

**ANALISIS EKSPRESI *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2*
(RUNX2) SETELAH PEMBERIAN ETANOL DALAM PROSES
REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI
(IN VIVO)**

TESIS



OLEH:

WAHYUNI

J055202002

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ANALISIS EKSPRESI *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2*
(RUNX2) SETELAH PEMBERIAN ETANOL DALAM PROSES
REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI
(IN VIVO)**

TESIS

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Profesi
Spesialis Bidang Ortodonti**



**WAHYUNI
J055202002**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS
PROGRAM STUDI ORTODONTI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

**ANALISIS EKSPRESI *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2*
(*RUNX2*) SETELAH PEMBERIAN ETANOL DALAM PROSES
REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI
(IN VIVO)**

Oleh:

WAHYUNI

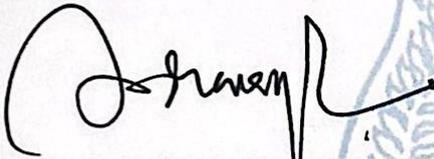
J055202002

Setelah membaca Tesis ini dengan seksama, menurut pertimbangan kami,
Tesis ini telah memenuhi persyaratan ilmiah

Makassar, 28 Maret 2024

Pembimbing I

Pembimbing II



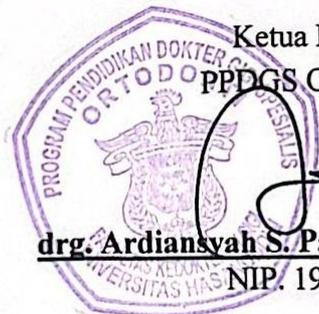
drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort.,Subsp.DDTK(K)
NIP. 197908192006041001



drg. Zilal I. Paramma, Sp. Ort.,Subsp.DDTK(K)
NIP. 198209262019015001

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Ortodonti FKG UNHAS



drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort.,Subsp.DDTK(K)
NIP. 197908192006041001

PENGESAHAN TESIS

**ANALISIS EKSPRESI *RUNT-RELATED TRANSCRIPTION FACTOR 2*
(*RUNX2*) SETELAH PEMBERIAN ETANOL DALAM PROSES
REMODELING TULANG SELAMA APLIKASI GAYA ORTODONTI
(IN VIVO)**

Disusun dan diajukan oleh

WAHYUNI

J055202002

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Karya Tulis Akhir
pada tanggal 28 Maret 2024

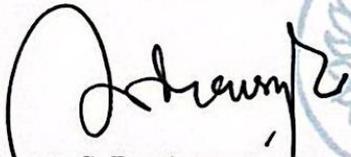
dan dinyatakan telah memenuhi persyaratan ilmiah

Menyetujui,

Makassar, 28 Maret 2024

Pembimbing I

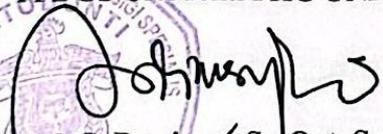
Pembimbing II


drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort.,Subsp.DDTK(K)
NIP. 197908192006041001

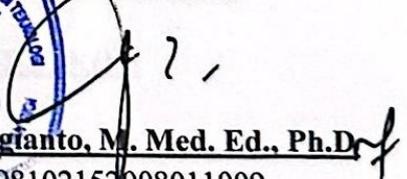

drg. Zilal I. Paramma, Sp. Ort.,Subsp.DDTK(K)
NIP. 198209262019015001

Mengetahui

Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Ortodonti FKG UNHAS


drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort.,Subsp.DDTK(K)
NIP. 197908192006041001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin


drg. Irfan Sugianto, M. Med. Ed., Ph.D
NIP. 198102152008011009

**TELAH DIUJI OLEH PANITIA PENGUJI TESIS
PADA TANGGAL, 28 MARET 2024**

PANITIA PENGUJI TESIS

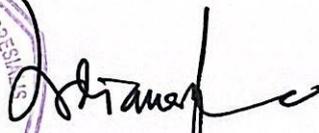
Ketua : Dr. drg. Eka Erwansyah, M. Kes, Sp. Ort., Subsp.DDTK(K)

Anggota : Dr. drg. Eddy Heriyanto Habar, Sp. Ort., Subsp.DDPK(K)

drg. Baharuddin M Ranggung, Sp. Ort., Subsp.DDPK(K)



Mengetahui
Ketua Program Studi (KPS)
PPDGS Ortodonti FKG UNHAS



drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp. Ort., Subsp.DDTK(K)

NIP. 197908192006041001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wahyuni

NIM : J055202002

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti Fakultas
Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan tesis yang kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan dengan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah, dan etika pedoman penulisan tesis.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 28 Maret 2024



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia yang telah diberikan kepada hambanya, karena hanya berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul analisis ekspresi *runt-related transcription factor 2* (RUNX2) setelah pemberian etanol dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti (in vivo).

Penulisan tesis ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Spesialis Ortodonti-1 di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Selain itu tesis ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan peneliti lainnya untuk menambah pengetahuan dalam bidang ilmu kedokteran gigi maupun masyarakat umum lainnya.

Pada penulisan tesis ini, banyak sekali hambatan yang didapatkan, namun berkat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga akhirnya, penulisan tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Prof.Dr.Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc.**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **drg. Irfan Sugianto, M. Med. Ed., Ph.D**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
3. **drg. Ardiansyah S. Pawinru, Sp.Ort.,Subsp.DDTK(K)** selaku Ketua Program Studi (KPS) Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti, dan selaku Penasehat Akademik selama proses pendidikan PPDGS, serta selaku pembimbing dan dosen PPDGS Ortodonti FKG Unhas yang telah

meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan bimbingan dan arahan dengan penuh keikhlasan, serta memberikan dukungan moril kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian dan tesis ini.

4. **drg. Zilal Islamy Paramma, Sp.Ort.,Subsp.DDTK(K)** yang telah meluangkan waktu untuk berdiskusi, memberikan arahan dan masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penulisan tesis ini.
5. **Dr. drg. Eddy Heriyanto Habar, Sp. Ort., Subsp.DDPK(K),DR. drg. Eka Erwanyah, M. Kes, Sp. Ort., Subsp.DDTK(K), drg. Baharuddin M Ranggung, Sp. Ort., Subsp.DDPK(K), drg. Nasyrh Hidayati, Sp. Ort., Subsp.DDTK(K),, drg. Zulfiani Syachbaniah, Sp. Ort** selaku dosen PPDGS Ortodonti FKG Unhas yang telah memberikan saran, kritik, masukan, arahan, dan bimbingan sehingga karya ilmiah ini dapat menjadi lebih baik.
6. Suamiku tersayang, terbaik, terhebat, terkasih, dan tercinta **Muhammad Taufiq Azis** yang telah memberikan kasih sayang, doa, dan segala dukungan dalam bentuk moril dan materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun. Anak-anakku tersayang **Muhammad Fatih El Azzam** dan **Maryam Asiyah Abidah** hadiah dari Allah yang terindah, yang telah memberikan kebahagiaan tak terkira dan selalu menjadi motivasi dan penyemangat untuk segera menyelesaikan sekolah tepat waktu.
7. Kedua orangtua, ayahanda **H. Abdul Madjid Rate** dan ibunda **Hj. Dahlia** yang telah memberikan kasih sayang, doa dan segala dukungan dalam bentuk moril dan materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun. Terima kasih tak terhingga atas doa-doa disetiap sujudnya.

8. Kedua mertua, ayahanda **Anas Ma'ruf.**, serta ibunda **Srikatun** yang telah memberikan dukungan dalam bentuk moril dan materil yang tidak dapat tergantikan dengan apapun.
9. Adik-adik saya **Ilham** dan **Karlina** beserta semua yang telah mendukung dan selalu ada untuk penulis. Semoga Allah membalas dengan beribu kebaikan.
10. Sahabatku tersayang **Mughny Rati, Risnawati, Sakiyah Mustainah dan Sari Arianti Ali** atas dukungan dan semangat tanpa henti yang senantiasa diberikan selama ini.
11. Teman-teman angkatan III PPDGS Ortodonti **drg. Julia Rahim, drg. Rasdiana, drg. Nurul Hajra Jahili dan drg. Fatmawati Mappare** terimakasih atas bantuan, doa, dan dukungannya selama menempuh pendidikan PPDGS,
12. Residen PPDGS Ortodonti yang telah banyak memberi dukungan dan bantuan selama menempuh pendidikan bersama.
13. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam segala hal kepada penulis sampai saat ini hingga selesainya penyusunan tesis ini.

Akhir kata, dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satupersatu, semoga Allah SWT melimpahkan rahmat, ridha serta karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 28 Maret 2024



Wahyuni

Analisis Ekspresi *Runt-Related Transcription Factor 2 (RUNX2)* Setelah Pemberian Etanol Dalam Proses Remodeling Tulang Selama Aplikasi Gaya Ortodonti (In Vivo)

Wahyuni¹, Ardiansyah S Pawinru², Zilal Islamy Paramma²

¹Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Ortodonti
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

²Dosen Departemen Ortodonti Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Hasanuddin

ABSTRAK

Latar Belakang: Zat toksik seperti alkohol dikonsumsi secara teratur oleh banyak pasien selama pergerakan gigi ortodonti. Zat-zat aktif farmakologis ini dapat secara tidak sengaja menghambat pergerakan gigi, menyebabkan resorpsi akar yang tidak diinginkan atau menyebabkan hilangnya perlekatan periodontal dan tulang dengan memodulasi proses molekuler dan seluler yang memungkinkan pergerakan gigi ortodonti. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar ekspresi *Runt-related transcription factor-2 (RUNX2)* dalam proses remodeling tulang selama pemberian gaya ortodonti. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratoris dan desain penelitian *post test only control group*. Sampel hewan coba dilakukan pada 30 tikus wistar yang dipasangkan *closed coil spring* kemudian dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol positif K (diberi gaya ortodonti), kelompok P (diberi gaya ortodonti dan etanol) masing-masing selama 3, 7 dan 14 hari. Dilakukan pengukuran pergerakan gigi pada hewan coba, kemudian dimatikan, lalu dibuatkan preparat dan pemeriksaan Immunohistokimia (IHC) untuk menghitung ekspresi RUNX2, kemudian analisis data menggunakan uji *independent t* dan uji *one way anova*. **Hasil:** Hasil uji statistik dengan *independent sample t-test* terlihat bahwa ada perbedaan yang signifikan ekspresi RUNX2 antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan nilai pada hari ke-3 ($p= 0.002$), hari ke-7 ($p= 0.005$), dan hari ke-14 ($p= 0.003$). **Kesimpulan:** Ada perbedaan ekspresi *runt-related transcription factor 2 (RUNX2)* setelah pemberian etanol dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti. Dan ada pengaruh lama pemberian etanol terhadap ekspresi *Runt-related transcription factor-2 (RUNX2)* dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti, yaitu terjadi peningkatan RUNX2 pada kelompok kontrol dan pada kelompok perlakuan.

Kata Kunci: etanol, RUNX2, remodeling tulang, gaya ortodonti.

Korespondensi: Wahyuni Email: madjidwahyuni@gmail.com

Perintis Kemerdekaan KM 10 Universitas Hasanuddin, Makassar

Expression Analysis of Runt-Related Transcription Factor 2 (RUNX2) After Ethanol Intake in the Process of Bone Remodelling During Orthodontic Force Application (In Vivo)

Wahyuni¹, Ardiansyah S Pawinru², Zilal Islamy Paramma²

¹Student of Orthodontic Specialist Dentist Education Program, Faculty of Dentistry, Hasanuddin University

²Lecturer of Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Hasanuddin University

ABSTRACT

Background: Toxic substances such as alcohol are consumed regularly by many patients during orthodontic tooth movement. These pharmacologically active substances may inadvertently inhibit tooth movement, cause unwanted root resorption, or lead to periodontal and bone attachment loss by modulating molecular and cellular processes that enable orthodontic tooth movement. **Objectives:** This study aimed to analyze the expression levels of Runt-related transcription factor-2 (RUNX2) in the bone remodeling process during orthodontic forces. **Methods:** Type of laboratory experimental research and post-test only control group research design. Animal samples were carried out on 30 Wistar rats paired with a closed coil spring and then divided into two groups, positive control group K (given orthodontic force), group P (given orthodontic force and ethanol) for 3, 7, and 14 days respectively. Tooth movement was measured on experimental animals, then killed, and an Immunohistochemical (IHC) examination was conducted to calculate RUNX2 expression. Then, data analysis was conducted using an independent t-test and a one-way ANOVA test. **Results:** Statistical test results with independent sample t-test showed that there was a significant difference in RUNX2 expression between the control group and the treatment group with values on day 3 ($p = 0.002$), day 7 ($p = 0.005$), and day 14 ($p = 0.003$). **Conclusion:** There is a difference in the expression of runt-related transcription factor 2 (RUNX2) after ethanol administration in the process of bone remodeling during orthodontic dental force application. There is an effect of the duration of ethanol administration on the expression of Runt-related transcription factor-2 (RUNX2) in the process of bone remodeling during orthodontic dental force application, namely an increase in RUNX2 in the control group and the treatment group.

Keywords: ethanol, RUNX2, bone remodeling, orthodontic forces.

