



**JUMLAH SEL OSTEOKLAS YANG MENGEKSPRESIKAN  
INTERLEUKIN 1 BETA (IL-1 $\beta$ ) AKIBAT INDUKSI GAYA  
MEKANIK ORTODONTI DENGAN PEMBERIAN  
NATRIUM FLUORIDA (NaF) SECARA TOPIKAL**

**SKRIPSI**

Oleh

**Adik Wulandari  
NIM 151610101007**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**JUMLAH SEL OSTEOKLAS YANG MENGEKSPRESIKAN  
INTERLEUKIN 1 BETA (IL-1 $\beta$ ) AKIBAT INDUKSI GAYA  
MEKANIK ORTODONTI DENGAN PEMBERIAN  
NATRIUM FLUORIDA (NaF) SECARA TOPIKAL**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Adik Wulandari**  
**NIM 151610101007**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2019**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, berkah, dan kemudahan yang tak ada hentinya;
2. Nabi Muhammad SAW teladan dunia dan akhirat bagi seluruh umat manusia;
3. Ayahanda Sudharsono B.A dan Ibunda Dra. Enik Erwanti, serta kakak kandungku Irma Safitri, Adinda Dewi Ariani S.E dan Nanda Diah Ayu S.E yang saya cintai;
4. Bapak dan ibu guru yang telah memberikan ilmunya kepada saya mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
5. Dosen pembimbing dan dosen penguji yang telah banyak memberikan ilmunya;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTO**

Maka, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.\*)

Dan janganlah kamu (merasa) lemah, dan jangan (pula) bersedih hati, sebab kamu paling tinggi (derajatnya) jika kamu orang yang beriman\*\*)

\*) Terjemahan Q.S Asy-Syrah (94): 5-6

\*\*\*) Terjemahan Q.S Ali-Imran (3): 139

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Adik Wulandari

NIM : 151610101007

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah berjudul “Jumlah Sel Osteoklas yang Mengekspresikan Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Akibat Induksi Gaya Mekanik Ortodonti Dengan Pemberian Natrium Fluorida (NaF) Secara Topikal” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan padaa institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang harus di junjung tinggi.

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

Jember, 7 Mei 2019

Yang menyatakan,

Adik Wulandari

NIM 151610101007

**SKRIPSI**

**JUMLAH SEL OSTEOKLAS YANG MENGEKSPRESIKAN  
INTERLEUKIN 1 BETA (IL-1 $\beta$ ) AKIBAT INDUKSI GAYA  
MEKANIK ORTODONTI DENGAN PEMBERIAN  
NATRIUM FLUORIDA (NaF) SECARA TOPIKAL**

Oleh

**Adik Wulandari**

**NIM 151610101007**

**Dosen Pembimbing:**

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

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

**Dosen Penguji:**

Dosen Penguji Ketua : Prof. drg. Mei Syafriadi, M.DSc., Ph.D., Sp.  
PMM(K)

Dosen Penguji Pendamping : drg. Yenny Yustisia, M.Biotech

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Jumlah Sel Osteoklas yang Mengekspresikan Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Akibat Induksi Gaya Mekanik Ortodonti Dengan Pemberian Natrium Fluorida (NaF) Secara Topikal” karya Adik Wulandari telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : Selasa, 7 Mei 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota

Prof. drg. Mei Syafriadi, M.DSc., Ph.D., Sp.PMM(K)  
NIP. 196805291994031003

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech  
NIP. 197903252005012001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

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

drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed  
NIP. 197207151998021001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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



## RINGKASAN

**Jumlah Sel Osteoklas yang Mengekspresikan Interleukin 1 Beta (IL-1B) Akibat Induksi Gaya Mekanik Ortodonti Dengan Pemberian Natrium Fluorida (NaF) Secara Topikal;** Adik Wulandari; 151610101007, 77 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Perawatan ortodonti merupakan prosedur yang memerlukan jangka waktu panjang dengan tujuan untuk mendapatkan oklusi yang baik tanpa rotasi gigi dan diastema. Perawatan ortodonti sering menimbulkan masalah seperti pengurangan kepadatan tulang pada gigi anterior maksila sebanyak 24% setelah perawatan ortodonti, 10% dari kembalinya susunan gigi seperti sebelum perawatan (relaps) dan 50% lainnya mengalami kasus insisor overlap, dan jumlah tersebut menunjukkan kenaikan *overbite* yang rendah. Perawatan ortodonti menimbulkan remodeling tulang menyebabkan resorpsi tulang alveolar pada sisi tekanan dan aposisi tulang alveolar pada sisi tarikan.

Berbagai macam mediator berperan penting dalam remodeling tulang akibat dari pergerakan gigi ortodonti, salah satu sitokin tersebut adalah interleukin 1 $\beta$  (IL-1B) yang telah terbukti menjadi sitokin yang kuat untuk merangsang aktivitas osteoklas. IL-1 $\beta$  diketahui adalah sitokin pro-inflamasi yang kuat dan sangat penting untuk respon pertahanan tubuh terhadap infeksi dan cedera. IL-1 $\beta$  diproduksi dan disekresikan oleh beberapa variasi sel seperti sel monosit dan makrofag untuk merangsang aktivitas osteoklas dan menarik leukosit serta mediator sel lain untuk memproses remodeling tulang.

*Fluorine* yang sebelumnya disebut fluoride merupakan salah satu elemen kimia yang sangat bersifat elektronegatif diantara semua elemen – elemen kimia, oleh karena itu tidak pernah ditemukan dalam bentuk elemen bebas. Natrium fluorida dapat menstimulasi proliferasi sel-sel tulang yang dapat membantu dalam pembentukan tulang baru. Tujuan penelitian ini ingin mengetahui pengaruh Natrium Fluorida dalam pergerakan gigi ortodonti ditinjau dari ekspresi interleukin- 1 $\beta$  pada sel osteoklas.



Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris, dengan menggunakan hewan coba tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan, umur 3 – 4 bulan dengan berat badan 200 sampai 250 gram sebanyak 16 ekor. Tikus dibagi dalam dua kelompok kontrol negatif (K-): tikus diinduksi gaya mekanik ortodonti (GMO) selama 7 hari dan 14 hari dan kelompok perlakuan (P): tikus diinduksi gaya mekanik ortodonti (GMO) dan diberikan 11,34 ppm Natrium Fluorida dalam bentuk gel yang diaplikasikan secara topikal pada sulkus gingiva selama 7 hari dan 14 hari. Tikus yang diberi GMO dilakukan dengan cara melakukan anestesi menggunakan campuran ketamin dan xyla terlebih dahulu, kemudian gigi insisivus rahang atas (RA) kanan dan molar-1 RA diberi kawat ligature 0,10mm. Insisivus RA digerakkan ke palatal dengan *Ni-Ti Closed Coil Spring* yang diukur dengan menggunakan *tension gauge* sehingga menghasilkan kekuatan 10gr/cm<sup>2</sup>. Dekaputasi jaringan dilakukan pada hari ke 8 dan 15. Pengamatan dengan metode imunohistokimia untuk menentukan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  pada tulang alveolar daerah tarikan dan tekanan. Selanjutnya, dilakukan penghitungan jumlah rata-rata sel tersebut dengan menggunakan perbesaran 1000x.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok kontrol negatif daerah tarikan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  hari ke 7 memiliki hasil rata-rata 16 sel dan pada hari ke 14 memiliki hasil rata-rata 11 sel. Pada daerah tekanan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  pada hari ke-7 yaitu 20 sel dan hari ke-14 18 sel. Sedangkan pada kelompok perlakuan daerah tarikan hari ke-7 memiliki hasil rata-rata 8 sel dan hari ke-14 memiliki hasil rata-rata 7 sel. Pada daerah tekanan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  kelompok perlakuan hari ke-7 memiliki hasil rata-rata 13 sel dan hari ke-14 yaitu 7 sel. Kelompok kontrol negatif dan perlakuan hari ke 7 menunjukkan jumlah ekspresi IL-1 $\beta$  lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan hari ke 14. Data hasil rata-rata jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  selanjutnya dianalisis dan menunjukkan hasil bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Kemudian dilakukan uji parametrik *One Way Anova* terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok. Setelah itu dilakukan uji lanjutan LSD (*Least*

*Significant Difference*) terdapat perbedaan. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian Natrium Fluorida (NaF) sebesar 11,34 ppm yang diaplikasikan pada sulkus gingiva dengan pemberian gaya mekanis ortodonti sebesar 10gram/cm<sup>2</sup> dapat menurunkan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  pada daerah tarikan dan tekanan tulang alveolar tikus Wistar jantan.



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Jumlah Sel Osteoklas yang Mengekspresikan Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Akibat Induksi Gaya Mekanik Ortodonti Dengan Pemberian Natrium Fluorida (NaF) Secara Topikal”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia tiada hentinya sehingga penulis diberikan kekuatan untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Nabi Muhammad SAW suri tauladan bagi selauruh umat
3. Dr. drg Rina Sutjiati, M.Kes selaku dosen pembimbing utama dan drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed selaku dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing, meluangkan waktu, memberikan semangat dan dukungan demi terselesaikannya skripsi ini.
4. Prof. drg. Mei Syafriadi, M.DSc., Ph.D, Sp. PMM selaku dosen penguji ketua dan drg. Yenny Yustisia, M.Biotech selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan masukan serta saran yang sangat membangun demi kesempurnaan dari skripsi ini.
5. Dr. Drg Zahreni Hamzah, M.Kes selaku dosen pembimbing akademik yang telah membangun semangat perkuliahan FKG Unej.
6. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
7. Semua dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan ilmunya.
8. Staf Laboratorium Biomedik FKG Unej, Laboratorium Farmasetika FKG Unej Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair dan Laboratorium Biokimia FK UB.

9. Seluruh staf di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang membantu dalam penyelesaian administrasi penulisan skripsi ini.
10. Kedua orang tua saya, Ayahanda Sudharsono B.A dan Ibunda Dra. Enik Erwanti, yang selalu tiada hentinya mendo'akan, memberikan kasih sayang, restu, semangat dan pengorbanan tiada hentinya kepada penulis.
11. Kakak kandung saya Irma Safitri, Adinda Dewi Ariani S.E dan Nanda Diah ayu S.E beserta suaminya Taufiq S.T, Heri S.E dan Rahmat Tri Widodo S.T yang selalu memberikan doa dan dukungan serta keponakan tersayang Admiral, Lady, Navy, Junior dan Ilona.
12. Teman-teman tim penelitian: Dani, Anjel dan Devina terima kasih atas kerjasama yang sama-sama berjuang untuk menyelesaikan tugas akhir sebagai mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi.
13. Teman-temanku Pagiku Cerahku Agatha, Lala, Eka, Fifi dan Ryzka. 16+, Sahabat Kuliah Devita, Sita, Lea dan Iga Geng Nikung, Terima kasih sudah bersedia menjadi teman bertukar pikiran, kerjasama, penyemangat dan do'a kepada penulis;
14. Teman-teman seperjuangan FKG Universitas Jember angkatan 2015. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan dan doa kalian selama ini;
15. Semua pihak yang telah membantu kegiatan penelitian; atas perhatian dan bantuan yang telah diberikan hingga tersusunnya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pendidikan khususnya dibidang kesehatan serta menjadi upaya dalam meningkatkan mutu kesehatan masyarakat.

Jember, 7 Mei 2019

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Tulang Alveolar</b> .....	5
2.1.1 Osteoblas .....	5
2.1.2 Osteoklas .....	5
2.1.3 Osteosit.....	5
<b>2.2 Perawatan Ortodonti</b> .....	6
2.2.1 Definisi Perawatan Ortodonti.....	6
2.2.2 Pergerakan Gigi dalam Perawatan Ortodonti.....	6
<b>2.3 Sitokin</b> .....	7

2.3.1 Definisi Sitokin .....	7
2.3.2 Interleukin 1 .....	8
2.3.3 Pengaruh Interleukin 1 $\beta$ Terhadap Pergerakan Gigi .....	8
<b>2.4 Fluor</b> .....	9
2.4.1 Definisi fluor .....	9
2.4.2 Sumber Fluor .....	10
2.4.3 Hubungan Fluor Dengan Tulang .....	10
<b>2.5 Imunohistokimia</b> .....	11
2.5.1 Antibodi .....	12
2.5.2 Kromogen.....	13
2.5.3 <i>Counterstain</i> .....	13
<b>2.6 Kerangka Konsep</b> .....	14
<b>2.8 Penjelasan Kerangka Konsep</b> .....	15
<b>2.9 Hipotesis</b> .....	15
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	16
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	16
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	16
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	16
3.3.1 Tempat Penelitian .....	16
3.3.2 Waktu Penelitian.....	17
<b>3.4 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	17
3.4.1 Subyek Penelitian .....	17
3.4.2 Besar Sampel Penelitian.....	17
3.4.3 Syarat Sampel .....	18
<b>3.5 Identifikasi Variabel Penelitian</b> .....	18
3.5.1 Variabel Bebas .....	18
3.5.2 Variabel Terikat.....	18
3.5.3 Variabel Terkendali .....	18
<b>3.6 Definisi Operasional</b> .....	19
3.6.1 Fluor .....	19
3.6.2 Gaya Mekanik Ortodonti .....	19

