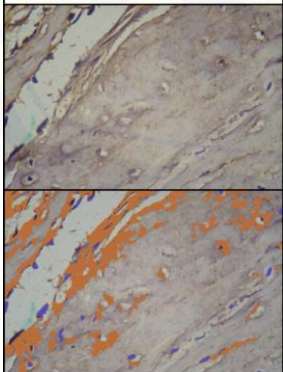
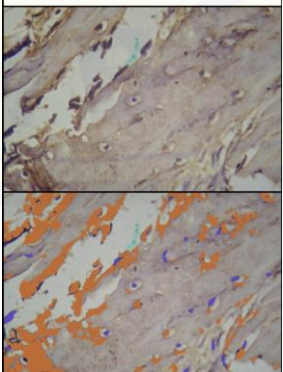
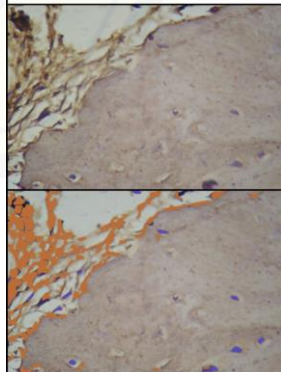
4.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC3706 Date: 28.2.2018 07:06 DAB / nuclear area: 83.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC3708 Date: 28.2.2018 06:26 DAB / nuclear area: 85.2%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC9972 Date: 8.2.2018 08:52 DAB / nuclear area: 82.0%</p> 
----	--	---	---

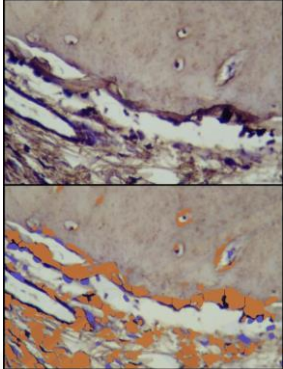
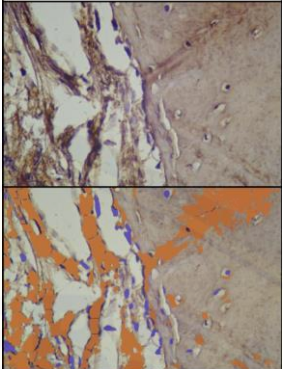
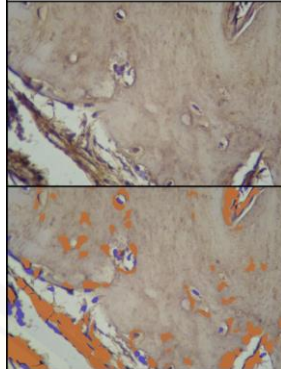
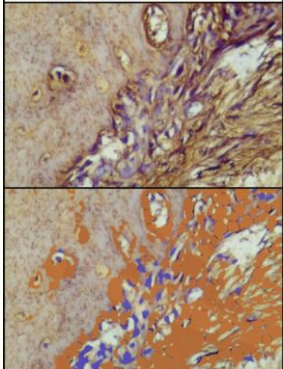
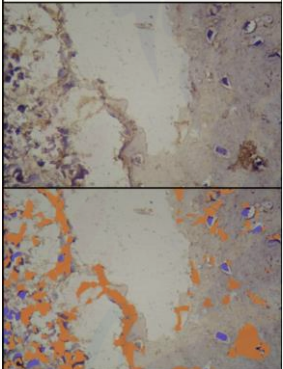
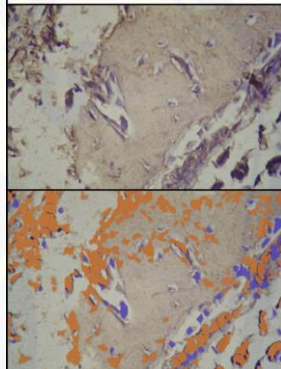
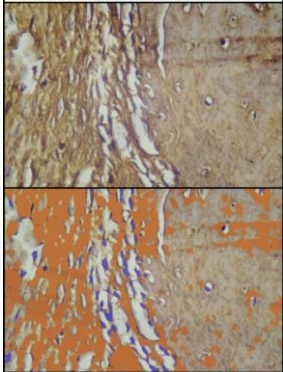
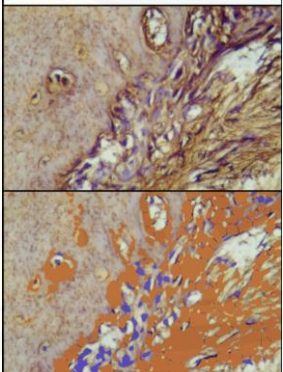
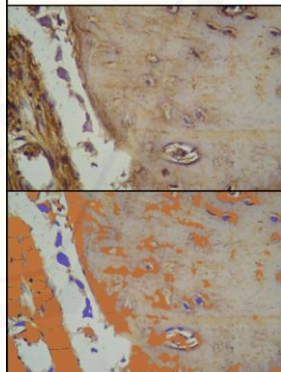
4.2 Gambar Hasil IRS Kelompok B