Correspondence: Wahyuni Email: [majidwahyuni@gmail.com](mailto:madjidwahyuni@gmail.com)

Perintis Kemerdekaan KM 10 Hasanuddin University, Makassar

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	i
PENGESAHAN UJIAN TESIS	ii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GRAFIK	xvi
LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
1. Tujuan Umum.....	5
2. Tujuan Khusus	5
D. Manfaat Penelitian	6
1. Manfaat Ilmiah	6
2. Manfaat Aplikatif	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Aplikasi Gaya Ortodonti	7
1. Jenis Gaya	7
2. Besar Gaya	9
B. Teori Remodeling Tulang	9
1. Teori <i>Bien (Blood Flow Theory)</i>	9
2. Teori <i>Piezoelectric</i>	10
3. <i>Pressure-Tension Theory</i>	12

C.	Biomekanisme Pergerakan Gigi Ortodonti	13
1.	<i>Matrix Strain</i>	15
2.	Aktivasi dan Diferensiasi Osteoblas.....	16
3.	Efek Biomekanik pada Osteosit	19
4.	Aktivasi dan Diferensiasi Osteoklas.....	20
5.	Remodeling Jaringan	21
6.	Marker Remodeling Tulang Alveolar.....	24
D.	<i>Runt-Related Transcription Factor 2 (RUNX2)</i>	30
1.	Peran RUNX2	32
2.	RUNX2 dan Pergerakan Gigi Ortodonti	33
3.	Peran RUNX2 pada Remodeling Tulang.....	34
E.	Etanol.....	36
1.	Definisi Etanol	36
2.	Kandungan Etanol.....	38
3.	Efek Sistemik Konsumsi Etanol.....	39
4.	Efek Etanol Terhadap Pergerakan Gigi Ortodonti	41

BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

A.	Kerangka Teori.....	44
B.	Kerangka Konsep	45
C.	Hipotesis Penelitian	45

BAB IV METODE PENELITIAN

A.	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	46
B.	Waktu dan Lokasi Penelitian.....	46
1.	Waktu Penelitian	46
2.	Lokasi Penelitian.....	46
C.	Populasi dan Sampel Penelitian.....	46
1.	Populasi Penelitian	46
2.	Sampel Penelitian	47
3.	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	48
D.	Identifikasi Variabel Penelitian	48
1.	Variabel Bebas.....	48

2. Variabel Terikat	48
3. Variabel Kendali	48
E. Definisi Operasional	49
F. Bahan dan Alat Penelitian	50
1. Bahan Penelitian	50
2. Alat Penelitian	51
G. Konversi Dosis Etanol	52
H. Prosedur Penelitian	53
1. Persiapan <i>Ethical Clearance</i>	53
2. Persiapan dan Pembagian Kelompok Perlakuan Hewan Coba	54
3. Cara Kerja Penelitian	54
I. Analisis Data	60
J. Alur Penelitian	61
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	62
1. Gambaran Hasil RUNX2	62
2. Uji Normalitas dan Uji Statistik Ekspresi RUNX2	64
B. Pembahasan	67
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	82
B. Saran	82
Daftar Pustaka	83
Lampiran	90

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Diagram representasi gaya ortodonti. (A) Gaya Continue (B) Gaya Interrupted (C) Gaya Intermittent.....	8
Gambar 2. Teori <i>Blood flow</i> / teori <i>fluid dynamic</i>	9
Gambar 3. Bone bending.....	11
Gambar 4. Piezoelectric : Ketika gaya diaplikasikan pada struktur kristalin seperti tulang atau kolagen aliran arus yang dihasilkan secara cepat akan hilang. Ketika gaya dilepaskan maka aliran arus yang berlawanan dapat diamati. Efek piezoelectric menghasilkan migrasi elektron didalam kisi kristal karena terdistorsi oleh gaya yang diberikan dan kemudian kembali ke bentuk aslinya saat gaya dihilangkan	11
Gambar 5. Fenomena biologis pada pergerakan gigi secara ortodonti menurut teori <i>piezoelectric</i>	12
Gambar 6. Perubahan histologi selama pergerakan gigi	13
Gambar 7. Representasi skematis dari struktur dan fenomena terpenting yang terlibat dalam pergerakan gigi ortodonti. Gigi bergerak ke kanan. (A) Sisi belakang gigi; (B) sisi depan gigi	16
Gambar 8. Proses transduksi dari beban mekanis menuju sinyal biologis. Tahap 1: mekanobiologi ekstraseluler dari periodonsium (berwarna kuning). Tahap 2: strain sel (berwarna merah). Tahap 3: aktivasi dan diferensiasi sel (berwarna hijau). Tahap 4: renovasi jaringan (berwarna biru)	21
Gambar 9. Diagram skematik ncRNA yang mengatur regulasi periodonsium selama OTM. PDL, yang terletak di antara tulang alveolar dan sementum, adalah jaringan ikat berserat dengan neurovaskularitas dan kelompok sel yang heterogen. A. ncRNA berkontribusi pada penginderaan dan transduksi mekanis kekuatan dalam osteosit dan PDLC. B. Pada fase katabolik, ncRNA terlibat dalam resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas dan PDL yang dimediasi oleh degradasi PDLC. C. Pada tahap anabolik berikutnya, ncRNA mengatur fungsi osteoblas dan sintesis PDL. D. ncRNA bertanggung jawab untuk mengkoordinasikan komunikasi yang rumit melalui sitokin atau kontak antar sel.....	24
Gambar 10. Peran dasar RUNX	30
Gambar 11. Regulasi diferensiasi osteoblas	31

- Gambar 12.** Diagram peran RUNX2 pada remodeling tulang oleh karena aplikasi gaya ortodonti.....36
- Gambar 13.** Ilustrasi hewan coba dengan perlakuan kekuatan mekanik menggunakan coil spring NiTi. Coil spring NiTi dengan gaya 50 gram (Inset: wire tambahan dimasukkan ke dalam ujung coil spring) antara molar kiri atas pertama dan gigi insisivus atas untuk gerakan.....55
- Gambar 14.** Ekspresi RUNX2 hari ke-3 dengan teknik imunohistokimia (IHC). K1 = kontrol hari ke-3 (gaya 50 gr), P2 = kelompok perlakuan hari ke-3 (gaya 50 gr dan etanol 0,5 ml) 62
- Gambar 15.** Ekspresi RUNX2 hari ke-7 dengan teknik imunohistokimia (IHC). K2 = kontrol hari ke-7 (gaya 50 gr), P2 = kelompok perlakuan hari ke-7 (gaya 50 gr dan etanol 0,5 ml) 63
- Gambar 16.** Ekspresi RUNX2 hari ke-14 dengan teknik imunohistokimia (IHC). K2 = kontrol hari ke-14 (gaya 50 gr), P2 = kelompok perlakuan hari ke-14 (gaya 50 gr dan etanol 0,5 ml)..... 63

DAFTAR TABEL

1. **Tabel 1.** Tabel besar gaya untuk pergerakan gigi ortodonti.....9
2. **Tabel 2.** Tabel respon fisiologis terhadap tekanan yang diberikan pada gigi 14
3. **Tabel 3.** Marker yang terlibat dalam pergerakan gigi ortodonti yang dikumpulkan dari jaringan gigi (tulang alveolar, periodonsium dan pulpa)...29
4. **Tabel 4.** Kadar etanol dalam sampel makanan dan minuman fermentasi38
5. **Tabel 5.** Kelompok hewan coba.....54
6. **Tabel 6.** Rerata ekspresi RUNX2 pada setiap kelompok..... 64
7. **Tabel 7.** Perbedaan ekspresi RUNX2 antara dua kelompok pada hari ke-3, ke-7 dan ke-1465
8. **Tabel 8.** Perbedaan ekspresi RUNX2 setiap kelompok berdasarkan waktu pengamatan..... 66

DAFTAR GRAFIK

1. **Grafik 1.** Ekspresi RUNX2 pada K=kelompok kontrol positif (Gaya 50 gr), P= kelompok perlakuan(Gaya 50 gr + Etanol) 5 mg/ml pada hari ke-3,7 dan 14 66

LAMPIRAN

1. Etik penelitian	90
2. Dokumentasi pelaksanaan penelitian	91
a. Persiapan Etanol.....	91
b. Pemasangan closed coil spring (ccs) dan pengukuran gaya ortodonti	92
c. Proses sondasi etanol ke hewan coba.....	92
d. <i>Sacrificed</i> hewan coba dan dan persiapan ke laboratorium patologi anatomi Universitas Brawijaya	93
e. Jaringan ditanam dalam paraffin dan preparat untuk pewarnaan IHC.....	94
3. Lampiran output SPSS.....	94

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pergerakan gigi ortodonti adalah proses biologis dan mekanis yang kompleks yang melibatkan berbagai molekul. Gaya ortodonti yang diberikan pada jaringan periodontal dapat mengaktifkan osteoblas dan osteoklas, mengakibatkan resorpsi dan deposisi pada tulang alveolar, serta merangsang pertumbuhan sel dan regenerasi kolagen. Lebih khusus lagi, sel-sel dapat diinduksi oleh kekuatan mekanik untuk mendegenerasi kolagen pada sisi yang ditekan dan meningkatkan penyerapan tulang. Di bawah tekanan, sel-sel di perisementum yang memanjang mulai berproliferasi dan jaringan tulang mulai menumpuk, menghasilkan remodeling tulang dan pergerakan gigi. Pergerakan gigi ortodonti bergantung pada pembangunan kembali tulang alveolar. Pembentukan osteoklas merupakan prasyarat remodeling tulang alveolar. Di bawah stimulasi tekanan, osteoklas merangsang reaksi osteoklastik. Telah ditunjukkan bahwa pergerakan gigi dapat diatur secara efektif dengan mengontrol diferensiasi dan fungsi osteoklas. (Thirunavukkarasu, 2000. Caetano, 2007. Jinyou, 2015)

Remodeling tulang alveolar dalam pergerakan gigi ortodonti memerlukan tindakan terkoordinasi dari berbagai jenis sel, termasuk fibroblas ligamen periodontal (PDL), sel induk mesenkim, sel inflamasi, osteoblas, osteosit, dan osteoklas. Umumnya, pergerakan gigi ortodonti terdiri dari tiga tahap pada sisi kompresi; (i) kompresi PDL secara bertahap, yang dapat berlangsung sekitar 4-7 hari, (ii) periode hialinisasi, ketika terjadi kematian sel karena kurangnya suplai

darah di area kompresi PDL, yang dapat berlangsung selama 7 hari -14 hari atau lebih, dan (iii) periode sekunder yang ditandai dengan resorpsi tulang secara langsung sehingga gigi akan terus bergerak.^(Reitan,1967. Proffit,2018. Von Bohl,2009) Di sisi ketegangan, PDL diregangkan dan aliran darah diaktifkan, merangsang aktivitas osteoblastik serta deposisi dan mineralisasi osteoid. Pada pembebanan gaya mekanis, sel-sel di sekitar gigi merasakan kompresi atau ketegangan dan melepaskan banyak sitokin dan faktor pertumbuhan yang merangsang respons biologis selanjutnya.^(Temiyasathit,2010. Jeon,2021)

Banyak penelitian telah menyelidiki bagaimana rangsangan mekanis diubah menjadi sinyal biokimia untuk mengaktifkan jalur pensinyalan untuk mengatur sintesis protein yang relevan.^(Wise, 2008. Wise 2009) Kekuatan mekanik eksternal dapat menstimulasi fibroblas yang memiliki potensi diferensiasi pada jaringan periodontal untuk berdiferensiasi menjadi sel mirip osteoblas. Dalam proses diferensiasi, faktor transkripsi spesifik osteoblas memainkan peran inti dalam regulasi.^(Rawlinson,1996) Studi terbaru menunjukkan bahwa faktor transkripsi ini menginduksi jalur transduksi sinyal sel tertentu untuk merespons kekuatan mekanik eksternal, yang memicu serangkaian reaksi seluler.^(Moustafa,2012. Bivi,2013)

Runt-related transcription factor-2 (RUNX2) merupakan faktor transkripsional multifungsi dan diekspresikan dalam seluruh proses diferensiasi sel osteoblas.^(Wang,2014) Beberapa penelitian pada tikus mengenai ekspresi RUNX2 pada pergerakan gigi ortodonti seperti yang dilakukan oleh Jinyou Han et.al (2015) bahwa RUNX2 meningkat seiring dengan lamanya perawatan.^(Jinyou,2015) Peneliti yang sama meneliti tentang ekspresi RUNX2 pada jaringan periodontal selama

perawatan ortodonti, bahwa RUNX2 mulai meningkat setelah jaringan periodontal meregang selama 3 jam. ^(Jinyou,2015)

Zat toksik seperti nikotin atau alkohol dikonsumsi secara teratur oleh banyak pasien selama pergerakan gigi ortodonti. Zat-zat aktif farmakologis ini mungkin secara tidak sengaja menghambat pergerakan gigi, menyebabkan resorpsi akar yang tidak diinginkan atau menyebabkan hilangnya perlekatan periodontal dan tulang dengan memodulasi proses molekuler dan seluler yang memungkinkan pergerakan gigi ortodonti. Investigasi efek samping farmakologis ini pada perawatan ortodonti meningkatkan minat klinis. Konsumsi etanol sebagai komponen utama minuman beralkohol masih cukup umum, terutama di kalangan anak muda, meskipun terjadi penurunan tertentu dalam beberapa tahun terakhir. 54,4% remaja sampai usia 17 tahun rutin mengonsumsi alkohol dengan konsumsi berlebihan sebesar 15,8% dan pesta minuman keras sebesar 11,5% remaja. ^(Wang,2014)

Menurut survei Riskesdas pada tahun 2018, prevalensi permintaan minuman beralkohol juga meningkat 3% selama setahun terakhir di Indonesia. Hal ini didorong oleh berkembangnya *trend* gaya hidup di beberapa kota besar. Industri minuman beralkohol di Indonesia menurut survei yang dilakukan oleh statistik diperkirakan akan tumbuh setiap tahun sebesar 6,6% dari tahun 2020 hingga 2025. ^(Riskesdas,2018)

Berdasarkan penelitian Araujo *et.al* (2014) tentang efek etanol dalam alkohol pada pergerakan gigi ortodonti melaporkan bahwa etanol menyebabkan ketidakseimbangan proses pembentukan tulang dan resorpsi yang secara langsung mempengaruhi aposisi tulang. ^(Araujo,2014) Penelitian Driver *et.al* (2015) bahwa

konsumsi etanol menurunkan jumlah osteoklas sehingga dapat menyebabkan terhambatnya resorpsi tulang.^(Driver,2015) Penelitian yang dilakukan Araujo *et.al* (2018) tentang pemberian etanol terhadap pergerakan gigi melaporkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara pemberian etanol dengan kelompok kontrol.^(Araujo,2018) Penelitian yang dilakukan oleh Akhouni *et.al* (2016) melaporkan bahwa kelompok dengan pemberian alkohol memberikan pergerakan gigi ortodonti yang lebih besar dibandingkan kelompok lain.^(Akhouni,2023) Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Yang *et.al* (2020) bahwa pergerakan gigi ortodonti dengan pemberian etanol lebih kecil dibanding kelompok kontrol.^(Yang,2020)

Sampai saat ini, efek etanol pada fibroblas ligamentum periodontal dengan tekanan mekanis dalam pergerakan gigi ortodonti masih belum jelas. Kehilangan tulang periodontal dan peningkatan proses inflamasi telah diamati selama konsumsi alkohol pada model hewan. Pada penelitian Schröder (2018) menunjukkan bahwa etanol konsentrasi etanol yang tinggi meningkatkan pembentukan tulang dan angiogenesis. Etanol 1,79 % juga meningkatkan osteoklastogenesis yang diinduksi oleh hPDL, yang mengindikasikan peningkatan resorpsi tulang dan dengan demikian kecepatan pergerakan gigi yang diharapkan dapat terjadi selama terapi ortodonti.^(Schroder,2018) Bannach *et al* (2015) melaporkan kehilangan tulang periodontal yang signifikan pada model tikus setelah pemberian etanol selama fase pertumbuhan. Berkurangnya kepadatan tulang dan penghambatan pembentukan sementum akar juga telah diamati, yang dapat meningkatkan resorpsi akar gigi dengan kurangnya aksi reparatif sementoblas untuk meregenerasi kerusakan.