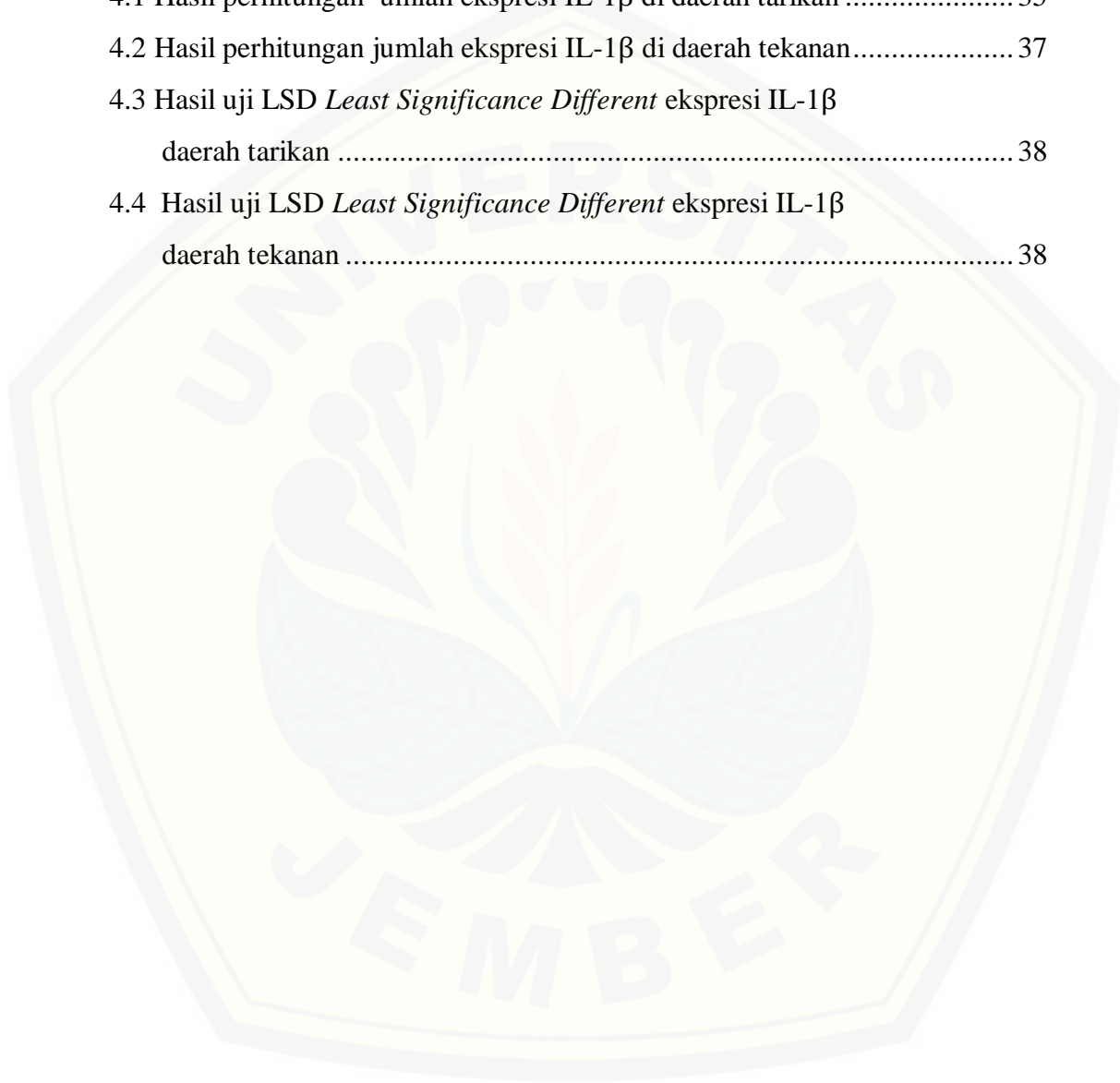


3.6.3 Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ).....	19
<b>3.7 Konversi Dosis</b> .....	20
3.7.1 Dosis Fluoride .....	20
3.7.2 Dosis Anestetikum .....	20
<b>3.8 Bahan dan Alat Penelitian</b> .....	21
3.8.1 Bahan Penelitian .....	21
3.8.2 Alat Penelitian .....	22
<b>3.9 Prosedur Penelitian</b> .....	24
3.9.1 Perijinan Ethical Clearance .....	24
3.9.2 Persiapan Hewan Coba .....	24
3.9.3 Pembagian Kelompok Perlakuan .....	24
3.9.4 Persiapan Gel Natrium Fluorida 11,34 ppm .....	25
3.9.5 Pemasangan Coil spring .....	25
3.9.6 Pengambilan Jaringan Penelitian.....	26
3.9.7 Tahap Pembuatan Sediaan dan Pemeriksaan Imunohistokimia .....	27
<b>3.10 Prosedur Pengamatan Ekspresi Interleukin 1<math>\beta</math></b> .....	31
<b>3.11 Cara Pengolahan dan Analisis Data</b> .....	31
<b>3.12 Alur Penelitian</b> .....	32
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Penelitian .....	33
4.2 Analisa Data.....	37
4.3 Pembahasan .....	38
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	43
<b>LAMPIRAN</b> .....	49



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Hasil perhitungan umlah ekspresi IL-1 $\beta$ di daerah tarikan .....	35
4.2 Hasil perhitungan jumlah ekspresi IL-1 $\beta$ di daerah tekanan.....	37
4.3 Hasil uji LSD <i>Least Significance Different</i> ekspresi IL-1 $\beta$ daerah tarikan .....	38
4.4 Hasil uji LSD <i>Least Significance Different</i> ekspresi IL-1 $\beta$ daerah tekanan .....	38



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) pada proses inflamasi.....	9
Gambar 2.2 Struktur dasar antibodi.....	12
Gambar 2.3 Teknik imunohistokimia dengan menggunakan streptavidin-biotin.....	13
Gambar 3.1 Pemasangan <i>closed coil spring</i> .....	26
Gambar 3.2 Ilustrasi pemotongan jaringan makroskopis .....	29
Gambar 4.1 Gambaran histologis daerah tarikan kelompok kontrol.....	34
Gambar 4.2 Gambaran histologis daerah tarikan kelompok perlakuan.....	34
Gambar 4.3 Gambaran histologis daerah tekanan kelompok kontrol.....	36
Gambar 4.4 Gambaran histologis daerah tekanan kelompok perlakuan.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>LAMPIRAN A. Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>49</b>
A.1 Alat dan Bahan untuk Pemasangan NiTi Closed Coil Spring .....	49
A.2 Alat dan Bahan Pembuatan Gel Natrium Fluorida (NaF) .....	52
A.3 Alat dan Bahan Dekalsifikasi Jaringan .....	54
A.4 Alat dan Bahan Pemrosesan Jaringan dan Pembuatan Parafin Blok .....	55
A.5 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat .....	56
A.6 Alat dan Bahan Pewarnaan Jaringan dan Pengamatan Jaringan ...	58
<b>LAMPIRAN B. Rata-Rata Hasil Jumlah Ekpresi IL-1<math>\beta</math> pada sel osteoklas.</b>	<b>61</b>
B.1 Sisi Tarikan .....	61
B.2 Sisi Tekanan .....	62
<b>LAMPIRAN C. Analisa Data .....</b>	<b>63</b>
C.1 Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i> .....	68
C.2 Uji Homogenitas <i>Levene</i> .....	68
C.3 Uji Parametri <i>One-Way Anova</i> .....	69
C.4 Uji <i>Least Significant Difference</i> LSD .....	69
<b>LAMPIRAN D. Ethical Clearance .....</b>	<b>71</b>
<b>LAMPIRAN E. Surat Izin Penelitian .....</b>	<b>72</b>
E.1 Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember .....	72
E.2 Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember ..	73
E.3 Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga .....	74
E.4 Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya .....	75
<b>LAMPIRAN F Gambaran Histologis Ekspresi IL-1<math>\beta</math> Pada Sel Osteoklas.....</b>	<b>76</b>



## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perawatan ortodonti merupakan prosedur perawatan yang memerlukan jangka waktu yang panjang untuk mendapatkan oklusi yang baik tanpa rotasi gigi, berjejal (*crowded*) dan diastema (Alawiyah, 2012). Tujuan perawatan ortodonti adalah untuk mendapatkan susunan gigi yang teratur, kontak oklusal yang baik, sehingga dapat dicapai fungsi oklusi yang efisien dan estetika penampilan wajah yang menyenangkan dan stabil (Ardhana, 2013), namun perawatan ortodonti dapat menimbulkan permasalahan yaitu menurunkan kepadatan tulang alveolar. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hsu dkk dalam Yu, dkk (2016) terjadi pengurangan kepadatan tulang pada gigi anterior maxilla sebanyak 24% setelah perawatan ortodonti. Menurut penelitian lainnya yang dilakukan oleh Danz, dkk (2012) tentang stabilitas dan relaps setelah perawatan ortodonti pada kasus *deepbite* yang dilakukan dengan pengukuran radiografi *cephalometri* lateral menunjukkan bahwa 10% dari pasien perawatan ortodonti terjadi *relapse* dan 50% lainnya mengalami kasus insisor *overlap*, dan lainnya menunjukkan kenaikan *overbite* yang rendah (Danz dkk, 2012).

Gaya mekanik ortodonti menyebabkan pergerakan gigi dengan menghasilkan daerah tekanan dan tarikan pada jaringan periodonsium (Prameswari, 2009). Pada daerah tekanan terjadi resorpsi tulang alveolar, sedangkan pada daerah tarikan terjadi aposisi tulang (Miekle, 2006). Kedua proses tersebut merupakan proses remodeling tulang dimana sel-sel yang terlibat adalah sel osteoklas dan osteoblas. Sel osteoklas merupakan sel yang berfungsi meresorpsi tulang, sedangkan osteoblas merupakan sel yang berfungsi sebagai penghasil matriks organik tulang yang terdiri atas protein kolagen dan non kolagen dan mengatur proses mineralisasi pembentuk osteoid (Orwoll, 2003).

Perubahan seluler pada tulang alveolar saat pergerakan gigi ortodonti dipicu oleh berbagai macam sitokin dan *growth factor* yaitu interleukin 1 (IL-1), tumor

nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), dan gamma interferon (IFN- $\gamma$ ) yang berpengaruh pada proses resorpsi dan aposisi tulang alveolar (Luppanapornlarp, 2017). IL-1 merupakan polipeptida yang diproduksi oleh makrofag setelah adanya cedera atau perlawanan terhadap antigen dan diidentifikasi sebagai faktor pengaktif sel osteoklas. IL-1 merangsang pembentukan osteoklas secara tidak langsung dengan merangsang sintesis prostaglandin E2 (PGE-2) dalam osteoblas (Lee dkk, 2010). IL-1 dapat menyebabkan resorpsi tulang melalui efek primer dengan cara memicu pembelahan sel pre osteoklas dan diferensiasi pre-osteoklas menjadi osteoklas. Proses ini disebut dengan proses osteoklastogenesis (Jager dkk, 2005). Selain itu, IL-1 juga berperan terhadap mekanisme *cell signalling* osteoblas terhadap osteoklas untuk meresorpsi tulang melalui jalur PGE-2 (Kumar dkk, 2015).

Terdapat dua macam IL-1 yaitu interleukin 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) dan interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (Dinarello, 2011). IL-1 $\beta$  diketahui adalah sitokin pro-inflamasi yang kuat dan sangat penting untuk respon pertahanan tubuh terhadap infeksi dan cedera. IL-1 $\beta$  diproduksi dan disekresikan oleh beberapa variasi sel seperti sel monosit dan makrofag untuk merangsang aktivitas osteoklas dan menarik leukosit serta mediator sel lain untuk memproses remodeling tulang (Castejon dan Brough, 2011; Luppanapornlarp, 2017). Di dalam pergerakan gigi ortodonti IL-1 $\beta$  menstimulasi osteoklastogenesis dengan menginduksi TNF-  $\alpha$  dan meregulasi *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (RANKL) dan *matrix metalloproteinases* (MMPs) (Lalithapriya, 2018).

Berbagai penelitian telah dilakukan dalam perawatan ortodonti untuk meningkatkan proses remodeling tulang, menurut penelitian Pelletier dkk (2015) kandungan kondroitin sulfat dalam teripang emas (*Stichopus hermannii*) dapat meningkatkan level osteoprotegerin (OPG) dan menurunkan level (RANKL) sehingga terjadi proses antiosteoklastogenesis untuk menghambat diferensiasi osteoklas (Sandana dkk, 2017). Penelitian lainnya oleh Taddei dkk (2014) menyebutkan



pemberian  $\text{CaCO}_3$  (kalsium karbonat) pada perawatan ortodonti dapat menurunkan jumlah osteoklas sehingga mengurangi resorpsi tulang alveolar (Taddei dkk, 2014).

Salah satu bahan yang dilaporkan dapat mempercepat aposisi tulang dan menurunkan resorpsi tulang juga adalah fluorida. Fluorida merupakan salah satu elemen kimia yang sangat bersifat elektronegatif diantara semua elemen – elemen kimia, oleh karena itu tidak pernah ditemukan dalam bentuk elemen bebas, selalu dalam bentuk senyawa dengan elemen kimia lainnya misalnya Natrium Fluorida (NaF) (Agtini, 2005). Peningkatan paparan Natrium Fluorida dapat berpengaruh pada sel osteoklas dan osteoblas untuk meningkatkan aposisi dan mengurangi resorpsi tulang (Barbier dkk, 2010). Sifat senyawa NaF cukup stabil, rasa dapat diterima dan tidak mengiritasi jaringan (Sirat, 2014). Pemberian NaF dapat meningkatkan level (OPG) sehingga dapat mencegah osteoklastogenesis (Bhawal dkk, 2015).

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukannya penelitian mengenai jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan  $\text{IL-1}\beta$  akibat gaya mekanik ortodonti setelah diberikan NaF secara topikal dalam bentuk gel. Dari penelitian ini diharapkan peneliti dapat mengetahui peranan natrium fluorida (NaF) secara topikal terhadap jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan  $\text{IL-1}\beta$  akibat gaya mekanik ortodonti.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan sebuah permasalahan yaitu bagaimanakah jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan  $\text{IL-1}\beta$  pada gigi yang mendapatkan gaya mekanik ortodonti pada sisi tarikan dan tekanan setelah pemberian Natrium Fluorida (NaF) gel pada sulkus gingiva?.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan  $\text{IL-1}\beta$  akibat gaya mekanik ortodonti setelah pemberian Natrium Fluorida secara topikal dalam bentuk gel dibandingkan dengan gigi yang mendapat gaya mekanik ortodonti tanpa disertai aplikasi topikal natrium fluoride gel.



#### **1.4 Manfaat Penelitian**

- 1.4.1 Dapat meningkatkan wawasan serta pengetahuan dan pengalaman kepada peneliti dalam melakukan penelitian.
- 1.4.2 Dapat mengetahui jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  setelah aplikasi Natrium Fluorida (NaF) akibat induksi mekanik ortodonti.
- 1.4.3 Dapat memberikan informasi kepada tenaga medis terutama pada bidang kedokteran gigi dalam memanfaatkan Natrium Fluorida (NaF) terhadap perawatan gigi.
- 1.4.4 Dapat dijadikan bahan penelitian lanjut mengenai aplikasi Natrium Fluorida (NaF) pada gigi.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tulang Alveolar

Tulang alveolar terbentuk selama pertumbuhan janin oleh osifikasi intramembran yang terdiri dari matriks kalsifikasi dengan osteosit yang tertutup dalam ruang yang disebut lakuna (Newman, 2015). Proses remodeling tulang alveolar pada saat pergerakan gigi ortodonti dapat terjadi karena interaksi antara sel osteoklas, osteoblas dan osteosit (Lalithapriya, 2018).

#### 2.1.1 Osteoblas

Osteoblas (osteoblastus) adalah sel yang terdapat pada permukaan tulang. Osteoblas mensintesis, mensekresi, dan mengendapkan osteoid (osteoidium), komponen organik matriks tulang baru. Osteoid adalah matriks tulang yang tidak terkalsifikasi dan tidak mengandung mineral, kemudian osteoid akan mengendap dan mengalami mineralisasi sehingga menjadi tulang (Eroscheko, 2008).