No	Hasil 1	Hasil 2	Hasil 3
1.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1545 Date: 7.2.2018 16:59 DAB / nuclear area: 95.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1554 Date: 7.2.2018 17:22 DAB / nuclear area: 97.6%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1564 Date: 8.2.2018 03:10 DAB / nuclear area: 92.5%</p> 
2.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1570 Date: 8.2.2018 03:33 DAB / nuclear area: 95.1%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1573 Date: 8.2.2018 03:35 DAB / nuclear area: 95.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1590 Date: 8.2.2018 03:54 DAB / nuclear area: 88.1%</p> 

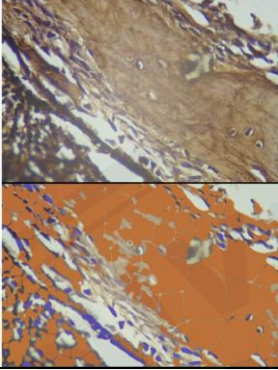
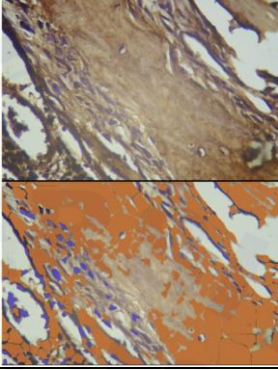
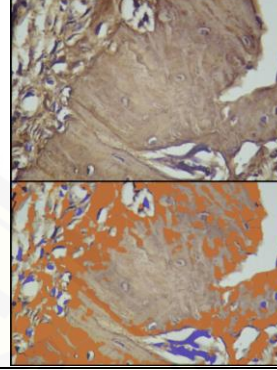
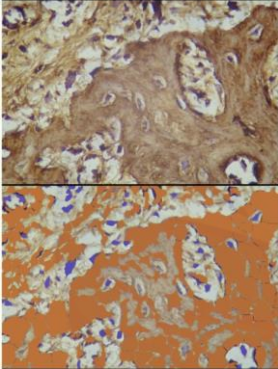
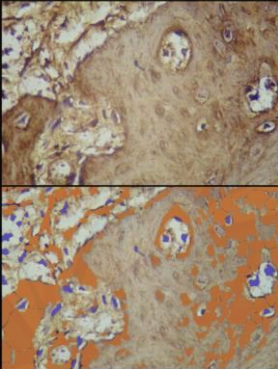
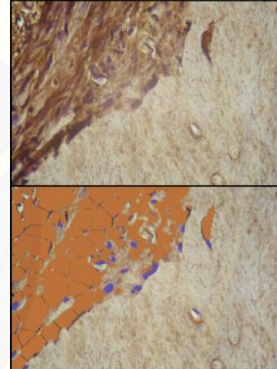
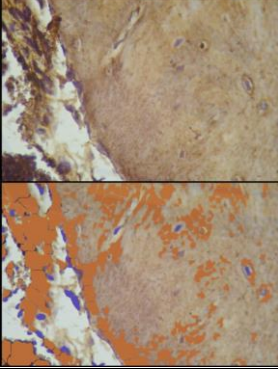
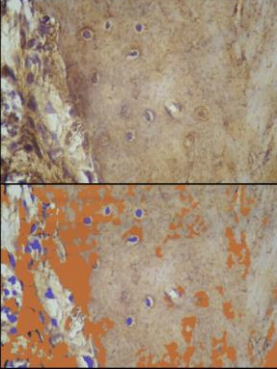
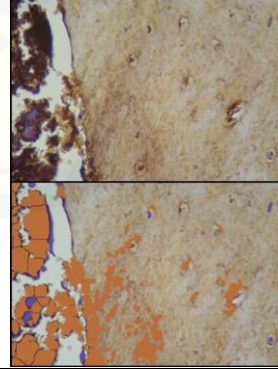
3.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC0021 Date: 8.2.2018 04:09 DAB / nuclear area: 97.4%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1422 Date: 8.2.2018 04:14 DAB / nuclear area: 98.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1446 Date: 8.2.2018 04:31 DAB / nuclear area: 97.8%</p> 
4.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1492 Date: 8.2.2018 05:45 DAB / nuclear area: 95.1%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1506 Date: 8.2.2018 05:57 DAB / nuclear area: 94.4%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC1516 Date: 8.2.2018 06:10 DAB / nuclear area: 96.2%</p> 