(Bannach,2015)

Berdasarkan penjelasan tersebut diatas, sampai saat ini masih kontradiktif mengenai pengaruh efek etanol terhadap pergerakan gigi ortodonti dan belum adanya penelitian mengenai pengaruh etanol secara langsung terhadap ekspresi RUNX2 dalam proses remodeling tulang selama pemberian gaya ortodonti. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti tentang ekspresi *runt related transcription factor 2* (RUNX2) setelah pemberian etanol dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya ortodonti.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan, timbul suatu permasalahan yaitu:

1. Apakah ada perbedaan ekspresi *runt-related transcription factor 2* (RUNX2) setelah pemberian etanol dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti?
2. Apakah ada pengaruh lama pemberian etanol terhadap ekspresi *Runt-related transcription factor-2* (RUNX2) dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum:

Menganalisis kadar ekspresi *Runt-related transcription factor-2* (RUNX2) dalam proses remodeling tulang selama pemberian gaya ortodonti.

2. Tujuan Khusus:

- a. Mengetahui perbedaan ekspresi *runt-related transcription factor 2* (RUNX2) setelah pemberian etanol dalam proses remodeling tulang

selama aplikasi gaya gigi ortodonti.

D. Mengetahui pengaruh lama pemberian etanol terhadap ekspresi *Runt-related transcription factor-2* (RUNX2) dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Ilmiah

- a. Sebagai bahan kajian pengetahuan bagi ortodontis mengenai pengaruh etanol terhadap pergerakan gigi ortodonti.
- b. Sebagai bahan kajian bagi peneliti selanjutnya mengenai pengaruh yang lebih dalam dan spesifik dari etanol terhadap pergerakan gigi ortodonti.

2. Manfaat Aplikatif

- a. Sebagai bahan pertimbangan pasien yang melakukan perawatan ortodonti untuk menghindari mengkonsumsi alkohol, jika hal tersebut dapat menghambat proses remodeling tulang.
- b. Sebagai bahan tambahan informasi kepada pasien yang sedang menjalani perawatan ortodonti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

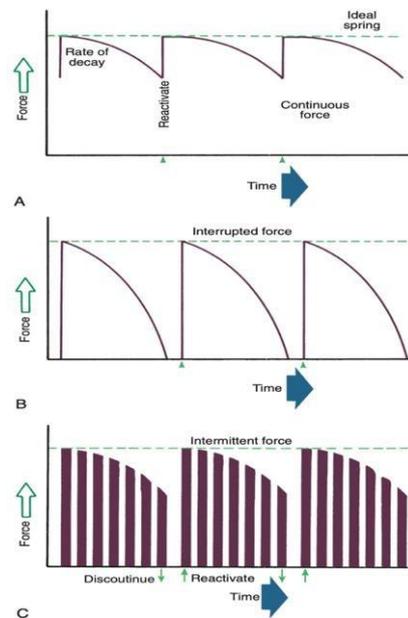
A. Aplikasi Gaya Ortodonti

1. Jenis Gaya

Jenis gaya ortodonti diklasifikasikan menjadi :

- a. Kontinyu** : Gaya cukup besar dipertahankan dari kunjungan pertama pasien hingga berikutnya.
- b. *Interrupted*** : Besar gaya menurun hingga nol diantara proses aktivasi. Baik gaya kontinyu maupun *interrupted* dapat dihasilkan oleh alat cekat dalam bentuk konstan.
- c. *Intermittent*** : Besar gaya menurun secara signifikan hingga nol secara *intermittent*, saat alat ortodonti lepasan atau traksi *elastic* untuk alat cekat dilepas pasien, dan selanjutnya kembali ke kondisi normal sesaat setelah alat diinsersi kembali atau *elastic* di pasang kembali. Saat pergerakan gigi terjadi, besar gaya dengan alat lepasan akan menurun dibanding yang terjadi pada alat cekat (kerusakan gaya terjadi yang biasanya kembali ke nol sebelum alat lepasan di aktivasi kembali). Sedikit kemungkinan yang ada bahwa gaya *interrupted* dapat berubah menjadi gaya *intermittent*. Gaya *intermittent* dihasilkan oleh alat yang diaktivasi oleh pasien sendiri seperti plat lepasan, alat fungsional, *headgear* dan *elastic*. Gaya dihasilkan selama fungsi normal (seperti saat mengunyah, menelan dan berbicara) dapat diamati sebagai kasus spesial dari gaya yang diaplikasikan secara *intermittent*, sebagian besar dari gaya tersebut tidak dipertahankan selama

beberapa jam per hari untuk memperoleh efek signifikan pada posisi gigi-geligi. (Proffit,2018)



Gambar 1. Diagram representasi gaya ortodonti. (A) Gaya *Continue* (B) Gaya *Interrupted* (C) Gaya *Intermittent*. (Proffit,2018)

Terdapat interaksi penting antara besar gaya dan seberapa cepat gaya berkurang pada pemberian gaya kontinyu perawatan ortodonti. Jika gaya cukup ringan, kemajuan pergerakan gigi yang relatif sedikit yang diperoleh dari resorpsi frontal. Jika gaya kontinyu cukup besar, maka pergerakan gigi akan tertunda hingga *undermining resorption* dapat mengabsorpsi tulang sehingga menyebabkan kegoyangan gigi. Gaya kontinyu yang besar dapat merusak pada struktur periodontal dan pada gigi itu sendiri. (Proffit,2018)

2. Besar Gaya

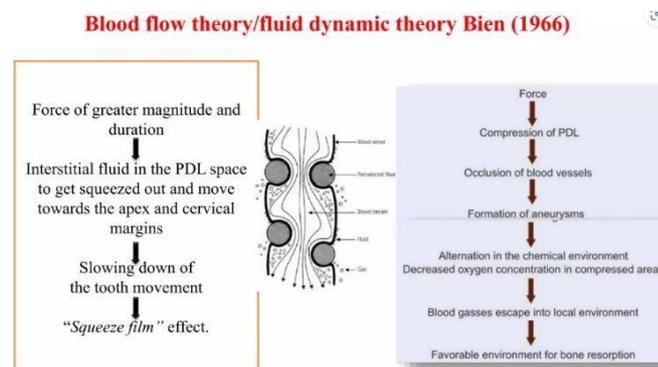
Tabel 1. Tabel besar gaya untuk pergerakan gigi ortodonti. (Premkumar,2020)

Tipe pergerakan	Besar gaya (gram force/cm)
<i>Tipping</i>	35-60
<i>Bodily</i>	70-120
<i>Root uprighting</i>	50-100
Rotasi	35-60
Ekstrusi	35-60
Intrusi	10-20

B. Teori Remodeling Tulang

1. Teori Bien (*Blood Flow Theory*)

Teori ini disebut juga sebagai *fluid dynamic theory* yang diperkenalkan oleh Bien pada tahun 1966. Berdasar teori ini, pergerakan gigi timbul karena cairan yang dinamis di dalam ligamentum periodontal. Ligamentum periodontal terdapat pada ruangan periodontal yang dibatasi oleh permukaan akar gigi dan tulang alveolar, terdiri dari sistem cairan yang terbuat dari cairan *interstitial*, elemen selular, pembuluh darah dan perlekatan substansi dasar berisi serat-serat periodontal.

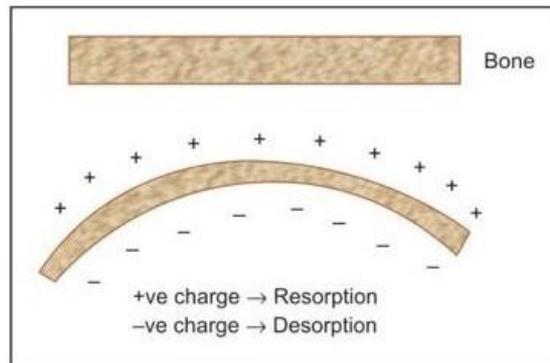


Gambar 2. Teori *Blood flow* / teori *fluid dynamic*. (Gukeerat,2007)

Kandungan ligamentum periodontal menghasilkan kondisi hidrodinamik yang unik dan menyerupai mekanisme hidrolis dan *shock absorber*. Aplikasi gaya eksternal pada gigi menyebabkan terjadinya pergerakan cairan di dalam kanalikuli. Ketika cairan kanalikuli berkurang, terjadilah apoptosis osteosit yang terdapat dalam tulang kemudian akan menarik osteoklas sehingga terjadi resorpsi tulang. (Krisnan,2006)

2. Teori Piezoelectric

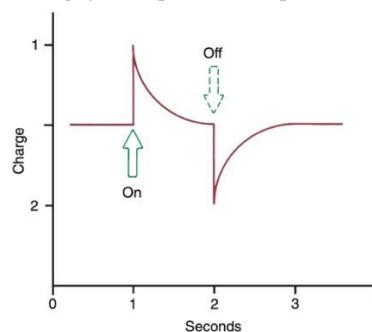
Bone bending pada tulang alveolar merupakan hal yang penting dalam pergerakan gigi secara ortodonti, hal ini pertama kali dikemukakan oleh Farrar (1988). Ketika alat ortodonti diaktivasi, gaya yang diberikan pada gigi disalurkan ke semua jaringan di sekelilingnya sehingga gigi akan bergerak lebih besar dibandingkan dengan lebar ligamentum periodontal yang menyebabkan terjadinya defleksi pada tulang alveolar. Defleksi pada tulang juga memicu keluarnya potensial elektrik pada permukaan tulang atau piezoelectric yang sering ditemukan pada material kristalin. Deformasi atau perubahan bentuk struktur kristal menghasilkan arus listrik seperti elektron yang berpindah dari molekul kristal yang satu ke molekul kristal yang lain. Bila struktur kristal mengalami deformasi, elektron bermigrasi sehingga terjadi aliran listrik. Jika terdapat tekanan maka struktur kristal masih stabil dan tidak terjadi perpindahan elektron, namun jika tekanan dilepaskan kristal akan kembali ke bentuk semula dan aliran elektron akan terjadi pada arah yang berlawanan. (Proffit,2018)



Gambar 3. *Bone bending* (Vijayalakshmi, 2020)

Sumber struktur kristal tidak hanya pada mineral tulang, tapi terdapat juga pada kolagen, hidroksi apatit, batas antara kolagen hidroksiapatit dan mukopolisakarida pada substansi dasar. Pada saat gigi diberi tekanan, tulang alveolar di sekitarnya akan mengalami tekukan. Daerah yang cekung diasosiasikan dengan arus negatif dan menyebabkan deposisi tulang sedangkan daerah yang cembung diasosiasikan dengan arus positif dan menyebabkan resorpsi tulang. (Proffit, 2018)

Gambar 4. Piezoelectric : Ketika gaya diaplikasikan pada struktur kristalin seperti tulang atau

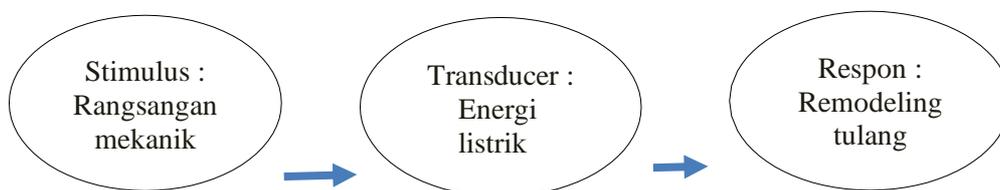


kolagen aliran arus yang dihasilkan secara cepat akan hilang. Ketika gaya dilepaskan maka aliran arus yang berlawanan dapat diamati. Efek piezoelectric menghasilkan migrasi elektron didalam kisi kristal karena terdistorsi oleh gaya yang diberikan dan kemudian kembali ke bentuk aslinya saat gaya dihilangkan. (Proffit, 2018)

Tekanan yang diberikan menimbulkan potensial elektrik yang disebut piezoelektrik. Aliran listrik ini memberikan muatan kepada makro molekul sehingga

sel yang berperan dalam proses remodeling akan bereaksi. Menurut hukum *Wolf*, tulang sewaktu-waktu merubah dirinya oleh karena tekanan berkurang atau bertambah massanya untuk mengimbangi tekanan tersebut. Secara umum, fenomena biologis pada pergerakan gigi secara ortodonti meliputi :

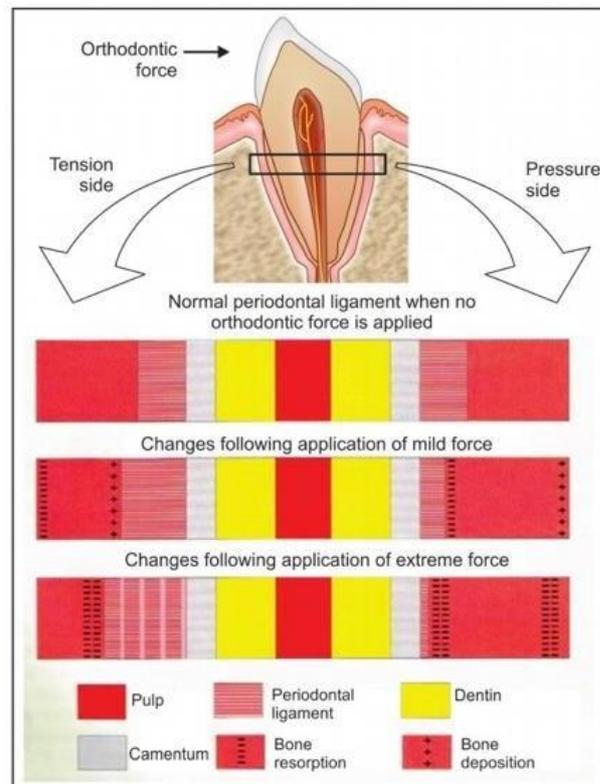
1. Stimulus : rangsangan mekanik.
2. Transduser : energi listrik.
3. Respon : remodeling tulang. ^(Proffit,2018)