#### 2.1.2 Osteoklas

Osteoklas (osteocleatus) merupakan sel multinukleatus besar yang terdapat pada sepanjang permukaan tulang tempat terjadinya resorpsi. Sel tersebut berasal dari penyatuan sel – sel progenitor hemopoetik termasuk turunan dari sel makrofag mononuklearis-monosit. Fungsi utama osteoklas adalah resorpsi tulang. Sel osteoklas terdapat pada lekuk dangkal pada matriks tulang dan mengeluarkan enzim lisosom sehingga dapat mengikis tulang atau yang disebut dengan lakuna *howship* (Eroscheko, 2008).

#### 2.1.3 Osteosit

Osteosit (osteocytes) merupakan bentuk matur dari sel osteoblas dan merupakan sel utama tulang, sel tersebut lebih kecil dari osteoblas. Osteosit berada didalam lakuna dan sangat dekat dengan pembuluh darah (Eroscheko V.P, 2008). Osteosit merupakan sel akhir dari diferensiasi osteoblas (Kogianni dan Noble, 2007).

## 2.2 Perawatan Ortodonti

### 2.2.1 Definisi Perawatan Ortodonti

Perawatan ortodonti merupakan prosedur perawatan yang memerlukan jangka waktu yang panjang untuk mendapatkan oklusi yang baik tanpa rotasi gigi, berjejal (*crowded*) dan diastema (Alawiyah, 2012). Tujuan dari perawatan ortodonti adalah untuk mendapatkan susunan gigi yang teratur dan kontak oklusal yang baik, sehingga dapat dicapai fungsi oklusi yang efisien dan estetika penampilan wajah yang menyenangkan dan stabil (Ardhana, 2013). Perawatan ortodonti pada bidang kedokteran gigi digunakan untuk merapikan gigi agar tersusun rapih dan berada pada lengkung rahang (Sintessa dkk, 2013).

### 2.2.2 Pergerakan Gigi dalam Perawatan Ortodonti

Dalam melakukan perawatan ortodonti akan diikuti proses remodeling jaringan disekitar akar gigi oleh karena adanya suatu gaya yang diberikan, remodeling memerlukan sel- sel yang dapat meresorpsi serta dapat membentuk matriks ekstraselular dari ligamen periodontal dan tulang alveolar. Apabila aplikasi gaya mekanik ortodonti diberikan maka akan terjadi penyempitan ligamen periodontal pada sisi tekanan diikuti resorpsi tulang alveolar akibat aktivitas dari osteoklas, sedangkan pada sisi regangan akan terjadi aposisi tulang oleh karena aktivitas dari osteoblas (Cardaropoli dan Gaveglio, 2007). Pada daerah tekanan dengan kekuatan ringan akan terjadi resorpsi tulang alveolar secara langsung oleh sel osteoklas di lakuna *howship*, pada sisi tarikan adanya deposisi pada tulang alveolar oleh sel osteoblas yang akan membentuk spikula tulang mengikuti orientasi serat periodontal (Miekle, 2006). Gigi pada daerah tekanan menunjukkan meningkatnya aktivitas osteoklastik, sedangkan pada daerah tarikan osteoblas mulai untuk berproliferasi dan terjadi mineralisasi matriks ekstraselular, keadaan ini dinamakan remodeling tulang (Sprogar dkk, 2008).

Pada saat remodeling tulang banyak sel-sel yang berperan yaitu fibroblas, osteoblas, cementoblas, sel- sel *vascular*, dan sel – sel hemapoetik yang penting dalam penerima stres mekanis. Pergerakan gigi ortodonti diperoleh dari proses remodeling

jaringan periodontal (PDL) dan tulang alveolar dalam respon mekanik yang dimediasi oleh beberapa mediator tubuh seperti sitokin (Graves dkk, 2007). Salah satu sitokin yang berperan dalam remodelling tulang adalah Osteoprotegerin (OPG). OPG merupakan sitokin yang dihasilkan oleh osteoblas yang berperan sebagai anti osteoklastogenesis dengan mengikat RANKL. Pada proses osteoklastogenesis RANKL bersiap untuk mengikat RANK pada prekursor – prekursor osteoklas untuk mengaktifkan pembentukan osteoklas sehingga terjadi resorpsi tulang (Elizabeth, 2007). RANK merupakan *membrane-bound cytokine like molecule*: disebut juga sebagai suatu *receptor activator nuclear faktor- $\kappa$ b* (Receptor Activator NF- $\kappa$ b.) (Prameswari, 2009). Disamping itu, osteosit memproduksi *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) yang dapat menghambat resorpsi tulang, yaitu dengan cara mencegah terjadinya osteoklastogenesis dan mencegah osteoklas dari meresorpsi tulang (Heino T.J dkk, 2002).

## 2.3 Sitokin

### 2.3.1 Definisi Sitokin

Sitokin merupakan protein sistem imun yang mengatur interaksi antar sel dan memacu reaktivitas antar imun, baik pada imunitas spesifik maupun non spesifik. Sitokin merupakan protein pembawa pesan kimiawi, atau perantara dalam komunikasi antar sel yang sangat poten, aktif pada kadar yang sangat rendah. Sitokin memiliki ciri-ciri:

- a. Merupakan peptida yang diproduksi sebagai respon terhadap mikroba dan antigen lainnya berperan sebagai mediator pada reaksi imun dan inflamasi.
- b. Berpengaruh terhadap sintesis dan efek terhadap sitokin lain.
- c. Efeknya secara lokal maupun sistemik (Baratawidjaja dan iris, 2013).

### 2.3.2 Interleukin 1

Interleukin-1 (IL-1) adalah mediator pusat kekebalan dan inflamasi (Garlanda dkk, 2013). Fungsi utamanya adalah sebagai mediator inflamasi yang merupakan respon terhadap infeksi dan rangsangan lainnya. Pengetahuan mengenai IL-1 terus berkembang, hingga saat ini sudah diketahui terdapat sekitar 40 jenis interleukin dan 200 protein lainnya yang berfungsi sebagai sitokin (Baratawidjaja dan Iris, 2013).

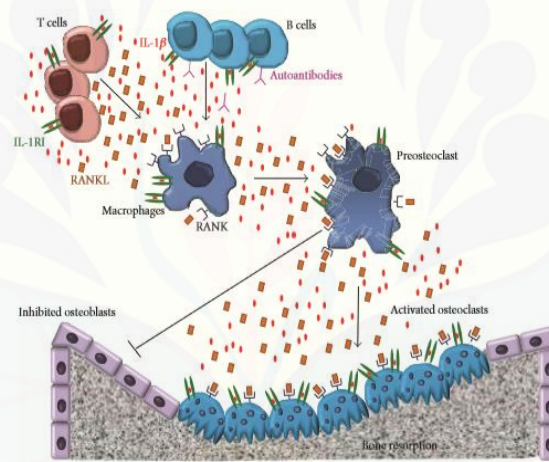
IL-1, IL-6, IL-8 merupakan interleukin proinflamasi pada pergerakan gigi ortodonti (Alhashimi dkk, 2001). Dalam proses remodeling tulang akan berhubungan dengan proses inflamasi, salah satu mediator yang berpengaruh adalah IL-1 yang diidentifikasi sebagai faktor pengaktif dari sel osteoklas. IL-1 merangsang pembentukan osteoklas secara tidak langsung dengan merangsang sintesis prostaglandin E2 (PGE-2) dalam osteoblas. Terdapat dua macam interleukin 1 yaitu IL-1 $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  (Lee dkk, 2010).

### 2.3.3 Pengaruh Interleukin 1 $\beta$ Terhadap Pergerakan Gigi

Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) adalah sitokin pro-inflamasi yang kuat dan sangat penting untuk respon pertahanan tubuh terhadap infeksi dan cedera. IL-1 $\beta$  diproduksi dan disekresikan oleh beberapa variasi sel seperti sel monosit dan makrofag (Castejon dan Brough, 2011). IL-1 $\beta$  menstimulasi aktivitas osteoklas dengan meningkatkan produksi *macrophage colony stimulating factor* (M-CSF) dan menghambat osteoklasoptosis, IL-1 $\beta$  menghambat proses osteoblastogenesis dengan kuat, sehingga dapat menurunkan terjadinya pembentukan tulang (Gambar 2.1) (Ruscitti, 2015). IL-1 $\beta$  merespon pergerakan gigi ortodonti dengan menstimulasi osteoklastogenesis dengan menginduksi TNF- $\alpha$  dan meregulasi RANKL serta MMPs. IL-1 $\beta$  berpartisipasi dalam beberapa tahapan osteoklastogenesis untuk proses remodeling tulang (Lalithapriya, 2018). IL-1 $\beta$  juga disekresikan oleh sel osteoklas, ekspresi IL-1 $\beta$  dilakukan pemeriksaan pada sel osteoklas dengan metode imunohistokimia (Marcus dkk, 2007).



Menurut penelitian yang dilakukan oleh Iwasaki (2001) melaporkan sitokin IL- $1\beta$  dan reseptor IL-1 berperan dalam bagian pergerakan gigi ortodonti, pada penelitian tersebut aplikasi gaya mekanik ortodonti dilakukan selama 28 hari (Iwasaki dkk, 2001). Sedangkan, pada penelitian yang dilakukan Rend dan vissink (2008) menemukan mediator inflamasi pada gigi yang telah diaplikasikan gaya mekanik ortodonti setelah 24 jam yaitu IL- $1\beta$  dan prostaglandin E<sub>2</sub>. IL- $1\beta$  lebih responsif pada stres mekanik (Ren dan Vissink, 2008). Pada penelitian yang dilakukan oleh Amila dkk (2017) terjadi peningkatan IL- $1\beta$  pada fase awal perawatan ortodonti setelah 24 jam dan 168 jam, peningkatan IL- $1\beta$  lebih menonjol 168 jam (Amila dkk, 2017).



Gambar 2.1 Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) pada proses inflamasi (Sumber: Ruscitti, 2015).

## 2.4 Fluor

### 2.4.1 Definisi Fluor

Fluor merupakan elemen kimia yang bersifat sangat elektronegatif diantara semua elemen-elemen kimia yang ditemukan dan tidak pernah ditemukan dalam bentuk elemen bebas (Agtini dkk, 2005). Fluor merupakan unsur elektronegatif dan bersifat reaktif, di alam sendiri fluor tidak pernah dijumpai dalam bentuk elemental melainkan dalam bentuk senyawa *fluorspar* (CaF<sub>2</sub>), *fluorapatit* (FAP) atau *cryolite* (Na<sub>3</sub>AlF<sub>6</sub>). Fluor dalam bentuk ion banyak terdapat dalam air segar, air laut, tanaman

dan dalam senyawa organik lainnya (Mc Cabe dkk, 2009). Fluor dapat digunakan sebagai tindakan preventif dalam berbagai bentuk, dalam sediaan yang dilakukan oleh tenaga profesional atau tenaga kesehatan yang terlatih. Salah satu senyawa tersebut adalah Natrium Fluorida (Agtini dkk, 2005).

Natrium Fluorida (NaF) merupakan senyawa fluorida yang digunakan dalam kedokteran gigi pada pencegahan karies gigi dan larut dalam air (Benson, 2005). Sifat larutan Natrium Fluorida antara lain: larutan NaF cukup stabil, rasanya dapat diterima dan tidak mengiritasi jaringan (Sirat, 2014).

#### 2.4.2 Sumber fluor

Pada setiap daerah memiliki kadar fluor yang relatif berbeda-beda, hal tersebut dipengaruhi oleh musim, karakteristik geologi dan porositas tanah. Daerah pegunungan mempunyai kadar fluor lebih rendah dibandingkan daerah pesisir pantai dikarenakan pada daerah pesisir kandungan mineral dari laut akan meresap ke sumber air tanah di daerah pesisir pantai. Tinggi dan rendahnya kadar fluor pada suatu daerah dapat dilihat dari kandungan fluor dalam air tanahnya (Agtini dkk, 2005).

#### 2.4.3 Hubungan fluor dengan tulang

Fluorida merupakan suatu mineral yang penting dalam menyusun tulang dan enamel. Fluorida semakin besar secara bertahap terletak pada sementum, tulang, dentin dan email. Fluor di dalam air minum dapat mempengaruhi tulang dan gigi (Slade dkk, 2013). Fluor pada jaringan lunak terletak pada cairan intersisial sedangkan pada jaringan terkalsifikasi dideposisikan melalui sirkulasi darah. Fluor dalam tulang kemudian dilepaskan kembali ke darah akibat dekalsifikasi karena adanya mekanisme remodeling dinamis tulang dan berlangsung secara berkesinambungan (Widjijono, 2001). Paparan dari fluor dapat mempengaruhi sel – sel tulang yaitu sel osteoblas dan sel osteoklas dalam peningkatan proses aposisi dan menurunkan proses resorpsi tulang. Senyawa NaF dapat memberikan efek pada migrasi sel osteoblas, sehingga saat ini NaF sedang banyak digunakan dibidang kedokteran terutama di bidang perawatan

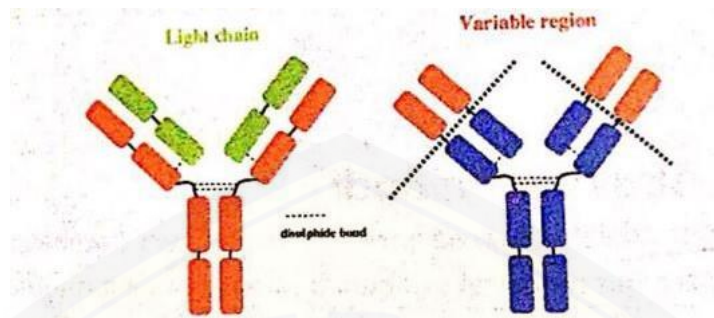


kesahatan gigi dan mulut. Ion fluorida dapat digunakan sebagai *bone graft* material dengan menstimulasi proliferasi dari sel-sel tulang yang dapat membantu dalam pembentukan tulang baru (Barbier dkk, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Everett (2011) bahwa pemberian fluorida meningkatkan ekspresi osteogenik marker (Everett, 2011). Fluorida dapat diberikan untuk meningkatkan aposisi tulang, hal ini dibuktikan oleh Sakallioğlu (2014) bahwa dengan memberikan dosis tinggi fluorida dapat meningkatkan TGF- $\beta$ 1 (Sakallioğlu, 2014). Selain itu Pei (2012) melaporkan fluor dapat mengurangi resorpsi tulang pada sel osteoklas (Pei dkk. 2012).

## 2.5 Imunohistokimia

Imunohistokimia merupakan suatu gabungan antara diagnosis histopatologi dengan diagnosis imunokimia yaitu diagnosis yang melibatkan reaksi dari antigen antibodi dan membentuk antigen kompleks (Putu dkk, 2009). Imunohistokimia merupakan suatu metode untuk mendeteksi keberadaan dari molekul atau berbagai macam komponen yang terdapat di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi antara antigen dengan antibodi. Antibodi secara spesifik akan melekat pada antigen, molekul antibodi tersebut berbentuk seperti huruf “Y” (Warsito dan Wuryastuti, 2014) (gambar 2.2). Metode imunohistokimia pada penggunaan suatu antibodi yang spesifik dilabel dengan menggunakan kromogen *diaminobenzidine tetrahydrochloride* (Unitly dan Sahertian, 2010).