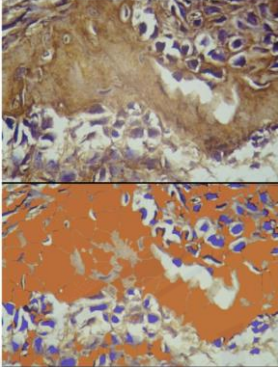
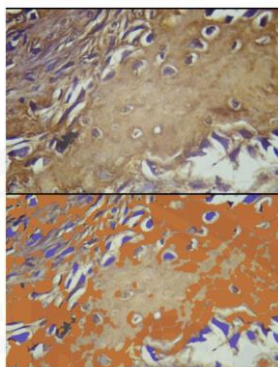
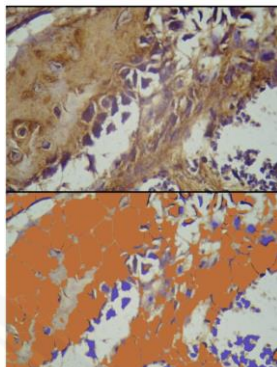
4.3 Gambar Hasil IRS Kelompok D

No	Hasil 1	Hasil 2	Hasil 3
1.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2411 Date: 9.2.2018 06:47 DAB / nuclear area: 94.0%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2409 Date: 9.2.2018 06:44 DAB / nuclear area: 94.5%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2423 Date: 9.2.2018 06:51 DAB / nuclear area: 94.0%</p> 

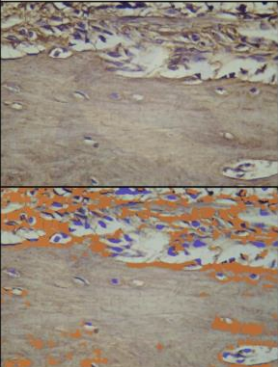
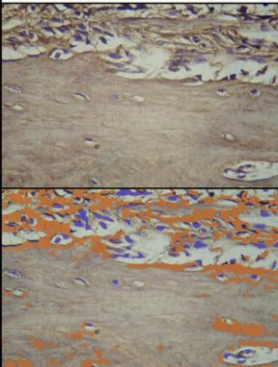
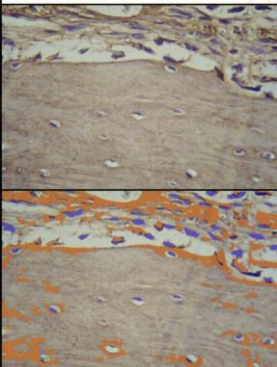
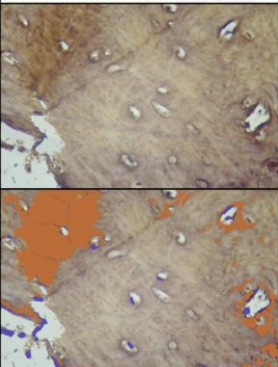
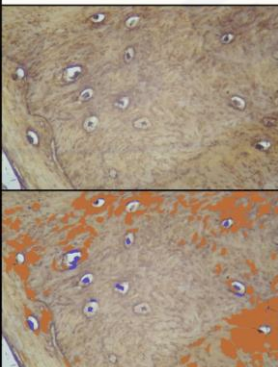
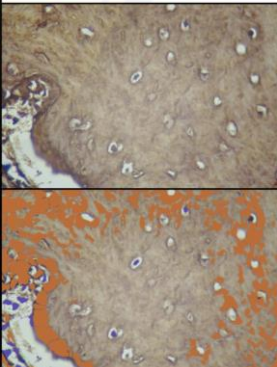
2.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC0054 Date: 6.2.2018 09:59 DAB / nuclear area: 88.0%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2233 Date: 9.2.2018 07:03 DAB / nuclear area: 89.5%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2254 Date: 9.2.2018 07:10 DAB / nuclear area: 86.1%</p> 
3.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC0065 Date: 9.2.2018 07:24 DAB / nuclear area: 90.6%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2207 Date: 9.2.2018 07:16 DAB / nuclear area: 88.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2213 Date: 9.2.2018 07:22 DAB / nuclear area: 81.6%</p> 
4.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2158 Date: 9.2.2018 07:27 DAB / nuclear area: 94.2%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC0065 Date: 9.2.2018 07:26 DAB / nuclear area: 90.6%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2193 Date: 9.2.2018 07:39 DAB / nuclear area: 96.4%</p> 