Gambar 5. Fenomena biologis pada pergerakan gigi secara ortodonti menurut teori *piezoelectric*. ^(Proffit,2018)

3. Pressure-tension theory

Sandstedt, Oppenheim dan Schwarz menyatakan bahwa jika gigi mendapatkan gaya ortodonti maka akan terjadi daerah tekanan dan regangan. Daerah tekanan adalah daerah periodontal yang mengalami tekanan karena gigi bergerak mendekat dan daerah regangan adalah daerah periodontal yang mengalami regangan karena gigi bergerak menjauh. Daerah tekanan akan mengalami resorpsi tulang sedangkan daerah regangan akan mengalami aposisi tulang. Di sisi tekanan, dengan tekanan ringan, tulang alveolar yang diresorpsi langsung oleh banyak multinukleat osteoklas. ^(Proffit,2018)



Gambar 6. Perubahan histologi selama pergerakan gigi. (Vijayalakshmi,2020)

C. Biomekanisme Pergerakan Gigi Ortodonti

Pergerakan gigi ortodonti/*orthodontic tooth movement* (OTM) terjadi ketika kekuatan eksternal diterapkan pada gigi. Efek langsung dari gaya tersebut adalah deformasi atau *strain* pada gigi dan jaringan di sekelilingnya, ligamen periodontal (PDL), dan tulang alveolar. Sel-sel di dalam jaringan-jaringan ini mendeteksi *strain* dan merespons deformasi matriks ekstraseluler (ECM) atau deformasi mereka sendiri melalui sintesis dan sekresi berbagai mediator, seperti sitokin dan faktor pertumbuhan. Pada akhirnya, hal ini menyebabkan resorpsi tulang di sisi depan gigi yang bergerak dan deposisi tulang di bagian belakang, serta renovasi PDL. (Maltha,2023)

Tabel 2. Tabel respon fisiologis terhadap tekanan yang diberikan pada gigi. (Proffit, 2019)

Waktu		Respon
Tekanan ringan < 1 detik 1-2 detik 3-5 detik Menit Jam ~ 4 jam ~ 2 hari	Tekanan besar	
	< 1 detik	Cairan ligamentum periodontal <i>incompressible</i> , tulang alveolar mengalami <i>bending</i> , dihasilkan sinyal <i>piezoelectric</i>
	1-2 detik	Cairan ligamentum periodontal dihasilkan, pergerakan gigi dalam ruang ligamentum periodontal.
	3-5 detik	Pembuluh darah dalam ligamentum periodontal mengalami kompresi sebagian pada sisi yang tertekan, mengalami dilatasi pada sisi regangan, serat ligamentum periodontal dan sel-sel mengalami distorsi secara mekanis
	Menit	Aliran darah berubah, prostaglandin dan sitokin dilepaskan.
	Jam	Perubahan metabolik terjadi: <i>chemical messenger</i> mempengaruhi aktivitas seluler, perubahan kadar enzim.
	~ 4 jam	Kadar cAMP yang meningkat dapat dideteksi, diferensiasi seluler mulai terjadi dalam ligamentum periodontal.
	~ 2 hari	Pergerakan gigi mulai terjadi saat osteoblas dan osteoklas memicu proses <i>remodelling</i> pada soket tulang.
	3-5 detik	Pembuluh darah dalam ligamen periodontal menutup pada sisi yang tertekan
	Menit	Aliran darah terhenti pada area ligamentum periodontal yang mengalami kompresi
Jam	Kematian sel pada area yang mengalami kompresi	
3-5 hari	Diferensiasi sel pada ruang sempit didekatnya, proses <i>undermining resorption</i> dimulai	
7-14 hari	<i>Undermining resorption</i> mengikis lamina dura yang dekat dengan ligamentum periodontal yang mengalami kompresi, pergerakan gigi terjadi	

1. Matrix Strain

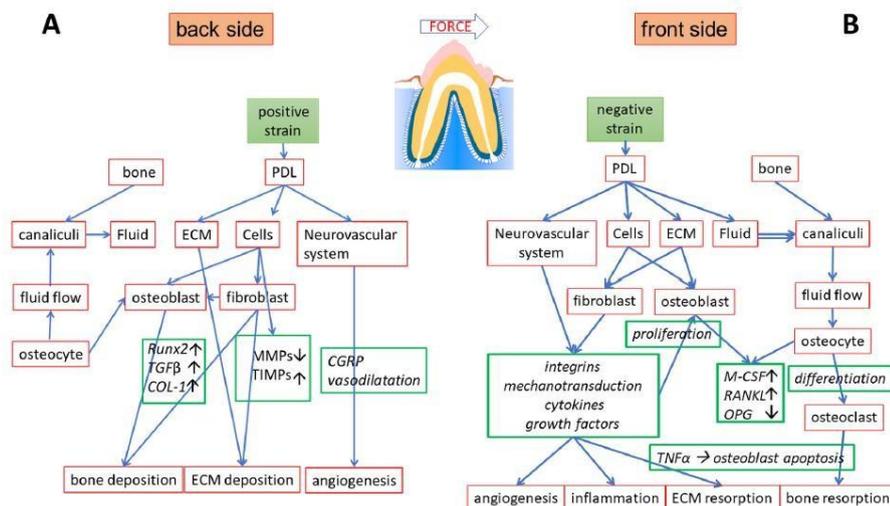
Efek awal dari penerapan gaya eksternal pada gigi adalah perpindahannya di dalam soket, menyebabkan deformasi atau *strain* pada PDL. Di sisi belakang gigi yang bergerak, gaya tensional pada serat PDL menyebabkan peningkatan volume PDL, disebut *strain* positif (Gbr. 7A) terjadi peregangan serat PDL, sementara kompresi di sisi depan menghasilkan penurunan volume terjadi relaksasi serat PDL, dan disebut *strain* negatif (Gbr. 7B). Jumlah *strain* di kedua sisi gigi tergantung pada gaya yang diterapkan dan sifat material PDL. ^(Maltha,2023)

Sejumlah penelitian telah dilakukan pada sifat material PDL, dan ada bukti yang berkembang tentang hubungan nonlinier dan bergantung pada waktu antara gaya dan perpindahan, yang mengindikasikan bahwa PDL bersifat viskoelastik. Data ini telah digunakan dalam model elemen hingga dalam upaya menghitung kondisi pembebanan tertentu pada PDL, dan studi terbaru menunjukkan bahwa PDL dapat digambarkan sebagai bahan poroviskoelastik bifasik.

^(Maltha,2023)

Porositas PDL memungkinkan redistribusi fase fluida bebas di dalam ruang periodontal, yang menghasilkan tekanan yang seragam di seluruh PDL dalam waktu beberapa detik. Pada periode subsekuen sekitar 5 jam, pergeseran *creep* yang lebih bertahap terlihat karena peregangan viskoelastik serat PDL di sisi belakang dan relaksasi di sisi depan. ^(Maltha,2023)

Lebih lanjut, aliran fluida minor terjadi keluar dari kanalikuli tulang pada sisi tegangan, sedangkan aliran fluida masuk pada sisi kompresi ke dalam kanalikuli tulang, menghasilkan tegangan geser fluida di dalam kanalikuli dan cairan lakunar yang mengelilingi osteosit. Hal ini menunjukkan bahwa formulasi material poroviskoelastik bifasik dapat menjelaskan perilaku deformasi mikroskopis dan bergantung pada waktu dari PDL dan tulang alveolar. (Maltha,2023)



Gambar 7. Representasi skematis dari struktur dan fenomena terpenting yang terlibat dalam pergerakan gigi ortodonti. Gigi bergerak ke kanan. (A) Sisi belakang gigi; (B) sisi depan gigi. (Maltha,2023)

2. Aktivasi dan Diferensiasi Osteoblas

Diferensiasi osteoblas dimulai dengan sel induk yang berasal dari sumsum tulang yang bermigrasi ke dalam pembuluh darah. Migrasi sel punca mesenkim dari dinding pembuluh darah, atau aktivasi prekursor sel punca mesenkim dan pembentukan preosteoblas, terjadi sekitar 10 jam setelah penerapan gaya. Sel osteoblas terlibat dalam pembentukan tulang, yang dimulai 40 hingga 48 jam setelah penerapan gaya ortodonti. (Maltha,2023)

a. Strain Negatif

Di sisi depan gigi yang bergerak, terdapat *strain* negatif pada PDL dan kanalikuli tulang (Gbr. 7B). Hal ini memiliki efek empat kali lipat. Pertama, aplikasi gaya untuk sementara waktu merangsang apoptosis osteoblas melalui aktivitas mediator apoptosis, seperti caspase-3, protein X yang terkait dengan BCL-2, dan limfoma sel B. Setelah 3 hari pertama penerapan gaya, sintesis mediator apoptosis menurun lagi. Kedua, ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular dan RANKL pada fibroblas PDL dan osteoblas diregulasi karena situasi hipoksia dan stabilisasi faktor-1 yang dapat diinduksi oleh hipoksia. Ketiga, situasi hipoksia mengarah pada aktivasi jalur P38 MAPK, yang menghasilkan peningkatan kadar siklooksigenase-2 yang ikut mengkatalisis sintesis prostaglandin, termasuk PGE₂, dari asam arakidonat. PGE₂, pada gilirannya, menstimulasi diferensiasi osteoblas dan ekspresi faktor perangsang kolonimakrofag (M-CSF) dan RANKL serta menghambat pengeluaran osteoprotegerin (OPG). OPG bertindak sebagai reseptor umpan untuk RANKL dan kemudian menghambat diferensiasi osteoklas dan dengan demikian resorpsi tulang. Akhirnya, sel PDL di sisi depan mengekspresikan peningkatan jumlah *TNF- α* , yang merangsang produksi MMPs dan meningkatkan kadar RANKL, untuk secara langsung terlibat dalam resorpsi tulang. (Maltha,2023)

b. Strain Positif

Di sisi belakang gigi yang bergerak, terdapat *strain* positif pada PDL, dan juga

pada kanalikuli tulang (Gbr. 7A). *Strain* ini menyebabkan aliran cairan dari tulang ke dalam PDL, yang mengaktifkan osteosit. Sel-sel ini, pada gilirannya, merangsang sel punca PDL untuk mengekspresikan kinase yang diatur oleh sinyal ekstraseluler 1/2-RUNX2, yang merupakan jalur awal dan penting untuk sintesis RUNX2. RUNX2 menstimulasi sintesis berbagai protein tulang struktural, seperti kolagen tipe 1, sialoprotein tulang, osteocalcin, dan osteopontin. Selain itu, jalur pensinyalan Wnt kanonik diaktifkan dan ini penting untuk pembentukan tulang karena osterix dan osteocalcin adalah target hilir yang diekspresikan selama minggu pertama OTM. (Maltha,2023)

Lebih lanjut, deposisi tulang distimulasi di bawah tekanan positif melalui peningkatan aksi IL-10 yang merangsang sintesis OPG dan menghambat sintesis RANKL, sehingga mencegah diferensiasi osteoklas di area tersebut. Osteosit yang diaktifkan merangsang diferensiasi prekursor menjadi osteoblas melalui berbagai sitokin, faktor pertumbuhan, dan NO. (Maltha,2023)

Selain itu, sintesis TGF- β diregulasi di bawah tekanan positif. Ini induksi proliferasi dan kemotaksis sel PDL dan meningkatkan regulasi gen kolagen-1, yang mengarah ke produksi kolagen tipe 1. Lebih jauh lagi, TGF- β merekrut prekursor osteoblas dan menginduksi diferensiasinya menjadi osteoblas, dan menurunkan regulasi MMP dan meningkatkan regulasi mengaktifasi TIMP, sehingga menghindari kerusakan ECM. Pola ekspresi lokal mereka menunjukkan koordinasi yang cermat. Secara keseluruhan, peningkatan regulasi TGF- β di bawah tekanan positif menghasilkan peningkatan osteoblas dan mengurangi aktivitas osteoklas, yang mengarah pada produksi tulang dan remodeling serat PDL. (Maltha,2023)

3. Efek Biomekanik pada Osteosit

a. *Strain* Negatif

Sebagai respons terhadap *strain* negatif di sisi depan, tidak hanya osteoblas di PDL yang diaktifkan, tetapi osteosit di dalam tulang alveolus juga diaktifkan (Gbr. 7B). Osteosit merupakan mekanosensor dan transduser penting yang sangat sensitif terhadap perubahan aliran fluida dan tegangan geser fluida di dalam kanalikuli. Penelitian *in vitro* pada tahun 1990-an telah menunjukkan bahwa tegangan geser cairan dengan besaran yang sangat rendah lebih efektif dalam menginduksi reaksi biokimiawi pada osteosit dibandingkan dengan tekanan hidrostatik. (Maltha,2023)

Hipotesis aliran cairan kanalikuli menyatakan bahwa ketika tulang dibebani, cairan interstisial diperas melalui lapisan tipis matriks nonmineralisasi yang mengelilingi badan sel dan proses sel, sehingga menghasilkan tegangan geser cairan pada membran sel osteosit. Di bawah *strain* negatif, aliran fluida dari PDL ke dalam kanalikuli. Efek dari tegangan geser pada sistem osteosit/kanalikuli sebanding dengan efek *strain* negatif pada osteoblas, yaitu diferensiasi osteoklas dan resorpsi tulang alveolar. (Maltha,2023)

Jalur spesifik untuk proses ini berbeda untuk area depan gigi yang bergerak dengan *strain* negatif dan aliran cairan ke dalam tulang dan area belakang dengan *strain* positif dan aliran cairan dari kanalikuli ke dalam PDL.

b. *Strain* Positif

Di sisi belakang gigi yang bergerak, terdapat *strain* positif pada PDL dan kanalikuli tulang, yang pada akhirnya menyebabkan pengendapan tulang pada area tersebut (Gbr. 7A). Osteosit diaktifkan oleh aliran cairan dari tulang ke dalam PDL