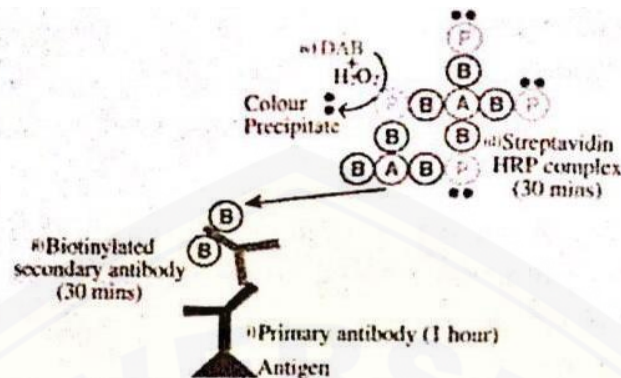


Gambar 2.2 Struktur dasar antibodi (Sumber: Warsito dan Wuryastuti, 2014)

Teknik imunohistokimia pada dasarnya merupakan perpaduan tiga disiplin ilmu yaitu imunologi, histologi dan kimia. Prinsip teknik dari imunohistokimia adalah adanya ikatan antigen antibodi spesifik yang telah dilabel (Wirata dkk, 2014). Pengecatan imunohistokimia merupakan serangkaian dari prosedur manual dan kompleks yang terdiri dari beberapa langkah sehingga membutuhkan tenaga yang ahli dan membutuhkan fokus yang tinggi (Prichard, 2014).

### 2.5.1 Antibodi

Antibodi merupakan suatu protein yang terdapat di dalam serum darah, yang akan diinduksi dan di produksi setelah terjadi kontak dengan antigen. Antibodi primer untuk antigen spesifik diinkubasi pada antigen sasaran kemudian diikuti dengan penambahan antibodi sekunder yang dilabel biotin bertindak sebagai penghubung antara antibodi primer dan konjugat streptavidin-peroksidase (gambar 2.3) (Warsito dan Wuryastuti, 2014).



Gambar 2.3 Teknik imunohistokimia dengan menggunakan streptavidin-biotin  
(Sumber: Warsito dan Wuryastuti, 2014).

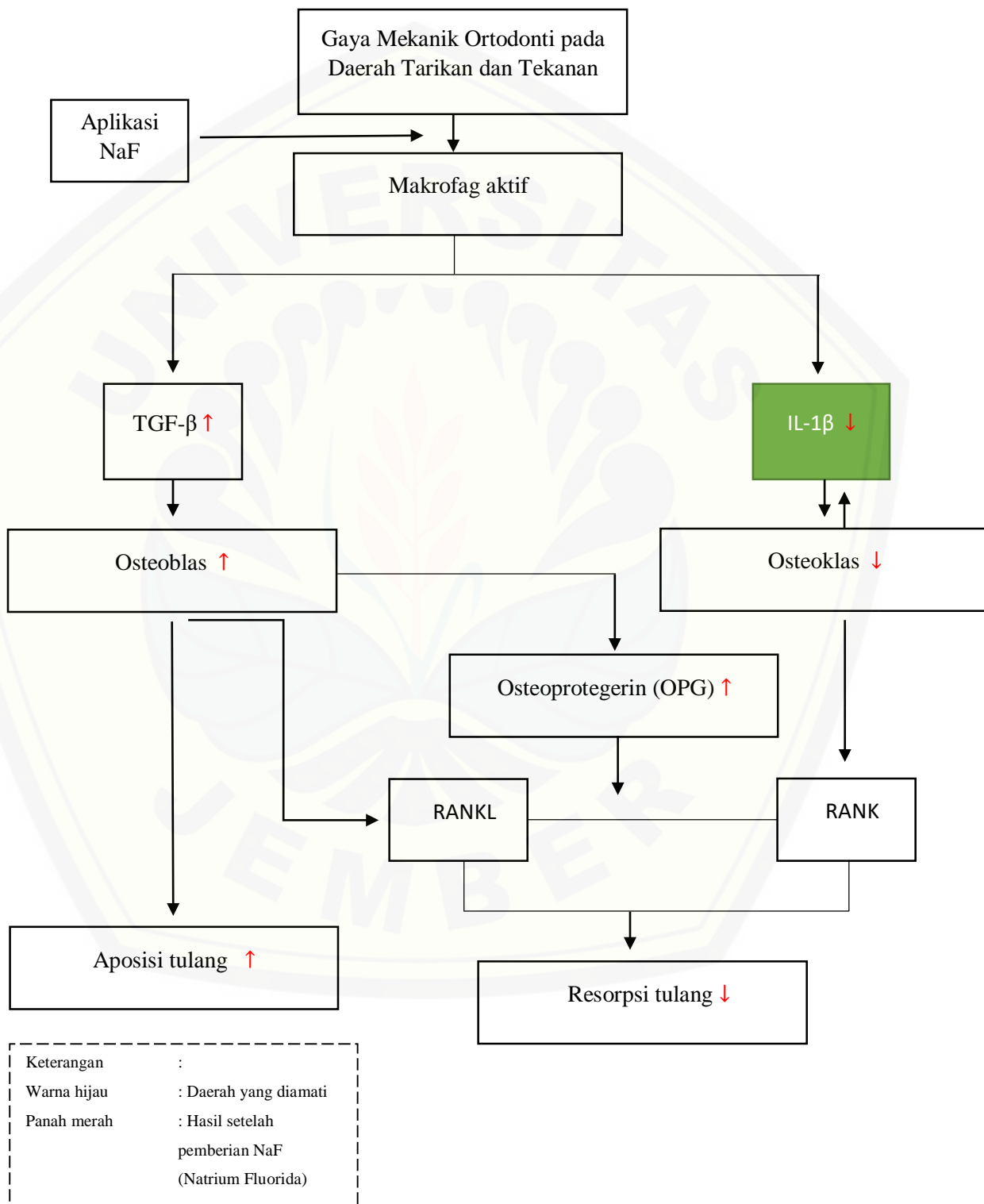
### 2.5.2 Kromogen

Kromogen (*3,3 diaminobenzidine tetrahydrochloride*) mengandung peroksida H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai substansi penanda yang akan membentuk kompleks enzim peroksidase dan kompleks SA-HRP (*Streptavidin horseradish peroxidase*), kompleks tersebut akan memberikan warna coklat gelap. Kromogen tersebut memiliki ikatan yang kuat dengan peroksida sehingga dengan proses *clearing* tidak akan mengalami perubahan warna (Bintari, 2016).

### 2.5.3 Counterstain

*Counterstain* bertujuan untuk memvisualisasikan detail jaringan secara imunohistokimia. *Counterstain* menggunakan *haematoxillin* untuk mewarnai bagian inti sel (Nurhidayat, 2002).

2.6 Kerangka Konsep



## 2.7 Penjelasan kerangka konsep

Gaya mekanik ortodonti akan mengakibatkan inflamasi, pada sisi tekanan akan terjadi resorpsi tulang sedangkan pada sisi tarikan akan terjadi aposisi tulang. Gaya mekanik ortodonti selanjutnya akan mengaktifkan makrofag. Makrofag mengeluarkan berbagai macam sitokin diantaranya adalah IL-1 $\beta$  dan TGF- $\beta$ . Pada daerah tekanan IL-1 $\beta$  akan menstimulasi sel osteoklas, sel osteoklas tersebut akan mensekresikan IL-1 $\beta$ . Pada permukaan prekursor sel osteoklas terdapat RANK yang memicu terjadinya resorpsi tulang. Sedangkan pada daerah tarikan TGF- $\beta$  menstimulasi sel osteoblas yang akan berpengaruh terhadap proses aposisi tulang.

Pemberian Natrium Fluorida (NaF) secara topikal pada gaya mekanik ortodonti dapat meningkatkan TGF- $\beta$  yang kemudian akan menstimulasi osteoblas. Sel osteoblas akan mensekresikan RANKL dan OPG. RANKL kemudian bersiap untuk mengikat RANK pada prekursor – prekursor osteoklas yang mengakibatkan resorpsi tulang. Sedangkan, OPG yang dihasilkan oleh sel osteoblas akan bersaing dengan RANK untuk mengikat RANKL sehingga akan menghambat resorpsi tulang dan akan meningkatkan aposisi tulang.

## 2.8 Hipotesis

Jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  akibat gaya mekanik ortodonti setelah pemberian Natrium Fluorida secara topikal menjadi lebih rendah jika dibandingkan tanpa pemberian Natrium fluorida pada tulang alveolar tikus Wistar jantan.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental laboratoris. 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 (Notoatmodjo, 2002).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *randomized post test only control group design*, merupakan pengamatan atau pengukuran setelah dilakukan perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2002). Pengukuran variabel dilakukan pada hari ke – 7 dan hari ke – 14.

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.3.1 Tempat Penelitian

- a. Perlakuan hewan coba dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- b. Pembuatan gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm dilakukan di laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- c. Pembuatan preparat jaringan tulang alveolar dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- d. Pengecatan dengan metode Immunohistokimia (IHC) beserta perhitungan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  yang dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

### 3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Oktober 2018.

## 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.4.1 Subyek Penelitian

Populasi penelitian menggunakan hewan coba tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan, umur 3 – 4 bulan dengan berat badan 200 sampai 250 gram kondisi sehat ditandai dengan gerakan aktif pada tikus dan jika di angkat ekornya, tikus tidak melakukan gerakan memutar.

### 3.4.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 ekor tikus tiap kelompok, menurut Daniel (2005) besar sampel dapat diperoleh dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan :

n= jumlah sampel tiap kelompok

Z= nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha= 0,05$  maka  $Z= 1,96$

$\sigma$ = Standar deviasi sampel

d= kesalahan yang masih dapat ditoleransi

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

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

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

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$



Berdasarkan perhitungan rumus diatas, diperoleh besar sampel setiap kelompok adalah 4 ekor tikus pada masing – masing kelompok. Dengan keseluruhan 16 ekor tikus sebagai subyek yang terbagi dalam 4 kelompok.

### 3.4.3 Syarat Sampel

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

- a. Jenis kelamin jantan  
Penelitian 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 badam yaitu antara 200-250 gram diharapkan memiliki proses remodeling yang adekuat dan juga menghindari apabila terdapat pengaruh hormon – hormon pertumbuhan.

## 3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah Natrium Fluorida secara topikal pada sulkus gingiva.

### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  akibat gaya mekanik ortodonti pada sisi tarikan dan tekanan setelah pemberian natrium fluorida secara topikal.

### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Kriteria hewan coba meliputi berat badan, umur jenis kelamin dan jenis tikus.

- b. Pemeliharaan tikus selama masa adaptasi dan perlakuan dengan jenis makanan dan minuman, pemberian makan dan minum yang diberikan serta kebersihan kandang.
- c. Gigi yang diamati beserta arah pergerakan gigi.
- d. Cara pemberian dan dosis bahan perlakuan.
- e. Waktu evaluasi
- f. Prosedur penelitian.

### 3.6 Definisi Operasional

#### 3.6.1 Fluor

Fluor yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium fluorida, dalam bentuk bubuk dengan merek dagang *emsure* kemudian dijadikan dalam bentuk gel 11,34 ppm yang diberikan secara topikal ke dalam sulkus. Obat topikal adalah pemberian secara lokal dengan cara mengoleskan kepada daerah sekitar sulkus gingiva

#### 3.6.2 Gaya mekanik ortodonti

Gaya mekanik ortodonti merupakan besar kekuatan tekanan yang diberikan pada gigi insisif sentral untuk menggerakkan gigi insisif ke palatal. Menggunakan *niti closed coil spring* dengan sebesar 10 gram/cm<sup>2</sup> yang diukur dengan menggunakan *tension gauge* (Zhuang dkk, 2016).

#### 3.6.3 Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

Ekspresi interleukin 1 $\beta$  ditandai dengan sitoplasma sel osteoklas yang terwarnai coklat dengan menggunakan metode imunohistokimia menggunakan perbesaran 1000x. Ekspresi IL-1 $\beta$  dilakukan pengamatan pada dua daerah yaitu tarikan dan tekanan.

### 3.7 Konversi Dosis

#### 3.7.1 Dosis Fluorida

Bahan fluorida yang digunakan adalah Natrium Fluorida dalam bentuk gel dengan dosis 11,34 ppm, dengan dosis 2,16 mg/hari (Aguilar dkk, 2008) yang merupakan sediaan fluorida yang aman untuk tikus wistar yang digunakan dalam penelitian ini dengan berat sebesar 200-250 gram.

Hasil tersebut diperoleh dengan menggunakan rumus:

Dosis Natrium Fluorida Gel

Rumus :

Dosis optimal x Berat Badan x Hari

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

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

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

Dilarutkan dalam 1 liter aquadest menjadi 11,34 ppm

Volume yang diberikan

$$\text{konsentrasi optimal } 0,2\% \text{ (Lampmann, 1984)} = 0,2 \text{ gr} / 100\text{ml} = 200 \text{ mg} / 100\text{ml} = 2\text{mg/ml}$$

Rumus : (Dosis x Berat Badan) : Konsentrasi

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

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

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

#### 3.7.2 Dosis Bahan Anastetikum

Bahan anastesi yang digunakan merupakan campuran dari ketamin dan xylazine.

Ketamin 10 % dosis 50 mg/kg dan Xylazine 2 %, dosis 5 mg/kg, secara intramuskuler (Hartiningih dkk, 2015).