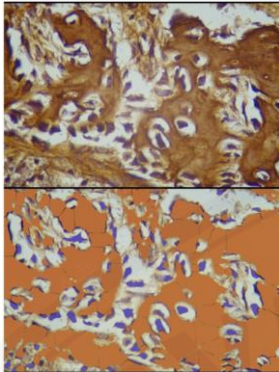
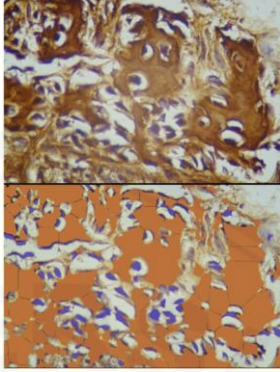
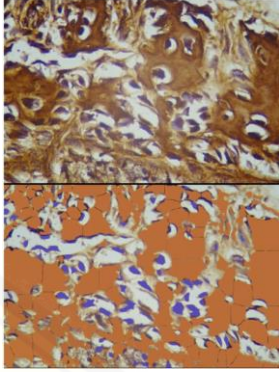
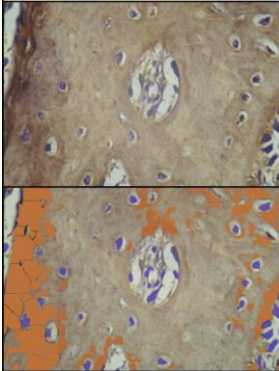
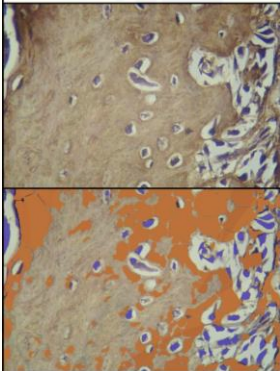
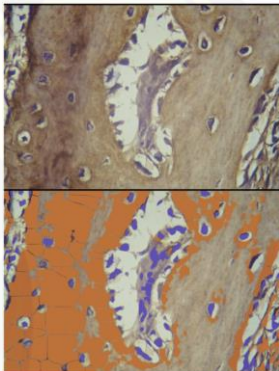
4.4 Gambar Hasil IRS Kelompok C

No	Hasil 1	Hasil 2	Hasil 3
1.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2636 Date: 9.2.2018 08:08 DAB / nuclear area: 96.5%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2634 Date: 9.2.2018 08:07 DAB / nuclear area: 97.3%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2652 Date: 9.2.2018 08:15 DAB / nuclear area: 93.3%</p> 
2.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2529 Date: 9.2.2018 08:45 DAB / nuclear area: 97.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2527 Date: 9.2.2018 08:46 DAB / nuclear area: 93.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2530 Date: 9.2.2018 08:46 DAB / nuclear area: 99.7%</p> 
3.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2481 Date: 9.2.2018 08:54 DAB / nuclear area: 97.3%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2479 Date: 9.2.2018 08:53 DAB / nuclear area: 94.5%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2487 Date: 9.2.2018 08:55 DAB / nuclear area: 96.3%</p> 

4.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2582 Date: 9.2.2018 08:33 DAB / nuclear area: 89.4%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2584 Date: 9.2.2018 08:34 DAB / nuclear area: 89.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2580 Date: 9.2.2018 08:30 DAB / nuclear area: 92.6%</p> 
----	---	--	---

4.5 Gambar Hasil IRS Kelompok E

No	Hasil 1	Hasil 2	Hasil 3
1.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2825 Date: 9.2.2018 09:38 DAB / nuclear area: 84.9%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2824 Date: 9.2.2018 09:37 DAB / nuclear area: 83.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2827 Date: 9.2.2018 09:38 DAB / nuclear area: 82.2%</p> 
2.	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2889 Date: 10.2.2018 11:01 DAB / nuclear area: 90.2%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2884 Date: 10.2.2018 11:04 DAB / nuclear area: 98.7%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2891 Date: 10.2.2018 11:00 DAB / nuclear area: 98.9%</p> 