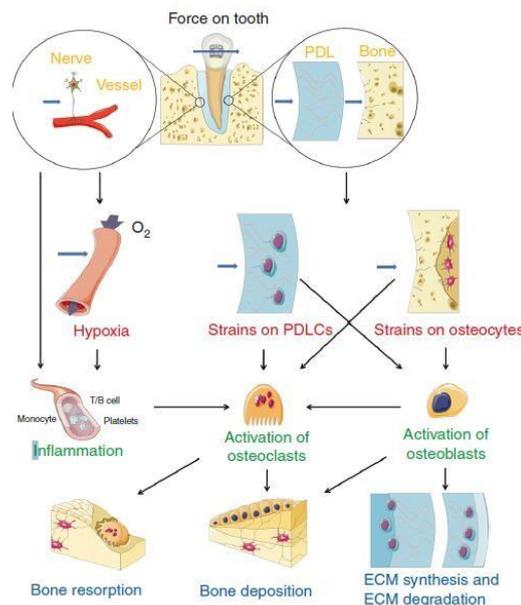
dan mengalami fenomena yang kurang lebih sama dengan yang terjadi pada osteoblas. Selain itu, pada osteosit, IL-10 merangsang sintesis OPG dan pengurangan sintesis RANKL, sehingga menghambat diferensiasi osteoklas dan mendukung pengendapan tulang. TGF- β juga sangat diekspresikan di bawah tekanan. Ini menginduksi proliferasi dan kemotaksis sel PDL, meningkatkan regulasi gen kolagen-1, merekrut prekursor osteoblas dan menginduksi diferensiasi osteoblas. (Maltha,2023)

4. Aktivasi dan Diferensiasi Osteoklas

Di sisi depan gigi yang bergerak, osteosit di dalam tulang alveolar diaktifkan dan merangsang jalur pensinyalan MAPK- dan aktivasi sel PDL selanjutnya. Rasio RANKL/OPG meningkat, memungkinkan monosit/makrofag berdiferensiasi menjadi prekursor osteoklas. Diferensiasi dari prekursor osteoklas menjadi osteoklas bergantung pada sitokin dan faktor pertumbuhan, seperti M-CSF, TNF- α , rasio RANKL / OPG, dan NO. Sementara itu, TNF- α menginduksi apoptosis osteoblas, memungkinkan osteoklas muda untuk menempel pada permukaan tulang. Namun, mekanisme yang mendasari migrasi ini masih belum jelas. Mungkin, *shear stress* cairan dari kanalikuli dan/atau gradien Ca⁺⁺ pada permukaan tulang tempat osteoid dihilangkan melalui aksi MMP menyebabkan peristiwa ini. Setelah mendarat di permukaan tulang, osteoklas melekat pada permukaan tulang dengan integrin dan mulai membentuk celah resorpsi. Di antara osteoklas dan tulang alveolar, sebuah lakuna yang terisolasi muncul, yang disebut lakuna *Howship*. Pada lakuna ini, pH menurun dengan sekresi ion H⁺ dan enzim proteolitik, seperti cathepsin dan MMP, termasuk kolagenase, mendegradasi ECM

PDL dan matriks organik tulang alveolar. (Maltha,2023)

Selain itu, jalur lain yang menstimulasi osteoklastogenesis di bawah tekanan negatif adalah melalui peningkatan ekspresi EphA2 dan EphA2. Jalur ini mungkin memainkan peran yang sama pentingnya dengan RANKL/OPG, tetapi penyelidikan lebih lanjut diperlukan. (Maltha,2023)



Gambar 8. Proses transduksi dari beban mekanis menuju sinyal biologis. Tahap 1: mekanobiologi ekstraseluler dari periodonsium (berwarna kuning). Tahap 2: strain sel (berwarna merah). Tahap 3: aktivasi dan diferensiasi sel (berwarna hijau). Tahap 4: renovasi jaringan (berwarna biru). (Yuan,2021)

5. Remodeling Jaringan

a. Remodeling Jaringan Ligamen Periodontal

Sebagai respons terhadap pembebanan yang berbeda, diikuti oleh pendekatan mekanosensorik yang berbeda, intraseluler sinyal dan ekspresi gen, PDL, osteoblas dan osteoklas diyakini mengeluarkan molekul bioaktif katabolik dan anabolik untuk kedua jaringan resorpsi dan pembentukan jaringan, akhirnya mencapai jaringan remodeling. Di sisi kompresi, PDL terdegradasi untuk menciptakan ruang gerak gigi sementara jaringan PDL baru secara bersamaan

dibentuk untuk mempertahankan perlekatan. *Strain* tekan adalah ditemukan untuk menurunkan kolagen 1 mRNA, kolagen tipe I, dan meningkatkan Kadar mRNA MMP2 pada PDLC. Setelah perlekatan PDL serat ke tulang hilang, serat kolagen tipe I yang tidak berfungsi terdegradasi dan digantikan oleh kolagen tipe III untuk menampung yang longgar koneksi. Jumlah dan aktivitas osteoklas ditingkatkan melalui Modifikasi rasio OPG / RANKL dalam proses ini, bersama dengan peningkatan aktivitas PDLC. Di sisi tegangan, remodeling PDL terjadi setelah serat diregangkan. Matriks PDL baru berisi serat kolagen tipe I dibentuk untuk mempertahankan lebar PDL dan perlekatan tulang alveolar ke gigi.^(Yuan,2021)

b. Remodeling Jaringan Tulang

Di sisi kompresi, sebelum resorpsi tulang yang sebenarnya dapat terjadi, osteoblas harus mendegradasi osteoid melalui aktivitas MMP, yang bertujuan untuk membuat osteoklas menempel pada permukaan tulang. Osteoklas yang melekat pada tulang permukaan mengalami perubahan morfologi dan kemudian resorpsi yang sebenarnya terjadi di perbatasan yang acak-acakan, di mana osteosit melepaskan hidrogen ion untuk melarutkan matriks anorganik dan enzim seperti MMP dan cathepsin untuk menyerap kembali matriks organik dalam tulang. Cathepsin dan MMP ditemukan meningkat di lokasi kompresi dalam 3 jam hingga 1 minggu OTM dan menurun menjelang minggu kedua in vivo. Pembentukan tulang cenderung lebih lambat daripada resorpsi tulang, yang mungkin menjelaskan pelebaran radiografi pada PDL yang diamati selama OTM. Di sisi ketegangan, osteoblas bertanggung jawab untuk pembentukan tulang baru dengan terlebih dahulu memproduksi ECM baru dan kemudian mineralisasi mereka, sementara

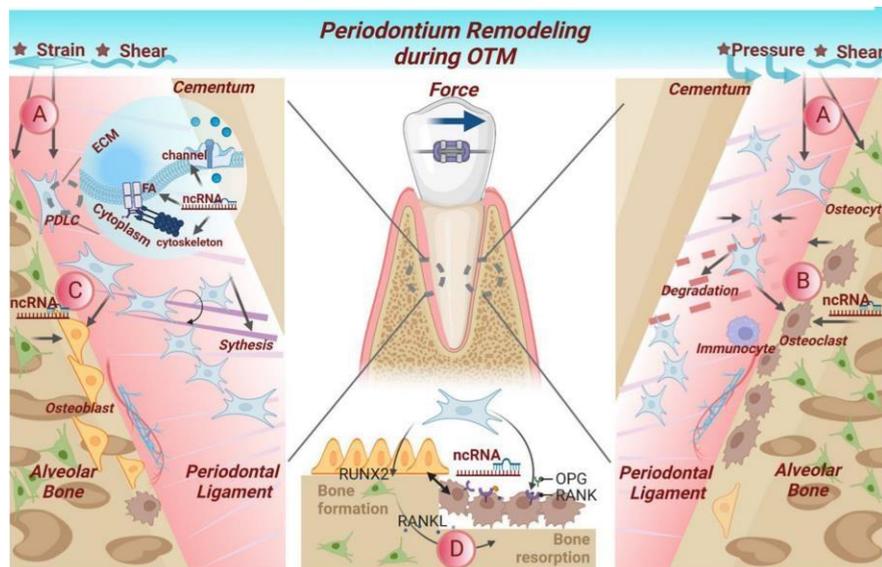
beberapa osteoblas akan terperangkap dalam tulang dan berubah menjadi osteosit. Dalam sebuah studi *in vitro*, PDLC manusia di respon terhadap *strain* tarik semakin banyak mengekspresikan osterix, tulang sialoprotein, osteoklas, ALP, kolagen tipe I, dan BMP, yang bermanfaat untuk sintesis tulang dan remodeling jaringan.

(Yuan,2021)

c. Remodeling Jaringan Gigi

Ketika gaya ortodonti yang berat diterapkan dalam jangka waktu yang lama, hialinisasi dari PDL yang terkompresi dapat berkembang dengan cepat. Resorpsi eksternal apikal akar dimulai ketika lapisan pelindung sementoblas mengalami apoptosis dan memungkinkan odontoklas untuk menyerap kembali sementum dan dentin. Perbedaan, morfologi, dan fungsional karakteristik odontoklas sangat mirip dengan karakteristik osteoklas. Odontoklas dapat diaktifkan oleh RANKL, MCSF, IL-1, IL-6, dan TNF- α , dan dihambat oleh OPG. Adhesi yang tepat dari odontoklas ke substrat mineral memungkinkan aktivasi semua mesin intraseluler yang diperlukan untuk mendegradasi mineral komponen. Perlekatan odontoklas ke permukaan mineral adalah dimediasi melalui integrin dan protein ECM. Resorpsi juga mengikuti proses yang sama pada tulang dan dentin. Analisis *microarray gen* menemukan ekspresi berlebih yang lebih besar dari gen yang terkait dengan fusi sel (CD9), sitoskeleton (β -aktin, aktinin, filamin, dan tubulin) dan gen katabolik (RANK dan TRAP) dalam sel klastik yang dikultur pada substrat dentin dibandingkan dengan tulang. Hal ini perlu dicatat bahwa sementum umumnya dianggap sebagai penghalang antiresorptif karena tidak memiliki proses remodeling mineral. Pada tingkat transkriptomik, sementosit telah menunjukkan *in vivo* profil

ekspresi yang mirip dengan osteosit, mampu mengekspresikan protein matriks dentin 1, sklerostin, OPG, dan RANKL. Selain itu, sementosit mengekspresikan tingkat OPG yang jauh lebih tinggi secara signifikan dan tingkat mRNA RANKL yang lebih rendah daripada osteosit dari alveolar dan tulang panjang, yang menunjukkan efek perlindungan yang menghambat resorpsi atau remodeling sementum. Untuk mencegah ortodonti resorpsi akar, pendekatan terutama melalui penghambatan aktivitas odontoklas odontoklas atau meningkatkan aktivitas sementosit mungkin berguna. (Yuan,2021)



Gambar 9. Diagram skematik ncRNA yang mengatur regulasi periodonsium selama OTM. PDL, yang terletak di antara tulang alveolar dan sementum, adalah jaringan ikat berserat dengan neurovaskularitas dan kelompok sel yang heterogen. **A.** ncRNA berkontribusi pada penginderaan dan transduksi mekanis kekuatan dalam osteosit dan PDL. **B.** Pada fase katabolik, ncRNA terlibat dalam resorpsi tulang yang dimediasi oleh osteoklas dan PDL yang dimediasi oleh degradasi PDLC. **C.** Pada tahap anabolik berikutnya, ncRNA mengatur fungsi osteoblas dan sintesis PDL. **D.** ncRNA bertanggung jawab untuk mengkoordinasikan komunikasi yang rumit melalui sitokin atau kontak antar sel. (Chen,2023)

6. Marker Remodeling Tulang Alveolar

Saat gaya ortodonti diterapkan pada gigi, daerah kompresi menunjukkan peningkatan aktivitas osteoklastik. Sementara itu, di daerah tarikan, osteoblas mulai berkembang biak dan memineralisasi matriks ekstraseluler. Fenomena ini

menghasilkan remodeling tulang alveolar. Kemokin dapat berkontribusi pada remodeling tulang diferensial dalam menanggapi gaya ortodonti melalui pembentukan lingkungan mikro yang berbeda di lokasi kompresi dan tegangan. Pemicu utama OTM kemungkinan besar adalah *strain* yang dialami oleh sel PDL, sel yang berhubungan dengan tulang, dan matriks ekstraseluler. *Strain* ini menyebabkan perubahan ekspresi gen dalam sel melalui interaksi antara sel dan matriks ekstraseluler. Salah satu contohnya adalah matriks metaloproteinase (MMPs). MMP memecah matriks ekstraseluler dan penting dalam pembentukan kembali tulang. Kompresi menginduksi peningkatan kadar protein MMP-1 setelah 1 jam. Namun, peningkatan tersebut berlangsung selama 2 jam dan kemudian menghilang. *Strain* menyebabkan peningkatan kadar protein MMP-1 secara signifikan setelah hanya 1 jam aplikasi gaya dan juga kemudian menghilang. Protein MMP-2 diinduksi oleh kompresi dan meningkat secara signifikan dengan cara yang bergantung pada waktu, mencapai puncaknya setelah 8 jam penerapan gaya. Di sisi *strain*, MMP-2 meningkat secara signifikan setelah 1 jam tetapi secara bertahap kembali ke tingkat basal dalam waktu 8 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa MMP-2 dapat digunakan selama tahap awal perawatan ortodonti sebagai marker pergerakan gigi aktif. (Ariffin,2011)

a. Marker Pembentukan Tulang

Pembentukan tulang terutama disebabkan oleh aktivitas osteoblastik. Oleh karena itu, marker pembentukan tulang biasanya berupa enzim osteoblastik atau produk sampingan dari pembentukan tulang seperti prokolagen tipe I. Prokolagen tipe I adalah disekresikan oleh sel osteoblas. Pemecahan prokolagen akan

menghasilkan dua jenis prokolagen, yaitu prokolagen tipe I C-terminal propeptida (PICP) dan prokolagen tipe I N-terminal propeptida (PINP) yang diusulkan untuk diukur sebagai marker pembentukan tulang. Namun, PICP dan PINP adalah marker yang hanya dapat menunjukkan pembentukan kolagen tipe I dan tidak sepenuhnya spesifik untuk tulang [58]. Oleh karena itu, marker lain yang secara khusus diaktifkan selama diferensiasi atau aktivitas osteoblas diperlukan. Banyak gen yang terlibat dalam diferensiasi osteoblas. Faktor transkripsi (TF) Cbfa1 (atau Runx-2) adalah yang paling awal diekspresikan dan marker pembentukan tulang yang paling spesifik dan membantu mengendalikan diferensiasi osteoblas. Lokasi pengikatan Cbfa1 juga hadir pada pengaturan sebagian besar gen yang terlibat dalam mengatur sekresi matriks tulang oleh osteoblas dewasa. (Ariffin,2011)