- a. Dosis ketamin yang digunakan :

Konsentrasi 10% Ketamin

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

$$\text{Berat badan hewan coba } 200 - 250 \text{ gr} = 0,2 - 0,25 \text{ kg}$$

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

$$= 2 \text{ gr} / 100 \text{ ml}$$

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

$$\text{Berat badan hewan coba } 200 - 250 \text{ gr} = 0,2 - 0,25 \text{ kg}$$

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

- 1) Perlakuan hewan coba :
  - a) Hewan coba tikus wistar jantan
  - b) Pakan standar hewan coba (Turbo, Indonesia)
  - c) Air minum
  - d) Serbuk kayu
  - e) Semen Glass Ionomer Tipe IX (Fuji IX)

- 2) Pembuatan gel natrium fluorida
  - a) Bubuk Natrium Fluorida (Emsure, EMD Milipore Corp., Germany)
  - b) Carbopol 1% (Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember)
  - c) Propilen glikol 3% (Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember)
  - d) TEA 3% (Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember)
- 3) Pembuatan preparat jaringan dan pengecetan imunohistokimia
  - a) Larutan buffer formalin 10% (Mediss)
  - b) Asam Formiat (Merck)
  - c) Ketamin (KTM-100)
  - d) Xylazine (Interchemie)
  - e) Paraffin/ Paraplast (Leica)
  - f) Alkohol (Bratachem)
  - g) Akuades (Waterone)
  - h) *Xylol* (Bratachem)
  - i) *Peroxidase block* (ScyTek)
  - j) *Diaminobenzidine tetrahydrochloride* (ScyTek)
  - k) Etanol
  - l) *Phosphate buffer saline* (PBS)
  - m) Antibodi primer IL-1 $\beta$  (*R&D System*)
  - n) Antibodi sekunder biotin (ScyTek)
  - o) *Mayer's Hematoxylin*
  - p) *horseradish peroxidase* (HRP)
  - q) *Bluing Agent* (ScyTek)
  - r) *Entellan* (Merck)

### 3.8.2 Alat Penelitian

- 1) Perlakuan hewan coba
  - a) Kandang peliharaan hewan coba
  - b) Tempat makan dan tempat minum hewan coba

- c) Timbangan berat badan hewan coba (Exhaust)
  - d) Gunting
  - e) *Scalpel*
  - f) *Ni-ti closed coil spring*
  - g) *Disposable syringe 1 ml (Onemed, Indonesia)*
  - h) *Stainless steel ligature wire*
  - i) *Tension gauge (Ormco, Europa)*
  - j) *Excavator*
  - k) Sonde setengah lingkaran
  - l) *Arteri clamp*
  - m) Pinset
  - n) *Scalpel*
  - o) Pot jaringan (Makmur Jaya, Indonesia)
  - p) Mikromotor *contra angle low speed*
  - q) Minidrill
  - r) *Diamond round bur no.1/2 (Edents, Switzerland)*
- 2) Pembuatan gel natrium fluorida
- a) Mortar dan alu
  - b) Timbangan analitik (Sartorius)
  - c) Gelas ukur
  - d) Gelas beaker
  - e) *Mixer*
- 3) Pembuatan preparat jaringan dan pengecetan imunohistokimia
- a) Label identitas
  - b) Spidol
  - c) *Tissue cassette (biogear)*
  - d) *Tissue automatic processing (Krisme, Indonesia)*
  - e) Dispenser
  - f) Mikrotom



- g) *Hotplate*
  - h) *Object glass* (Tomo IHC Adhesive Glass Slide)
  - i) *Cover glass*
  - j) Mikroskop cahaya (Olympus)
  - k) *Chamber*
  - l) Oven
  - m) Mikropipet (Socorex)
- 4) Alat penunjang
- a) Sarung tangan dan masker
  - b) Kamera mikroskop optilab

### **3.9 Prosedur Penelitian**

#### **3.9.1 Perijinan *Ethical Clearence***

Memperoleh persetujuan prosedur perlakuan hewan coba *ethical clearence* di Komisi Etik dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### **3.9.2 Persiapan hewan coba**

Sebanyak 16 ekor tikus wistar jantan dilakukan aklimatisasi dalam kandang selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan. Selama proses adaptasi, tikus diberi makanan standar yaitu turbo dan diberi minum menggunakan air dua kali dalam sehari. Hal ini bertujuan untuk mengurangi stres hewan coba dan memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian (homogenitas) serta memenuhi standart kriteria penelitian.

#### **3.9.3 Pembagian kelompok perlakuan**

Hewan coba yang sudah diadaptasikan dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu:

Kontrol negatif (K-) :

- a. Kelompok A (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi induksi gaya mekanik ortodonti selama 7 hari.
- b. Kelompok B (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi induksi gaya mekanik ortodonti selama 14 hari.

Perlakuan (P) :

- a. Kelompok C (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi induksi gaya mekanik ortodonti dan Natrium Fluorida (NaF) selama 7 hari.
- b. Kelompok D (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi induksi gaya mekanik ortodonti dan Natrium Fluorida (NaF) selama 14 hari.

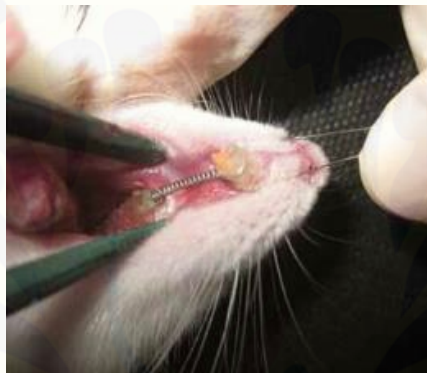
#### 3.9.4 Persiapan Gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm

Natrium Fluorida (NaF) diperoleh dalam bentuk bubuk berwarna putih yang kemudian diproses agar menjadi bentuk gel di laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Dosis Natrium Fluorida yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 11,34 ppm (Aguilar, 2008). Pembuatan gel dilakukan pada lab Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pembuatan gel dilakukan dengan cara mencampurkan NaF sebanyak 11,34 mg, carbopol sebanyak 1%, TEA sebanyak 3%, dan propilen glikol sebanyak 3% dalam 1 liter aquades steril menggunakan mortar dan alu. Setelah itu gel di homegenkan dengan menggunakan mixer homogen.

#### 3.9.5 Pemasangan coil spring

- a. Selama prosedur pemasangan dan aktivasi *ni-ti closed coil spring* berdiameter 0,25 mm dilakukan injeksi intramuskuler pada tikus dengan larutan ketamin dan xyla dengan perbandingan 1: 2.
- b. Sebelum dipasang kekuatan *ni-ti closed coil spring* tersebut diukur dengan menggunakan *tension gauge* untuk menghasilkan kekuatan sebesar 10 gr/cm<sup>2</sup>.

- c. Sebuah *ni-ti closed coil spring* diletakkan di antara gigi insisif sentral rahang atas dan molar pertama kanan rahang atas untuk menggerakkan insisif sentral ke arah palatal. Piranti ini kemudian 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 dengan nomor 1/2 dengan 0,1 mm *stainless steel ligature wire* yang dipasang mengelilingi gigi molar pertama. Untuk meningkatkan retensi, diaplikasikan *glass ionomer cement*.



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

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

#### 3.9.6 Pengambilan Jaringan Penelitian

Dilakukan dekaputasi hewan coba kelompok A dan C pada hari ke-8 dan kelompok B dan D 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. Jaringan yang diambil untuk penelitian harus segar artinya, jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan coba dilakukan euthanasia.

### 3.9.7 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 fiksatif dimaksudkan untuk mencegah otolisis jaringan dengan cara menginaktivasi enzim lisosom dan mencegah pertumbuhan bakteri maupun jamur yang dapat merusak jaringan. Fiksasi dapat menstabilkan sel atau jaringan (Warsito dan Wuryastuti, 2014). Fiksasi jaringan dilakukan selama minimal 24 jam (Santoso, 2006)
- b. Perendaman larutan dekalsifikasi  
Dilakukan dekalsifikasi pada jaringan rahang atas regio kanan dengan menggunakan Asam Formiat 10%. Indikator jaringan dikatakan lunak jika ditusuk dengan menggunakan jarum menembus jaringan tersebut dan apabila jarum diangkat, jaringan tidak terangkat bersama jarum. Proses dekalsifikasi bertujuan untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, dan memudahkan dalam proses pemotongan. Jaringan dicuci dengan PBS 3x 5 menit untuk membersihkan dari kontaminan (Santoso, 2006).
- 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 (Syafriadi dkk, 2006)

2) *Clearing* (proses penjernihan) menggunakan bahan clearing (xylol).

Tahapan clearing :

- a) Xylol = 1 jam
- b) Xylol = 2 jam
- c) Xylol = 2 jam (Syafriadi, dkk, 2006).

3) Impegnasi.

Memasukkan spesimen dalam:

- a) Paraffin (60°C) = 2 jam
- b) Paraffin (60°C) = 2 jam

4) *Embedding*

*Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*, yaitu *paraffin* dengan TD 60°C (Syafriadi, 2006).

Tahapan *embedding* sebagai berikut:

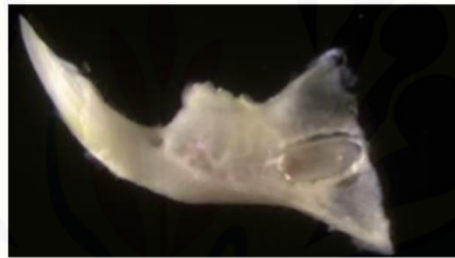
- a) Menyiapkan *base mould* pada suhu 60°C.
- b) Menyiapkan kaset pada suhu 60°C.
- c) Menekan kran *paraffin* dispenser pada *base mould* sampai volumenya cukup.
- d) Memasukkan spesimen ke dasar *base mould* dengan menggunakan kaset.
- e) Meletakkan kaset di atas *base mould* yang sudah terisi jaringan/spesimen.
- f) Meletakkan *base mould* yang sudah terisi pada *could plate*.
- g) Menunggu 2-4 menit dan *base mould* akan berbunyi thik.
- h) Meletakkan kaset dengan *base mould*.
- i) Blok *paraffin* sudah siap dipotong/disayat.

5) Penyayatan Jaringan

Persiapan pada tahap penyayatan dengan mengolesi obyek glass dengan mayer albumin dan menempelkan blok *paraffin* pada *blok holder* mikrotom dengan bantuan pemanasan.



- a) Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya membersihkan pisau mikrotom dengan kasa/kertas saring yang telah dibasahi dengan xylol dengan arah tegak lurus.
- b) Mengatur ketebalan sayatan mikrotom antara 4-5 mikron
- c) Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu meletakkan diatas permukaan air waterbath dengan temperatur tetap  $56^{\circ}$ - $58^{\circ}$ C hingga sayatan mekar.
- d) Mengambil sayatan yang telah mekar dengan obyek glass kemudian mengkeringkan dengan *hotplate* dengan suhu sekitar  $37^{\circ}$ C, minimal selama 12 jam (Syafriadi, dkk, 2006).



Gambar 3.2 Ilustrasi pemotongan jaringan makroskopis (Sumber: Chavez dkk, 2014).

- 6) Pengecatan sediaan
  - a) Sediaan dilakukan deparafinisasi preparat menggunakan larutan *xylol* sebanyak tiga kali, masing-masing selama 10 menit.
  - b) Rehidrasi menggunakan etanol absolut sebanyak 3 kali, masing-masing selama 10 menit kemudian inkubasi preparat selama 24 jam dengan suhu  $3^{\circ}$ C.
  - c) Keluarkan preparat hingga uap menghilang.
  - d) Cuci preparat menggunakan aquadest sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit



- e) Bersihkan *object glass* kemudian tetesi preparat dengan *peroxidase blocking solution* sebanyak 2 tetes kemudian inkubasi pada suhu ruang selama 40 menit.
- f) Cuci preparat menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- g) Bersihkan *object glass* kemudian tetesi preparat dengan *prediluted blocking serum* sebanyak 100 µl menggunakan mikropipet kemudian inkubasi dengan suhu 3<sup>0</sup>C selama 24 jam.
- h) Cuci preparat menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- i) Rendam preparat dalam antibodi monoklonal interleukin 1β sebanyak 80 µl menggunakan mikropipet kemudian inkubasi dengan suhu 3<sup>0</sup>C selama 24 jam.
- j) Cuci preparat dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- k) Rendam preparat dengan antibodi sekunder sebanyak 2 tetes kemudian inkubasi pada suhu ruang selama 60 menit.
- l) Cuci preparat dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali, masing-masing selama 5 menit.
- m) Rendam preparat dengan *horseradish peroxidase* (HRP) sebanyak 2 tetes kemudian inkubasi pada suhu ruang selama 40 menit.
- n) Cuci preparat dengan *phosphatase buffer saline* (PBS) selama 5 menit.
- o) Aliri preparat dengan *aquadest*.
- p) Rendam preparat dengan *diaminobenzidine tetrahydrochloride* (DAB) sebanyak 100 µl menggunakan mikropipet selama 15 menit kemudian bilas dengan *aquadest*.
- q) Tetesi preparat dengan *mayer's hematoxylin* selama 2 menit sebanyak 2 tetes.
- r) Cuci preparat dengan air mengalir.

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

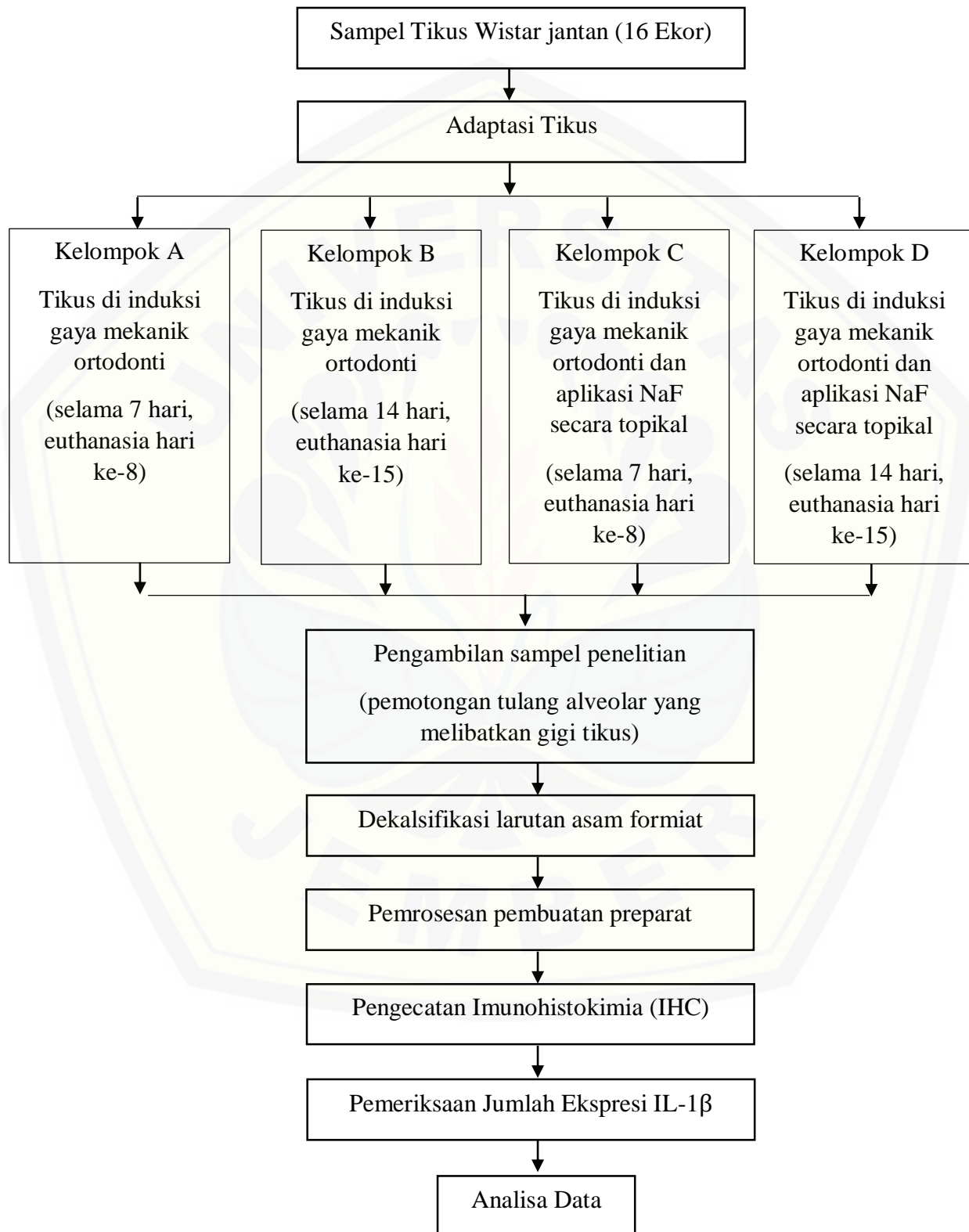
### **3.10 Prosedur Pengamatan Dan Perhitungan Jumlah Sel Osteoklas Yang Mengekspresikan IL-1 $\beta$**

Perhitungan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  dilakukan menggunakan perbesaran 1.000x. Pengamatan dilakukan pada 10 lapang pandang pada daerah tarikan dan 10 lapang pandang pada daerah tekanan sepanjang permukaan tulang alveolar. Setiap sediaan terdapat 10 hasil perhitungan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  daerah tarikan dan 10 hasil perhitungan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  daerah tekanan, kemudian dijumlahkan masing-masing sisi dalam 1 sediaan dan dibagi 10 pada masing- masing sisi untuk mendapatkan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  dalam 1 sediaan.