<p>3.</p>	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2783 Date: 10.2.2018 14:23 DAB / nuclear area: 93.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2781 Date: 10.2.2018 14:27 DAB / nuclear area: 92.2%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2785 Date: 10.2.2018 14:21 DAB / nuclear area: 93.3%</p> 
<p>4.</p>	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2706 Date: 10.2.2018 14:56 DAB / nuclear area: 85.3%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2704 Date: 10.2.2018 14:55 DAB / nuclear area: 85.8%</p> 	<p>ImmunoRatio Sample ID: _DSC2708 Date: 10.2.2018 15:02 DAB / nuclear area: 86.7%</p> 

Lampiran 6. Sertifikat *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH DENTAL FACULTY UNIVERSITY OF JEMBER)</p>
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No. 025/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>	
<p>Title of research protocol Document approved Principal investigator Member of research Responsible Physician Date of approval Place of research</p>	<p>: "Ekspresi Osteoptin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Floride" : Research Protocol : Dini Roswati Sya'bani : - : Dini Roswati Sya'bani : February 5th, 2018 : 1. Biomedical Laboratory Dental Faculty University of Jember 2. Pharmaceutics Laboratory Pharmacy Faculty University of Jember 3. Pharmacy Chemical Laboratory Pharmacy Faculty University of Jember 4. Anatomical Pathology Laboratory Medicine Faculty University of Brawijaya 5. Biochemistry Laboratory Medicine Faculty University of Brawijaya</p>
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry University of Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, February 10th, 2018</p>	
<p>Dean for Research, Community Service and Collaboration Faculty of Dentistry University of Jember</p>	<p>Chairman of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry University of Jember</p>
	
<p>(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)</p>	<p>(Dr. I Dewa Ayu Susilawati, drg. M. Kes.)</p>

Lampiran 7. Surat Ijin Penelitian



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

Nomor : 0721/UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Biokimia
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Di
Malang

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

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Dini Roswati S |
| 2 | NIM | : 141610101015 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 1 No.61 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Ekspresi Esteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Mikroskop, kamera, mikropipet |
| 9 | Waktu | : Januari 2018 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Ekspresi Esteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto M. Biomed
2. Dr. drg. Rina Sujjati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. Ida Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001



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

Nomor : 4528 /UN25.8.TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

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

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Dini Roswati S |
| 2 | NIM | : 1416101015 |
| 3 | Semester/Tahun | : 7/2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 1 No.61 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Ekspresi Osteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Timbangan Analitik, Jangka Sorong, Papan Parafin |
| 9 | Waktu | : November 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Perlakuan Terhadap Tikus Wistar Jantan Dengan Pemberian Natrium Dan Pemasangan Dosed Coil Spring |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto M. Biomed
2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

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



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


Nomor : **ASAB** /UN25.8.TL/2017
Perihal : Pembuatan Gel

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Farmasietika
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 membuat gel bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Dini Roswati S |
| 2 | NIM | : 141610101015 |
| 3 | Semester/Tahun | : 7/2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 1 No.61 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Ekspresi Esteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasietika fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Mortar, Alu, Timbangan Analitik, Beker Glass |
| 9 | Waktu | : November 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Ekspresi Esteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto M. Biomed
2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

Wakil Dekan I,

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



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

Nomor : ~~4548~~ /UN25.8.TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Kimia Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Dini Roswati S |
| 2 | NIM | : 141610101015 |
| 3 | Semester/Tahun | : 7/2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 1 No.61 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Ekspresi Esteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Timbangan Analitik, Beker Glass, Mixer |
| 9 | Waktu | : November 2017 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Ekspresi Esteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto M. Biomed
2. Dr. drg.Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an, Dekan
Wakil Dekan I,

drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



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

Nomor : 0721 /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Di
Malang

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

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Dini Roswati S |
| 2 | NIM | : 141610101015 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 1 No.61 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Ekspresi Osteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang |
| 8 | Data/Alat yang Dipinjam | : Mikrotom |
| 9 | Waktu | : Januari 2018 s/d Selesai |
| 1 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Ekspresi Osteopontin Dalam Pergerakan Gigi Ortodonti Dengan Aplikasi Natrium Fluoride |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rudy Joelijanto M. Biomed
2. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



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