Di sisi lain, Osterix, sebuah TF, terlibat dalam pembentukan tulang dan menginduksi osteoblas dewasa untuk mengekspresikan osteocalcin. Sebaliknya, ekspresi osteocalcin akan menghambat diferensiasi osteoblas. Menunjukkan Cbfa1 dan Osterix sebagai marker potensial untuk aktivitas osteoblastik awal dan akhir, sedangkan osteocalcin sebagai marker diferensiasi osteoblas akhir. Selain itu, protein morfogenetik tulang (BMP), protein transforming growth factor-beta (TGF- β) dan molekul pensinyalan internal terkait faktor pertumbuhan (GFs) adalah gen pembentuk tulang lainnya yang menyandikan protein untuk GFs. BMP yang berikatan dengan reseptor permukaan pada progenitor dan osteoblas dewasa dapat memicu jalur pensinyalan yang mendorong diferensiasi sel osteoprogenitor dan regulasi aktivitas osteoblas. Ekspresi Cbfa1 juga dapat diinduksi oleh BMP. Pembentukan tulang juga dapat dipromosikan oleh GFs melalui interaksinya

dengan reseptor permukaan tertentu pada osteoblas, dengan demikian merangsang GF-1 seperti insulin. GF-1 mirip insulin adalah mediator utama dari efek hormon pertumbuhan yang memiliki efek meningkatkan pertumbuhan pada tulang, selain mengatur pertumbuhan dan pertumbuhan sel pengembangan. (Ariffin,2011)

Penelitian lain telah menemukan bahwa Msx1 dan Msx2 adalah pengatur pembentukan tulang yang potensial. Msx1, protein dikenal sebagai modulator kritis perkembangan dan remodeling tulang, dan Msx2 adalah protein alternatif pengatur ekspresi Cbfa1 dalam pembentukan tulang selama OTM. Oleh karena itu, Cbfa1 (atau Runx-2), osterix, osteocalcin, BMPs, TGF- β , pensinyalan internal terkait GF, GF-1 seperti insulin, Msx1 dan Msx2 dapat digunakan sebagai biomarker potensial selama perkembangan sel punca menjadi osteoblas selama OTM. Kekuatan mekanis dalam perawatan ortodonti menyebabkan distorsi fisik PDL dan sel tulang alveolar. Mereka juga dapat memicu kaskade bertingkat dari jalur transduksi sinyal, seperti jalur prostaglandin E2 (PGE2), yang memulai perubahan struktural dan fungsional dalam ekstraseluler, membran sel, dan protein sitoskeletal. Perubahan selanjutnya dalam struktur dan fungsi protein sitoskeletal mengarah ke pembentukan sel-sel baru dan pembentukan matriks tulang. (Ariffin,2011)

b. Marker Resorpsi Tulang

Sel osteoklastik yang terlibat dalam resorpsi tulang adalah sel raksasa multinuklear khusus yang berasal dari sel punca hematopoietik. Marker resorpsi tulang yang paling awal adalah interleukin 1 beta (IL-1 β). PGE2, interleukin-6 (IL-6), dan sitokin inflamasi lainnya juga dapat memfasilitasi proses resorpsi tulang osteoklastik. Protein-protein ini mengatur aktivitas osteoklastik melalui aktivasi

nuclear factor kappa B (RANK) dan *nuclear factor kappa B ligan (RANKL)*.

(Ariffin,2011)

Sel osteoblas juga mengontrol proses osteoklastik dengan mensintesis RANKL untuk meningkatkan diferensiasi osteoklastik. Induksi sinyal antara osteoblas dengan ekspresi permukaan RANKL dan prekursor osteoklastik yang membawa reseptor RANK menginduksi pembentukan dan aktivasi osteoklastik. Sebuah studi oleh Oshiro et al. telah menunjukkan perubahan pada RANK, RANKL, dan osteoprotegerin (OPG) pada jaringan penyangga gigi jaringan pendukung gigi selama OTM, di mana stimulasi RANKL dan penghambatan OPG terlibat dalam osteoklastogenesis. Kekuatan kompresi meningkatkan regulasi RANKL melalui jalur PGE2 dan dengan demikian mendukung osteoklastogenesis. (Ariffin,2011)

Biomarker lain dari OTM awal diselidiki dalam model tikus menggunakan desain *split mouth* pada 3 dan 24 jam setelah pemasangan alat. Pola ekspresi spasial KI-67, RANKL, dan RUNX2 selama OTM dipetakan dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia. Ekspresi KI-67, proliferasi marker, dan RANKL, molekul yang terkait dengan diferensiasi osteoklastik, meningkat pada area kompresi ligamen periodontal yang mengalami tekanan selama 3 jam. Di sisi lain, ada peningkatan ekspresi KI-67 dan RUNX2, kedua marker prekursor osteoblastik, di area *strain* setelah 24 jam penerapan gaya. Ekspresi awal RANKL menunjukkan bahwa sel-sel terlibat dalam prekursor osteoklastik memberi sinyal pada tahap awal ini. (Ariffin,2011)

Potensi *tetratesistant acid phosphatase (TRAP)* sebagai biomarker resorpsi tulang telah lama dikenal.

Nitric oxide (NO) adalah pengatur penting dari respons tulang terhadap stres mekanik dan diproduksi melalui aktivitas sintase oksida nitrat endotel konstitutif (eNOS) atau oksida nitrat yang dapat diinduksi sintase (iNOS). NO memediasi pembentukan tulang adaptif, melindungi osteosit dari apoptosis dan memediasi aktivitas osteoklastik. Kadar NO yang tinggi mengurangi aktivitas osteoklastik, sedangkan penghambatan produksi NO meningkatkan osteoklastogenesis dan aktivitas osteoklastik. (Ariffin,2011)

Osteokalsin adalah protein matriks nonkolagen yang paling banyak ditemukan di tulang. Ini diekspresikan oleh osteoblas yang sangat terdiferensiasi dan dimasukkan ke dalam matriks tulang. Fragmen osteokalsin yang lebih kecil dianggap sebagai produk degradasi matriks tulang, yang menunjukkan potensinya sebagai resorpsi marker tulang. (Ariffin,2011)

Tabel 3. Marker yang terlibat dalam pergerakan gigi ortodonti yang dikumpulkan dari jaringan gigi (tulang alveolar, periodonsium dan pulpa). (Ariffin,2011)

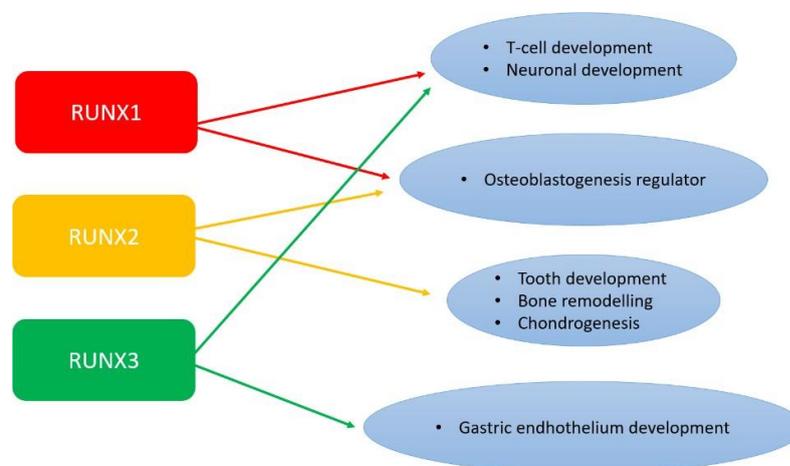
Marker	Function	Sample	Method
Bone morphogenetic proteins (BMPs)	Bone formation	Rat pulp tissue	Quantitative RT-PCR
Cathepsin K	Root and bone resorption; expressed in odontoclasts and osteoclasts	Rat maxillary bone	Hybridization
Endothelin-1, endothelin receptors (ET _A and ET _B)	Stimulates the proliferation of osteoblasts; their downregulation indicates the end of stage 2 and start of stage 3	Rat alveolar bone	RT-PCR
Endothelial nitric oxide synthase (eNOS)	Mediates bone formation in the tension area	Rat maxilla tissue	Immunohistochemistry
Inducible nitric oxide synthase (iNOS)	Mediates inflammation-induced bone resorption in the compression area.	Rat maxilla tissue	Immunohistochemistry
Ki-67	Proliferation	Rat maxilla	Immunohistochemistry
Muscle segment homeobox 1 (Msx1)	Regulator for bone formation	Human alveolar mucoperiosteum	Quantitative RT-PCR, Immunohistochemistry
Muscle segment homeobox 2 (Msx2)	Regulator for bone formation	Mouse periodontal ligament tissue	Histopathological, Immunohistochemistry
Osteoprotegerin (OPG)	Osteoclastogenesis-inhibitory factor	Rat mandible	RT-PCR
Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL)	Osteoclastic differentiation	Rat maxilla	Immunohistochemistry
Runx2	Osteoblast precursor	Rat maxilla	Immunohistochemistry
Transforming Growth Factor-B (TGF-B)	Bone formation	Rat alveolodental connective tissue	Immunohistochemistry

D. *Runt-Related Transcription Factor 2 (RUNX2)*

RUNX2 termasuk dalam keluarga RUNX, yang memiliki domain pengikat DNA kerdil, dan terdiri dari RUNX1, RUNX2, dan RUNX3 .^(Komori,2019) RUNX1 memainkan peran kunci dalam pengembangan semua jenis sel hematopoietik, perkembangan saraf, dan pembentukan tulang. RUNX2 memainkan fungsi penting dalam osteogenesis, pembentukan tulang rawan, migrasi sel, invasi tulang vaskular, dan pembentukan gigi. RUNX3 penting untuk pematangan limfosit T CD8 +, memiliki peran dalam perkembangan saraf dan mendukung pembentukan tulang dan tulang rawan. Selain itu, ia mengontrol lambung sel endotel (EC) melalui apoptosis.^(Wysokinski,2015)

Runt-related transcription factor-2 (RUNX2) adalah faktor transkripsi spesifik osteoblas yang mengaktifkan dan menginisiasi diferensiasi sel mesenkimal sumsum tulang menjadi osteoblas dan mengatur maturasi osteoblas juga mengatur ekspresi osteoprotegerin.^(Jinyou,2015)

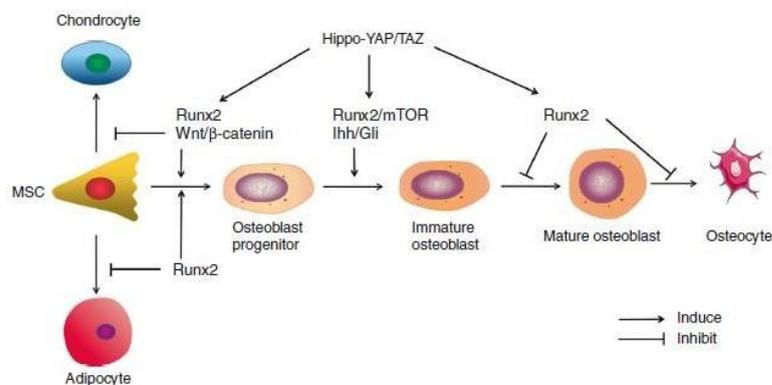
Runt-related transcription factor-2 (RUNX2) diperlukan untuk diferensiasi



Gambar 10. Peran dasar RUNX^(Wysokinski,2015)

osteoblas dan odontoblas dan mengatur banyak ekspresi gen terkait tulang dan gigi. RUNX2 menentukan garis keturunan osteoblas dan odontoblas dari sel mesenkim. Pola ekspresi RUNX2 temporal-spasial selama pembentukan tulang dan gigi telah. Sebagai contoh, tikus yang kekurangan RUNX2 menunjukkan gangguan pembentukan gigi, hanya berlanjut ke tahap *cap/early bell*. Selain itu, orang dengan mutasi gen RUNX2 menunjukkan kelainan gigi, dengan gigi supernumerary, erupsi gigi abnormal, dan hipoplasia gigi. (Chen,2009)

Runt-related transcription factor-2 (RUNX2) merupakan faktor transkripsi spesifik osteoblas pertama yang terkonfirmasi. (Ducy,1997) Ini menyelesaikan regulasi perkembangan skeletal terutama dengan mengatur diferensiasi sel yang terkait dengan pembentukan tulang dan perubahan ekspresi protein matriks ekstraseluler. (Byun,2012) Selain itu, RUNX2 terlibat dalam proses diferensiasi sel punca mesenkim sumsum tulang menjadi osteoblas dan memainkan peran kunci dalam proses pematangan osteoblas. (Hemiyati,2018) Selama pergerakan gigi ortodonti, tingkat RUNX2 di daerah regangan lebih tinggi dibandingkan dengan di area tekanan. (Trudy,2013)



Gambar 11. Regulasi diferensiasi osteoblas. (Yuan,2021)

1. Peran RUNX2

a. Skeletal

Osteoblas membentuk dan mengatur kristal hidroksiapatit, serta protein matriks ekstraseluler (kolagen tipe I, osteokalsin, osteonektin, osteopontin, sialoprotein tulang dan proteoglikan) yang membentuk tulang. Sementara RUNX2 memainkan peran penting dalam diferensiasi dan fungsi osteoblas, selama embriogenesis, dapat dideteksi pada hari ke 9,5 di notochord dan pada hari ke 10,5 di semua elemen skeletal yang ada. Pada tahap ini, RUNX2 mengarahkan MSCs multipoten untuk berdiferensiasi menuju garis keturunan osteoblas dan meningkatkan ekspresi gen spesifik osteoblas; termasuk osteocalcin, alkaline phosphatase, collagenase-3, sialoprotein tulang dan kolagen tipe I. ^(Trudy,2013)

b. Non Skeletal

RUNX2 telah ditemukan diekspresikan dalam beberapa jaringan non-skeletal, termasuk testis, ovarium, kompartemen spesifik otak, serta selama proses spermatogenesis. RUNX2 sekarang dianggap terlibat dalam banyak fungsi seluler di luar aktivasi gen target spesifik jaringan, seperti osteocalcin dan protein tulang lainnya yang diekspresikan pada osteoblas tulang dewasa (Jeong et al., 2008). RUNX2 juga telah ditemukan berperan dalam penentuan nasib sel, mengatur gen ribosom dan mengontrol mesin sintesis protein, serta memodulasi ekspresi berbagai faktor pertumbuhan termasuk VEGF dan matriks metalloproteinase. ^(Trudy,2013)

c. Gigi

RUNX2 juga penting dalam perkembangan gigi dan telah ditemukan di kuman gigi pengerat di E12 (kondensat mesenkimal pembentuk tulang dan gigi di maksila

dan mandibula) dan di papila gigi dan folikel di E14 (tahap tutup perkembangan gigi). Secara embriologis, RUNX2 diekspresikan oleh jaringan mesenkim gigi turunan CNC; papila gigi dan folikel gigi. Diferensiasi odontoblas dan ameloblas dari papilla gigi diarahkan oleh interaksi timbal balik antara inner enamel epithelium (IEE) dan sel mesenchymal yang berhadapan langsung dengan inner enamel epithelium dan dimediasi oleh molekul termasuk keluarga Wnt, RUNX2 dan TGF beta (transforming growth factor). Osteoblas dan odontoblas, sementara berbagi banyak gen serupa, juga berbagi protein serupa dengan dentin sialophosphoprotein (DSPP), protein non-kolagen utama dalam dentin juga ditemukan pada tingkat yang lebih rendah dalam osteoblas dan ameloblas. Beberapa daerah pengikatan RUNX2 telah ditemukan dalam promotor DSPP dan RUNX2 telah ditemukan untuk mengatur ekspresi DSPP dalam odontoblas yang belum matang, sambil menekan ekspresinya dalam odontoblas dewasa. (Trudy,2013)

2. RUNX2 dan Pergerakan Gigi Ortodonti

Pergerakan gigi ortodonti terjadi ketika piranti ortodonti menempatkan gaya mekanis pada gigi dan jaringan periodontal di sekitarnya yang menyebabkan remodeling tulang dan pergerakan gigi. Awalnya, perpindahan terjadi di dalam PDL yang menghasilkan daerah ketegangan dan kompresi serta perubahan kadar oksigen, aktivitas seluler, masuknya sitokin inflamasi dan pembentukan jaringan hialinisasi. Remodeling jaringan hialin menghasilkan pergerakan gigi. Inkonsistensi hadir dalam literatur mengenai ekspresi RUNX2 selama pergerakan gigi ortodonti, karena tidak semua hewan menampilkan ekspresi. Inkonsistensi juga hadir mengenai waktu ekspresi RUNX2, dengan studi menemukan RUNX2 hadir

pada atau sebelum 24 jam pasca onset aplikasi kekuatan serta pasca 24 jam.