### **3.11 Cara Pengolahan dan Analisis Data**

Dilakukan uji normalitas untuk menguji variabel penelitian dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Kemudian dilakukan uji homogenitas untuk menyatakan bahwa data antar kelompok merupakan data yang homogen dengan menggunakan uji *Levene*. Data yang dihasilkan terdistribusi normal dan homogen kemudian dilakukan uji antar kelompok menggunakan *One-way anova* dan dilakukan uji lanjutan *Least Significant Difference (LSD)*.

### 3.12 Alur Penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian Natrium Fluorida sebesar 11,34 ppm yang diaplikasikan pada sulkus gingiva dengan pemberian gaya mekanik ortodonti sebesar 10gram/cm<sup>2</sup> dapat menurunkan jumlah sel osteoklas yang mengekspresikan IL-1 $\beta$  baik pada daerah tarikan maupun tekanan tulang alveolar tikus Wistar jantan.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variasi waktu
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang densitas tulang setelah pemberian Natrium Fluorida pada pergerakan gigi ortodonti.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur perpindahan gigi pada pergerakan gigi ortodonti.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Agtini, M.D., Sintawati, dan I. Tjahja. 2005. Fluor dan Kesehatan Gigi. *Media Litbang Kesehatan*. 15(2): 25 – 31.
- Aguilar, F., U.R. Charrondiere, B. Dusemund, P. Galtier, J. Gilbert, D.M. Gott, S. Grilli, R. Guertler, G.E.N. Kass, J. Koenig, C. Lambré, J-C. Larsen, J-C. Leblanc, A. Mortensen, D. Parent-Massin, I. Pratt, I. Rietjens, I. Stankovic, P. Tobback, T. Verguieva, R. Woutersen. 2008. Sodium Monofluorophosphate as A Source of Fluoride Added For Nutritional Purposes To Food Supplements. *The EFSA Journal*. 886; 1-18.
- Alawiyah, A., dan P.P. Sianita. 2012. Retensi dalam Perawatan Ortodonti. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi FKG UPDM(B)*. 9(2): 29-35.
- Alhashimi, N., L. Frithiof, P. Brudvik, dan M. Bakhiet. 2001. Orthodontic Tooth Movement and *de novo* Synthesis of Proinflammatory Cytokines. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 119(3): 307 – 312.
- Amila, V., K. Aleksandra, J. Pavlović, V. Todorović, V. Vukićević\*, D. Jevremović, dan M. Nadežda. 2017. Differences in IL-1 $\beta$  and IL-6 levels in the gingival crevicular fluid during acute phase of orthodontic tooth movement between juveniles and young adults. *Vojnosanit Preg*. 74(3): 219–226.
- Ardhana, W. 2013. Identifikasi Perawatan Ortodontik Spesialistik dan Umum. *Majalah Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada*. 20(1): 1-18.
- Barbier, O., L.A. Mendoza, L.M. Del Razo. 2010. Molecular Mechanisme of Fluoride Toxicity, *Chemo Biological Interactions*. 188: 319- 333.
- Baratawidjaja, K.G dan R. Iris. 2013. *Imunologi Dasar Edisi ke-10*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Benson, H.A.E. 2005. Transdermal Drug Delivery Penetration, Enhancement Technique. *Current Drug Delivery*. 2(1): 23-33.
- Bhawal, U,K., H.J. Lee, K. Arikawa, M. Shimosaka, M. Suzuki, T. Toyama, T. Sato,R. Kawamata, C. Taguchi, N. Hamada, I. Nasu, H. Arakawa dan K. Shibutani.2015. Micromolar Sodium Fluoride Mediates Anti-Osteoclastogenesis In Porphyromonas Gingivalis-Induced Alveolar Bone Loss. *International Journal of Oral Science*. 7:242-249.



- Cardaropoli, D., dan L. Gaveglio. 2007. The Influence of Orthodontic Movement on Periodontal Tissues Level. *Seminar in Orthodontic*. 13(4): 234-245.
- Castejon, G.L., dan D. Brough. 2011. Understanding The Mechanism of IL-1 $\beta$  Secretion. *Elsavier*. 22(4): 189-195.
- Chavez, M.G., J. Hu, K. Seidel, C. Li, A. Jheon, A. Naveau, O. Horst, dan O.D. Klein. 2014. Isolation and Culture of Dental Epithelial Stem Cells From Adult Mouse Incisor. *Journal of Visualized Experiment*. E51266(87): 1-7.
- Cihuman, V. 2018. Perbedaan Jumlah Sel Osteoklas dan Osteoblas Pada Pergerakan Gigi Guinea Pig. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara.
- Daniel, W. 2005. *Biostatic Foundation for Analysis in The Health Science 8<sup>th</sup> Edition*. Georgia: Wiley.
- Danz, J.C., C. Greuter, Sifakakis, M.Fayed, N. Pandis, dan C. Katsaros. 2012. Stability and Relapse After Orthodontic Treatment of Deep Bite Cases-a Long-Term Follow-Up Study. *European Journal of Orthodontics*. 36(5): 522-30.
- Dinarello, C.A., 2011. Interleukin-1 In The Pathogenesis And Treatment Of Inflammatory Diseases. *Blood Journal*. 117(14): 3720-3732.
- Dutra, E.H., A. Ahmida, A. Lima, S. Schneider, R. Nanda, dan S. Yadav. 2017. The Effect of Alveolar Decortications on Orthodontic Tooth Movement and Bone Remodelling in Rats. *European Journal of Orthodontics*. 1-17.
- Elizabeth, AF. 2007. Investigations of Mechanisms Involved in LPS-Stimulated Osteoclastogenesis. *Digital Commons @University of Connecticut*. [http://digitalcommons.uconn.edu/sodm\\_master](http://digitalcommons.uconn.edu/sodm_master).
- Eroschenko, V.P. 2008. *diFiore's Atlas Histology With Functional Correlations*. 11<sup>th</sup> Edition. Dalam Atlas Hitologi diFiore: Dengan Korelasi Fungsional. Editor B.U. Pedit. Jakarta: EGC.
- Everett, E.T. 2011. Fluorides Effects on The Formation Of Teeth And Bones, And The Influence Of Genetics. *J Dent Res*. 90(5): 552-560.
- Garlanda, C., C.A. Dinarello, dan A. Mantovani. 2013. The Interleukin – 1 Family: Back To The Future. *J.Immuni*. 39(6): 1003-1018.



- Graves, D.T., Oates T, dan Garlet G.P. 2011. Review of Osteoimmunology and The Host Response in Endodontic and Periodontal Lesions. *Journal of microbiology Ora.l* v3i0.5304.
- Hartiningsih., D. Anggraeni, I. Widiyono, H. Wuryastuty. 2015. Respons Tulang Femur Tikus Ovariohisterektomi yang Mengonsumsi Kasein dan Disuplementasi Calcitriol Selama 30 Minggu. *Jurnal Veteriner*. 16 (1): 68-77.
- Heino, T.J., T.A. Hentunen, dan H.K. Vaananen. 2002. Osteocytes Inhibit Osteoclastic Bone Resorption Through Transforming Growth Factor-Beta: Enhancement By Estrogen. *J Cell Biochem*. 85(1): 185–197.
- Husin, E., R. Tjandrawinata, M. Juliani, dan B.O. Roeslan. 2012. Orthodontic Application in Correlation with Salivary Lactate Dehydrogenase Activity. *Journal of Dentistry Indonesia*. 19(1): 10-13.
- Iwasaki, L.R., J.E. Haack, J.C. Nickel, R.A. Reinhardt, dan T.M. Petro. 2000. Interleukin -1 $\beta$  and Interleukin -1 Receptor Antagonist Secretion ond Velocity of Tooth Movement. *Arch Oral Biol*. 46(2) 185-9.
- Jager, A., D. Zhang, A. Kawarizadeh, R. Tolba, B. Braumann, S. Lossdorfer, dan W. Gotz. 2006. Soluble Cytokine Receptor Treatment in Experimental Orthodontic Tooth Movement in Rats. *European Journal of Orthodontics*. 27(01): 1-11.
- Kogianni, G., dan B.S. Noble. 2007. The Biology of Osteocytes. *Current Medicine Group LLC*. 5:81-86.
- Kumar, A.A., K. Saravanan, K. Kohila, dan S.S. Kumar. 2015. Biomarkers in Orthodontic Tooth Movement. *J Pharm Bioallied Sci*. 7(2): 325-330.
- Lampmann, L.E., S.A Duursma, dan J.H.J Ruys. 1984. *CT Densitometry in Osteoporosis: The Impact on Management of The Patient*.
- Lalithapriya, S., K. Rajasigamani, dan V. Bhaskar. 2018. Role of Interleukin-1 Beta in Orthodontics. *International Journal of Health Sciences & Research*. 11(8): 270-278.
- Lee, Y.M., N. Fujikado, H. Manaka, H. Yasuda, dan Y. Iwakura. 2010. IL-1 Plays An Important Role in The Bone Metabolism Under Physiological Conditions. *International Immunology*. 22(10): 805-816.
- Luppanapornlarp, S., dan J. Iida. 2017. Orthodontic Force, Tooth Movement and Interleukin-1 $\beta$ . *Hokkaido J. Dent. Sci*. 38(Special issue): 20-27.

- Marcus, R., D. Feldman, D. Nelson, dan J.R. Clifford. 2007. *Osteoporosis*. Edition 3. United States of America: Academic Press.
- Mc. Cabe, J.F., Z. Yan, O.T. Ai Naimi, G. Mahmoud, dan S.L. Rolland. 2009. Smart Material Dentistry – Future Prospect. *Dent Mater J*. 28(1): 37-43.
- Miekle. M.C. 2006. The Tissue, Cellular, and Molecular Regulation of Orthodontic Tooth Movement. *European Journal of Orthodontics*. 28: 221–240.
- Newman, M.G., H.H. Takei, P.R. Klokkevold, dan F.A. Carranza 2015. *Carranza's Clinical Periodontology*. 12<sup>th</sup> Edition. Canada: Elsevier Saunders.
- Notoatmojo. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Orwoll, E.S. 2003. Toward an Expanded Understanding of The Role of The Periosteum in Skeletal Health. *J. Bone Miner. Res*. 18(6): 949-954.
- Prameswari, N., dan A. Brahmanta. 2009. Fisiologi Resorpsi Tulang pada Pergerakan Gigi Ortodonti. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi FKG-UHT*. 4(1): 1-9.
- Pei, J., B. Li, Y. Gao, Y. Wei, L. Zhou, H. Yao, J. Wang, dan D. Sun. 2014. Fluoride Decreased Osteoclastic Bone Resorption Through The Inhibition of NFATc1 Gene Expression. *Environ Toxicol*. 29(5): 588-595.
- Prichard, J.W., 2014. Overview of Automated Immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. 138(12): 1578-82.
- Putu, P.N., Putra, N.S. Muktiti, K. Mulyartha dan Siswanto. 2009. Ekpresi Sitokeratin 19 dari Bilasan Bronkus Penderita Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil dan Penderita Resiko Tinggi Kanker Paru dengan Metode Imunohistokimia. *Jurnal Respirologi Indonesia*. 29(4): 1-9.
- Ren, Y. dan A. Vissink. 2008. Cytokines in Crevicular Fluid and Orthodontic Tooth Movement. *Eur J Oral Sci*. 116(2):89-97.
- Ruscitti, P., P. Cipriani, F. Carubbi, V. Liakouli, F. Zazzeroni, P.D. Benedetto, O. Berardicurti, E. Alesse and L. Glacomelli. 2015. The Role of IL-1 $\beta$  in the Bone Loss during Rheumatic Diseases. *Hindawi Publishing Corporation Mediator of Inflammation*. Volume 2015.

- Sandana, I.K., J. Velisia, A. Yuniar, A. Brahmanta dan N. Prameswari. 2017. Potensi Gel *Stichopus Hermanii* dan Hyperbaric Oxygen Therapy Untuk Mempercepat Perawatan Ortodonti. *Jurnal Kedokteran Gigi Unpad*. 29(3): 196-204.
- Sakallioğlu, E.E., M. Muglali, B. Bas, dan M.Y. Gulbahar, 2014. Effects of Excessive Fluoride on Bone Turnover in The Mandible: An Immunohistochemical Study in Rabbit's. *Research Report Fluoride*. 47(1): 23-30.
- Santoso, H.B. 2006. Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisialis Tibia Fetus Mencit (*Mus musculus L.*) dari Induk dengan Perlakuan Kafein. *Bek. Penel. Hayati*. 12: 69-74.
- Sato, M., Yachiguchi, K. Motohashi, K. Yaguchi, Y. Tabuchi, Y. Kitani, T. Ikari, S. Ogiso. T. Sekiguchi, T.N. Hai, D.T.T. Huong, N.V. Hoang, M. Urata, H. Mishima, A. Hattori, dan N. Suzuki. 2017. Sodium Fluoride Influences Calcium Metabolism Resulting from Suppression of Osteoclast in The Scales of Nibbler Fish *Girella punctate*. *Fisheries Science*.
- Seifi, M., M.R. Badiie, Z. Abdolazimi, dan P. Amdjadi. 2013. Effect of Basic Fibroblast Growth Factor on Orthodontic Tooth Movement. *Cell Journal*. 15(3): 230 – 237.
- Sintessa, S., H.M. Soemarko, L. Suprapti, dan I. Hernawan. 2013. Hambatan Prostaglandin pada Pemberian OAINS dan Non-OAINS Pasca Pemakaian Alat Ortodontik. *J.Exp. Life Sci*. 3(2): 65-75.
- Sirat, N.M. 2014. Pengaruh Aplikasi Topikal Dengan Larutan NaF dan SnF<sub>2</sub> Dalam Pencegahan Karies Gigi. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 2(2): 222-231.
- Slade, G.D., A.E. Sanders, L. Do, K. Roberts-Thomson, dan A.J. Spencer. 2013. Effects of Fluoridated Drinking Water on Dental Caries in Australian Adults. *Journal of Dental Research*. 92(4): 376-82.
- Sprogar, S., T. Vaupotic, Cör A, M. Drevenšek, dan G. Drevenšek. 2008. The Endothelin System Mediates Bone Modeling In The Late Stage Of Orthodontic Tooth Movement In Rats. *J. Bone*. 43(4): 740-747.
- Syafridi, M., S. Subiyantoro, D. Setyorini, dan R. Joelijanto. 2006. *Patologi Anatomi Degenarasi dan Radang*. Tidak diterbitkan. Petunjuk praktikum.
- Taddei, S.R.A., M.F.M. Madeira, I.L.A. Lima, C.M.Q. Junior, A.P. Moura, D.D. Oliveira, I. Andrade, D.G. Souza, M.M. Teixeira and T.A. Silva. 2014. *Angle Orthodontist*. 84(6): 980-988.

- Unitly, A.J.K., dan D.E. Sahertian, 2010. Deteksi Kandungan Antioksidan Superoksida Dismustase (SOD) Pada Organ Ginjal Tikus *Rattus norvegicus* dengan Pewarnaan Imunohistokimia. *Proseding Seminar Nasional Basic Science II*. 2 Juli 2010. ISBN: 978-602-97522-0-5.
- Warsito, R., dan H. Wayastuti. 2014. *Antibodi dan Imunohistokimia*. Yogyakarta: Rapha Publishing.
- Widjijono. 2001. Penggunaan Implan Poli Laktat-Natrium Monofluorofosfat Dengan Kajian Availabilitas Fluor Sediaan, Biokompatibilitas dan Bioavailabilitas Fluor Dalam Darah dan Gigi Pada Tikus Putih. *Disertasi*. Program Pasacasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Wirata, I.K., I.K. Berata dan I.K. Puja. 2014. Sensitifitas dan Spesifisitas Teknik Imunohistokimia Rabies. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*. 2(1): 49-59.
- Yu, J., H.L. Huang, C. Liu, W. Jay, Y.F. Li, M.T. Tsai dan J.T. Hsu. 2016. Does Orthodontic Treatment Affect The Alveolar Bone Density?. *Medicine*. 95(10): 1-10.
- Zhuang, L., N. Ru, S.S.Y. Liu, S. Li and Y. Bai. In Vivo Microcomputed Tomography Evaluation of Rat Alveolar Bone and Root Resorption During Orthodontic Tooth Movement. 2013. *Angle Orthodontist*. 83(3): 402-409.



LAMPIRAN

Lampiran A. Alat dan Bahan Penelitian

A1. Alat dan Bahan untuk Pemasangan NiTi Closed Coil Spring

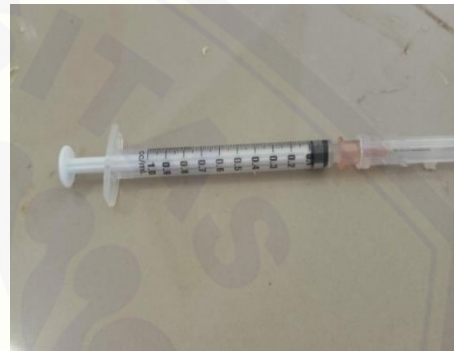
Alat :



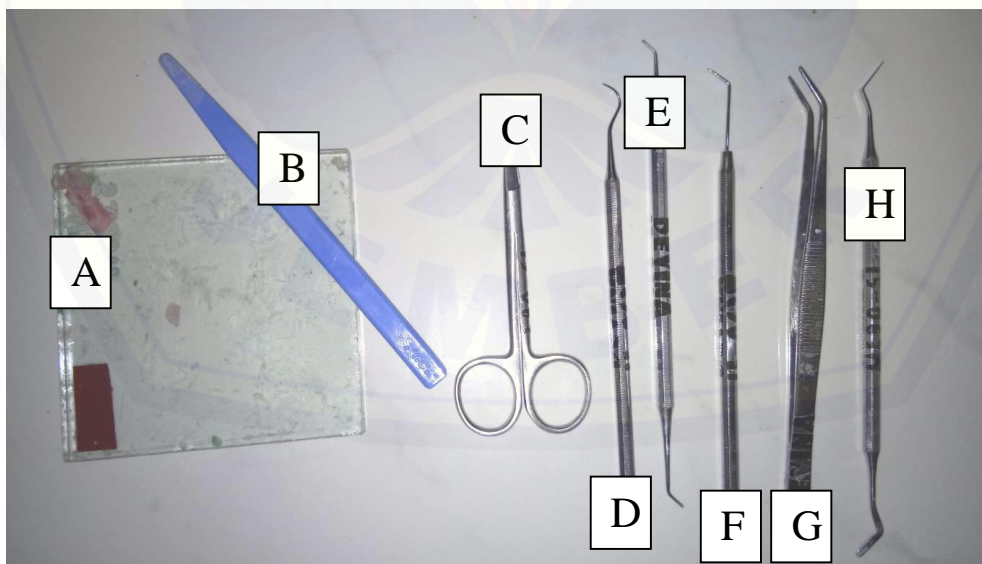
Stainless steel  
ligature wire 0,1  
mm



ni-ti closed coil  
spring 0,25 mm



Disposible Spuit 1 cc



- A. Kotak Kaca
- B. Spatula Agate
- C. Gunting
- D. Sonde Setengah Lingkaran
- E. Excavator
- F. Sonde Lurus



Arteri Clamp



Papan Bedah



Bur dan Minidrill



Syringe Modifikasi



Tension Gauge



Bahan:



Tikus Wistar Jantan



Xylazine



Ketamin



Semen Glass Ionomer Tipe IX dan Paper Pad

## A.2 Alat dan Bahan Pembuatan Gel Natrium Fluorida (NaF) 11,34 ppm

Alat:



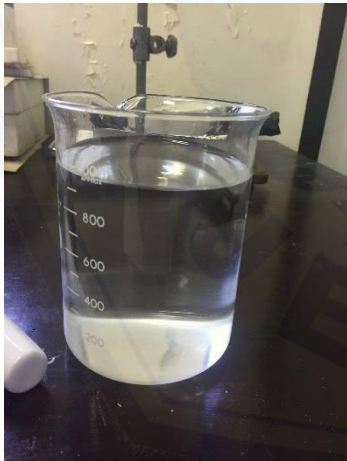
Timbangan Analitik



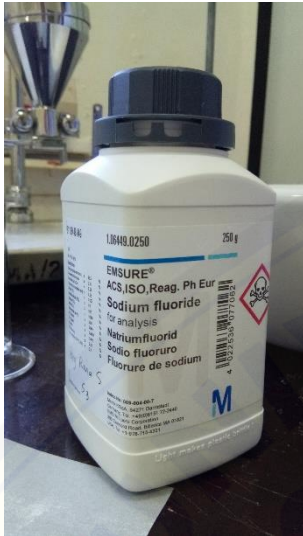
Gelas Ukur



Mortar dan Alu

*Beaker Glass**Homogenizing Mixer*

Bahan:



Bubuk Natrium Fluorida (NaF)



Propilenglicol 3%



TEA 3%



Carbopol 1%



Aquadest

### A.3 Alat dan Bahan Dekalsifikasi Jaringan

Alat :



Tempat Jaringan

Bahan:



Asam Formiat



A.4 Alat dan Bahan Pemrosesan Jaringan dan Pembuatan Parafin Blok

Alat:



*Auto Processing*



Dispenser 60°C



Inkubator



Kaset



Bahan:



*Paraffin*



Blok Jaringan

### A.5 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat

Alat:



Mikrotom



*Waterbath 37°C*



*Hot Plate*

Bahan:



*Object Glass*



*Xylol*

A.6 Alat dan Bahan Pewarnaan Jaringan dan Pengamatan Preparat Jaringan

Alat:



Oven



Mikropipet



Vortex



Mikroskop Cahaya LED



Laptop

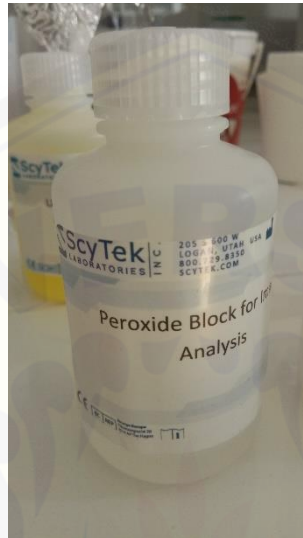


Optilab

Bahan:



*Prediluted Blocking Serum*



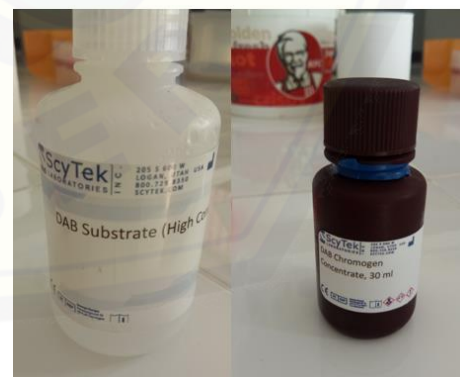
*Peroxidase Blocking Solution*



*Antibodi Sekunder Biotin*



*Xylo dan Etanol Absolut*

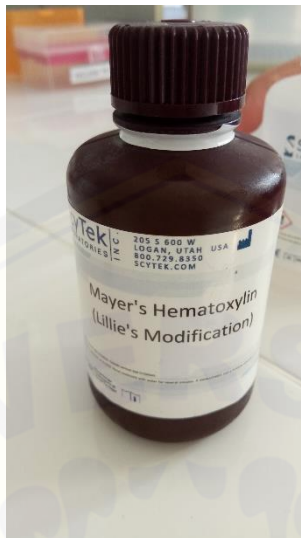


*Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB)*





*Horseradish Peroxidase (HRP)*



*Mayer's Hematoxylin*



*Bluing Reagent*



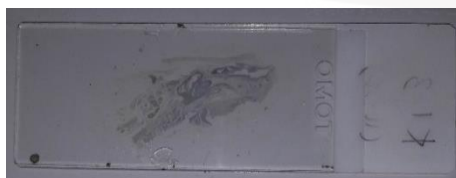
*Entelan*



*Object Glass*



*Antibodi primer IL-1β*



*Preparat jaringan*



**Lampiran B. Rata-Rata Hasil Jumlah Ekspresi IL-1 $\beta$  Pada Sel Osteoklas****B.1 Sisi Tarikan**

Kelompok	L.P 1	L.P 2	L.P 3	L.P 4	L.P 5	L.P 6	L.P 7	L.P 8	L.P 9	L.P 10	Rata-rata
K11	1	1	0	0	0	11	3	0	4	1	2,1
K12	2	2	2	3	1	0	0	2	3	1	1,6
K13	0	4	3	1	2	0	0	0	2	3	1,5
K14	3	0	0	2	1	2	1	1	0	1	1,1
K21	3	3	2	2	0	0	1	0	0	2	1,3
K22	2	0	1	0	0	0	3	2	0	2	1,0
K23	0	3	0	0	0	1	1	2	1	2	1,0
K24	1	0	1	1	1	3	0	0	2	2	1,1
P11	3	0	2	0	1	1	0	1	0	2	1,0
P12	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	0,6
P13	1	2	1	1	0	1	1	0	0	2	0,9
P14	0	3	1	0	2	0	0	0	1	3	1,0
P21	2	1	1	0	2	0	2	1	2	0	1,1
P22	2	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0,6
P23	0	1	0	1	0	0	0	3	2	0	0,7
P24	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0,3

Keterangan (\*) L.P: Lapang Pandang

## B.2 Sisi Tekanan

Kelompok	L.P 1	L.P 2	L.P 3	L.P 4	L.P 5	L.P 6	L.P 7	L.P 8	L.P 9	L.P 10	Rata-rata
K11	2	3	2	4	0	6	1	4	1	2	2,5
K12	1	2	2	2	3	2	2	3	2	1	2,0
K13	2	5	2	2	2	3	1	3	2	2	2,4
K14	0	3	1	2	1	1	0	1	0	3	1,2
K21	1	2	2	2	2	0	1	2	1	1	1,4
K22	2	5	2	2	4	2	2	2	2	2	2,5
K23	3	3	2	1	5	0	0	2	4	1	2,1
K24	2	2	2	3	1	1	0	2	0	0	1,3
P11	1	1	0	3	2	0	2	1	2	2	1,4
P12	2	0	1	0	0	3	2	2	2	1	1,3
P13	1	0	1	0	0	1	2	0	1	4	1,0
P14	2	1	0	1	2	3	1	0	3	3	1,6
P21	2	2	2	0	1	1	2	0	0	0	1,0
P22	1	0	0	1	3	0	0	0	0	1	0,6
P23	1	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0,7
P24	0	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0,6

Keterangan (\*) L.P: Lapang Pandang

## Lampiran C. Analisis Data

Descriptives					
	Kelompok		Statisti c	Std. Error	
Ekspresi IL-1 (tarikan)	K1	Mean		1.5750	.20565
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.9205	
			Upper Bound	2.2295	
		5% Trimmed Mean		1.5722	
		Median		1.5500	
		Variance		.169	
		Std. Deviation		.41130	
		Minimum		1.10	
		Maximum		2.10	
		Range		1.00	
		Interquartile Range		.77	
		Skewness		.356	1.014
	Kurtosis		1.282	2.619	
	K2	Mean		1.1000	.07071
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.8750	
Upper Bound			1.3250		
5% Trimmed Mean		1.0944			
Median		1.0500			
Variance		.020			

		Std. Deviation	.14142	
		Minimum	1.00	
		Maximum	1.30	
		Range	.30	
		Interquartile Range	.25	
		Skewness	1.414	1.014
		Kurtosis	1.500	2.619
	P1	Mean	.8750	.09465
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.5738
			Upper Bound	1.1762
		5% Trimmed Mean	.8833	
		Median	.9500	
		Variance	.036	
		Std. Deviation	.18930	
		Minimum	.60	
		Maximum	1.00	
		Range	.40	
		Interquartile Range	.32	
		Skewness	-1.659	1.014
		Kurtosis	2.615	2.619
	P2	Mean	.6750	.14930
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.1998
			Upper Bound	1.1502

		5% Trimmed Mean	.6778		
		Median	.7000		
		Variance	.089		
		Std. Deviation	.29861		
		Minimum	.30		
		Maximum	1.00		
		Range	.70		
		Interquartile Range	.58		
		Skewness	-.423	1.014	
		Kurtosis	-.416	2.619	
Ekspresi IL-1 (tekanan)	K1	Mean	2.0250	.29545	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.0847	
			Upper Bound	2.9653	
		5% Trimmed Mean	2.0444		
		Median	2.2000		
		Variance	.349		
		Std. Deviation	.59090		
		Minimum	1.20		
		Maximum	2.50		
		Range	1.30		
		Interquartile Range	1.08		
		Skewness	-1.298	1.014	
		Kurtosis	1.098	2.619	