(Trudy,2013)

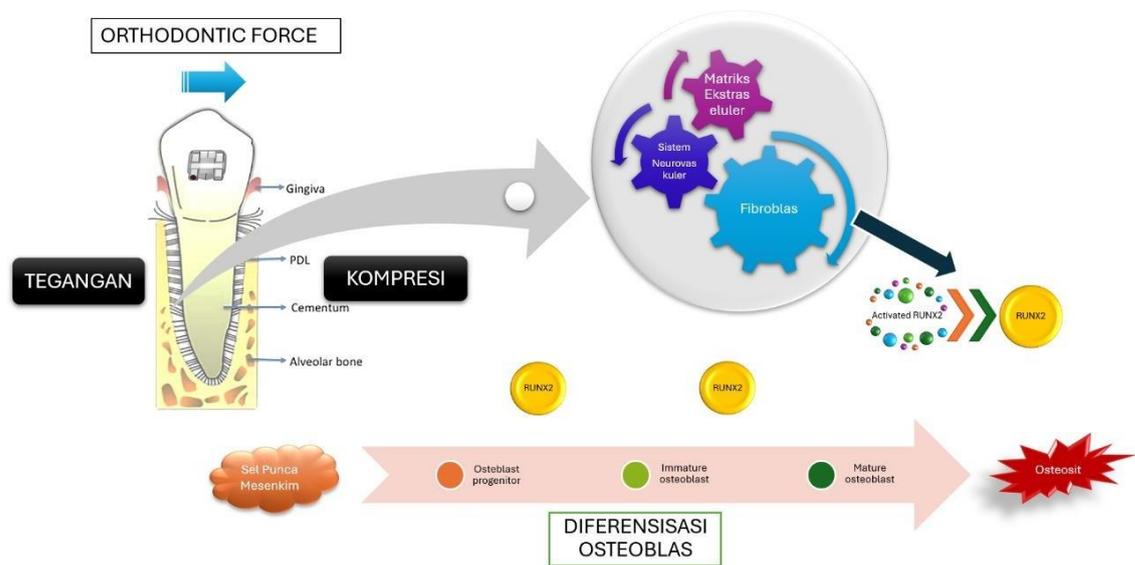
3. Peran RUNX2 pada Remodeling Tulang

Faktor lain yang tampak memainkan peranan penting dalam pergerakan gigi ortodonti adalah gen RUNX2, yang telah diamati dalam beberapa penelitian yang melaporkan bahwa stres mekanik mengaktifkan RUNX2 untuk mempromosikan osteogenesis dalam sel osteoblastik. (Tsolakis,2023)

RUNX2 adalah faktor transkripsi spesifik osteoblas yang mengaktifkan dan memulai diferensiasi sel mesenkim sumsum tulang menjadi osteoblas dan mengatur pematangan osteoblas; juga mengatur ekspresi osteoprotegerin. Fibroblas adalah sel pluripoten dalam jaringan periodontal, dan dapat berdiferensiasi menjadi sel seperti osteoblas dengan mengekspresikan protein yang memberikan fenotip dan fungsi osteoblas di bawah kekuatan mekanik eksternal. Dalam proses ini, faktor transkripsi spesifik osteoblas memainkan peran sentral. Secara biologis, peningkatan regulasi ekspresi RUNX2 oleh stimulasi mekanik dapat mengaktifkan dan memulai diferensiasi sel punca mesenkimal sumsum tulang menjadi sel tulang dan mengatur pematangan sel tulang. Lebih lanjut, RUNX2 dapat mengatur ekspresi *osteocalcin* untuk mendorong pematangan osteoblas. (Jinyou,2015)

Pada saat kekuatan mekanis oleh aplikasi gaya ortodonti diberikan, pergerakan gigi ortodonti terbukti membawa sejumlah aktivitas biologis sel tulang melalui transduksi sinyal, yang mengakibatkan resorpsi dan pengendapan tulang alveolar, dan menyebabkan remodeling jaringan. (Jinyou,2015) Di sisi yang berlawanan dengan arah gigi yang akan digerakkan terjadi tegangan (*positive strain*) pada

jaringan periodontal, serta pada kanalikuli tulang.^(Maltha,2023) Pembuluh darah pada jaringan periodontal (PDL) menyediakan nutrisi, sel-sel kekebalan tubuh, dan hormon yang diperlukan untuk renovasi yang diinduksi oleh gaya ortodonti pada jaringan di sekitar sisi tegangan. Setelah sel jaringan periodontal merasakan rangsangan mekanis, sel mesenkim diaktifkan untuk berdiferensiasi menjadi osteoblas, yang secara khusus mengekspresikan *osteocalcin* dan RUNX2. Diferensiasi osteoblas pada tulang alveolar manusia melibatkan peningkatan ekspresi merupakan komponen penting dari proses diferensiasi. RUNX2 menginduksi diferensiasi sel mesenkim multipoten menjadi osteoblas yang belum matang dan memicu ekspresi gen matriks tulang termasuk *osteocalcin* (OCN), alkaline phosphatase (ALP) dan lainnya, pada tahap awal diferensiasi osteoblas.^(Herniyati,2015) Sel mesenkim pertama-tama berdiferensiasi menjadi awal sumber osteoblas dan osteoblas yang belum matang. Osteoblas yang belum matang, mengekspresikan gen protein matriks tulang (BMP) dan tingkat osteopontin (OPN) yang tinggi, berdiferensiasi menjadi osteoblas dewasa, yang yang mengekspresikan osteokalsin tingkat tinggi. Akhirnya, osteoblas yang matang berubah menjadi osteosit setelah tertanam di dalam tulang matriks.^(Yuan Li,2021)



Gambar 22. Diagram peran RUNX2 pada remodeling tulang oleh karena aplikasi gaya ortodonti

E. Etanol

1. Definisi Etanol

Etanol adalah golongan senyawa kimia alifatik yang mempunyai 1 gugusan – OH. Ada berbagai bentuk etanol yaitu etanol (etil alkohol), metanol (metil alkohol) dan isopropanol. Etanol atau etil alkohol, digunakan sebagai pelarut, antiseptik, campuran obat batuk, anggur obat, minuman keras dan minuman lain yang mengandung alkohol. (Risksdas,2018)

Alkohol adalah suatu jenis cairan yang dalam ilmu kimia mempunyai rumus C_2H_5OH dengan nama etil alkohol atau etanol. Etil alkohol atau etanol ini adalah cairan jernih, tidak berwarna dan rasanya pahit. Nama etil alkohol ini diberikan pada sekian banyak jenis alkohol lainnya, baik yang berupa cairan sampai yang berwujud padat. (Risksdas,2018)

2. Kandungan Etanol

Sebagian besar minuman beralkohol yang dikonsumsi oleh masyarakat

Indonesia merupakan minuman yang termasuk dalam kategori C minuman beralkohol dengan kadar alkohol tinggi, yaitu sebesar 20% hingga 55%.

Berdasarkan ketentuan Standar Industri Indonesia (SII) dari Departemen Perindustrian RI, minuman berkadar alkohol di bawah 20 % tidak tergolong minuman keras tapi juga bukan minuman ringan. (Risksdas,2018)

Sedangkan dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No 86/Men.Kes/Per/IV/1977 tanggal 29 April 1977 yang mengatur produksi dan peredaran minuman keras, minuman keras adalah semua jenis minuman yang beralkohol tetapi bukan obat, yang meliputi 3 golongan yaitu:

1. Golongan A , dengan kadar etanol 1 sampai 5 %
2. Golongan B , dengan kadar etanol dari 5 % sampai 20 %
3. Golongan C , dengan kadar etanol dari 20 % sampai 55 %

Ada beberapa jenis minuman keras yang mengandung etanol (etil alkohol):

- a) Anggur, mengandung etanol antara 7 % sampai 22 %, tapi umumnya 12-14 %. Anggur merah mengandung etanol kira-kira 10 %. *Champagne* atau disebut juga "*sparkling wine* ", mengandung etanol 10 – 13 % tapi bisa mencapai 20 %. Port dan Sherry merupakan minuman keras dengan kandungan etanol 20 % atau lebih
- b) Golongan Bir, mengandung etanol antara 4 % sampai 7 %. Ale, porter dan bir hitam mengandung etanol 6 – 8 % .
- c) Tuak merupakan hasil fermentasi nira atau enau, Pongas hasil fermentasi beras ketan, dan tape, mengandung etanol sampai 8 %.
- d) Minuman keras yang dihasilkan dengan cara destilasi antara lain : Gin (37-45

% etanol), whiskey (37 – 53 % etanol), Brandy (37 – 43 % etanol). (Risksdas,2018)

Tabel 4. Kadar etanol dalam sampel makanan dan minuman fermentasi. (Hermanto,2020)

Sampel Makanan dan Minuman Fermentasi	Etanol %(V/V)		
	Kadar Tertera	Metode GC	Alkoholmeter
S1- Bir	4,9	5,00±0,5	4,3±0,3
S2- Poteng Ambon	-	0,50±0,7	0,7±0,2
S3- Poteng Jaje Tujak	-	0,45±0,5	0,5±0,2
S4- Tuak	-	25,5±0,2	28±0,5
S5- Brem	-	30,1±0,2	31±0,4

3. Efek Sistemik Konsumsi Etanol

Metabolit metanol berupa senyawa formaldehid dan formiat mengandung bahan toksik. Isopropanol atau isopropil alkohol digunakan sebagai disinfektan 70 %, terdapat pada *after shave lotion*, cairan pembersih, dan juga *anti freeze*. Etanol atau etil alkohol , digunakan sebagai pelarut, antiseptik, campuran obat batuk, anggur obat, minuman keras dan minuman lain yang mengandung alkohol. Keracunan etil alkohol melalui mulut (termasuk dengan sengaja minum alkohol) dan diserap melalui kulit pada waktu mengompres dengan alkohol. Hampir 95 % etil alkohol dalam tubuh akan teroksidasi menjadi asetaldehid dan asam asetat sedangkan 5 % sisanya akan dieksresi atau dibuang melalui air seni. (Jones,2021)

Efek dari etanol atau etil alkohol dalam tubuh yaitu melintasi penghalang plasenta dan dapat menghambat pertumbuhan atau berat janin, menciptakan stigmata wajah yang khas, merusak neuron dan struktur otak, yang dapat mengakibatkan masalah psikologis atau perilaku, dan menyebabkan kerusakan fisik lainnya (Sindrom Alkohol Janin atau FAS). Etanol yang bersirkulasi menghambat hidroksilasi vitamin D3 di hati, sehingga menyebabkan homeostasis kalsium. Dalam kasus seperti itu, sintesis PTH meningkat, meningkatkan keseimbangan

fungsi seluler menuju peningkatan resorpsi jaringan mineral, termasuk resorpsi akar, untuk mempertahankan kadar normal kalsium dalam darah. (Jones,2021)

Mengonsumsi alkohol dalam jumlah besar setiap hari secara kronis dapat menyebabkan komplikasi parah, seperti seriosis hari, neuropati, osteoporosis, dan patah tulang spontan. Penelitian pada hewan menunjukkan bahwa konsumsi alkohol secara signifikan mengurangi pembentukan tulang baru dan menundaosteointegrasi implan, mungkin dengan mengurangi jumlah dan aktivitas osteoblas. (Liu,2018)

Efek berbahaya etanol di rongga mulut tampaknya sebanding dengan pola paparan alkohol. Induksi enzimatik, *immune modifier*, serta pembentukan sementum dan pengurangan aktivitas osteoblas dikaitkan dengan konsumsi alkohol sehingga menyebabkan gangguan pada kesehatan rongga mulut. Mekanisme patogen yang mendasari efek berbahaya etanol telah diselidiki secara ekstensif, yaitu terjadi gangguan inflamasi dan oksidatif. (Frazao,2020)

4. Efek Etanol Terhadap Pergerakan Gigi Ortodonti

Pembentukan dan remodeling tulang adalah peristiwa biologis seumur hidup yang sangat penting untuk mempertahankan volume, kepadatan, dan fungsi jaringan tulang. Selama pembentukan dan remodeling tulang, osteoprogenitor menjalani osteoblastogenesis, yang melibatkan serangkaian peristiwa seluler dan molekuler berurutan, termasuk proliferasi, diferensiasi, dan mineralisasi matriks ekstraseluler. Osteoblastogenesis diatur dengan hati-hati oleh berbagai faktor dalam lingkungan mikro tulang, dan sangat sensitif terhadap kondisi sistemik yang merugikan, seperti alkoholisme. (Liu,2018)