	K2	Mean		1.8250	.28395
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.9214	
			Upper Bound	2.7286	
		5% Trimmed Mean		1.8278	
		Median		1.8500	
		Variance		.323	
		Std. Deviation		.56789	
		Minimum		1.20	
		Maximum		2.40	
		Range		1.20	
		Interquartile Range		1.08	
		Skewness		-.130	1.014
		Kurtosis		-4.115	2.619
	P1	Mean		1.3250	.12500
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.9272	
Upper Bound			1.7228		
5% Trimmed Mean		1.3278			
Median		1.3500			
Variance		.063			
Std. Deviation		.25000			
Minimum		1.00			
Maximum		1.60			
Range		.60			

		Interquartile Range	.48	
		Skewness	-.560	1.014
		Kurtosis	.928	2.619
	P2	Mean	.7250	.09465
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.4238
			Upper Bound	1.0262
		5% Trimmed Mean	.7167	
		Median	.6500	
		Variance	.036	
		Std. Deviation	.18930	
		Minimum	.60	
		Maximum	1.00	
		Range	.40	
		Interquartile Range	.33	
		Skewness	1.659	1.014
		Kurtosis	2.615	2.619

C.1 Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Tests of Normality		
	Kelompok	Shapiro-Wilk <sup>a</sup>
		Sig.
Ekspresi IL-1 (tarikan)	K1	.880
	K2	.161
	P1	.086
	P2	.952
Ekspresi IL-1 (tekanan)	K1	.338
	K2	.512
	P1	.911
	P2	.086

C.2 Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Ekspresi IL-1 (tarikan)	Based on Mean	.953	3	12	.446
	Based on Median	.879	3	12	.479
	Based on Median and with adjusted df	.879	3	7.844	.492
	Based on trimmed mean	.959	3	12	.444
Ekspresi IL-1 (tekanan)	Based on Mean	2.900	3	12	.079
	Based on Median	2.277	3	12	.132
	Based on Median and with adjusted df	2.277	3	5.925	.181
	Based on trimmed mean	2.908	3	12	.078

## C.3 Uji Parametri One-Way Anova

ANOVA		
		Sig.
Ekspresi IL-1 (tarikan)	Between Groups	.004
	Within Groups	
	Total	
Ekspresi IL-1 (tekanan)	Between Groups	.006
	Within Groups	
	Total	

## C.4 Uji Least Significant Difference LSD

Multiple Comparisons					
LSD					
Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.
Ekspresi IL-1 (tarikan)	K1	K2	.47500*	.19817	.034
		P1	.70000*	.19817	.004
		P2	.90000*	.19817	.001
	K2	K1	-.47500*	.19817	.034
		P1	.22500	.19817	.278
		P2	.42500	.19817	.053
	P1	K1	-.70000*	.19817	.004
		K2	-.22500	.19817	.278
		P2	.20000	.19817	.333

	P2	K1	-.90000*	.19817	.001
		K2	-.42500	.19817	.053
		P1	-.20000	.19817	.333
Ekspresi IL-1 (tekanan)	K1	K2	.20000	.31024	.531
		P1	.70000*	.31024	.043
		P2	1.30000*	.31024	.001
	K2	K1	-.20000	.31024	.531
		P1	.50000	.31024	.133
		P2	1.10000*	.31024	.004
	P1	K1	-.70000*	.31024	.043
		K2	-.50000	.31024	.133
		P2	.60000	.31024	.077
	P2	K1	-1.30000*	.31024	.001
		K2	-1.10000*	.31024	.004
		P1	-.60000	.31024	.077



Lampiran D. Sertifikat *Ethical Clearance*



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER**  
*(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH*  
*FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)*

**ETHIC COMMITTEE APPROVAL**  
No. 156/UN25.8/KEPK/DL/2018

Title of research protocol	: "Expression of Interleukin 1 Beta on Orthodontic Tooth Movement Tension and Compression Area in Alveolar Bone After <i>Natrium Fluoride</i> (NaF) Application"
Document approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Adik Wulandari
Member of research	: 1. Dani Agam Rahmadianto 2. Devina Yulia Putri 3. Anjelia Celli Baglada
Responsible Physician	: Adik Wulandari
Date of approval	: August 3 <sup>rd</sup> , 2018
Place of research	: Laboratory of Biomedic Faculty of Dentistry Universitas Jember

The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.

Jember, August 6<sup>th</sup>, 2018

<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)</p>	<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.S)</p>
---	---

## Lampiran E. Surat Ijin Penelitian

## E.1 Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



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

Nomor : 429/UN25.8.TL/2018  
Perihal : Ijin Penelitian

26 NOV 2018

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

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



Nama	Adik Wulandari
NIM	151610101007
Semester/Tahun	2017/2018
Fakultas	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat	Jalan Baturaden IV No. 3 Sumbersari Jember
Judul Penelitian	Eksresi Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Pada Pergerakan Tulang Alveolar Setelah Pemberian <i>Natrium Fluoride</i> (NaF)
Lokasi Penelitian	Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Data/alat yang dipinjam	3 -
Waktu	September 2018 s/d Selesai
Tujuan Penelitian	Untuk perlakuan terhadap hewan coba dan pemrosesan jaringan
Dosen Pembimbing	1. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes 2. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih




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

## E.2 Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991	
Nomor Perihal	A.11/UN25.8.TL/2018 : Ijin Penelitian	26 NOV 2018
Kepada Yth	Kepala Bagian Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember Di Jember	
	Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :	
Nama	Adik Wulandari	
NIM	151610101007	
Semester/Tahun	2017/2018	
Fakultas	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember	
Alamat	Jalan Baturaden IV No. 3 Sumbersari Jember	
Judul Penelitian	Eksresi Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Pada Pergerakan Gigi Orthodonti Daerah Tarikan Dan Tekanan Pada Tulang Alveolar Setelah Pemberian <i>Natrium Fluoride</i> (NaF)	
Lokasi Penelitian	Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember	
Data/alat yang dipinjam	3 Mortar, Alu, Gelas Ukur Besar, Mixer, Timbangan Mikro	
Waktu	September 2018 s/d Selesai	
Tujuan Penelitian	Untuk membuat gel <i>Natrium Fluoride</i>	
Dosen Pembimbing	1. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes 2. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed	
	Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih	
		
	Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes NIP. 196109031986022001	



## E.3 Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga


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

---


Nomor : *446*/UN25.8.TL/2018  
 Perihal : Ijin Penelitian 26 NOV 2018

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


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

Nama	: Adik Wulandari
NIM	: 151610101007
Semester/Tahun	: 2017/2018
Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat	: Jalan Baturaden IV No. 3 Sumbersari Jember
Judul Penelitian	: Ekspresi Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Pada Pergerakan Gigi Orthodonti Daerah Tarikan Dan Tekanan Pada Tulang Alveolar Setelah Pemberian <i>Natrium Fluoride</i> (NaF)
Lokasi Penelitian	: Laboratorium Patologi Anatomi : Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Data/alat yang dipinjam	: 3 -
Waktu	: September 2018 s/d Selesai
Tujuan Penelitian	: Untuk pemotongan jaringan dan pembuatan preparat jaringan
Dosen Pembimbing	1. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes 2. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih

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

## E.4 Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya



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

---

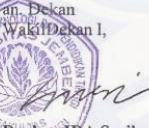

Nomor : **Abd/VUN25.8.TL/2018** **26 NOV 2018**  
Perihal : Ijin Penelitian

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

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

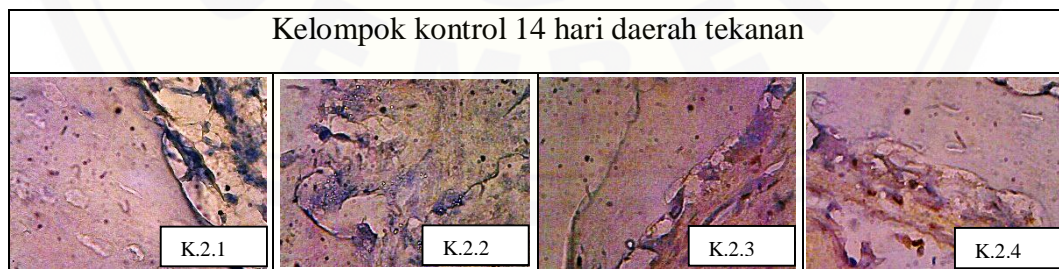
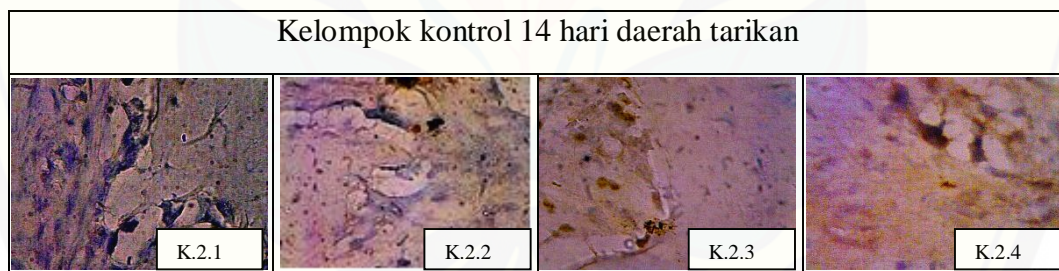
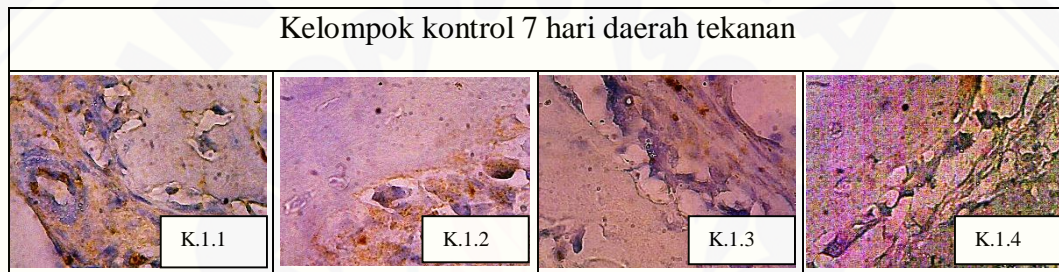
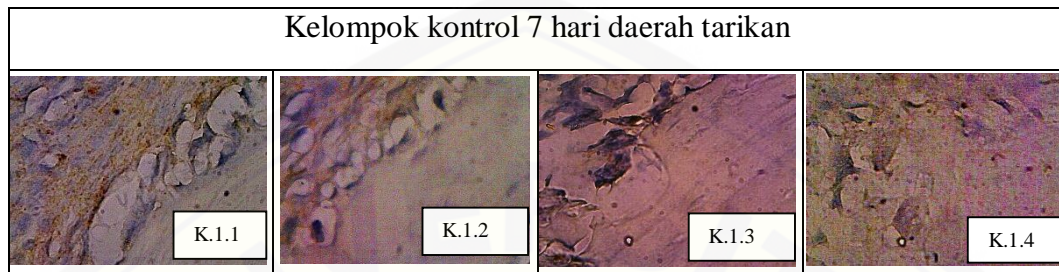
Nama	Adik Wulandari
NIM	151610101007
Semester/Tahun	2017/2018
Fakultas	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat	Jalan Baturaden IV No. 3 Sumbersari Jember
Judul Penelitian	Eksresi Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Pada Pergerakan Gigi Orthodonti Daerah Tarikan Dan Tekanan Pada Tulang Alveolar Setelah Pemberian <i>Natrium Fluoride</i> (NaF)
Lokasi Penelitian	Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Data/alat yang dipinjam	3 Inkubator, Oven, Mikroskop Cahaya, dan Pipet
Waktu	September 2018 s/d Selesai
Tujuan Penelitian	Untuk pewarnaan jaringan menggunakan imunohistokimia dan pengamatan jaringan
Dosen Pembimbing	1. Dr. drg. Rina Sutjiati, M.Kes 2. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih

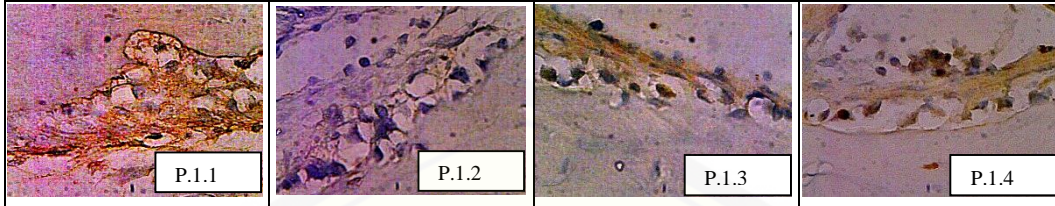
  
  
**Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes**  
**NIP. 196109031986022001**



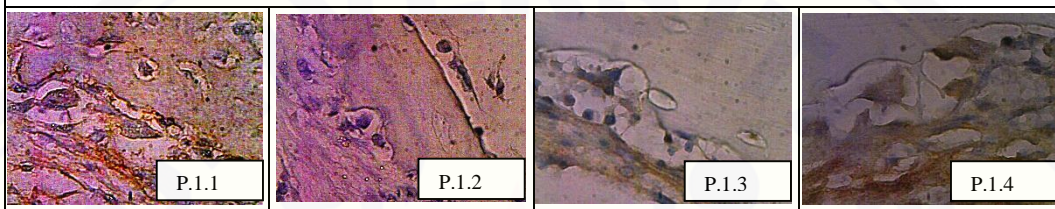
**F. Gambaran Histologis Ekspresi IL-1 $\beta$  Pada Sel Osteoklas Gigi Insisivus Rahang Atas Tikus Wistar Jantan dengan Perbesaran 1000x**



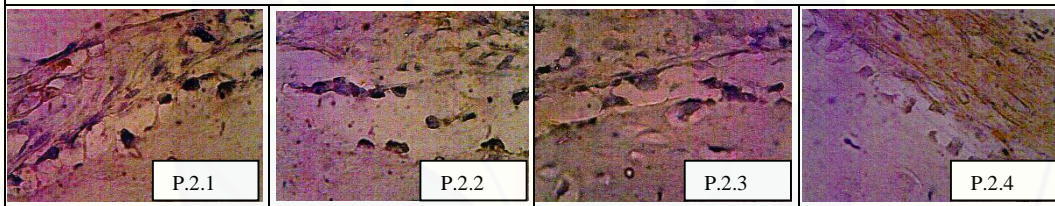
Kelompok perlakuan 7 hari daerah tarikan



Kelompok perlakuan 7 hari daerah tekanan



Kelompok perlakuan 14 hari daerah tarikan



Kelompok perlakuan 14 hari daerah tekanan