Gerakan gigi ortodonti (OTM) ditandai dengan reaksi sekuensial terhadap kekuatan biomekanik yang menyebabkan perubahan pada jaringan periodontal dan terkait dengan remodeling tulang dengan aktivasi resorpsi tulang alveolar pada sisi tekanan dan akibatnya aposisi tulang di sisi traksi. Ketidakseimbangan yang diinduksi etanol antara proses pembentukan tulang dan resorpsi secara langsung mempengaruhi perbaikan tulang. ^(Araujo,2014)

Konsumsi alkohol diketahui dapat menurunkan kepadatan mineral tulang, mempengaruhi perbaikan dan pembentukan tulang, serta meningkatkan resorpsi tulang, sehingga mengakibatkan pengeroposan tulang. Namun, studi yang mengevaluasi hubungan asupan etanol dan kerusakan periodontal pada hewan jarang dilakukan. ^(Bannach,2015)

Hingga saat ini, efek etanol pada fibroblas ligamentum periodontal dalam konteks tekanan mekanis atau pergerakan gigi ortodonti belum jelas. Kehilangan tulang periodontal dan peningkatan proses inflamasi telah diamati selama konsumsi alkohol kronis pada model hewan. Studi-studi ini menunjukkan bahwa etanol memiliki efek stimulasi langsung pada osteoklas dan osteoklastogenesis, sedangkan biomarker osteoblas terganggu pada tikus. Bannach *et al.* melaporkan kehilangan tulang periodontal yang signifikan pada model tikus setelah pemberian etanol selama fase pertumbuhan. Berkurangnya kepadatan tulang dan penghambatan pembentukan sementum akar juga telah diamati, yang dapat meningkatkan resorpsi akar gigi dengan kurangnya aksi reparatif sementoblas untuk meregenerasi kerusakan. Konsumsi alkohol juga dilaporkan meningkatkan risiko periodontitis pada usia muda. Pengamatan ini, bagaimanapun, berbeda

dengan laporan efek penghambatan alkohol (etanol dan propanolol) pada aktivitas osteoklas dan osteoblas. Karena situasi data yang kontradiktif dan ambigu, efek etanol pada jaringan periodontal dan selama pergerakan gigi ortodonti (OTM) masih belum jelas dan memerlukan penelitian lebih lanjut.^(Schroder,2018)

5. Efek Etanol Terhadap Osteoblas dan Osteoklas

Osteoblas berasal dari sel punca mesenkim dan terletak di daerah regenerasi tulang. Morfogenetik tulang protein 2 (BMP-2) dan transkripsi terkait *Runt-related transcription factor-2* (RUNX2) diketahui penting dalam memediasi diferensiasi dan aktivasi osteoblas. RUNX2 yang diaktifkan mengatur ekspresi gen osteogenik, termasuk alkali fosfatase (ALP), osteonektin (OSN), osteopontin (OPN), kolagen tipe I (COL1) dan tulang sialoprotein (BSP), yang mengarah pada diferensiasi yang berhasil osteoblas. Aktivator reseptor faktor nuklir κ -B ligan (RANKL) adalah faktor nekrosis tumor (TNF) yang terkait, sitokin yang diinduksi aktivasi yang diekspresikan dalam osteoblas yang penting untuk osteoklastogenesis. RANKL berikatan dengan RANK pada permukaan sel prekursor osteoklas, dan RANK kemudian menstimulasi protein kinase yang diaktifkan oleh mitogen (MAPK), faktor nuklir (NF) - κ B dan c-Fos untuk menginduksi faktor nuklir sel T teraktivasi 1 (NFATc1). NFATc1 sangat penting untuk diferensiasi osteoklas dan mengatur ekspresi berbagai gen terkait osteoklas, seperti asam resisten tartrat fosfatase (TRAP), matriks metalopeptidase-9 (MMP-9), cathepsin K (Ctsk), seperti immunoglobulin terkait osteoklas reseptor (OSCAR), c-src, c-myc, transmembran stimulasi osteoklas (OC- STAMP) dan ATPase H⁺ yang mengangkut V0 subunit d2 (ATP6v0d2).^(Kim Hyun,2019)

Kerusakan tulang yang berhubungan dengan alkohol pada akhirnya menyebabkan osteopenia, penyakit yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang besar. Sekarang telah diterima dengan baik bahwa banyak gangguan pada tulang, termasuk osteopenia dan osteoporosis, mencerminkan ketidakseimbangan dalam diferensiasi dan fungsi dua jenis sel, osteoblas dan osteoklas, yang bertanggung jawab untuk pembentukan tulang dan resorpsi tulang, masing-masing. Etanol yang bergantung pada dosis mengurangi proliferasi sel dan aktivitas alkali fosfatase dalam osteoblas. Selain itu, penekanan osteoblastogenesis dianggap sebagai penyebab utama pertumbuhan tulang yang terhambat oleh etanol, keropos tulang, dan perbaikan tulang yang kurang. Etanol juga telah terbukti merangsang resorpsi tulang dan osteoklastogenesis.^(Iitsuka,2012)

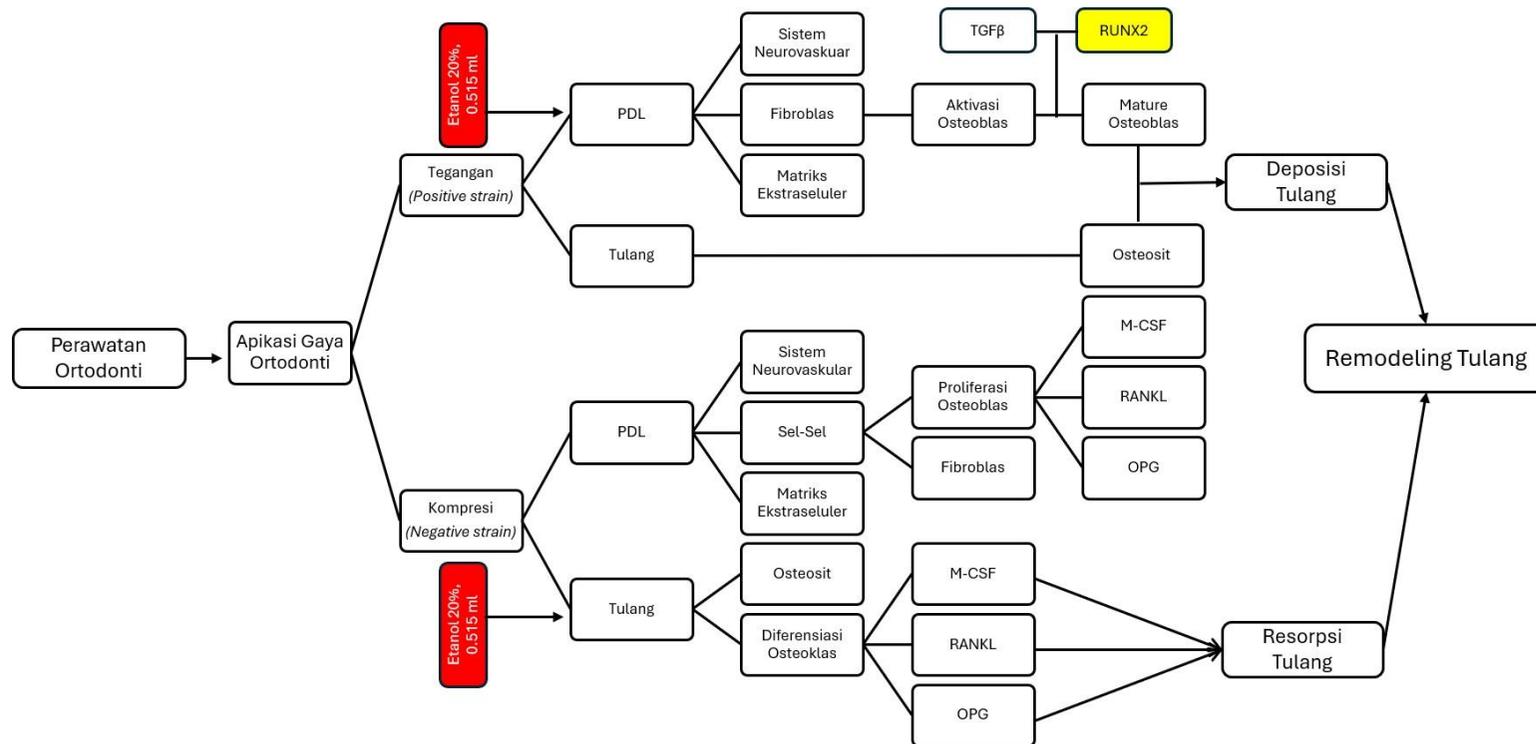
Bukti yang diperoleh dari investigasi histomorfometri menunjukkan bahwa etanol menghambat pembentukan tulang dan meningkatkan resorpsi tulang pada pecandu alkohol kronis. Johnell dkk. (1982) menemukan bahwa osteoklas lebih banyak terdapat pada biopsi krista iliaka dari pecandu alkohol dibandingkan dengan kelompok pria yang tidak beralkohol, menunjukkan peningkatan resorpsi tulang. Para peminum juga terbukti jumlah yang lebih rendah dalam lapisan osteoid dan sebagian kecil osteoid yang ditutupi oleh osteoblas, serta lebih sedikit osteoblas per satuan panjang tulang permukaan. Laju mineralisasi per hari lebih rendah dan pembentukan osteon waktu yang lebih lama pada laki-laki pecandu alkohol, yang menunjukkan efek yang merugikan dalam pembentukan tulang. Berlian Diamond dkk. (1989) juga menyimpulkan dari histomorfometri dinamis bahwa etanol mungkin bertanggung jawab atas disfungsi osteoblas. Etanol telah terbukti merusak

kemampuan fagositosis monosit dan, yang memiliki kesamaan prekursor yang sama dengan osteoklas. Kemampuan untuk menghasilkan superoksida anion dan perbatasan yang acak-acakan ditingkatkan di hati makrofag dalam pengobatan jangka panjang dengan etanol. Dalam jangka pendek, Balsinde dkk. (1988) menemukan bahwa etanol menyebabkan penghambatan respons anion superoksida pada makrofag peritoneum tikus, mungkin melalui pengorganisasiannya efek pada membran plasma. Meskipun osteoklas menyerupai makrofag polikarion dan memiliki beberapa respons yang sama terhadap hormon osteotropik (Roodman et al. 1985), tidak diketahui apakah etanol bekerja melalui mekanisme yang sama pada kedua jenis sel ini. (Cheung, 1995)

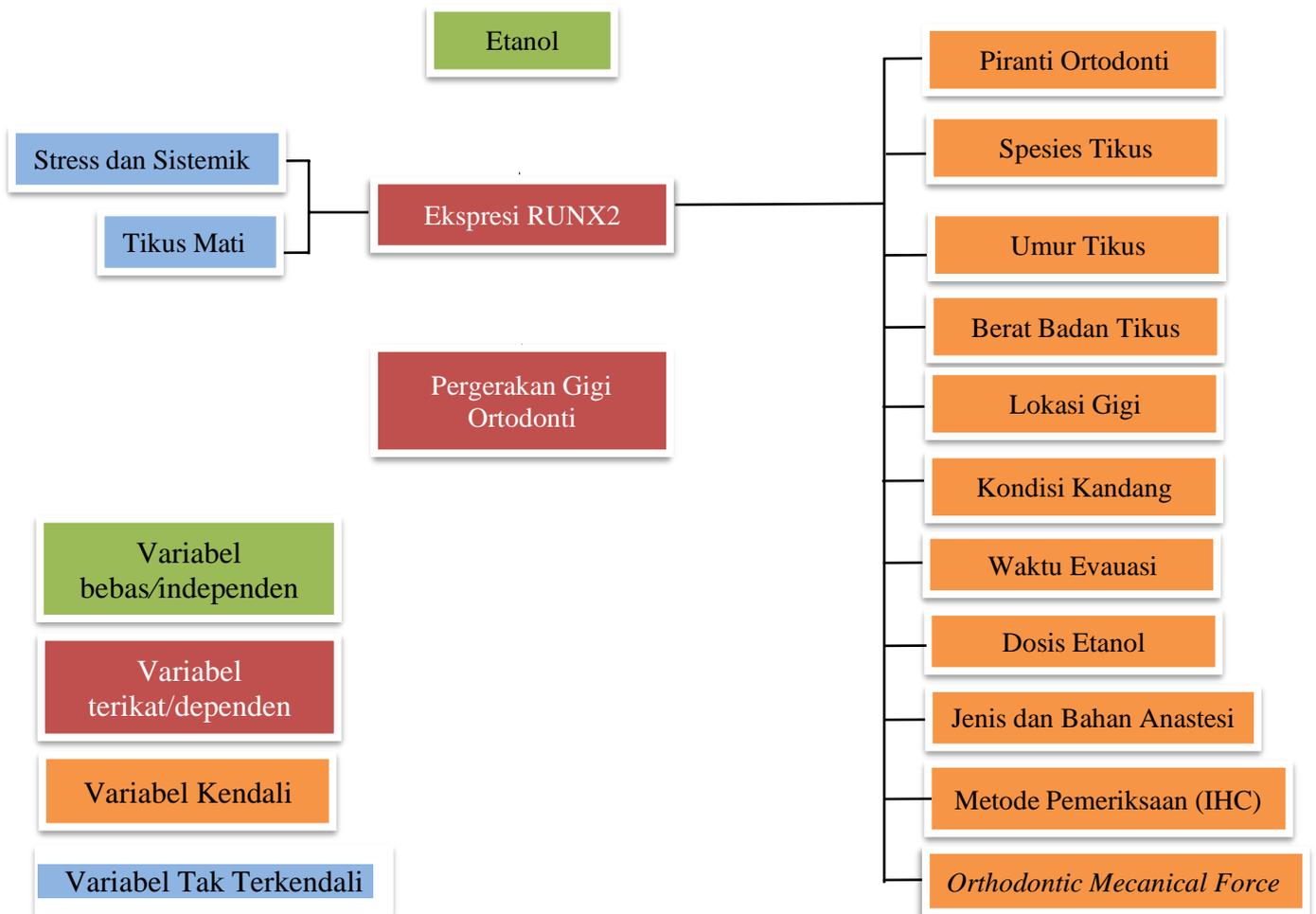
BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

A. Kerangka Teori



B. Kerangka Konsep



C. Hipotesis Penelitian

1. Ada perbedaan ekspresi *runt-related transcription factor 2* (RUNX2) setelah pemberian etanol dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti.
2. Ada pengaruh lama pemberian etanol terhadap ekspresi *Runt-related transcription factor-2* (RUNX2) dalam proses remodeling tulang selama aplikasi gaya gigi ortodonti.